

王 婧,刁小龙,陈晓兰,等. 抗菌肽 Indolicidin 的研究进展[J].江苏农业学报,2018,34(4):949-954.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2018.04.034

抗菌肽 Indolicidin 的研究进展

王 婧¹, 刁小龙², 陈晓兰¹, 王帅兵¹, 陈海峰¹, 张 龙¹

(1.江苏农牧科技职业学院,江苏 泰州 225300; 2.中崇信诺生物科技泰州有限公司,江苏 泰州 225300)

摘要: 抗菌肽是宿主先天性免疫防御系统产生的一类抵抗外界病原体感染的小分子多肽类生物活性物质,是先天性免疫的重要效应分子。抗菌肽具有的抗菌谱广、热稳定性和水溶性好等优点使其成为国内外研究热点。Indolicidin 是从牛中性粒细胞胞质颗粒中分离得到的一种天然抗菌肽,具有结构小,抗菌谱广等优势,其衍生物已进入临床研究阶段。本文对 Indolicidin 的抗菌作用、作用机制及其构效关系等方面的研究进展进行了综述,以期为该抗菌肽的进一步研究提供资料。

关键词: 抗菌肽; Indolicidin; 衍生物; 作用机制

中图分类号: Q516 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)04-0949-06

Research progress of antibacterial peptides Indolicidin

WANG Jing¹, DIAO Xiao-long², CHEN Xiao-lan¹, WANG Shuai-bing¹, CHEN Hai-feng¹, ZHANG Long¹

(1. Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China; 2. Zhongchong Sino Biotech Taizhou Co., Ltd., Taizhou 225300, China)

Abstract: Antimicrobial peptides produced by the host innate immune defense system are a kind of small molecule polypeptide bioactive substances, and are an important effector of innate immunity. Antimicrobial peptides have been a hot area of research at home and abroad because it has the advantages of wide antibacterial spectrum, good thermal stability and good water solubility. Indolicidin was purified from the cytoplasmic granules of bovine neutrophils. It had advantages of small structure and wide antibacterial spectrum, and its analogues were in the period of clinical studies. The antibacterial effect of Indolicidin, mechanism of action and structure-activity relationship were studied to provide information for the further research of antibacterial peptides.

Key words: antimicrobial peptides; Indolicidin; analogue; mechanism

抗菌肽又叫抗微生物肽、抗生素肽,是由多种生

物细胞特定基因编码经外界条件诱导产生的一类具有广谱抗细菌、真菌、病毒、原虫,抑杀肿瘤细胞等活性作用的多肽,是宿主细胞先天性免疫的重要效应分子。由于天然生物抗菌肽具有抗菌谱广,热稳定性和水溶性好,对高等动物的正常细胞几乎无毒害作用,不易产生耐药性,安全环保,能提高免疫力,抗氧化^[1-2]等诸多优点使其成为国内外研究和开发的热点,有着广阔的开发应用前景。

随着上世纪 70 年代 Boman 等首次在惜古比天

收稿日期:2017-10-26

基金项目:江苏省产学研合作前瞻性联合研究项目(BY2015066-01);江苏农牧科技职业学院院级项目(NSF201504-2、NSF201606)

作者简介:王 婧(1985-),女,四川绵阳人,博士,讲师,主要从事兽医药理及毒理学研究。(Tel)13951140263;(E-mail)kenhtsjj@163.com

通讯作者:张 龙,(Tel)15850862592;(E-mail)longz98@163.com

蚕中发现天蚕抗菌肽以后,至今已从微生物以及动植物中分离得到上千种抗菌肽。来源于哺乳动物的抗菌肽可根据其结构和生物学特征分为防御素类和 Cathelicidins 两大类^[3]。其中, Cathelicidins 是哺乳动物抗菌肽前体的一个大家族,最先在猪骨髓中被发现,后来陆续在人、鼠、羊、牛、马等哺乳动物骨髓、外周血、睾丸等组织中被发现,由于这类抗菌肽存在共同相似的 Cathelin 功能域,故人们称之为 Cathelicidins 家族。

Indolicidin 即为 Cathelicidins 家族成员之一,它是从牛中性粒细胞胞质颗粒中分离得到的一种抗菌肽,其结构为 ILPWKWPWRR-NH₂,仅包含 6 种共 13 个氨基酸,是目前为止已知的最小的天然线性抗菌肽,该多肽的羧基端被酰胺化,共包含 39% 的色氨酸残基和 23% 的脯氨酸残基,这是 Cathelicidins 家族,甚至是目前已知蛋白质中色氨酸含量最高的^[4]。

1 Indolicidin 的作用

Indolicidin 抗菌谱广,对多种需氧革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和真菌都有很强的抗菌活性,例如铜绿假单胞菌、念珠菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、临床分离的表皮葡萄球菌等,其杀菌量为 0.1~1.0 μmol^[5]。Ando 利用倍比稀释法研究 Indolicidin 对于枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌作用,结果显示其对这 3 种细菌的最低抑菌质量浓度(MIC)分别为 3.13 μg/ml、1.56 μg/ml 和 25.00 μg/ml^[6]。Selsted 在 10 mmol/L 的磷酸钠缓冲液中考察 indolicidin 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌对数期的杀灭作用,其最低杀菌质量浓度为 10 μg/ml^[4]。还有学者考察了诸如蜂毒肽、indolicidin、黄蜂毒素等 15 种短链抗菌肽对粘菌素敏感和粘菌素耐药型的鲍氏不动杆菌的体外活性,结果表明 Indolicidin 对这 2 种细菌均具有一定程度的抑制作用,对粘菌素敏感型和粘菌素耐药型的鲍氏不动杆菌的 MIC₅₀ 值分别为 8 μg/ml 和 16 μg/ml^[7]。

不仅如此,Indolicidin 还对一些寄生虫(如微小隐孢子虫和卡氏肺囊虫)和病毒有抑制作用。有研究表明,单独使用 Indolicidin 浓度达到 50 μmol/L 可降低微小隐孢子虫裂殖子浓度至 38.5%,与其他药物配合使用效果更好。

还有研究表明 Indolicidin 可以抗人类免疫

缺陷病毒(HIV-1)、单纯疱疹病毒,它抗病毒所需浓度比抗细菌和抗真菌时高。Robinson 等的研究结果表明 Indolicidin 对于 HIV-1 病毒的杀病毒质量浓度为 333 μg/ml,37 °C 条件下 IC₅₀ 为 67~100 μg/ml,且表现出直接的剂量依赖性和时间依赖性的杀病毒活性,37 °C 作用 5 min 即可抑制 50% 的 HIV 病毒,而要起到完全抗病毒作用大约需作用 60 min^[8]。

2 Indolicidin 的抗菌机理

由于 Indolicidin 具有广谱抗菌活性,加之抗菌肽所具有的优势使其在被发现以来受到了广泛地关注和研究,但是到目前为止它的作用机制并不十分清楚。大多认为多肽的阳离子净电荷数与其抗菌活性关系密切,而其疏水性则与溶血性一致。

早期的研究结果认为,Indolicidin 可与细菌胞膜相互作用并形成跨膜离子通道,导致跨膜电位远远偏离正常值,引起细胞内容物外流而使细菌死亡。用 Indolicidin 处理大肠杆菌细胞时,能诱导细胞出现丝状物质,且在抗细菌物质存在时能够阻碍 DNA 合成^[5]。并且 Indolicidin 需要达到最低浓度才可影响双脂层的结构,低于该最低浓度检测不到其对细胞膜的影响,而高于该浓度有严重的影响,即使是在高浓度下对膜引起可见的变化仍需一定的时间。在某种意义上 Indolicidin 在破坏膜的连续性方面有类似于表面活性剂的作用^[9]。Yeh 等^[10]从自由能的变化角度解释了 Indolicidin 更易吸附于原核细胞而不是真核细胞膜的原因,他认为决定 Indolicidin 特异性吸附作用的能量因素是由吸附和被吸附两侧的能量总和决定的。基于 Indolicidin 的抗菌机制可能是靶向于细胞膜,有学者认为这可能是它对有囊膜的病毒也有抑制或杀灭作用的原因^[8]。

不仅如此,Indolicidin 被证明可以与遗传物质和一些生物大分子相结合,最早由 Falla 等提出当其浓度足够高时,Indolicidin 可能抑制 RNA 和蛋白质大分子的合成,加之其对细胞膜的渗透作用,推测这可能是其抑菌作用的机理^[5]。在随后的研究中,有学者通过利用化学交联和质谱足迹法进行了 Indolicidin 抑制 HIV-1 整合酶的作用机理研究,结果表明 Indolicidin 可直接与 DNA 结合阻碍整合酶-DNA 复合物的形成,而不是与整合酶相结合。同时它还能影响拓扑异构酶 I 对 DNA 进行调节使 DNA 结构松弛,就此推测 Indolicidin 通过与 DNA 的结合可能抑

制大量的与 DNA 加工相关的酶。凝胶电泳试验结果显示随着多肽浓度的增加,所形成的整合酶-DNA 复合物逐渐减少,也就是说 Indolicidin 影响了整合酶与 DNA 的结合,尤其是 Indolicidin 的无精氨酸替代物 RIN-25 浓度在 37~333 $\mu\text{mol/L}$ 时可完全抑制整合酶 DNA 复合物的形成^[11]。

虽然有一些学者提出了相反的观点,认为 Indolicidin 不能与 DNA 结合^[12-13]。但在 2014 年, Ghosh 等^[14]在试验中发现 Indolicidin 十三肽中间的 PW-WP 结构域是一个特殊的结构原件,该结构域能够包绕 B-型 DNA 双螺旋结构,使其稳定性更好,从而对 DNA 的复制和转录起到了抑制作用。通过荧光显微镜观察利用 FITC 标记的 Indolicidin 不仅能够定位于 A549 肺癌细胞细胞膜,而且能够定位至细胞核,证实了 Indolicidin 可以结合于双螺旋 DNA 上,这也间接证明了 Indolicidin 可能是通过与 DNA 结合而发挥抑制作用。

双螺旋 DNA 结构由于有氢键和碱基堆积的作用格外稳定,但是受热后会受到影响,进一步利用圆二色谱和质谱对 Indolicidin 和 DNA 复合物热变性进行研究,结果表明,正常 DNA 解链温度为 52.2 $^{\circ}\text{C}$ 左右,而 Indolicidin 与 DNA 的复合物的解链温度为 63.2 $^{\circ}\text{C}$, Indolicidin 与 DNA 的复合物比 DNA 单独存在时更加稳定。Ghosh 等进一步利用 A-A、H-H 或 P-P 代替 PW-WP 结构中的 WW 之后,大大影响了其稳定双螺旋 DNA 的能力,推测这可能是由于 WW 被替换后减少了多肽的表面积和疏水性。表明 PW-WP 作为与 DNA 结合时的识别区域具有重要作用,且其中的色氨酸残基起到了重要作用^[14]。

综上所述,推测 Indolicidin 的抑菌机制可能是由于通过增加细胞膜的通透性,使自身进入细菌内部,一方面能够促使细菌内容物外流,另一方面能够与细菌 DNA 及 DNA 复制相关的蛋白质大分子相结合,抑制 DNA 的复制,从而起到杀菌的作用。

3 Indolicidin 的构效关系

研究一个蛋白质或一个基因的功能及其分子机制的主要方法包括过表达、异源表达,基因打靶和基因沉默等手段。而蛋白质实现它的不同功能主要是依靠构成它的氨基酸的化学性质的多样性以及肽链折叠方式的多样性。因此有必要对蛋白质中发挥关键作用的氨基酸功能进行深入研究,可以通过点突

变或缺失蛋白质或多肽中的关键氨基酸来探讨其在蛋白质或多肽中的作用以及该蛋白质发挥作用的机理等。

天然抗菌肽具有较多优势, Indolicidin 的抗菌活性较广,然而它对真核细胞具有细胞毒性,静脉注射毒性较大,并且具有溶血性等作用限制了其应用和发展。因此对于 Indolicidin 多肽中各个氨基酸在其活性以及细胞毒性方面发挥的作用有必要进行详细的研究,为了探索 Indolicidin 中电荷以及色氨酸和脯氨酸对其生物活性的重要性,有学者合成一系列单个或组合突变氨基酸和脯氨酸衍生物并考察其生物活性,从而分析色氨酸及脯氨酸在 Indolicidin 发挥生物活性过程中的重要角色,为后期对该抗菌多肽进行人工改造等提供科学依据。

3.1 羧基端修饰的重要性

天然 Indolicidin 的羧基端被酰胺化,为了探讨羧基端被修饰对于 Indolicidin 的抗菌活性是否有影响,有学者合成了一系列的衍生物。Falla 等的试验结果显示,在合成 Indolicidin 衍生物中羧基端甲酯化比羧基端未甲酯化的 Indolicidin 抗菌效果好,尤其是对于野生型的大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌以及葡萄球菌属细菌作用效果好, MIC 介于 4~64 $\mu\text{g/ml}$ ^[5]。而另一缺乏 C 端精氨酸残基的衍生物显示出比 Indolicidin 的抗细菌活性和抗真菌活性都有所降低^[8]。羧基端被修饰后的 Indolicidin 表现出对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌都有更好的活性,这可能是由于增加了净正电荷,同时也印证了其能够增加对脂多糖(LPS)的结合能力,从而提高其外膜渗透作用^[5]。

3.2 色氨酸的重要性

色氨酸残基能够提高多肽分子进入脂质双分子层的能力,同时也导致了溶血作用的产生。用苯丙氨酸完全取代其中的 5 个色氨酸对于其抗菌活性并无显著影响,但是其溶血性几乎完全消失。替换后的多肽不能够形成 α 螺旋或者 β -折叠,同时也不能像其他内源性抗菌肽一样透过细胞膜^[15]。

后来, Subbalakshmi 等^[16]进一步合成了在 Indolicidin 第 4 位、第 8 位、第 11 位中分别保留单个色氨酸,而其他色氨酸被亮氨酸替代,例如: ILP-WKLPLLPLRR-am、ILPLKLPWLPLRR-am 等,并考察了这些衍生物的生物活性,结果显示这些衍生物对于大肠杆菌和金黄色葡萄球菌仍具有活性,但是

与 Indolicidin 相比稍有降低,但这些衍生物的溶血性却消失了。

Ryge 等^[17]也证实色氨酸对于 Indolicidin 的抗菌活性并不是必须的,尽管它含有 5 个色氨酸。通过利用衍生化的甘氨酸残基或其他非天然氨基酸取代其中的 5 个色氨酸,并测定这些衍生物的抗菌活性。结果表明,用 3-(2-萘基)甘氨酸取代色氨酸的 Indolicidin 抗菌活性最佳,对于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 值分别为 1.2 $\mu\text{mol/L}$ 和 2.3 $\mu\text{mol/L}$ 。用 5 个修饰的脯氨酸取代色氨酸的 Indolicidin 显示出抗金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 值至少提高 3 倍。

后来,Ando 等^[6]合成了一系列 Indolicidin 中色氨酸单个替换的衍生物,并考查了这些多肽的抗菌活性和溶血作用,结果显示 Indolicidin 中第 11 位的色氨酸对于抗菌活性和溶血活性都相当重要且不可替换成其他氨基酸,而第 4 位和第 9 位的色氨酸分别对抗菌活性和溶血活性具有重要作用,第 6 位和第 8 位的色氨酸对于生物活性几乎无作用。而 Indolicidin 的逆向衍生物比 Indolicidin 具有更好的抗革兰氏阳性菌(G^+)和革兰氏阴性菌(G^-)的活性,且其溶血活性显著降低。

3.3 脯氨酸的重要性及其他

Indolicidin 中含有大量的色氨酸和脯氨酸,脯氨酸主要位于第 3 位、第 7 位和第 10 位,最初有人认为 Indolicidin 中的 3 个脯氨酸残基对于其生物活性并无重要作用,利用丙氨酸替换其中的 3 个脯氨酸后抗菌活性并未消失,然而溶血活性却有所增加^[15]。利用丙氨酸取代脯氨酸的衍生物,可增强其抗 G^+ 菌的活性^[18]。用赖氨酸替换脯氨酸合成一系列衍生物,其抑菌活性、抗炎活性、中和 LPS 的能力与 Indolicidin 相当,且对机体没有细胞毒性,有望成为新型的抗菌药物^[19]。

后来有试验用丙氨酸替换 1 个或多个脯氨酸后,考察脯氨酸对 Indolicidin 的结构和功能的影响。最低抑菌浓度试验和扫描电镜试验结果证明脯氨酸对抗菌活性和对细胞膜的分解具有重要作用。利用荧光光谱和动态光散射研究这些多肽与脂多糖 LPS 的亲和力试验证实其能分解 LPS 膜。这些结果表明脯氨酸对 Indolicidin 与脂多糖的相互作用至关重要,且第 3 位和第 10 位脯氨酸残基对 Indolicidin 发挥抗菌活性尤为重要。推测该抗菌肽中出现多个

脯氨酸是为了让 Indolicidin 能够更好地适应不同构型的“LPS”,可能是 Indolicidin 有多重作用机制的原因^[20]。

在 Indolicidin 中引入赖氨酸(例如:ILKKWPW-WPWRK),并且将其 C 端甲基酯化,该衍生物较 Indolicidin 活性提高 4 倍且无溶血性^[21]。研究结果反映了净正电荷对于其抗菌活性的重要性。其他一些 Indolicidin 衍生物,用异亮氨酸或甘氨酸分别替换第 4 位、第 6 位、第 8 位的色氨酸,衍生物显示出更好的抗菌活性,然而缺乏这些衍生物溶血性的报道^[22]。

4 Indolicidin 的其他衍生物

由于 Indolicidin 具有较大的细胞毒性限制了其使用,为了减少其细胞毒性并提高其抗菌活性,对其进行结构修饰或者在其基础上设计衍生物或新型抗菌肽是较常见的方法。在 Park 等合成的一系列衍生物中,除 K2L6W3 外的其他衍生物对耐甲氧西林葡萄球菌和多重耐药绿脓杆菌的抑菌作用均比 Indolicidin 强。在 Indolicidin 的基础上合成了一系列富含色氨酸的抗菌多肽,并比较了这些多肽与 Indolicidin 的抗菌活性以及治疗指数等。最终表明其合成的 K6L2W3 展示出的最佳治疗指数大约是 Indolicidin 的 40 倍^[13]。

还有人采用和现有抗生素或抗菌肽联合用药或合成杂合肽的方式来考察其抗菌活性及其细胞毒性的变化情况,并发现了一些对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)有效的合成肽。Tsai 等^[23]还通过试验证实可以通过氨基酸残基的疏水性模块推算对细胞渗透型抗菌肽衍生物进行前期的设计指导。

利用羧基乙酸或者甘氨酸将左氧氟沙星与 Indolicidin 或细胞渗透型肽(TAT)等抗菌肽相连接,发现左氧氟沙星与 Indolicidin 的结合物具有稳定的抗菌活性。有趣的是,直接将左氧氟沙星和 Indolicidin 混合后其抗 G^- 菌的活性也有所提高^[24]。有研究表明阳离子抗菌肽与抗生素合用时能够起到协同抗菌的作用,并能够协同增强对 MRSA 细胞膜的破坏作用,因此阳离子抗菌肽也许能够通过单独或联合抗生素使用来治疗 MRSA^[25]。Jindal 等^[26]合成了 Indolicidin 和 Rnanlexin 天然抗菌肽的 13 个杂合衍生物,其中有 4 个杂合抗菌肽对临床分离的 30 株肺炎球菌表现出较好的活性, MIC 为

7.81~15.62 $\mu\text{g}/\text{ml}$,且这4个杂合肽表现出较好的广谱抗菌活性,抗菌谱包括敏感性和耐多种药的金黄色葡萄球菌等。

Chang 等^[27]通过固相合成的方法合成了 LD-indolicidin,该肽为立体异构型,由交替出现的顺式和反式氨基酸顺次组成,并且该肽对酶的降解具有更好的耐受性。在以 LD-indolicidin 作为佐剂的 H5N1 亚型流感灭活苗免疫过的小鼠脾细胞中的 IFN- γ 比未添加的有明显增高,而特异性抗体 IgG 没有明显变化,表明 LD-indolicidin 或许可作为调节免疫反应的佐剂。Huang 等^[28]也证实由乳化颗粒和 LD-indolicidin 组成的联合免疫佐剂能够增强流感灭活疫苗的血清学免疫力。还有研究者发现 Indolicidin 的衍生物能够使烧伤模型中的抗氧化酶活性先减少后增加,表明其对烧伤有一定的修复作用^[29]。Hu 等^[30]还报道 Indolicidin 具有一定的基因传递的能力。

5 Indolicidin 的发展前景

近年来,对于 Indolicidin 的结构特性、生物学活性、作用机制及构效关系等的研究取得了显著的进展。Indolicidin 的衍生物 MBI-226 已进入 III 期临床阶段,而 Indolicidin 的一些其他衍生物已作为治疗痤疮的药物进入 II 期临床试验^[31]。但抗菌肽的纯化技术存在困难,合成成本较高,因此利用体外表达技术,通过构建基因工程菌提高其表达量,进一步改进分离和纯化技术,降低其生产成本,对其临床制剂的开发和广泛应用具有重要意义。

参考文献:

- [1] 金海涛,但启雄,袁 威,等.复合抗菌肽“态康利宝”对断奶仔猪组织抗氧化功能的影响[J].中国兽医学报,2016,36(7):1212-1219.
- [2] 田春雷,袁 威,任志华,等.复合抗菌肽“态康利宝”对断奶仔猪红细胞免疫功能的影响[J].中国兽医学报,2015,35(5):795-799.
- [3] 罗 刚,魏 泓.哺乳动物抗菌肽研究进展[J].四川动物,2002(4):255-258.
- [4] SELSTED M E, NOVOTNY M J, MOSRRIS W L M, et al. Indolicidin, a novel bactericidal tridecapeptide amide from neutrophils[J]. J Biol Chem, 1992, 267(7):4292-4295.
- [5] FALLA T J, KARUNARATNE D N, HANCOCK R E. Mode of action of the antimicrobial peptide indolicidin[J]. J Biol Chem, 1996, 271(32):19298-19303.
- [6] ANDO S, MITSUYASU K, SOEDA Y, et al. Structure-activity relationship of indolicidin, a Trp-rich antibacterial peptide[J]. J Pept Sci, 2010, 16(4):171-177.
- [7] VILA-FARRES X, GARCIA C, LOPEZ-ROJAS R, et al. *In vitro* activity of several antimicrobial peptides against colistin-susceptible and colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2012, 18(4):383-387.
- [8] ROBINSON W E J R, MCDUGALL B, TRAN D, et al. Anti-HIV-1 activity of indolicidin, an antimicrobial peptide from neutrophils[J]. J Leukoc Biol, 1998, 63(1):94-100.
- [9] VEGH A G, NAGY K, BALINT Z, et al. Effect of antimicrobial peptide-amide: indolicidin on biological membranes[J]. J Biomed Biotechnol, 2011(3):1-6.
- [10] YEH I C, RIPOLL D R, WALLQVIST A. Free energy difference in indolicidin attraction to eukaryotic and prokaryotic model cell membranes[J]. Journal of Physical Chemistry, 2012, 116(10):3387-3396.
- [11] MARCHAND C, KRAJEWSKI K, LEE H F, et al. Covalent binding of the natural antimicrobial peptide indolicidin to DNA abasic sites[J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34(18):5157-5165.
- [12] NAN Y H, PARK K H, PARK Y, et al. Investigating the effects of positive charge and hydrophobicity on the cell selectivity, mechanism of action and anti-inflammatory activity of a Trp-rich antimicrobial peptide indolicidin[J]. FEMS Microbiol Lett, 2009, 292(1):134-140.
- [13] PARK K H, NAN Y H, PARK Y, et al. Cell specificity, anti-inflammatory activity, and plausible bactericidal mechanism of designed Trp-rich model antimicrobial peptides[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1788(5):1193-1203.
- [14] GHOSH A, KAR R K, JANA J, et al. Indolicidin targets duplex DNA: structural and mechanistic insight through a combination of spectroscopy and microscopy[J]. Chem Med Chem, 2014, 9(9):2052-2058.
- [15] SUBBALAKSHMI C, KRISHNAKUMARI V, NAGARAJ R, et al. Requirements for antibacterial and hemolytic activities in the bovine neutrophil derived 13-residue peptide indolicidin[J]. FEBS Lett, 1996, 395(1):48-52.
- [16] SUBBALAKSHMI C, BIKSHAPATHY E, SITARAM N, et al. Antibacterial and hemolytic activities of single tryptophan analogs of indolicidin[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 274(3):714-716.
- [17] RYGE T S, DOISY X, IFRAH D, et al. New indolicidin analogues with potent antibacterial activity[J]. J Pept Res, 2004, 64(5):171-185.
- [18] FRIEDRICH C L, ROZEK A, PATRZYKAT A, et al. Structure and mechanism of action of an indolicidin peptide derivative with improved activity against gram-positive bacteria[J]. J Biol Chem, 2001, 276(26):24015-24022.
- [19] NAN Y H, BANG J K, SHIN S Y. Design of novel indolicidin-derived antimicrobial peptides with enhanced cell specificity and po-

- tent anti-inflammatory activity [J]. *Peptides*, 2009, 30(5): 832-838.
- [20] BERA S, GHOSH A, SHARMA S, et al. Probing the role of Proline in the antimicrobial activity and lipopolysaccharide binding of indolicidin [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2015, 452: 148-159.
- [21] FALLA T J, HANCOCK R E. Improved activity of a synthetic indolicidin analog [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1997, 41(4): 771-775.
- [22] SITARAM N, NAGARAJ R. Interaction of antimicrobial peptides with biological and model membranes; structural and charge requirements for activity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1462(1/2): 29-54.
- [23] TSAI C W, HU W W, LIU C I, et al. The consideration of indolicidin modification to balance its hemocompatibility and delivery efficiency [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 494(1): 498-505.
- [24] GHAFFAR K A, HUSSEIN W M, KHALIL Z G, et al. Levofloxacin and indolicidin for combination antimicrobial therapy [J]. *Curr Drug Deliv*, 2015, 12(1): 108-114.
- [25] MATARACI E, DOSLER S. *In vitro* activities of antibiotics and antimicrobial cationic peptides alone and in combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(12): 6366-6371.
- [26] JINDAL H M, LE C F, MOHD Y M Y, et al. Antimicrobial activity of novel synthetic peptides derived from indolicidin and ranalexin against *Streptococcus pneumoniae* [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(6): e0128532.
- [27] CHANG C Y, LIN C W, CHIANG S K, et al. Enzymatic stability and immunoregulatory efficacy of a synthetic indolicidin analogue with regular enantiomeric sequence [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2013, 4(6): 522-526.
- [28] HUANG M H, DAI S H, CHONG P. Mucosal delivery of a combination adjuvant comprising emulsified fine particles and LD-indolicidin enhances serological immunity to inactivated influenza virus [J]. *Microbes Infect*, 2016, 18(11): 706-709.
- [29] LAZARENKO V A, LYASHEV Y D, SHEVCHENKO N I. Effect of a synthetic indolicidin analogue on lipid peroxidation in thermal burns [J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2014, 157(4): 447-449.
- [30] HU W W, LIN Z W, RUAAN R C, et al. A novel application of indolicidin for gene delivery [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 456(2): 293-300.
- [31] SADER H S, FEDLER K A, RENNIE R P, et al. Omiganan pentahydrochloride (MBI 226), a topical 12-amino-acid cationic peptide; spectrum of antimicrobial activity and measurements of bactericidal activity [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(8): 3112-3118.

(责任编辑:陈海霞)