



自组装纳米抗菌肽的设计策略及应用

陈雯雯, 李国雨, 来振衡, 朱永杰, 邵长轩*, 单安山*

东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030

* 联系人, E-mail: cxshao@neau.edu.cn; asshan@neau.edu.cn

2024-04-10 收稿, 2024-07-25 修回, 2024-07-25 接受, 2024-07-26 网络版发表

国家重点研发计划(2022YFD1300700)、国家自然科学基金(32030101)和黑龙江省高校协同创新成果项目(LJGXCG2022-022)资助

摘要 细菌感染, 特别是耐药菌感染, 是人类公共卫生的最大威胁之一. 与传统抗生素相比, 抗菌肽以其多模式作用机制和较低的耐药性风险, 展现出显著优势. 尽管抗菌肽存在稳定性差、细胞毒性高等问题, 限制了其临床应用, 但抗菌肽自组装形成纳米结构在很大程度上克服了这些限制, 并展现出极大的治疗潜力. 本综述对抗菌肽自组装纳米材料的设计策略及其在治疗细菌感染方面的应用进行了系统总结, 重点介绍了基于两亲性氨基酸非共价力驱动和化学修饰形成自组装抗菌肽的设计方法, 最后描述了自组装纳米抗菌肽在腹腔感染、皮肤感染、肺部感染中的治疗潜力, 以及其他领域的应用价值. 期望该综述可为该领域的进一步研究提供指导, 以促进新型抑菌剂的发展.

关键词 自组装抗菌肽, 设计策略, 化学修饰, 非共价力驱动, 细菌感染

抗生素作为人类历史上最伟大的发明之一, 改变了人类抗菌历史, 开启了治愈致命感染的黄金时代. 此外, 抗生素促生长功能的发现为畜牧业规模化发展奠定了基础^[1]. 然而, 抗生素在人类和动物中持续的过度使用导致细菌对这些药物逐步产生耐药性. 据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)报告, 目前抗菌药物耐药性(antimicrobial resistance, AMR)已成为公共卫生的三大威胁之一. 细菌产生耐药性的机制有多种^[2], 包括: (1) 涉及抗生素失活的细菌酶活性提高, 例如 β -内酰胺酶活性提高能加速 β -内酰胺抗生素环上的酰胺键水解, 使药物失活; (2) 通过外排泵以主动运输的方式排出细胞内抗生素; (3) 抗生素识别位点的改变使细菌对抗生素不敏感^[3]. 随着AMR的不断加剧, 抗生素治疗病原微生物感染的黄金时代已经结束, 寻找新的抗生素替代品迫在眉睫.

抗菌肽(antimicrobial peptides, AMPs), 又称宿主防御肽, 是生物体先天免疫系统对抗感染的第一道化

学防线. 它们具有广谱抗菌特性, 可用于治疗病原体感染、促进伤口愈合, 在医药、食品、畜牧和水产养殖等领域都具有良好的应用前景^[4]. 与传统抗生素不同, AMPs可以多靶点消灭病原体, 有效减少耐药菌的出现^[5]. AMPs通过其阳离子残基与细菌外膜上带负电荷的组分或局部脂质环境之间的静电吸引而结合到细菌膜, 随后, 它们将通过直接穿透或内吞作用进入细胞, 进而与细胞质中的内部组分, 如核酸或其他胞内靶点相互作用^[6]. 关于AMPs的膜裂解机理, 已有多种模型进行了阐释, 包括跨膜孔模型(如桶形壁孔和环状孔)和无孔模型(如地毯模型)^[7]. 然而, 天然AMPs的应用存在一些限制, 例如它们是胃肠道蛋白酶降解的天然底物, 并且由于通过肾脏和肝脏的快速代谢, 限制了其生物利用度. 不仅如此, 天然AMPs在较高浓度下通常表现出细胞毒性^[8]. 由于这些原因, 目前仅有极少数的天然抗菌肽正在进行临床研究.

与经典药理学相比, 纳米医学是一个新兴领域^[9].

引用格式: 陈雯雯, 李国雨, 来振衡, 等. 自组装纳米抗菌肽的设计策略及应用. 科学通报, 2024, 69: 4267–4280

Chen W W, Li G Y, Lai Z H, et al. Design strategy and application of self-assembled nano-antimicrobial peptides (in Chinese). Chin Sci Bull, 2024, 69: 4267–4280, doi: [10.1360/TB-2024-0390](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0390)

将抗菌肽与纳米技术相结合,通过抗菌肽自组装形成纳米肽,是实现AMPs临床应用的重要手段^[10]。从应用角度来看,AMPs形成纳米结构能够显著改善其原有缺陷,例如,自组装AMPs肾清除率下降、蛋白酶稳定性提高、半衰期延长、靶点选择性增加等^[11]。自组装多肽作为抗菌药物所展现出的巨大潜力可从其不断增加的临床应用的试验数量得以印证。截至2019年,已有27个自组装抗菌肽进入临床试验阶段^[12]。低分子量自组装肽在组织工程、伤口修复和靶向药物递送等方面都具有良好的应用前景,已被广泛应用于刺激响应和自适应性生物材料的开发,可用于细胞增殖、组织工程、抗菌、抗炎、抗癌和伤口愈合等不同的应用领域^[13,14]。

本文系统地概括了自组装AMPs的分子基础与设计策略,总结了具有自组装有序纳米结构(例如纤维、球、管、水凝胶等)的肽基纳米材料在对抗细菌感染方面的最新进展,最后对自组装AMPs应用及未来发展进行了深入探讨和前景预测。

1 自组装抗菌肽

1.1 分子基础

多肽的序列长度、氨基酸残基的特定排列组合以及分子间的相互作用等因素决定了其生物学功能的多变性和多样性^[15]。AMPs的正电荷数、疏水性是影响其抗菌活性的主要因素,可以通过设计编码肽序列进行精确控制。构成肽序列的20种标准氨基酸可根据其侧链的极性分为极性和非极性氨基酸。极性氨基酸包括不带电荷的氨基酸(例如丝氨酸、苏氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、酪氨酸)和带电荷的氨基酸(例如带正电荷的赖氨酸、精氨酸、组氨酸,带负电荷的天冬氨酸、谷氨酸)。通常极性氨基酸倾向于亲水性,而非极性氨基酸则表现为疏水性。因此,自组装肽的设计依赖于对疏水部分和亲水部分进行恰当的埋藏和暴露,这是实现编码多肽特定构型的基础^[16]。一些非天然氨基酸也可用于设计自组装肽。肽序列中的每个氨基酸都对AMPs的整体生理化学性质有贡献^[17]。以精氨酸为例,其侧链包含一个胍基基团,在生理pH(7.4)下,胍基质子化而带正电荷,这一特性有助于增强AMPs水溶性和杀菌特性。Castelletto等人^[18]设计了富含精氨酸的三肽模型RXR,对铜绿假单胞菌表现出显著的选择性抗菌活性。组氨酸等则具有pH响应功能,可以设计出刺

激响应肽,Dona等人^[19]设计了短肽FHHF-11,可通过pH响应改变组氨酸的质子化程度,形成水凝胶,不仅具有抗菌性能,而且具有良好的生物相容性,可促进伤口愈合。色氨酸是一种具有疏水性吲哚基团的芳香族氨基酸。张继坤等人^[20]利用色氨酸制备了一系列短肽,并研究了色氨酸在调节肽自组装和凝胶化方面的作用。引入的色氨酸不仅使肽凝胶剂的分子结构多样化,而且促进芳香族和氢键相互作用,实现超分子自组装和凝胶化。自组装肽具有二级结构和三级结构,这对于进一步组装具有重要意义。人工设计肽的组装与天然肽或蛋白质组装过程类似。AMPs的长度通常介于10~60个氨基酸之间,当肽序列超过12个氨基酸时,通常会观察到二级结构(例如 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角及无规则卷曲),而长度超过40个氨基酸时可能展现出三级结构^[21]。不同氨基酸的存在显著影响多肽的二级结构,例如由于空间干扰,并非所有氨基酸序列都可以形成 α -螺旋,特别是体积较大或带电荷氨基酸残基,如果过于接近,就可能破坏螺旋结构稳定性甚至导致结构解体。因此,亮氨酸和丙氨酸这类小残基是 α -螺旋的主要组成部分^[12]。然而,尽管脯氨酸和甘氨酸属于小型氨基酸残基,但它们无法形成 α -螺旋结构,这是因为脯氨酸N-C α 键固定,限制了旋转,而甘氨酸构象不稳定,会破坏螺旋结构。这些对抗菌肽的筛选、优化以及自组装的调控具有重要的指导意义。

1.2 纳米形态

1.2.1 纳米颗粒/纳米球

抗菌肽纳米颗粒(nanoparticles, NPs)是指至少在一个维度上尺寸小于100 nm的颗粒结构^[12]。这些AMPs NPs呈现一系列不同的形态,包括胶束和固体颗粒。研究表明,两亲性寡肽、环肽具备形成纳米颗粒的能力^[22]。通过自组装策略形成AMPs NPs不仅可以提高稳定性,还可以提升其生物学功能。例如,张连兵等人^[23]通过氢键和铜配位作用,开发了具有潜在旋光性质的GHK-Cu纳米颗粒自组装体。GHK-Cu纳米颗粒对大肠杆菌和铜绿假单胞菌均表现出显著的抗菌活性,并将肽的固有荧光信号从紫外线转移到可见光甚至近红外线范围。Anwar等人^[24]利用二肽Trp-Phe与Zn(II)离子配合形成自组装肽直径30~80 nm的纳米颗粒,证明了其对多种致病菌(大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌和假单胞菌)的抗菌活性。本课题组^[25]研究设计了抗菌肽C₁₆-3RP,如图1(a)所示,该肽呈现纳米颗粒形态,并可通过

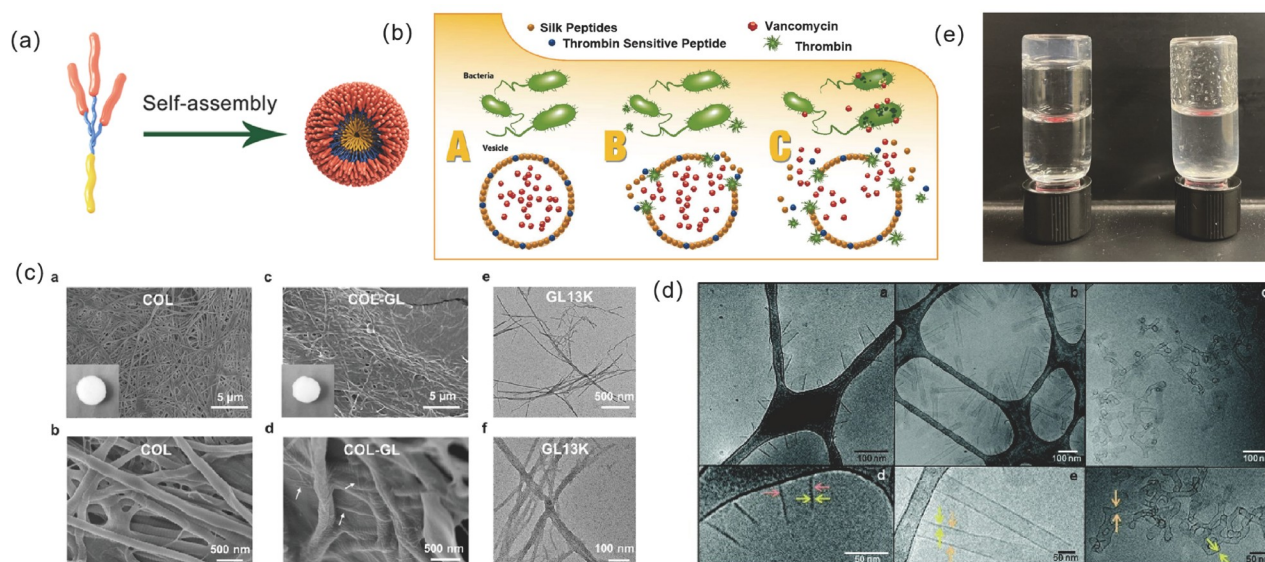


图 1 (网络版彩色)不同自组装抗菌肽的纳米形态。(a) 自组装肽树突纳米颗粒C16-3RP自组装行为示意图^[25]。(b) 细菌酶触发的凝血酶敏感抗菌肽纳米球感染反应释放示意图^[28]。(c) 不含GL13K的胶原蛋白膜(COL; a和b)和含GL13K的胶原蛋白膜(COL-GL; c和d)的扫描电子显微镜照片,以及纯GL13K的透射电子显微镜照片(e和f)^[31]。(d) 在不同pH下,R3L12的代表性冷冻透射电子显微镜图像:a和d(pH 4);b和e(pH 2);c和f(pH 1)。橙色和黄色箭头分别表示纳米管的直径或纳米管壁的厚度^[35]。(e) 左边的小瓶是pH 8的缓冲液中的FHHF-11水凝胶(可在数小时内保持稳定的水凝胶),右边是相同的水凝胶,在pH 6的缓冲液中溶解^[19]

Figure 1 (Color online) Nanomorphology of different self-assembled antimicrobial peptides. (a) Illustration of the self-assembly behavior of the self-assembled peptide dendritic nanoparticle C₁₆-3RP^[25]. (b) Bacterial enzyme-triggered release profile of thrombin-sensitive peptide nanospheres in response to infection^[28]. (c) Scanning electron microscope (SEM) images of collagen membranes without GL13K (COL; a and b) and with GL13K (COL-GL; c and d), and transmission electron microscope (TEM) images of pure GL13K (e and f)^[31]. (d) Representative cryo-TEM images of R3L12 recorded at pH 4 (a and d), pH 2 (b and e) and pH 1 (c and f). Orange and yellow arrows indicate the diameter of the nanotubes or the thickness of the nanotube walls^[35]. (e) The vial on the left is a FHHF-11 hydrogel (a hydrogel that remains stable for several hours) in buffer at pH 8, and the right shows the same hydrogel, dissolved in buffer at pH 6^[19]

改变细菌膜通透性、诱导细胞质膜去极化造成膜破坏。此外,它们可以抑制核糖体生物合成、干扰能量代谢过程杀死革兰氏阴性菌。

多肽纳米球是由多肽对称自组装而成的有序结构,其中心有一个疏水核心形成空腔,使其能够包裹和输送药物、疫苗和其他治疗剂^[26]。Kaba等人^[27]基于疟疾寄生虫蛋白重复序列(DPPPPNPN)₂D设计了自组装纳米球,在注射后的6个月内,该纳米球成功保护小鼠免受疟原虫感染,证明了其在药物传递和疫苗开发中的潜在应用。此外,Pranothi等人^[28]设计合成出一种凝血酶敏感肽(TSP),如图1(b)所示,通过1-乙基-3-(3-(二甲基氨基)丙基)碳二亚胺(EDC)和N-羧基琥珀酰亚胺(NHS)化学反应将肽与蛛丝蛋白偶联,并配制成包封万古霉素的纳米球,证明该蛋白偶联物可用于制定靶向药物以对抗耐药菌株的感染。

1.2.2 纳米纤维/纳米管

AMPs纳米纤维呈圆柱状,其二级结构主要由 β -折叠构成,表现为双层结构特性。其外层主要由富含亲水

性侧链的氨基酸残基组成,有效提升了纳米纤维与水环境的亲和性;而内层则主要由疏水性残基构成,减少了纤维与水分子的接触面积,从而实现了良好的稳定性^[29]。纳米纤维直径通常小于100 nm,可以在水溶液中自发形成。在各种AMPs自组装过程中,以烷基侧链作为肽链尾端的肽两亲分子是形成纳米纤维结构的最常见的类型之一。科研人员针对抗菌肽纳米纤维研究开发了大量优良的自组装肽序列,如二肽FF、二肽Fmoc LG-OH、三肽RGD以及KLVFF等^[30]。Dai等人^[31]研究发现, GL13K作为一种源自唾液蛋白的AMP,具有抗菌活性并能促进骨再生。将市售胶原蛋白浸入GL13K溶液中,通过调节pH触发自组装过程,成功合成了一种名为COL-GL的多功能膜。COL-GL由相互渗透的胶原纤维和短GL13K纳米纤维组成,如图1(c)所示。它增加了疏水性,减缓了胶原酶的生物降解作用。这些特性使得COL-GL膜作为骨再生支架,能有效对抗菌挑战,并促进骨组织再生,因此COL-GL展现出作为生物医用材料的巨大潜力。

AMPs纳米管是一类在生物医学领域极具潜力的有机结构,由分子间氢键作用、 π - π 堆积作用及范德华力共同驱动形成.与AMPs纳米纤维不同,纳米管具有中空结构,这一特性使其能够在药物递送领域展现出显著的优势.纳米管能够通过其中空核心封装活性化合物,实现药物或治疗剂对靶位点的精准递送,有效提高治疗效果^[32].肽基纳米管根据其结构和组装机制可以分为多个亚类,如自组装环肽纳米管、基于二肽的多肽纳米管、N末端修饰肽纳米管和卷曲螺旋肽纳米管等.其中,最著名的是自组装环肽纳米管,它是通过环肽叠加形成管状结构产生的^[33].Hartgerink等人^[34]指出,环肽可以由D-和L- α -氨基酸交替形成,两种氨基酸之间的氢键提高了纳米管的稳定性.Valeria等人^[35]所设计的富含精氨酸的表面活性剂样肽R3L12,在pH 4水溶液中可以形成纳米管结构,并且在进一步降低pH时纳米管的数量和长度都会增加,如图1(d)所示.此外,自组装环肽纳米管的尺寸和外部性质易于控制,在不同的温度、pH或生物内部环境下,改变纳米管的主链或侧链基团可能会影响纳米管的性能.这种纳米管的超分子结构已广泛应用于细菌生物传感和纳米抗菌剂的制备^[36].

1.2.3 水凝胶

水凝胶作为一种新型材料,以其独特的三维网络结构、高亲水性以及出色的生物相容性引起了各学科研究人员的关注.水凝胶在隐形眼镜、人工肌肉、细胞分离和培养、药物控制和释放以及材料提取等方面具有显著优势^[37].水凝胶是由交联或纠缠的聚合物网络构建而成,是具有高水含量的三维基质,可以通过一系列合成聚合物或天然聚合物(如多肽)来制备.通过调整交联策略或聚合物骨架,可以定制基于AMPs的水凝胶的物理和化学性质,并实现后续响应功能.已有研究利用相对简单的肽序列,如两亲性抗菌肽和环肽,成功制备出多种水凝胶^[38].这些水凝胶具有良好的生物相容性,在生物医学领域更有优势.通过设计肽分子的氨基酸序列,可以通过氢键、范德华力和疏水作用力自发地将肽分子组装成纳米纤维结构.当浓度达到一定水平时,肽分子可以形成具有纤维网状结构的水凝胶.例如,Cleophas等人^[39]在生理条件下合成了具有良好聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)稳定性的杀菌水凝胶,对金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌具有良好的杀菌活性.Dona等人^[19]设计了一种短肽FHFF-11,它的硬度随pH的变化而变化,在pH低于6时呈液态,在生理范

围(pH 7~8)内形成水凝胶,如图1(e)所示,具有抗菌和自愈特性.水凝胶具有高效负载释放药物和抗菌剂的能力,在抗菌材料领域展现出显著的优势,这大大提高了抗菌剂的利用率,降低了其对细胞的毒性作用.因此,负载AMPs的水凝胶作为治疗细菌感染材料极具潜力.

2 自组装抗菌肽设计策略

按照Steed和Atwood的观点,超分子自组装可以被定义为“分子或离子自发且可逆的结合,根据分子本身所包含的内在信息形成更大、更复杂的超分子实体”^[40].用自下而上的方法设计和研究自组装抗菌肽来开发新型生物医用材料已成为一个热点.自组装肽的设计和开发尚未建立明确的规则,但是根据其不同的应用方向,自组装抗菌肽的设计策略也存在诸多差异.例如,在药物递送领域,自组装纳米抗菌肽的设计会着重于提高药物的包载效率、稳定性以及靶向性^[41].针对抗菌材料的应用,设计时会着重考虑抗菌肽的抗菌谱、耐药性发展以及生物相容性等.同样地,针对用于构建新型生物传感器的自组装抗菌肽,则更需要考虑荧光标记物的种类等^[42].总之,针对不同的目的,自组装抗菌肽的设计具有多面性,以获得更广泛的应用.

2.1 非共价力驱动AMPs组装

抗菌肽分子由各种非共价力相互作用介导形成自组装体.驱动自组装过程的非共价力包括氢键、疏水性作用力、静电作用力、范德华作用力和 π - π 堆积力等,它们相互协同、联合驱动自组装过程,使得自组装朝着整个系统的能量最小方向发展^[43].参与自组装的非共价相互作用的能量远低于共价键,但它们足以产生高度组织化和坚固的结构.分子自组装过程中涉及的非共价相互作用也是一个可逆过程,分子的组装或解聚过程可由外部或内部因素如pH、浓度、酶、温度等触发^[44],如图2(a)所示.

2.1.1 氢键

多肽可以通过主链上的酰胺基,侧链上的氨基、羟基和羧基等基团形成氢键.氢键是一种具有方向性、较强的分子内或分子间作用力^[10].在短肽自组装的过程中,主链之间、侧链官能团之间以及侧链官能团与溶剂分子之间的氢键作用均发挥了重要作用,利用肽链间氢键作用可形成稳定的 α -螺旋、 β -折叠等二级结构.谷氨酰胺形成的分子间氢键是基于肽超分子

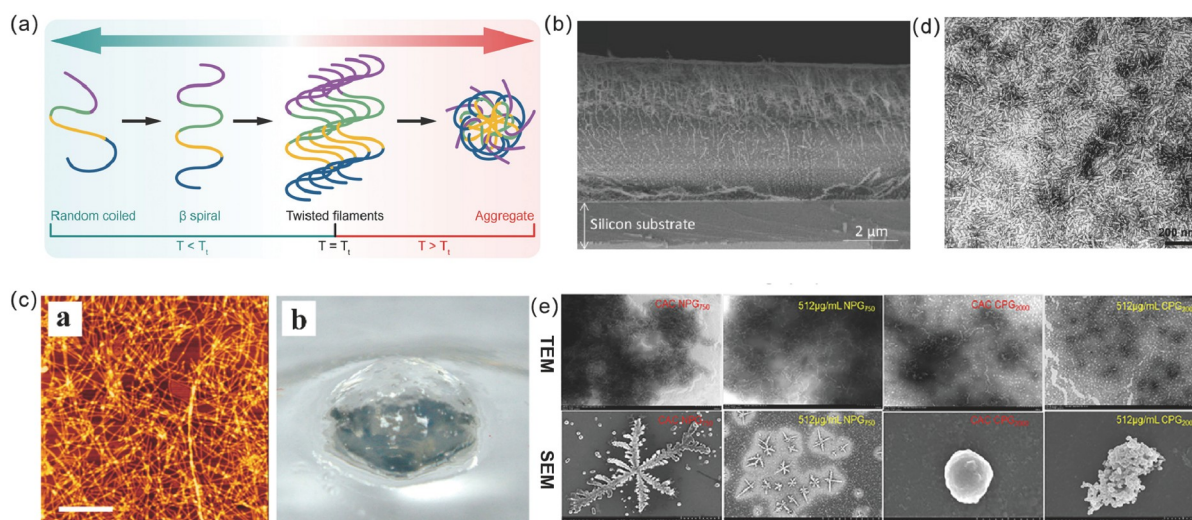


图2 (网络版彩色)温度响应肽原理及不同纳米肽表征图像。(a) 温度刺激响应自组装抗菌肽^[44]。(b) 在涂层上自组装的Fmoc-FFY水凝胶的SEM图像^[49]。(c) RADA16的AFM图像a和宏观图像b^[52]。(d) WMR2PA自组装纳米结构的TEM图像^[58]。(e) NPG750和CPG2000的TEM和SEM图像^[64]。
Figure 2 (Color online) Principles of temperature-responsive peptides and characterization images of different nanopeptides. (a) Temperature-stimulated response to self-assembled antimicrobial peptides^[44]. (b) SEM image of self-assembled Fmoc-FFY hydrogels on coatings^[49]. (c) AFM images a and macroscopic images b of RADA16^[52]. (d) TEM image of WMR2PA self-assembled nanostructures^[58]. (e) TEM and SEM images of NPG₇₅₀ and CPG₂₀₀₀^[64].

结构中所有次级相互作用中最强的。基于这些原则, Xu等人^[45]设计了一种自组装肽 $K_3W(QL)_6K_2$ 。通过分子间氢键和其他非共价力平衡, 该肽可自组装形成超分子纳米纤维, 具有出色的广谱抑菌活性, 最小抑菌浓度(minimal inhibit concentration, MIC)为5~20 $\mu\text{mol/L}$ 。Shruti等人^[46]利用从节肢动物毒液中分离出的具有良好治疗效果的抗菌肽Anoplin及其衍生物, 成功分析了Anoplin和Anoplin R5K T8W的结构稳定。研究表明, 与Anoplin的构象相比, 突变体R5K T8W的构象具有更近的氢键距离和更高的氢键径向分布函数, 从而实现了更高的结构稳定性。Anoplin R5K T8W是一种有前途的肽支架, 具有治疗应用价值。总之, 这些研究证明了氢键在多肽组装过程中发挥着重要作用, 通过精确设计肽序列以利用氢键, 不仅增强了自组装抗菌肽的结构稳定性, 而且为开发新型治疗性肽支架提供了有力的工具。

2.1.2 π - π 堆积

π - π 堆积在广义上是苯环之间的一种非共价力, π 电子共轭体系在满足一定特殊空间排布情况下展现出的弱相互作用, 主要存在于含芳香族氨基酸(如苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸等)的多肽分子中。研究表明, π - π 堆积作用可以诱导多肽分子定向排列, 驱动多肽发生自组装。肽自组装中最简单和最广泛认可的基序之一

是二苯丙氨酸基序(FF)^[47], 它是通过 π - π 堆积相互作用驱动自组装的最简单的基序。FF组装成纳米管, 表现出膜渗透特性, 导致应激相关基因的转录上调, 引起细菌形态异常。FF抗菌活性较弱, 可以通过与其他芳香族部分如9-苄基甲氧基羰基(Fmoc)连接, 形成新化合物Fmoc-FF, Fmoc-FF对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均表现出中等的抗菌活性^[48]。Miryam等人^[49]发了一种基于自组装Fmoc-FFY三肽的抗菌涂层。Fmoc-FFpY肽($p\text{-PO}_4^{2-}$)酶解磷酸化成Fmoc-FFY, 然后Fmoc-FFY肽通过 π - π 堆积作用与其他作用相协调自组装, 获得水凝胶涂层, 如图2(b)所示。这种涂层可以用于革兰氏阳性菌普遍存在的感染, 例如血管内导管感染。这项工作为设计一种抗菌涂层提供了新的见解。丁文强等人^[50]设计四肽WFFW通过 π - π 堆积形成纳米颗粒, 直径约为80 nm, 再通过促使RGD三肽和WFFW四肽发生共组装(即形成RGDWFFW), 直径增加为150 nm, 赋予了WFFW四肽靶向癌细胞的功能。 π - π 堆积可促进含芳香族氨基酸多肽的定向排列和自组装, 为自组装AMPs的设计和应用提供了新的策略。显然, 增加芳香性的化学修饰会增加 π - π 堆积的程度, 从而导致自组装倾向随之增强。

2.1.3 疏水作用力

疏水效应是非极性或非极性的分子或者官能团为了避免在水介质中暴露而自发聚集在一起的现象。在

短肽自组装过程中, 疏水效应主要来源于非极性氨基酸、烷基链、芳香基团等疏水性结构^[51]. 脂肽分子在水介质中的组装行为也依赖于疏水作用的自发聚集. 离子互补型肽作为一种具有前景的杀菌剂候选者, 其独特的极性氨基酸和非极性氨基酸交替排列的结构, 使其能够通过疏水残基驱动抗菌肽自组装. 例如, 肽 RADA16-I 就是离子互补型, 可通过疏水作用力自组装形成水凝胶结构, 如图2(c)所示, 具有生物相容性好、免疫原性低、生物降解性好、降解产物无毒等优点^[52]. 综上所述, 疏水效应在肽自组装中起着核心作用, 并与抗菌特性紧密相关. 利用疏水作用, 驱动多肽分子的自组装过程, 形成具有特定生物活性的水凝胶等高级结构, 在生物医学领域具有广泛的应用前景. 因此, 深入研究疏水效应在多肽自组装中的作用机制, 对于开发新型自组装AMPs具有重要意义.

2.1.4 静电作用

在分子自组装中, 静电相互作用是最基本的作用力, 主要产生于带有电荷或具有偶极的分子之间. 这种相互作用无方向性, 但键能较弱, 包括静电吸引、静电排斥, 分子内和分子间均有静电作用. 静电作用可以通过改变环境溶液的pH或离子强度来调节, 进而调控多肽的自组装过程^[53]. 由于不同氨基酸的等电点不同, 因此在不同pH条件下氨基酸的带电状态也不同, 从而能够通过调节pH来利用静电作用设计具有自组装能力的抗菌肽. 如肽KLD-12(KLDLKLDDL)可利用静电作用力自组装形成水凝胶结构, 具有良好的生物相容性^[54]. 利用静电相互作用可以设计具有pH响应的自组装抗菌肽, 使其在药物递送系统和智能生物材料中展现出潜在的应用价值^[55], 凸显了静电相互作用在抗菌肽自组装开发中的重要作用.

2.2 化学修饰

肽的翻译后修饰是使肽构建体多样化和产生新肽结构的重要策略. 这些修饰主要作用于巯基、胺基或羟基官能团, 以进一步帮助生物体在不同的细胞环境中动态地控制肽的结构和功能^[56]. 这些化学修饰可以提高对内肽酶和外肽酶(包括胰蛋白酶、氨肽酶和羧肽酶等)的抗性以增强其生物活性和稳定性. 不同的化学修饰, 如脂肪酸修饰、PEG修饰、糖基化等都具有独特的优势, 不同的修饰在操纵AMPs构象、调节疏水性和对目标微生物的活性方面显示出特定的益处. AMPs的脂化可以提高肽的疏水性, 促进在细胞膜插入

和孔形成, 从而引起细菌膜不稳定; PEG修饰则可以提高肽的生物相容性、降低其被蛋白酶水解的风险; AMPs的糖基化可能提高其稳定性, 并促进靶标结合和识别的特定局部构象^[57].

2.2.1 脂肪酸修饰

大多数具有良好抗菌活性的天然治疗性脂肽, 通常是从芽孢杆菌、类芽孢杆菌、假单胞菌和枝顶孢菌等微生物中分离出来的. 天然衍生的脂肽, 包括达托霉素、多黏菌素B和多黏菌素E, 已被美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于临床感染治疗^[29]. 脂肽是通过AMPs链与脂肪酸共价结合而形成的, 由于脂肪酸的加入, 疏水性增强, 可显著提高抗菌活性并有助于消除细菌生物膜. 同时, 脂肪酸为脂肽自组装提供了疏水作用力, 形成纳米结构, 从而进一步提高了蛋白酶稳定性. 通过插入不同的脂肪酸调节肽的疏水性、二级结构和自组装倾向, 是一种有前景的修饰方法^[29]. Lucia等人^[58]对天然肽myxinidin进行修饰, 将C₁₉H₃₈O₂(硬脂酸甲酯)与其末端赖氨酸的ε-氨基相连, 合成肽两亲物(WMR2PA). 如图2(d)所示, WMR2PA自组装形成的稳定纳米纤维可显著抑制铜绿假单胞菌和白色念珠菌生物膜的形成, 并且该纳米纤维经过胰蛋白酶处理4 h后仍保持了抗菌活性. 因此, 通过引入适合的脂肪酸插入, 可以调节肽的疏水性和自组装行为, 为抗菌肽的优化提供了一种有效的策略. 然而, AMPs的高疏水性通常意味着高毒性和高溶血活性, 因此, 在采用这种修饰策略时, 必须在抗菌效果、生物相容性和稳定性之间找到恰当的平衡点.

2.2.2 PEG修饰

PEG修饰是一种简便而通用的策略, 它利用了PEG这一由重复乙二醇结构组成的分子质量不等的高分子材料, PEG可以通过与多肽上氨基、羟基及巯基等基团发生反应完成PEG修饰^[59]. PEG修饰为纳米药物的研发开辟了新的途径, 是一种成功的AMPs自组装策略, 可有效解决肽类药物在临床应用中的众多问题. 研究表明, 应用PEG可生成具有优异抗胰蛋白酶水解能力和低细胞毒性的AMPs衍生物活性药物, 为AMPs的进一步临床应用提供了理论基础^[60].

近年来, 随着对PEG修饰技术研究的深入, 修饰反应的专一性、修饰率以及修饰后多肽的治疗效果都有了显著提升^[61]. Hong等人^[62]将杆菌肽A的N端与聚乙二醇化PLGA共聚物缀合, 构建出了聚乙二醇化自组装纳米颗粒, 用于治疗侵袭性感染. 另外, 研究表明, 对T9W

(CT9W1000)的C端进行聚乙二醇化,可使其对铜绿假单胞菌的抑制作用增强,抗菌谱也有所拓宽^[63]。通过引入PEG偶联修饰,我们成功将猪源抗菌肽PG-1转化为有效的纳米抗菌剂,通过N端或C端偶联的PEG分别形成NPG_n和CPG_n,其中NPG₇₅₀和CPG₂₀₀₀分别形成纤维状和球形纳米结构,NPG₇₅₀倾向于形成致密的纳米纤维网状结构,而CPG₂₀₀₀倾向于形成直径约为20 nm的球形胶束,如图2(e)所示。PEG偶联修饰不仅大大提高了PG-1的蛋白水解抗性,而且提高了AMPs的抗菌活性,NPG₇₅₀和CPG₂₀₀₀对大肠杆菌K88的MIC值分别为16和2 μg/mL^[64]。

然而,通过聚乙二醇化改善AMPs的特性通常会牺牲抗菌效力。此外,分子量越大的聚乙二醇,生物降解性越差。同时,在人体器官和组织中聚集可能会引发免疫系统的过激反应,这是长期使用聚乙二醇化药物的一个潜在的问题。聚乙二醇化肽的性质受多种因素影响,例如聚乙二醇分子的长度、构象和连接类型等^[65]。目前临床上使用的聚乙二醇化AMPs仍然缺乏,表明通过聚乙二醇化提高AMPs的蛋白水解稳定性实现临床应用并不容易,但基于聚乙二醇化肽微凝胶等策略的提出,有望减轻AMPs聚乙二醇化带来的负面影响,为实现AMPs临床应用提高了更多可能性^[66]。

2.2.3 糖基化修饰

糖基化肽是一种多价糖缀合物,在治疗耐药菌感染和替代抗生素方面具有巨大潜力。糖基化作为一种重要的修饰策略,可扩展AMPs结构和功能的多样性。聚糖与肽上的特定残基共价连接,包括N-糖基化(Asn)、O-糖基化(Ser、Thr或Tyr)、C-糖基化(Trp)和S-糖基化(Cys)四种类型^[3]。聚糖基团的存在有助于实现蛋白质折叠、蛋白质识别、宿主免疫和靶点特异性,这对抗菌活性产生了积极影响。AMPs糖基化的应用在改变肽的生物学特性方面具有重要作用,可以掩盖蛋白酶切割位点,使AMPs难以被蛋白酶识别从而提高稳定性^[67]。特别是N-连接糖基化,已被证明能够有效改变肽的半衰期和生物利用度^[68]。例如,恩夫韦肽是一种新型抗逆转录病毒药物,通过糖基化可保护其免受肾脏快速清除,将其半衰期延长10倍以上,且不影响其对靶标病毒的敏感性^[69]。糖基化修饰较PEG修饰更可取,因为它不会引发由于引入合成聚合物而造成的安全问题,同时在技术实现上也更具可行性。此外,虽然增强的蛋白水解抗性和糖基化修饰之间存在关系,但用于AMPs糖基化修饰的糖基化位点、聚糖组成和长度等方面仍

然需要更系统的研究^[70]。

3 自组装纳米抗菌肽的应用

3.1 细菌感染治疗

3.1.1 腹腔感染治疗

细菌性腹膜炎是腹部手术、创伤或腹腔内感染的常见并发症,可导致多系统衰竭甚至死亡。小鼠腹膜炎模型常用于评估AMPs治疗体内细菌感染的潜力,为临床治疗提供理论和实验依据^[71]。

针对小鼠腹膜炎症状的治疗研究中,有关脂肽类物质的研究成果颇为丰硕。以人α-防御素5(HD5)为例,HD5经过肉豆蔻酸(14碳饱和脂肪酸)修饰后可自发形成纳米球^[72],所形成的HD5-myr纳米球不仅展现出优异的体外抑菌活性,而且在大肠杆菌诱导的小鼠腹膜炎模型中,如图3(a)所示,HD5-myr纳米球以剂量依赖的方式显著延长了感染小鼠的存活时间。经过脂肽处理的小鼠肺、肝与正常小鼠外观未观察到明显差异,并保持正常的功能,如图3(b)所示。脂肪酸修饰肽增强了肽分子的疏水性,使肽分子对细菌膜表层具有更强的结合能力,从而提高了肽分子在治疗腹部感染中的有效性。自组装抗菌肽在治疗腹腔感染方面展现出显著的潜力和效果,为替抗药物的开发提供了有效解决方案,有望成为临床上对抗腹腔感染,尤其是那些对传统抗生素耐药菌感染的重要治疗选择。

3.1.2 肺部感染治疗

由细菌感染引发的肺炎是常见的感染性疾病,对人类健康造成的危害极大。自抗生素问世以来,细菌性肺炎的病死率显著下降,但随着耐药菌的出现,急需开发新的抗菌药物。自组装AMPs在治疗肺部感染方面具有巨大潜力,大量设计用于治疗肺部感染的肽在小鼠模型中展现出良好的治疗效果。例如,Tripti等人^[73]设计了抗菌肽M3,该肽在有机溶剂中可形成纳米纤维和纳米片结构。研究显示,M3具有优异抑菌活性(MIC为5~10 μmol/L)。此外,它还能与脂多糖(LPS)结合,并展现出显著的抗LPS特性,如图3(c, d)所示。在试验中,腹腔内注射LPS刺激小鼠肺部出现炎症和损伤,模拟急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的情况。对LPS刺激后小鼠肺组织进行评估,结果显示组织发生了明显变化,包括肺泡水肿和肺泡壁增厚。当对ALI小鼠用M3治疗后,这些组织得到明显改善,如图3(e)所示。因此,M3减轻了小鼠体内LPS介导的肺泡水肿和肺泡壁增厚等肺部

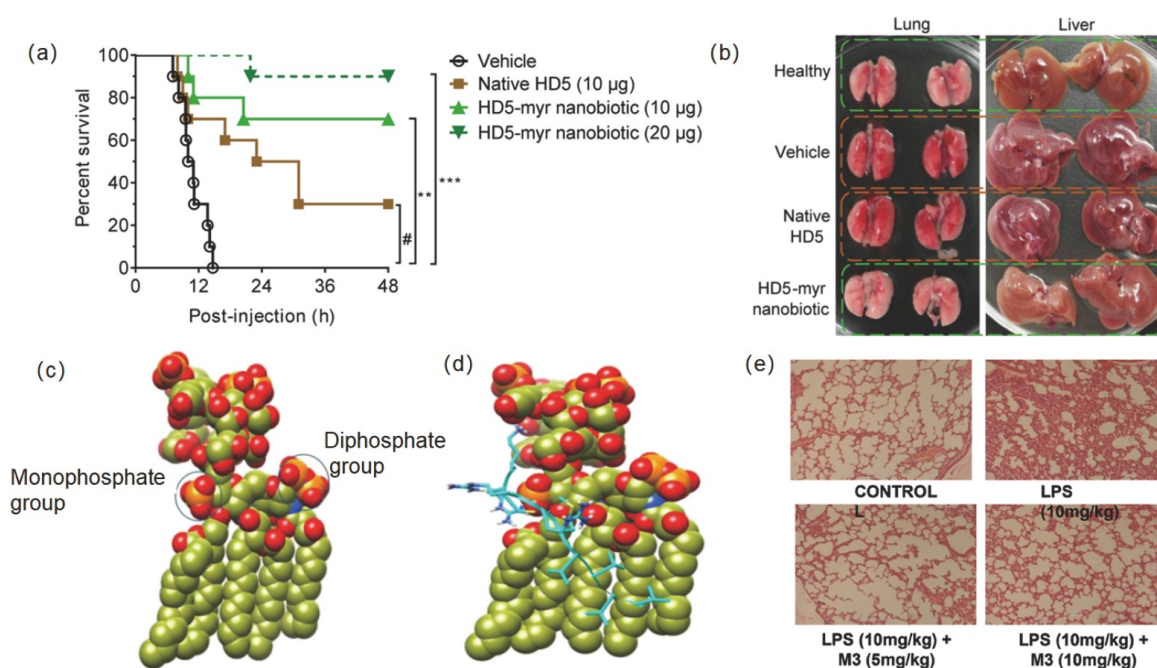


图 3 (网络版彩色)不同自组装抗菌肽的治疗效果。(a) 纳米制剂HD5-myr治疗细菌性败血症的疗效观察^[72]。(b) 患病鼠用HD5-myr处理8 h后肺、肾与正常小鼠的对比^[72]。(c) LPS结构^[73]。(d) 肽M3与LPS复合物结构^[73]。(e) LPS组、LPS+M3组(5 mg/kg)和LPS+M3组(10 mg/kg)肺切片的组织对比^[73]

Figure 3 (Color online) Therapeutic effects of different self-assembled antimicrobial peptides. (a) Therapeutic efficacy of the HD5-myr nanobiotics in bacterial sepsis^[72]. (b) Comparison of lungs and kidneys of diseased mice treated with HD5-myr for 8 hours with normal mice^[72]. (c) LPS structure^[73]. (d) Structure of peptide M3 in complex with LPS^[73]. (e) Tissue comparison of lung sections in LPS group, LPS + M3 group (5 mg/kg) and LPS + M3 group (10 mg/kg)^[73]

炎症症状,并在致死剂量的LPS下提高了小鼠的存活率(10 mg/kg剂量下80%的存活率)。这一研究为新型自组装抗菌肽在肺部感染治疗中的应用提供了有力的支持。

3.1.3 皮肤伤口感染治疗

皮肤伤口愈合是一个极为复杂而需要高度协调的过程,由4个重叠的阶段组成:止血阶段、局部炎症反应阶段、细胞增殖分化和组织塑形阶段,任何一个阶段出现问题都可能导致伤口愈合进程受阻^[74]。而造成伤口愈合缓慢的主要因素是微生物定植,感染的伤口为细菌提供了生长的温床,导致高发病率。细菌伤口感染被认为是伤口愈合过程中最严重的并发症之一^[75]。针对这个问题,自组装AMPs被视为治疗皮肤伤口细菌感染具有显著疗效的关键技术。

水凝胶AMPs已成为治疗皮肤细菌感染的重要手段,水凝胶是理想的伤口敷料,广泛用于促进伤口愈合,是治疗开放性伤口最常用的药物载体^[59]。由于其多孔网络结构,水凝胶不仅可以用作药物递送介质,还可以吸收伤口血液和组织渗出物^[76]。基于肽的自组装水凝

胶以及载体水凝胶是目前研究最广泛的治疗皮肤细菌感染的策略。在一项研究中,设计并合成了Amoc(9-蒎基甲氧基羰基)封端的二肽,由于各种非共价力驱动,可自组装成水凝胶结构,通过掺入 β -环糊精(β -Cyclodextrin, β -CD)可以调整该水凝胶的机械强度,从而形成适合伤口愈合应用的稳定的自组装水凝胶^[77]。在感染模型中,该自组装抗菌肽治疗后的愈合程度与抗生素药物治疗效果相当。此外,Hou等人^[78]以壳聚糖和 β -聚赖氨酸为主要成分,开发了一系列具有优良抗菌止血性能的多糖基肽水凝胶。在小鼠皮肤伤口感染模型中,GC-EPL冷冻凝胶治疗组在第12天的伤口闭合率超过85%。这种新型复合水凝胶由不同功能的生物材料和抗菌肽组成,它们不仅具有基本的抗菌作用,还具有止血和促进伤口愈合的额外好处,为治疗细菌性皮肤感染提供了一种新的思路。Hua等人^[79]将自组装肽接枝于O-羧甲基壳聚糖上,得到了一种基于蜂毒素设计的新抗菌肽mel-d1水凝胶,可加速大肠杆菌感染引起的伤口愈合速度和皮肤组织再生。

3.2 其他应用

自组装抗菌肽除了在治疗细菌感染方面的显著效果外,还在多个领域展现出其重要价值,例如细胞增殖、抗癌、生物成像和3D打印等。目前,肽作为抗癌剂已经成为新的治疗手段和分子工具,AMPs通过破坏癌细胞膜或抑制其代谢过程,能够诱导细胞形态变化和死亡,从而抑制肿瘤生长和转移^[80]。研究表面,设计能够靶向并穿透线粒体的肽是一种有前景的杀死肿瘤细胞的方法^[81]。自组装抗菌肽具有天然的荧光性质或可通过修饰引入荧光团,可应用于生物成像技术中,如荧光显微镜和活体成像。天然荧光性质与特定的氨基酸有关,如苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸,可以通过自组装形成有序结构,将荧光信号从紫外区域转移到可见区域,Tao等人^[82]设计了基于色氨酸的芳香环二肽,将肽皮下注射到裸鼠体内,可检测出明显的可见光和近红外荧光信号。自组装抗菌肽由于具有适当的机械强度和刚度,可用于3D生物打印中,有研究将带有相反电荷的二元肽通过三维生物打印技术来模拟细胞外基质^[83]。这些应用展示了自组装抗菌肽的多样性和创新性,预示着未来在生物医药和生物技术领域中,它们将发挥越来越重要的作用。随着研究的深入和技术的进步,将开发出更多基于自组装抗菌肽的创新产品 and 治疗方法。

4 总结和展望

抗生素是治疗和控制细菌感染的重要方式。然而,由于细菌耐药性的出现,细菌感染治疗变得困难复杂,导致治疗失败的情况屡见不鲜。因此,开发新型、有效抗菌药物的需求日益迫切。AMPs作为一种新型替代抗菌剂,由于其具有独特的抗菌特性而广受关注。然而,AMPs在临床应用中存在一些弊端,如稳定性差、毒性高、抗菌活性弱等。抗菌肽自组装形成纳米制剂可以增强AMPs的杀菌能力,在一定程度上克服AMPs的缺点,并且可以通过调整自组装结构,进一步提高AMPs的生物相容性。

在过去的30年中,已经开发了多种自组装纳米肽。本文简要分析了自组装AMPs的分子基础,即不同氨基酸对自组装的影响和贡献,通过调整氨基酸的种类和排列顺序,可以控制自组装肽的形状和大小。对自组装AMPs的各类结构如纳米球、纳米纤维、纳米管等的形成及应用进行了讨论,例如,纳米纤维结构可以增加

材料的机械强度,而纳米球结构则更适合于药物传递和释放。本文主要探讨了自组装AMPs设计策略,以及这些自组装AMPs在治疗细菌感染方面的潜力。自组装的设计策略主要基于两种驱动力:非共价力和化学修饰。非共价力包括氢键、范德华力、静电相互作用和疏水作用等,这些力促使分子间形成稳定的相互作用,从而促进自组装过程。化学修饰则涉及对分子结构进行特定的化学改变,以增强其自组装的能力或调节其性能。自组装AMPs的分子结构通常具有特定的氨基酸序列,这些序列决定了它们能够通过非共价力自发地组装成具有抗菌活性的纳米结构。这些纳米结构不仅能够针对细菌细胞壁进行有效的攻击,而且能够减少对宿主细胞的毒性,从而提高了治疗的安全性。在评估自组装AMPs的应用方面,介绍了细菌感染治疗,包括腹腔、皮肤伤口和肺部细菌感染。研究结果显示,一些自组装AMPs在治疗细菌性感染方面与传统的抗菌药物具有相当的疗效,甚至在某些情况下表现得更为优越。此外,本文还介绍了自组装抗菌肽在细胞增殖、抗癌、生物成像和3D打印等方面的应用,表明了自组装抗菌肽作为新兴材料的优越性。总体而言,本文强调了自组装技术在抗菌肽设计中的重要性,这种策略能够提供新的抗菌治疗手段,有助于解决抗生素耐药性日益严重的问题,自组装AMPs有望成为未来抗菌治疗的新选择。

尽管自组装AMPs展现出强大的抗菌潜力,但实际应用于临床治疗仍然受到生产技术局限性、肽的物理和化学降解以及较高剂量下的细胞毒性的限制。面对未来,自组装AMPs的发展要聚焦于改善生产技术以提升效率、降低生产成本,使得自组装AMPs更具有经济可行性,有助于其广泛应用。其次,通过精心设计AMPs的氨基酸序列,以形成具有高抗菌活性、低细胞毒性和良好稳定性的分子,这对于提高治疗效果和安全性至关重要。此外,集成智能响应系统能够使AMPs在特定的生物标志物或环境条件下激活,从而实现精准治疗;多模式作用机制的探索有助于克服细菌的耐药性,提高抗菌肽的有效性;高效药物递送系统的构建将提高AMPs的生物利用度,确保它们能够精确地到达感染部位;组合疗法的开发将通过协同作用增强抗菌效果,同时减少耐药性的发展。通过这些综合策略,自组装抗菌肽有望成为克服细菌耐药性并为精准医疗提供有力工具。

因此,AMPs自组装应用于耐药细菌感染的治疗中仍需克服诸多挑战,发展道路漫长。自组装抗菌肽还有

许多领域有待开发。总之,未来自组装抗菌肽应重点聚焦于提升体内治疗的效果和安全性,调整构建策略,以获得生物学功能最佳的AMPs。尽管还有众多的障碍需

要克服,但随着对自组装AMPs治疗细菌感染等方面的持续不断探索,自组装AMPs临床应用必将拥有光明的前景。

参考文献

- Carmona-Ribeiro A M. Self-assembled antimicrobial nanomaterials. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15: 1408
- Darby E M, Trampari E, Siasat P, et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nat Rev Microbiol*, 2023, 21: 280–295
- Li W, Separovic F, O'Brien-Simpson N M, et al. Chemically modified and conjugated antimicrobial peptides against superbugs. *Chem Soc Rev*, 2021, 50: 4932–4973
- Mandal S M, Khan J, Mahata D, et al. A self-assembled clavanin A-coated amniotic membrane scaffold for the prevention of biofilm formation by ocular surface fungal pathogens. *Biofouling*, 2017, 33: 881–891
- Zhang Y, Liu Y, Tang Y, et al. Antimicrobial α -defensins as multi-target inhibitors against amyloid formation and microbial infection. *Chem Sci*, 2021, 12: 9124–9139
- Vahedifar A, Wu J. Self-assembling peptides: Structure, function, in silico prediction and applications. *Trends Food Sci Tech*, 2022, 119: 476–494
- Agrillo B, Porritiello A, Gratio L, et al. Antimicrobial activity, membrane interaction and structural features of short arginine-rich antimicrobial peptides. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1244325
- Carratalá J V, Serna N, Villaverde A, et al. Nanostructured antimicrobial peptides: The last push towards clinics. *Biotechnol Adv*, 2020, 44: 107603
- Qiu X C, Fan C X, Bai R, et al. Advances in applications of nanoenzymes in antibiotic detection (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2024, 69: 553–564 [邱星辰, 范存霞, 白瑞, 等. 纳米酶在抗生素检测中的应用进展. 科学通报, 2024, 69: 553–564]
- Baltutis V, O'Leary P D, Martin L L. Self-assembly of linear, natural antimicrobial peptides: An evolutionary perspective. *ChemPlusChem*, 2022, 87: e202200240
- Zou P, Chen W T, Sun T, et al. Recent advances: Peptides and self-assembled peptide-nanosystems for antimicrobial therapy and diagnosis. *Biomater Sci*, 2020, 8: 4975–4996
- Doolan J A, Williams G T, Hilton K L F, et al. Advancements in antimicrobial nanoscale materials and self-assembling systems. *Chem Soc Rev*, 2022, 51: 8696–8755
- Das A K, Gavel P K. Low molecular weight self-assembling peptide-based materials for cell culture, antimicrobial, anti-inflammatory, wound healing, anticancer, drug delivery, bioimaging and 3D bioprinting applications. *Soft Matter*, 2020, 16: 10065–10095
- Ahuja R, Shivhare V, Konar A D. Recent advances in smart self-assembled bioinspired hydrogels: A bridging weapon for emerging health care applications from bench to bedside. *Macromol Rapid Commun*, 2024, 2400255
- Qi R, Zhang N, Zhang P, et al. Gemini peptide amphiphiles with broad-spectrum antimicrobial activity and potent antibiofilm capacity. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 17220–17229
- Salih M, Walvekar P, Omolo C A, et al. A self-assembled polymer therapeutic for simultaneously enhancing solubility and antimicrobial activity and lowering serum albumin binding of fusidic acid. *J Biomol Structure Dyn*, 2021, 39: 6567–6584
- Ye Z, Aparicio C. Modulation of supramolecular self-assembly of an antimicrobial designer peptide by single amino acid substitution: Implications on peptide activity. *Nanoscale Adv*, 2019, 1: 4679–4682
- Castelletto V, Edwards-Gayle C J C, Hamley I W, et al. Model self-assembling arginine-based tripeptides show selective activity against *Pseudomonas* bacteria. *Chem Commun*, 2020, 56: 615–618
- Edirisinghe D I U, D'Souza A, Ramezani M, et al. Antibacterial and cytocompatible pH-responsive peptide hydrogel. *Molecules*, 2023, 28: 4390
- Zhang J, Liu S, Li H, et al. Tryptophan-based self-assembling peptides with bacterial flocculation and antimicrobial properties. *Langmuir*, 2020, 36: 11316–11323
- Gatto E, Toniolo C, Venanzi M. Peptide self-assembled nanostructures: From models to therapeutic peptides. *Nanomaterials*, 2022, 12: 466
- Distaffen H E, Jones C W, Abraham B L, et al. Multivalent display of chemical signals on self-assembled peptide scaffolds. *Peptide Sci*, 2021, 113: e24224
- Sun L, Li A, Hu Y, et al. Self-assembled fluorescent and antibacterial GHK-Cu nanoparticles for wound healing applications. *Part Part Syst Charact*, 2019, 36: 1800420
- Anwar S, Khawar M B, Afzal A, et al. Self-assembled and Zn(II)-coordinated dipeptide nanoparticles with membrane-rupturing action on bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2023, 107: 5775–5787

- 25 Lai Z, Jian Q, Li G, et al. Self-assembling peptide dendron nanoparticles with high stability and a multimodal antimicrobial mechanism of action. *ACS Nano*, 2021, 15: 15824–15840
- 26 Kumar V, van Rensburg W, Snoep J L, et al. Antimicrobial nano-assemblies of tryptocidine C, a tryptophan-rich cyclic decapeptide, from ethanolic solutions. *Biochimie*, 2023, 204: 22–32
- 27 Zavala F, Tam J P, Barr P J, et al. Synthetic peptide vaccine confers protection against murine malaria. *J Exp Med*, 1987, 166: 1591–1596
- 28 Mulinti P, Shreffler J, Hasan R, et al. Infection responsive smart delivery of antibiotics using recombinant spider silk nanospheres. *Pharmaceutics*, 2021, 13: 1358
- 29 Vicente-García C, Colomer I. New antimicrobial self-assembling short lipopeptides. *Org Biomol Chem*, 2021, 19: 6797–6803
- 30 Levin A, Hakala T A, Schnaider L, et al. Biomimetic peptide self-assembly for functional materials. *Nat Rev Chem*, 2020, 4: 615–634
- 31 Dai J, Fischer N G, Rahimi J R, et al. Interpenetrating nanofibrillar membrane of self-assembled collagen and antimicrobial peptides for enhanced bone regeneration. *Int J Biol Macromol*, 2024, 267: 131480
- 32 Fan Y, Li X D, He P P, et al. A biomimetic peptide recognizes and traps bacteria *in vivo* as human defensin-6. *Sci Adv*, 2020, 6: eaaz4767
- 33 Nielsen J E, Alford M A, Yung D B Y, et al. Self-assembly of antimicrobial peptoids impacts their biological effects on *ESKAPE* bacterial pathogens. *ACS Infect Dis*, 2022, 8: 533–545
- 34 Hernandez A, Hartgerink J D, Young S. Self-assembling peptides as immunomodulatory biomaterials. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1139782
- 35 Castelletto V, Seitsonen J, Ruokolainen J, et al. Peptide nanotubes self-assembled from leucine-rich alpha helical surfactant-like peptides. *Chem Commun*, 2020, 56: 11977–11980
- 36 Juanes-Gusano D, Santos M, Reboto V, et al. Self-assembling systems comprising intrinsically disordered protein polymers like elastin-like recombinamers. *J Peptide Sci*, 2022, 28: e3362
- 37 Swain J W R, Yang C Y, Hartgerink J D. Orthogonal self-assembly of amphiphilic peptide hydrogels and liposomes results in composite materials with tunable release profiles. *Biomacromolecules*, 2023, 24: 5018–5026
- 38 Song L F, Zhao J, Yuan X Y. Strengthening of hydrogels based on polysaccharide and polypeptide (in Chinese). *Prog Chem*, 2014, 26: 385–393 [宋利锋, 赵瑾, 袁晓燕. 多糖多肽水凝胶的增强研究. *化学进展*, 2014, 26: 385–393]
- 39 Cleophas R T C, Sjollem J, Busscher H J, et al. Characterization and activity of an immobilized antimicrobial peptide containing bactericidal PEG-hydrogel. *Biomacromolecules*, 2014, 15: 3390–3395
- 40 Sani M A, Le Brun A P, Separovic F. The antimicrobial peptide maculatin self assembles in parallel to form a pore in phospholipid bilayers. *Biochim Biophys Acta-Biomembr*, 2020, 1862: 183204
- 41 Serna N, López-Laguna H, Aceituno P, et al. Efficient delivery of antimicrobial peptides in an innovative, slow-release pharmacological formulation. *Pharmaceutics*, 2023, 15: 2632
- 42 Pardoux É, Boturyn D, Roupioz Y. Antimicrobial peptides as probes in biosensors detecting whole bacteria: A review. *Molecules*, 2020, 25: 1998
- 43 Bui Thi Phuong H, Doan Ngan H, Le Huy B, et al. The amphipathic design in helical antimicrobial peptides. *ChemMedChem*, 2024, 19: e202300480
- 44 Li Y, Yang G, Gerstweiler L, et al. Design of stimuli-responsive peptides and proteins. *Adv Funct Mater*, 2022, 33: 2210387
- 45 Xu D, Jiang L, Singh A, et al. Designed supramolecular filamentous peptides: Balance of nanostructure, cytotoxicity and antimicrobial activity. *Chem Commun*, 2015, 51: 1289–1292
- 46 Ranade S S, Ramalingam R. Hydrogen bonds in anoplin peptides aid in identification of a structurally stable therapeutic drug scaffold. *J Mol Model*, 2020, 26: 1–3
- 47 Schnaider L, Brahmachari S, Schmidt N W, et al. Self-assembling dipeptide antibacterial nanostructures with membrane disrupting activity. *Nat Commun*, 2017, 8: 1365
- 48 Yang Z, He S, Wu H, et al. Nanostructured antimicrobial peptides: Crucial steps of overcoming the bottleneck for clinics. *Front Microbiol*, 2021, 12: 710199
- 49 Criado-Gonzalez M, Iqbal M H, Carvalho A, et al. Surface triggered self-assembly of fmoc-tripeptide as an antibacterial coating. *Front Bioeng Biotechnol*, 2020, 8: 938
- 50 Ding W Q. Construction of oligopeptide self-assembled nanomaterials and their biomedical applications (in Chinese). Master Dissertation. Wuhan: South-Central Minzu University, 2019 [丁文强. 寡肽自组装纳米材料的构建及其生物医学应用. 硕士学位论文. 武汉: 中南民族大学, 2019]
- 51 Zhang Y, Algburi A, Wang N, et al. Self-assembled cationic amphiphiles as antimicrobial peptides mimics: Role of hydrophobicity, linkage type, and assembly state. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2017, 13: 343–352
- 52 Guo W, Ma Y, Hu L, et al. Modification strategies for ionic complementary self-assembling peptides: Taking RADA16-I as an example. *Polymers*,

- 2022, 14: 5221
- 53 Silva Junior A G, Oliveira M D L, Oliveira I S, et al. A simple nanostructured impedimetric biosensor based on clavanin a peptide for bacterial detection. *Sens Actuat B-Chem*, 2018, 255: 3267–3274
- 54 Sun J, Zheng Q, Wu Y, et al. Biocompatibility of KLD-12 peptide hydrogel as a scaffold in tissue engineering of intervertebral discs in rabbits. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2010, 30: 173–177
- 55 Xu Y S, Ren X Y, Yu M Z, et al. Nanotechnology-based drug delivery strategies for cancer therapy (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2023, 68: 4346–4372 [徐寅生, 任翔宇, 余梦真, 等. 基于纳米技术的药物递送策略及其在癌症治疗中的应用. *科学通报*, 2023, 68: 4346–4372]
- 56 Wang G. Post-translational modifications of natural antimicrobial peptides and strategies for peptide engineering. *CBIOT*, 2012, 1: 72–79
- 57 Zhang L, Pan Y H, Yuan Y, et al. Research progress on structure modification of antimicrobial peptides targeting membrane disruption (in Chinese). *Chin J Antibiot*, 2023, 48: 721–727 [张良, 潘滢浩, 袁瑜, 等. 基于细胞膜损伤机制的抗菌肽结构优化研究进展. *中国抗生素杂志*, 2023, 48: 721–727]
- 58 Lombardi L, Shi Y, Falanga A, et al. Enhancing the potency of antimicrobial peptides through molecular engineering and self-assembly. *Biomacromolecules*, 2019, 20: 1362–1374
- 59 Saikia A K, Aggarwal S, Mandal U K. Preparation and controlled drug release characteristics of thermoresponsive PEG/poly (NIPAM-co-AMPS) hydrogels. *Int J Polymic Mater*, 2013, 62: 39–44
- 60 Imura Y, Nishida M, Matsuzaki K. Action mechanism of PEGylated magainin 2 analogue peptide. *Biochim Biophys Acta-Biomembr*, 2007, 1768: 2578–2585
- 61 Saeed S I, Mergani A E, Aklilu E, et al. Antimicrobial peptides: Bringing solution to the rising threats of antimicrobial resistance in livestock. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 851052
- 62 Hong W, Zhao Y, Guo Y, et al. PEGylated self-assembled nano-bacitracin A: Probing the antibacterial mechanism and real-time tracing of target delivery *in vivo*. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 10688–10705
- 63 Yu W, Sun Y, Li W, et al. Self-assembly of antimicrobial peptide-based micelles breaks the limitation of trypsin. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15: 494–510
- 64 Yu W, Wang J, Wang Z, et al. PEGylation of the antimicrobial peptide PG-1: A link between propensity for nanostructuring and capacity of the antitrypsin hydrolytic ability. *J Med Chem*, 2021, 64: 10469–10481
- 65 Perinelli D R, Campana M, Singh I, et al. PEGylation affects the self-assembling behaviour of amphiphilic octapeptides. *Int J Pharm*, 2019, 571: 118752
- 66 Rajesh Krishnan G, Cheah C, Sarkar D. Hybrid cross-linking characteristics of hydrogel control stem cell fate. *MacroMol Biosci*, 2015, 15: 747–755
- 67 Kim I, Jin S M, Han E H, et al. Structure-dependent antimicrobial theranostic functions of self-assembled short peptide nanoagents. *Biomacromolecules*, 2017, 18: 3600–3610
- 68 Li F F, Brimble M A. Using chemical synthesis to optimise antimicrobial peptides in the fight against antimicrobial resistance. *Pure Appl Chem*, 2019, 91: 181–198
- 69 Duffalo M L, James C W. Enfuvirtide: A novel agent for the treatment of HIV-1 infection. *Ann Pharmacother*, 2003, 37: 1448–1456
- 70 Restuccia A, Seroski D T, Kelley K L, et al. Hierarchical self-assembly and emergent function of densely glycosylated peptide nanofibers. *Commun Chem*, 2019, 2: 53
- 71 Bennett R C, Oh M W, Kuo S H, et al. Random peptide mixtures as safe and effective antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA in mouse models of bacteremia and pneumonia. *ACS Infect Dis*, 2021, 7: 672–680
- 72 Lei R, Hou J, Chen Q, et al. Self-assembling myristoylated human α -defensin 5 as a next-generation nanobiotics potentiates therapeutic efficacy in bacterial infection. *ACS Nano*, 2018, 12: 5284–5296
- 73 Kumari T, Verma D P, Kuldeep J, et al. 10-Residue MyD88-peptide adopts β -sheet structure, self-assembles, binds to lipopolysaccharides, and rescues mice from endotoxin-mediated lung-infection and death. *ACS Chem Biol*, 2022, 17: 3420–3434
- 74 Liu H, Wang C, Li C, et al. A functional chitosan-based hydrogel as a wound dressing and drug delivery system in the treatment of wound healing. *RSC Adv*, 2018, 8: 7533–7549
- 75 Xuan J, Feng W, Wang J, et al. Antimicrobial peptides for combating drug-resistant bacterial infections. *Drug Resist Updat*, 2023, 68: 100954
- 76 Li Z Y, Gu L L, Tong Z H, et al. Functional modification and application progress of hydrogels (in Chinese). *Polymer Bull*, 2019, (8): 7–13 [李子怡, 顾丽莉, 佟振浩, 等. 水凝胶功能改性研究与应用进展. *高分子通报*, 2019, (8): 7–13]
- 77 Zhu H, Mei X, He Y, et al. Fast and high strength soft tissue bioadhesives based on a peptide dendrimer with antimicrobial properties and

- hemostatic ability. [ACS Appl Mater Interfaces](#), 2020, 12: 4241–4253
- 78 Hou S, Liu Y, Feng F, et al. Polysaccharide-peptide cryogels for multidrug-resistant-bacteria infected wound healing and hemostasis. [Adv Healthcare Mater](#), 2020, 9: 1901041
- 79 Huan Y, Kong Q, Tang Q, et al. Antimicrobial peptides/ciprofloxacin-loaded O-carboxymethyl chitosan/self-assembling peptides hydrogel dressing with sustained-release effect for enhanced anti-bacterial infection and wound healing. [Carbohydrate Polym](#), 2022, 280: 119033
- 80 Zhang S H, Yang H R, Zhao Y, et al. Research progress on the nanodrug mediated regulation of tumor fibroblast-like cells for tumor therapy (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2023, 68: 4373–4382 [张淑慧, 阳卉茹, 赵颖, 等. 基于纳米药物调控肿瘤成纤维样细胞用于肿瘤治疗的研究进展. *科学通报*, 2023, 68: 4373–4382]
- 81 Xing Y, Peng A, Yang J, et al. Precisely activating cGAS-STING pathway with a novel peptide-based nanoagonist to potentiate immune checkpoint blockade cancer immunotherapy. [Adv Sci](#), 2024, 11: 2309583
- 82 Tao K, Fan Z, Sun L, et al. Quantum confined peptide assemblies with tunable visible to near-infrared spectral range. [Nat Commun](#), 2018, 9: 3217
- 83 Jian H, Wang M, Dong Q, et al. Dipeptide self-assembled hydrogels with tunable mechanical properties and degradability for 3D bioprinting. [ACS Appl Mater Interfaces](#), 2019, 11: 46419–46426

Summary for “自组装纳米抗菌肽的设计策略及应用”

Design strategy and application of self-assembled nano-antimicrobial peptides

Wenwen Chen, Guoyu Li, Zhenheng Lai, Yongjie Zhu, Changxuan Shao* & Anshan Shan*

*College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China** Corresponding authors, E-mail: cxshao@neau.edu.cn; asshan@neau.edu.cn

Bacterial infections are a major global health problem, and the advent of antibiotics marked the golden age of treating bacterial infections, saving hundreds of millions of lives. However, the mechanism of action of conventional antibiotics is often limited to targeting specific physiological or biochemical processes in bacteria. As a result, this single target of action is easily circumvented by bacteria through evolution, leading to the emergence of resistance. The ability of drug-resistant bacteria to evade the action of conventional antibiotics makes the treatment of infections even more challenging. Antimicrobial peptides (also known as host defence peptides) are a new approach to treating bacterial infections. They have a multimodal mechanism of action and are capable of eliminating pathogens from multiple targets. This multifaceted approach not only enhances the antimicrobial efficacy of antimicrobial peptides, but also makes it more difficult for bacteria to develop resistance to specific antimicrobial peptides. This property gives antimicrobial peptides great potential against drug-resistant bacteria. However, antimicrobial peptides have encountered a number of obstacles in their practical application. Their unstable activity, poor protease stability *in vivo*, high cytotoxicity, and short half-life limit their clinical applications. To address these limitations, self-assembly of antimicrobial peptides is an effective approach. Self-assembly of antimicrobial peptides is a novel nanomedicine technology that closely links the activity of antimicrobial peptides with nanostructures. The self-assembly process of antimicrobial peptides was investigated through a bottom-up design strategy. Self-assembly of antimicrobial peptides was shown to reduce renal clearance, enhance protease stability, prolong half-life and improve targeting selectivity. Another advantage of self-assembled antimicrobial peptides is the design flexibility, which allows modification of the functional groups as needed to optimize the antimicrobial properties and reduce the likelihood of side effects. The nanostructures of self-assembled antimicrobial peptides offer new opportunities for antimicrobial therapy. They can act through a variety of mechanisms, including physical barrier effects, enhanced drug permeability, and as drug carriers. In addition, the multifunctionality of self-assembled antimicrobial peptides makes them ideally suited for the development of novel antimicrobial strategies, such as combining specific antimicrobial peptides to target a particular bacterial species or modifying the antimicrobial peptides to enhance their targeting of specific bacteria. The research and development of self-assembled antimicrobial peptides have brought new hope for combating drug-resistant bacterial infections. This review provides a comprehensive and systematic overview of the design strategies employed to develop self-assembled nanomaterials with antimicrobial peptides and explores their applications in the treatment of bacterial infections. We discuss the design of self-assembled antimicrobial peptides based on amphiphilic amino acids (hydrophobic interactions, hydrogen bonding, electrostatic interactions, and π - π stacking), as well as chemical modification strategies involving fatty acids (hydrophobic), polyethylene glycol (hydrophilic), and glycosylation (CH- π). Finally, recent advances in the use of peptide-based nanomaterials (e.g., fibres, spheres, tubes, hydrogels, etc.) to create ordered nanostructures for the treatment of bacterial infections (e.g., abdominal, skin, and lung infections) are presented, and their potential applications in other fields are outlined. It is hoped that this review will provide guidance for further research in this area and facilitate the development of novel bacteriostatic agents.

self-assembled antimicrobial peptides, design strategies, chemical modifications, non-covalent force driven, bacterial infection

doi: [10.1360/TB-2024-0390](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0390)