

АНТИМИКРОБНИ ПЕПТИДИ – ПОТЕНЦИАЛНО РЕШЕНИЕ СРЕЩУ МИКРОБНАТА РЕЗИСТЕНТНОСТ

Димана Димитрова¹, Момчил Ламбев¹, Антония Христова¹, Силвия Михайлова¹, Стефка Вълчева-Кузманова², Тамара Пайпанова³

¹УС „Помощник-фармацевт“, Медицински колеж – Варна,
Медицински университет – Варна

²Катедра по фармакология и клинична фармакология и терапия, Факултет
„Медицина“, Медицински университет – Варна

³Институт по молекулярна биология „Акад. Румен Цанев“,
Българска академия на науките, София

ANTIMICROBIAL PEPTIDES (AMPS) - A POTENTIAL SOLUTION AGAINST MICROBIAL RESISTANCE

Dimana Dimitrova¹, Momchil Lambev¹, Antonia Hristova¹, Silvia Mihaylova¹,
Stefka Valcheva-Kuzmanova², Tamara Pajpanova³

¹TRS Assistant Pharmacist, Medical College, Medical University of Varna

²Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology and Therapeutics,
Faculty of Medicine, Medical University of Varna

³Institute of Molecular Biology “Roumen Tsanev”, Bulgarian Academy of Sciences, Sofia

РЕЗЮМЕ

След въвеждането им за първи път през 50-те години на миналия век, антибиотиците усилено се използват за лечение на микробни инфекции. Много от бактериите обаче стават резистентни към използваните в клиниката антибиотици, което води до необходимостта от търсенето на нови агенти за борба с болестотворните микроорганизми. Тъй като повечето живи организми имат близка структура на молекулно ниво, трудно е да се открият вещества, които да са летални за определени видове и да са безопасни за други.

Антимикробните пептиди (AMPs) са получили специално внимание като евентуален алтернативен подход за борба с инфекции, причинени от антибиотично резистентни бактериални щамове. Въведени са като самостоятелна група биологично активни вещества в края на 70-те и началото на 80-те години на миналия век. Към днешно време групата наброява между 2500 и 6000 олигопептида с големина между 10 и 80 аминокиселинни остатъка, с предимно спирална структура. AMPs представляват положи-

ABSTRACT

After introducing them for the first time in the 1950s, antibiotics have been used extensively for the treatment of microbial infections. Many of the bacteria, however, have become resistant to the antibiotics used in the clinic, which has led to the need for new agents to control pathogenic microorganisms. Since most living organisms have a close molecular structure, it is difficult to find substances that are lethal to certain species and are safe for others.

Antimicrobial peptides (AMPs) have received special attention as a possible alternative approach to fighting infections caused by antibiotic-resistant bacterial strains. They were introduced as a single group of biologically active substances in the late 1970s and early 1980s. To date, the group is presented by 2500 to 6000 oligopeptides with a size between 10 and 80 amino acid residues, with a predominantly spiral structure. AMPs are positively charged, amphipathic structures of great variety and without a significant molecular length. They exhibit a broad spectrum of antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, viruses and parasites over a wide range of pH and temperatures. In nature they represent an

телно заредени, амфипатични структури с голямо разнообразие и неголяма дължина на молекулата. Проявяват широк спектър на антимикробна активност спрямо грам-положителни и грам-отрицателни бактерии, вируси и паразити в широк диапазон от рН и температури. В природата представляват важна част от вродената имунна защита на животни и насекоми. Счита се, че дори заместват имунния отговор при по-низшите организми – пример за това са изолираните цекропини, дефензини и магенини.

AMPs осъществяват бърз бактерициден ефект (*in vitro* – в рамките на минути). В последните години се определят като „естествени антибиотици“. Настоящият обзор разглежда класификацията на AMPs, тяхната противомикробна активност и механизъм на действие.

Ключови думи: антимикробни пептиди; микробна резистентност; антибактериална терапия, естествени антибиотици

УВОД

През последните няколко десетилетия вниманието е насочено към разработването на лекарства, които не предизвикват резистентност към патогени (23). Антимикробните пептиди (AMPs) са получили специално внимание като евентуален алтернативен подход за борба с инфекции, причинени от антибиотично резистентни бактериални щамове (12,41). Представляват положително заредени амфипатични структури с голямо разнообразие и неголяма дължина на молекулата (40). Проявяват широк спектър на антимикробна активност спрямо грам-положителни и грам-отрицателни бактерии, вируси и паразити в широк диапазон от рН и температури (27).

Въведени са като самостоятелна група биологично активни вещества в края на 70-те и началото на 80-те години на миналия век. Към днешно време групата наброява между 2500 и 6000 олигопептида с големина между 10 и 80 аминокиселинни остатъка, с предимно спирална структура (44).

AMPs в природата представляват важна част от вродената имунна защита на животни и насекоми (16). Счита се, че дори заместват имунния отговор при по-низшите организми – пример за това са изолираните цекропини, дефензини и магенини (3,4).

important part of the innate immune protection of animals and insects. It is thought that they even replace the immune response in the lower organisms – an example of this are the isolated cecropins, defensins and maggenes.

AMPs perform a rapid bactericidal effect (in vitro – within minutes). In recent years they have been identified as „natural antibiotics“. This review is focused on the classification of AMPs, their antimicrobial activity and mechanism of action.

Keywords: antimicrobial peptides, microbial resistance, antibacterial therapy, natural antibiotics

1. КЛАСИФИКАЦИЯ ВЪЗ ОСНОВА НА ПРОИЗХОДА НА AMPs

Основавайки се на техния произход, AMPs могат главно да се класифицират в четири групи. Досега са открити повече от 1500 AMPs от различни организми (13).

1.1. AMPs от инсекти

Насекомите нямат адаптивна имунна система, но са развили ефикасен първичен имунитет, за да се предпазват от микробни инфекции. AMPs на насекомите играят важна роля в хуморалните защитни реакции. AMPs се синтезират в телесните мазнини (при инсектите функционален еквивалент на черния дроб при бозайниците) по време на системния отговор срещу патогени и се секретират в хемолимфата (3,4).

След откриването на първия AMP Cecropin в какавидите на *Hyalophora cecropia* през 1980 от групата на *Boman*, са идентифицирани голям брой AMPs. Всички те се характеризират с ниско молекулно тегло и положителен заряд (33). Въпреки доказаната директна антимикробна активност срещу бактерии, гъби, еукариоти, паразити или вируси, е установено, че катионните пептиди имат ключова модулаторна роля във вградения имунен отговор и проявяват директна антимикробна активност.

Днес повече от 200 такива пептида са открити в насекомите. Тези пептиди са класифицирани в

Табл. 1. AMPs от инсекти (41)

Групи	Молекулярна маса (kDa)	Наименование на инсекта
Цекропини	4.1428	Artogeia rapae
	4.48955	Spodoptera litura
	3.90178	Acalolepta luxuriosaB
Дефензини	5.4035	Nasonia vitripennis
	0.72696	Ascaris suum
	7.5	Acalolepta luxuriosa
Глицин-богати пептиди	5.259	Armadillidium vulgare
	2.32595	Bactrocera dorsalis
	1.5519	Orancistrocerus drewseni
Пролин-богати пептиди	9	Drosophila virilis
	6.5	Galleria mellonella

няколко групи, базирани на аминокиселинната секвенция и антибактериалната активност (15).

- Цекропини – Те са без цистеинови остатъци, съдържат около 35-39 аминокиселини и формират двойноверижна α -спирала, която се интегрира в клетъчната мембрана на бактериите и това води до разрушаването ѝ. Цекропините са едни от най-широко проучваните AMPs, синтезирани от насекоми (7,17,34).
- Дефензини – Сред нативните AMPs, дефензините са богати на цистеин катионни полипептиди с три или четири дисулфидни връзки. Дефензините са изолирани от бозайници, насекоми и растения. Те осигуряват ефективна първична защита срещу инфекциозни патогени. Главно са ефективни срещу грам-положителни бактерии, по-малко срещу грам-отрицателни бактерии, гъби и протозои (6,36).
- Богати на глицин пептиди – Индентифицирани са от различни видове насекоми. Тези AMPs са богати на глицинови остатъци (14-22%) и това богатство има силно въздействие върху третичната им струк-

тура и следователно върху техния механизъм на действие. Действат срещу гъби, грам-отрицателни бактерии и ракови клетки, като унищожават тяхната клетъчна мембрана (20).

- Богати на пролин пептиди – Изолирани са от бозайници и насекоми и са активни главно срещу грам-отрицателни бактерии (22). Спадат към групата на катионните AMPs, които са богати на пролин и аргинин. Те не лизират клетъчната стена, а пенетрират в клетката и действат интрацелуларно. Тази характеристика ги прави нов клас потенциални клетъчно-пенетриращи пептиди, способни да въвеждат мембрано-непреминаващи лекарства в бактериални и еукариотни клетки (30).

1.2. AMPs от животински произход

Те първоначално са открити в безгръбначните, а по-късно са описани и при гръбначните животни (бозайници, земноводни и риби) (26).

AMPs от животински произход са показани в Табл. 2 (41).

Табл. 2. AMPs от животински произход

Наименование на пептида	Молекулярна маса (kDa)	Животински произход
CfC1qDC	17.2	Zhikong scallop, Chlamys farreri
Phylloseptins	1.7–2.1	Phyllomedusa
Astacidin 2	1.838	Freshwater crayfish, Pacifastacus leniusculus
Ranatuerin-2SEa	2.91	Dusky Gopher frog, Rana sevosia
Pep5Bj	1.37	Bothrops jararaca

Табл. 3. AMPs от генномодифицирани микроорганизми (41)

Наименование на пептида	Молекулярна маса (kDa)	Наименование на микроорганизма
НасD	4.6	E. coli M15
LL37	27	E. coli BL21
Mdmcec	4	E. coli BL21
CA-MA	2.6	P. pastoris SMD1168
PFWRIRIRR	14	E. coli BL21
rMdde	4.6	E. coli 8099
RScp	10	A. gambiae cell line Sua 5.1*

1.3. AMPs от генномодифицирани микроорганизми

Използват се рекомбинантни методи на хетероложно експресиране на AMPs в бактерии (11). *Escherichia coli* се оказва един от най-популярните рекомбинантни биореактори, благодарение на своята бърза скорост на растеж и добре установени експресивни системи (19). Чрез генномодифицирани бактерии е трудно да бъдат експресирани малки пептиди в големи количества. В последно време са добити метилотрофни дрожди *Pichia Pastoris* като отличен хазяин за висока експресия на протеини от различни източници (26).

1.4. Синтетични AMPs

Създаването на синтетични AMPs с висока активност представлява голямо предизвикателство при разработването на нови антибиотици (38). Синтезът на AMPs и развитието на техни аналози спомага за използването им при хора. Друг интересен подход е да се индуцира ендогенното производство на тези пептиди, като по този начин се избягва възможна токсичност и нежелани системни реакции, както и трудното им доставяне до желаните места на действие (8).

2. ПРОТИВОМИКРОБНА АКТИВНОСТ НА AMPs

AMPs проявяват бърз бактерициден ефект (in vitro – в рамките на минути). В последните години

се определят като „естествени антибиотици“ (28,43).

- AMPs с изразена активност спрямо грам-положителни бактерии се срещат относително рядко. Например Isoform 5 показва антибактериална активност срещу грам-положителния *Micrococcus luteus* и срещу гъбичката *Magnaporthe grisea* (17).
- AMPs, проявяващи активност спрямо грам-отрицателни бактерии, са много по-многобройни. Такъв е например Hinnavin. Той показва мощен синергичен ефект в инхибирането на бактериалния растеж заедно с пречистения Lysozyme (42).
- AMPs, проявяващи активност както спрямо грам-положителни, така и срещу грам-отрицателни бактерии, представляват най-многобройната група. Те атакуват структурната цялост на бактериалната плазмемембрана. Антибактериалните молекули, изолирани от насекоми, представляват потенциално значима група. Например пречистен и охарактеризиран е дефензиноподобният AMPs, наречен Defensin-NV от отрова на ектопаразитна оса. Този пептид проявява силна антимикробна активност срещу микроорганизми,

Табл. 4. Синтетични AMPs (41)

Наименование на пептида	Молекулярна маса (kDa)	Секвенция
ABP-СМ4	3.87664	RWKIFKKIEKVGQNIRDGIVKAG-PAVAVVQAATI
L1	1.21482	DAACAANCLWR-NH2
L-Vac7(1–35)	-	RRIRPRPPRLPRPRRPLPFPRPGPRPIP-RPLPFP
P1	2.1075	GLGSVFGRLARILGRVIPKV-NH2
BP100	-	H-KKLFKKILKYL-NH2
G1	6.5	LVRVRRGFGCPFDER
DS1(1–29)-NH2	-	ALWKTMLKKLGTMALHAGKAALGAAADTI-NH2

включително грам-положителни, грам-отрицателни бактерии и гъбички (37).

- Противогъбичкова активност. Открити са повече от 70 000 гъбички, като голяма част от тях застрашават здравето на човека. Baek и Lee (1) изолират три нови пептида (OdVP1, OdVP2, OdVP3) от отровата на *Orancistrocerus drewseni*, които проявяват противогъбичкова и антибактериална активност. От *Vastrocera dorsalis* е излян, пречистен и охарактеризиран нов антимикробен пептид – *Vastrocerin-1* (10). Той проявява много широк спектър на антимикробна активност срещу грам-положителни, грам-отрицателни бактерии и гъби (9).
- Противопаразитна активност. Тропическите заболявания, причинени от паразити, предизвикват социално-икономически проблеми в целия свят. Leite и сътр. (21) изолират 6 нови AMPs от кожна секреция на бразилската дървесна жаба, наречени *Phylloseptins*, показващи антибактериална и антипротозойна активност.

3. МЕХАНИЗЪМ НА ДЕЙСТВИЕ НА AMPs

Механизмът, по който AMPs инхибират бактериалния растеж, се осъществява чрез специфично свързване към отрицателно заредените фосфолипиди на бактериалната клетъчна мембрана. При достигането на критична концентрация на пептидите, следва нарушаване на мембранната цялост, а оттам и клетъчна смърт. Някои антибактериални пептиди са способни да достигнат до цитоплазмата, без да нарушават бактериалната мембрана, като се предполага, че тяхната цел е инхибирането на репликацията и транскрипцията на ДНК (5).

Механизмът на действие на AMPs се различава от този на конвенционалните антибиотици, с което имат предимство пред тях (40). Те предполагат и потенциал за широка употреба, поради факта, че все повече и повече бактерии развиват резистентност към антибиотици (24). Предложени са 3 модела за механизма на антимикробното действие на AMPs.

3.1. *Barrel-Stave Model*

Това е първият предложен механизъм на действие на AMPs, на основата на пептид-индуцирани пори (2). Образоването на пори по модела „*Barrel-stave*“ преминава в три стъпки:

- Първата стъпка е свързване на пептида с повърхността на клетъчната мембрана подобно на мономер;

- Във втора фаза пептидът може да се подложи на конформационен преход – полярниите фосфолипидни глави се изместват на страни, за да се предизвика локализирано мембранно изтъняване. В този момент хидрофобната част на пептида се вмъква в мембраната. Позиционирането на положително заредените аминокиселини в близост до фосфолипидните глави улесняват този процес;
- По време на третата фаза пептидните мономерни агрегират по между си и преминават по-дълбоко в сърцевината на мембраната. Агрегацията се нуждае от праг на пептидната концентрация и позволява минимално излагане на пептидни хидрофилни остатъци във вътрешността на мембраната. Продължаващото натрупване на пептидни мономерни води до по-нататъшно разширяване на порите на мембраната (29,39).

3.2. *Toroid Pore Model*

Последните проучвания представят нов механизъм на взаимодействие между пептид и мембрана – тороидален модел на порите. Това е един от най-добре описаните механизми на взаимодействие, извлечен главно от опити с α -спирални пептиди (14).

Образоването на тороидалните пори преминава в три фази:

- Първоначално пептидите в извънклетъчната среда приемат α -спирална структура, тъй като си взаимодействат посредством заряда и хидрофобната бактериална мембрана. Спиралите първоначално са ориентирани успоредно на повърхността на мембраната;
- Във втора стъпка хидрофилните аминокиселини на свързаните пептиди изместват полярните глави, създавайки деформация в хидрофобния участък на мембраната. Това води до дестабилизиране на мембранната повърхност, правейки я по-уязвима;
- Пептидите се ориентират перпендикулярно на мембраните и се асоциират помежду си. Формира се динамичен пептидо-липиден (тороидален) модел на порите (14,39).

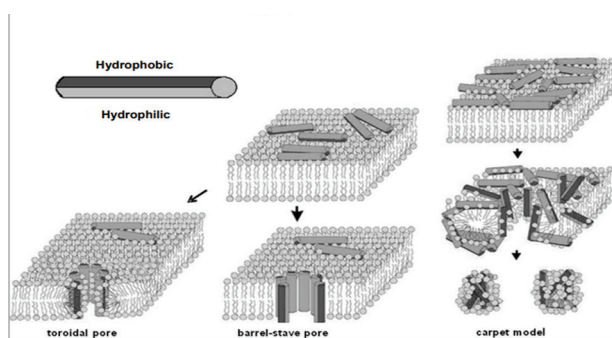
Тороидалните пори могат да бъдат ключов механизъм, чрез който пептидите навлизат през микробилната цитоплазма и имат достъп до вътреклетъчните таргетни клетки (35).

Характерен за тороидалните пори е техният кратък живот, йонна селективност, малък размер и взаимовръзка между стабилност и заряд. Тези свойства могат да повлияят върху функци-

ята на самите пори. Например малкият размер на порите ограничава транзита на частици в зависимост от молекулно им тегло. Пептидният заряд може да се отрази на стабилността на порите чрез междумолекулно отблъскване между положително заредените странични вериги (25).

3.3. Carpet-like model

Този модел се реализира само при висока плътност на пептидите по повърхността на таргетната мембрана (31). Първоначално тези пептиди се ориентират паралелно на мембраната. Тази ориентация дестабилизира фосфолипидната структура, което се последва от разрушаване на мембраната. Този механизъм се наблюдава при пептиди, богати на триптофан (32).



Фиг. 1. Схематично представяне на механизма на действие на AMPs (18)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резистентността към лекарства е основен проблем при антибактериалната химиотерапия, а AMPs могат да решат този проблем в бъдеще. AMPs са потенциални кандидати за преодоляване на бактериалната резистентност към конвенционалните антибиотици. AMPs проявяват множество ефекти като антибактериални, противогъбични и противоракови. Тъй като те могат бързо да убият широк спектър от инфекциозни агенти и да модулират както вродения, така и адаптивния имунитет, се правят значителни усилия да се използва техният терапевтичен потенциал. AMPs могат да се превърнат в полезни терапевтични средства, тъй като те са показали, че се борят не само с бактериални, но и с вирусни и гъбичкови инфекции. Освен това тяхната антимикробна активност се упражнява по няколко начина, благодарение на техните многофункционални свойства; тази характеристика затруднява развитието на резистентност от микроорганизми.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baek J, Lee S. Isolation and molecular cloning of venom peptides from *Orancistrocerus drewseni* (Hymenoptera: Eumenidae). *Toxicon* 2010; Apr 1;55(4):711-8.
2. Baumann G, Paul M. A molecular model of membrane excitability. *Journal of Supramolecular Structure*. 1974; 2:529-537.
3. Brown S, Howard A, Kasprzak A, Gordon K, East P. A peptidomics study reveals the impressive antimicrobial peptide arsenal of the wax moth *Galleria mellonella*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2009; Nov;39(11):792-800.
4. Bulet P, Stocklin R. Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. *Protein Pept Lett*. 2005; Jan;12(1):3-11.
5. Carnicelli V, Lizzi A, Ponzi A, Amicosante G, Bozzi A, Giulio A. Interaction between antimicrobial peptides (AMPs) and their primary target, the biomembranes. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* (A. Méndez-Vilas, Ed.). 2013; pp.1123 -1134.
6. Chapuisat M, Oppliger A, Magliano P, Christe P. Wood ants use resin to protect themselves against pathogens. *Proc Biol Sci*. 2007; v.274(1621).
7. Charroux B, Rival T, Narbonne-Reveau K, Royet J. Bacterial detection by *Drosophila* peptidoglycan recognition proteins. *Microbes Infect*. 2009; 11(6-7):631-6.
8. Chen YQ, Zhang SQ, Li BC, Qiu W, Jiao B, Zhang J, et al. Expression of a cytotoxic cationic antibacterial peptide in *Escherichia coli* using two fusion partners. *Protein Expr Purif*. 2008; 57(2):303-311.
9. Cohen L, Moran Y, Sharon A, Segal D, Gordon D, Gurevitz M. Drosomycin, an innate immunity peptide of *Drosophila melanogaster*, interacts with the fly voltage-gated sodium channel. *J Biol Chem*. 2009; Aug 28;284(35):23558-63.
10. Dang XL, Tian JH, Yang WY, Wang WX, Ishibashi J, Asaoka A, et al. Bactrocerin-1: a novel inducible antimicrobial peptide from pupae of oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Arch Insect Biochem Physiol*. 2009; Jul 71(3):117-29.

11. Dnaz P, D'Suze G, Salazar V, Sevcik C, Shannon JD, Sherman NE, et al. Antibacterial activity of six novel peptides from *Tityus discrepans* scorpion venom. A fluorescent probe study of microbial membrane Na⁺ permeability changes. *Toxicon*. 2009; Jun 54(6):802-817.
12. Gould I M, Bal A M. New Antibiotic Agents in the Pipeline and How They Can Help Overcome Microbial Resistance, 2013; Feb 15 4(2): 185–191.
13. Guani-Guerra E, Santos-Mendoza T, Lugo-Reyes SO, Teran LM. Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. 2010; Apr 135(1):1-11.
14. Hara T, Mitani Y, Tanaka K, Uematsu N, Takakura A, Tachi T, Kodama H, Kondo M, Mori H, Otaka A, Nobutaka F, Matsuzaki K. Heterodimer formation between the antimicrobial peptides magainin 2 and PGLa in lipid bilayers: a cross-linking study. *Biochemistry*. 2001; Oct 16 40(41):12395-9.
15. Hwang JS, Lee J, Kim YJ, Bang HS, Yun EY, Kim SR, et al. Isolation and characterization of a defensin-like peptide (Coprinsin) from the dung beetle, *Copristripartitus*. *Int J Pept* 2009; ID 136284, 5 pages.
16. Hwang P, Vogel H. Structure-function relationships of antimicrobial peptides. *Biochem. Cell Biol*. 1998; 1998;76(2-3):235-46.
17. Imamura M, Wada S, Ueda K, Saito A, Koizumi N, Iwahana H, et al. Multipeptide precursor structure of acaloleptin A isoforms, antibacterial peptides from the Udo longicorn beetle, *Acalolepta luxuriosa*. *Dev Comp Immunol*. 2009; 33 1120–1127.
18. Lee J, Yoonkyung P. Mechanism of Action of Antimicrobial Peptides Against Bacterial Membrane, 2014; *J Bacteriol Virol*. 2014 Jun 44(2):140-151.
19. Lee SB, Li B, Jin S, Daniell H. Expression and characterization of antimicrobial peptides Retrocyclin-101 and Protegrin-1 in chloroplasts to control viral and bacterial infections. *Plant Biotechnol J*. 2011; Jan 9(1):100-15.
20. Lee VS, Tu WC, Jinn TR, Peng CC, Lin LJ, Tzen JT. Molecular cloning of the precursor polypeptide of mastoparan B and its putative processing enzyme, dipeptidyl peptidase IV, from the black-bellied hornet, *Vespa basalis*. *Insect Mol Biol*. 2007; Apr 16(2):231-7.
21. Leite JR, Silva LP, Rodrigues MI, Prates MV, Brand GD, Lacava BM, et al. Phylloseptins: a novel class of anti-bacterial and anti-protozoan peptides from the *Phyllomedusa* genus. *Peptides*. 2005; Apr 26(4):565-73.
22. Liu S, Wang F, Tang L, Gui W, Cao P, Liu X, et al. Crystal structure of mastoparan from *Polistes jadwage* at 1.2 Å resolution. *J Struct Biol*. 2007; Oct 160(1):28-34.
23. María A, Aura L, Giovanni A, Jaiver E, Zuly J. Antibacterial Activity of Synthetic Peptides Derived from Lactoferricin against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *BioMed Research International*. 2015; 453826.
24. Maróti G, Kereszt A, Kondorosi E, Mergaert P. Natural roles of antimicrobial peptides in microbes, plants and animals. *Res Microbiol*. 2011; May;162(4):363-74.
25. Matsuzaki K. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes. *Biochim Biophys Acta*. 1999; Dec 15 1462(1-2):1-10.
26. Niu M, Li X, Wei J, Cao R, Zhou B, Chen P. The molecular design of a recombinant antimicrobial peptide CP and its in vitro activity. *Protein Expr Purif*. 2008; Jan 57(1):95-100, Epub 2007 Aug 24.
27. Romero R. *Microbiología y parasitología humana bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias*, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 2007.
28. Rozek A, Friedrich CL, Hancock RE. Structure of the bovine antimicrobial peptide indolicidin bound to dodecylphosphocholine and sodium dodecyl sulfate micelles. *Biochemistry*. 2000; Dec 26 39(51):15765-74.
29. Sansom MS. The biophysics of peptide models of ion channels. *Prog. Biophys. Mol. Biol*. 1991; 55 (3):139-235.
30. Scocchi M, Tossi A, Gennaro R. Proline-rich antimicrobial peptides: converging to a non-lytic mechanism of action. *Cell Mol Life Sci*. 2011; Jul 68(13):2317-30, Epub 2011 May 19.

31. Shai Y, Oren Z. From “carpet” mechanism to de-novo designed diastereomeric cell-selective antimicrobial peptides. *Peptides*. 2001; Oct 22(10):1629-41.
32. Sitaram N, Nagaraj R. Interaction of antimicrobial peptides with biological and model membranes: structural and charge requirements for activity. *Biochim Biophys Acta*. 1999; Dec 15 1462(1-2):29-54.
33. Steiner H, Hultmark D, Engstrom A, Bennich H, Boman HG. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity. *Nature*. 1981; Jul 16 292(5820):246-8.
34. Tanaka H, Yamamoto M, Moriyama Y, Yamao M, Furukawa S, Sagisaka A, et al. A novel Rel protein and shortened isoform that differentially regulate antibacterial peptide genes in the silkworm *Bombyx mori*. *Biochim Biophys Acta*. 2005; Jul 25 1730 (1):10-21.
35. Uematsu N, Matsuzaki K. Polar angle as a determinant of amphipathic alpha-helix-lipid interactions: a model peptide study. *Biophys J*. 2000; Oct 79(4): 2075–2083.
36. Viljakainen L, Pamilo P, Selection on an antimicrobial peptide defensin in ants. *J Mol Evol*. 2008; Dec 67(6):643-52.
37. Wang L, Li Z, Du C, Chen W, Pang Y. Characterization and expression of a cecropin-like gene from *Helicoverpa armigera*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2007; Dec 148(4):417-25.
38. Wang X, Zhu M, Zhang A, Yang F, Chen P. Synthesis and secretory expression of hybrid antimicrobial peptide CecA-mag and its mutants in *Pichia pastoris*. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2012; Mar 237(3):312-7.
39. Yang L, Harroun TA, Weiss TM, Ding L, Huang HW. Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores. *Biophys J*. 2001; Sep 81(3):1475-85.
40. Yang P, Ramamoorthy A, Chen Z. Membrane Orientation of MSI-78 Measured by Sum Frequency Generation Vibrational Spectroscopy. *Langmuir* 2011; Jun 21 27(12): 7760–7767.
41. Yanmei L, Xiang Q, Zhang Q, Huang Y, Su Z. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. 2012; Oct 37(2):207-15.
42. Yoe SM, Kang CS, Han SS, Bang IS. Characterization and cDNA cloning of hinnavin II, a cecropin family antibacterial peptide from the cabbagebutterfly, *Artogeia rapae*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 2006; Jun 144(2):199-205.
43. Zhu S, Gao B. A fossil antibacterial peptide gives clues to structural diversity of cathelicidin-derived host defense peptides. *FASEB J* 2009; 23 1230–1245.
44. Науменкова Т, Антонов М, Шайтан Константин В. Взаимодействие антимикробного пептида буфорина-2 с мембранами: роль пролиновой петли. *Физико-математические науки*. 2014.

Адрес за кореспонденция:
 Димана Димитрова
 УС „Помощник-фармацевт“
 Медицински колеж,
 Медицински университет – Варна
 бул. „Цар Освободител“ 84
 Варна 9000
 e-mail: dimana.atanasova@abv.bg