

Naturalne peptydy przeciwdrobnoustrojowe w zastosowaniach biomedycznych

Jolanta Janiszewska^{1),*)}

DOI: dx.doi.org/10.14314/polimery.2014.699

Streszczenie: Artykuł stanowi obszerny przegląd literaturowy, uwzględniający prace własne, dotyczące peptydów przeciwdrobnoustrojowych (AMP). AMP są ważnym elementem układu odpornościowego organizmów zwierzęcych i roślinnych. Wykazują szerokie spektrum działania biobójczego wobec bakterii, grzybów, wirusów i pasożytów. Przedstawiono metody klasyfikacji peptydów AMP oraz mechanizmy ich działania. W ciągu ostatnich lat liczne peptydy AMP oraz ich analogi są poddawane badaniom klinicznym. W pracy szczególną uwagę poświęcono aktywności przeciwdrobnoustrojowej dendrymerów peptydowych i ich potencjalnemu wykorzystaniu w medycynie.

Słowa kluczowe: peptydy przeciwdrobnoustrojowe, antybiotyki naturalne, dendrymery peptydowe, mechanizmy działania biobójczego.

Natural antimicrobial peptides in biomedical applications

Abstract: The paper is an extensive literature review, including the author's work, related to the antimicrobial peptides (AMP). AMP constitute an important element of the immune system of animal and plant organisms. These natural polymers show a broad spectrum of biocidal activity against bacterial, fungal and viral pathogens as well as parasites. The review presents the current classification of AMP peptides and discusses the mechanisms of biological activity. In recent years, several AMP and their analogues have been advanced into clinical development. Special emphasis was put on the antimicrobial activity of dendrimeric peptides and their possible application in medicine.

Keywords: antimicrobial peptides, natural antibiotics, dendrimeric peptides, mechanisms of action of the biocidal.

Jednym z głównych problemów współczesnej medycyny jest codzienna walka z drobnoustrojami chorobotwórczymi, opornymi na działanie dostępnych antybiotyków. Powszechne stosowanie antybiotykoterapii spowodowało znaczne zmniejszenie skuteczności działania tej grupy leków, co z kolei doprowadziło do trudności w opanowaniu rosnącej liczby zakażeń. Stale przybywa tzw. patogenów alarmowych [1] – organizmów, które zyskały oporność na większość dostępnych antybiotyków, także na leki ostatniej szansy, np. karbapenemy (antybiotyk β -laktamowy) czy wankomycyna (antybiotyk peptydowy). Niepokojące jest zwłaszcza to, że oporność przestała być cechą jedynie szczepów bakterii szpitalnych.

Poszukiwania nowych antybiotyków, opierających swoje działanie na alternatywnych mechanizmach bójczych stały się priorytetem w badaniach naukowych. Duże nadzieje aplikacyjne wiąże się z endogennymi antybiotykami peptydowymi. W przeciwieństwie bowiem do konwencjonalnych antybiotyków naturalne peptydy

przeciwdrobnoustrojowe stanowią wrodzony element układu odpornościowego organizmów żywych, roślin i zwierząt [2]. Ze względu na swoje naturalne pochodzenie mogą się okazać mniej toksyczne niż antybiotyki wykorzystywane dotychczas. To doskonała podstawa do poszukiwania nowoczesnych leków oraz poznania nowych mechanizmów ich działania przeciwdrobnoustrojowego. Peptydy to polimery, w których pojedyncze jednostki są połączone wiązaniem peptydowym (amidowym). Grupa aminowa jednej reszty aminokwasowej tworzy wiązanie amidowe z grupą karboksylową drugiej reszty. W zależności od długości łańcucha peptydowego rozróżniamy:

- oligopeptydy zawierające od 2 do 10 reszt aminokwasowych w cząsteczce,
- polipeptydy zawierające od 11 do 100 reszt aminokwasowych w cząsteczce,
- białka zawierające powyżej 100 reszt aminokwasowych.

NATURALNE PEPTYDY PRZECIWBAKTERYJNE

Prace badawcze związane z peptydami przeciwdrobnoustrojowymi (AMP – *Antimicrobial Peptides*) zapoczątk-

¹⁾ Instytut Chemii Przemysłowej, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa.

^{*)} Autor do korespondencji; e-mail: Jolanta.Janiszewska@ichp.pl

kowali w latach 50-tych XX w. Skames i Watson, którzy z leukocytów królika wyizolowali leukinę o aktywności bójczej wobec bakterii Gram(+) [3]. Hirsch i Cohen wykazali aktywność fagocyty, także pochodzącej z leukocytów królika, wobec bakterii Gram(+) oraz Gram(-) [4]. Kolejne doniesienia na początku lat 80-tych XX w. dotyczyły wydzielania przez żaby, bezpośrednio po zranieniu, magaininy – substancji o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych, która po przyłączeniu się do drobnoustrojów niszczy ich błony komórkowe [5]. Podobnie działające substancje wykryto też u innych organizmów: cekropiny u ciem, tachyplesyny u krabów, tioniny u roślin i defensyny u ssaków. W kolejnych latach dokładnie scharakteryzowano defensyny – peptydy z charakterystycznym układem łańcucha peptydowego typu β oraz mostkami disiarczkowymi [6, 7]. Przełom XX i XXI w. to okres intensywnych badań nad peptydami o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych. Wyizolowano szereg nowych związków, poznano ich budowę, ustalono mechanizmy działania. Dotychczas opisano ponad 1700 peptydów aktywnych wobec różnych drobnoustrojów [8].

Peptydy AMP wykazują działanie przeciwbakteryjne wobec bakterii Gram(+) (w tym mykobakterii) oraz bakterii Gram(-), działanie przeciwgrzybicze, przeciw pasożytnicze oraz przeciwwirusowe. Stanowią ważną broń układu odpornościowego organizmów eukariotycznych i prokariotycznych. Nie działają wybiórczo i nie są gatunkowo specyficzne. W odpowiedzi odpornościowej nieswoistej (wrodzonej) pełnią rolę równie ważną jak przeciwciała w odpowiedzi adaptacyjnej (swoistej). Peptydy te – jako w znacznej mierze peptydy ogólnoustrojowe – charakteryzują się ograniczoną opornością na proteolizę oraz immunogenicnością. Peptydy AMP wykazują także potencjał diagnostyczny, mogą być użyte jako specyficzny kontrast w tomografii komputerowej [9]. Znakowany radioizotopem peptyd pozwala na rozpoznanie procesu zapalnego zachodzącego w organizmie. Na zarejestrowanym obrazie są widoczne skupiska bakteryjne znakowane AMP.

Peptydy AMP można znaleźć we wszystkich formach życia: bakterii, bezkręgowców, kręgowców i ssaków, w tym także ludzi [10]. Swoje funkcje pełnią też w świecie roślin [11]. Są zbudowane najczęściej z 15–50, rzadziej z 150–200 aminokwasów [10]. Można je pozyskiwać z materiałów naturalnych, takich jak: ślina ludzka, łzy, skóra oraz jad gadów i płazów [12–14]. W organizmie zazwyczaj powstają jako propeptydy, które ulegają aktywacji w procesie proteolizy. Wydzielane są w sposób ciągły lub jako odpowiedź na drażniące działanie czynników mikrobiologicznych, chemicznych bądź mechanicznych, prowadzących do uszkodzenia tkanki [15]. Oprócz aktywności przeciwdrobnoustrojowej wykazują także zdolność do stymulacji procesów gojenia, a także – dzięki blokowaniu enzymów proteolitycznych wydzielanych przez mikroorganizmy – do hamowania niszczenia tkanek [16, 17]. Przypuszcza się, że w każdym organizmie

występuje 15–40 rodzajów genów kodujących peptydy AMP [16].

Klasyfikacja peptydów AMP

W literaturze jest dyskutowanych kilka sposobów klasyfikacji peptydów przeciwdrobnoustrojowych [16, 18, 19], co wynika przede wszystkim z bogactwa strukturalnego tych związków. Wydzielane przez organizmy prokariotyczne i eukariotyczne, tworzą pierwszą linię obrony przed patogenami, dzięki temu kontrolują naturalną florę bakteryjną, często działając synergistycznie. Zabijają drobnoustroje lub hamują ich wzrost, neutralizują toksyny, wykazują aktywność przeciwwirusową [20]. Na drodze ewolucji nastąpiło duże zróżnicowanie genów kodujących AMP. Najczęściej przytaczany w literaturze podział opracowali, niezależnie od siebie, Brogden i Boman.

Brogden podzielił grupę naturalnych związków biologicznie czynnych na 5 klas [19] i wyróżnił peptydy:

- anionowe i kationowe, bogate w specyficzne aminokwasy;
- kationowe, o strukturze α -helisy;
- anionowe i kationowe, zawierające reszty cysteinowe i mostki disiarczkowe;
- anionowe i kationowe, stanowiące fragmenty większych białek.

Przeciwdrobnoustrojowe **peptydy anionowe**, bogate w kwas asparaginowy i glutaminowy, występują m.in. w komórkach nabłonkowych (w ilościach milimolowych). Aktywacja następuje w obecności cynku pełniącego rolę kofaktora [20]. Peptydy anionowe wykazują działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Do tej klasy należy np. dermicydyna produkowana w gruczołach potowych. Dermicydyna działa bakteriobójczo wobec *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* oraz grzybobójczo w stosunku do rodziny *Candida albicans* [21].

Peptydy kationowe są zbudowane z określonych aminokwasów, takich jak: prolina (40–57 % peptydu), arginina (13–33 % peptydu), fenyloalanina (19 % peptydu) oraz glicyna i tryptofan [19]. Niektóre z nich mogą mieć strukturę helikalną. Do tej klasy zalicza się m.in. peptyd PR-39, wyizolowany z wieprzowego jelita cienkiego i z neutrofilii, składający się głównie z proliny i argininy.

Liniowe kationowe α -helikalne peptydy są zbudowane zazwyczaj z mniej niż 40 reszt aminokwasowych. Ich silne działanie przeciwbakteryjne, wobec bakterii zarówno Gram(+), jak i Gram(-), jest wprost zależne od udziału struktury α -helisy [19]. Wykazują zmianę struktury: od nieuporządkowanej w wodzie, do α -helisy w obecności np. liposomów oraz pęcherzyków fosfolipidowych [22]. Przedstawicielem tej klasy AMP są magaininy zbudowane z 21–27 aminokwasów, wyizolowane ze skóry afrykańskiej żaby *Xenopus laevis*. Magaininy hamują wzrost wielu gatunków bakterii i grzybów oraz

wywołują lizę spowodowaną szokiem osmotycznym pierwotniaków [23]. Wykazują także silne działanie przeciwnowotworowe. Magainina-1 jest zdolna do tworzenia porów w mitochondrialnych błonach [24], natomiast magaininę-2 charakteryzuje toksyczność względem komórek raka piersi, pęcherza moczowego, komórek białaczki i innych komórek nowotworowych [25].

Największą grupę AMP stanowią peptydy o charakterze **kationowym i anionowym, bogate w cysteinę**, zawierające mostki disiarczkowe — zazwyczaj w ilości 1–3 lub więcej [26]. Często tworzą β -struktury. Klasę tę reprezentują wyizolowane z leukocytów wieprzowych protegryny, zbudowane z 16–18 reszt aminokwasowych z dwoma mostkami disulfidowymi. W roztworze przyjmują strukturę harmonijkową nazywaną w chemii białek strukturą β [27]. Protegryny pełnią rolę przeciwendotoksyczną. Mają zdolność do interakcji z lipopolisacharydami umiejscowionymi na powierzchni komórek Gram(-), co może być wykorzystane w terapii wstrząsu septycznego [28, 29]. Równie ważnym reprezentantem tej klasy peptydów jest zróżnicowana grupa defensyn, która zależnie od budowy dzieli się na defensyny α , β , γ , przy czym ta ostatnia powstaje w wyniku cyklizacji α -defensyn [19, 30]. Defensyny owadów i roślin mają inne cechy strukturalne niż defensyny kręgowców [31].

Anionowe i kationowe peptydy, stanowiące fragmenty większych białek, są najmniej liczną klasą peptydów AMP. Charakteryzują się aktywnością przeciwdrobnoustrojową, jednak ich rola w indukowaniu oporności nie jest do końca poznana. Do tej klasy zalicza się laktoferynę z laktoferyny, kazocydynę z kazeiny a także fragmenty ludzkiej hemoglobiny — lizozym. Laktoferyny są ważnym elementem decydującym o odporności naturalnej, tworzą bowiem pierwszą linię obrony, głównie przeciwko patogenom wnikającym do organizmu przez błony śluzowe [32]. Laktoferyna wykazuje właściwości przeciwnowotworowe w stosunku do kilku typów nowotworów, m.in. jest skuteczna w walce z białaczką [33].

Boman zaproponował mniej rozbudowaną klasyfikację peptydów AMP [16]. Wyróżnił tylko trzy grupy: α -helikalne peptydy liniowe bez cystein, peptydy z trzema mostkami disulfidowymi oraz peptydy bogate w tryptofan, bez cystein. Peptydy AMP można podzielić również na podstawie funkcji na następujące trzy grupy: peptydy niszczące strukturę ściany komórkowej, peptydy wiążące pierwiastki oraz peptydy działające destrukcyjnie na membrany bakteryjne. Do pierwszej grupy należą m.in. lizozym oraz serprocydyna. Drugą reprezentują laktoferyna, kalprotektyna, hepicydyna. Trzecia grupa, najliczniejsza, to: defensyny, katelicyna, protegryny a także PR-39 i bakteriocyna [34].

Mechanizmy działania naturalnych peptydów przeciwdrobnoustrojowych

Mechanizmy działania naturalnych peptydów przeciwdrobnoustrojowych, szeroko dyskutowane w litera-

turze, opierają się przede wszystkim na elektrostatycznym oddziaływaniu peptydu z powierzchnią błony komórkowej. Peptydy AMP najczęściej dezintegrują osłony komórkowe, uszkadzając i wytwarzając w ich wnętrzu kanały, co prowadzi do zniszczenia komórek. Powoduje to zmianę pH, zaburzenia potencjału błonowego, równowagi osmotycznej oraz procesów oddychania [35]. Co istotne, peptydy AMP nie działają na błony komórkowe gospodarza ponieważ błona komórkowa ssaków różni się budową od błony komórkowej organizmów niższych, takich jak bakterie. Różne są także ładunki umieszczone na błonie komórkowej. Tę różnicę rozpoznają peptydy należące do endogennego systemu odpornościowego ssaków. Peptydy AMP posiadają ładunek wielokrotny na skutek występowania w ich strukturze zasadowych aminokwasów.

Można wyróżnić cztery podstawowe mechanizmy destrukcyjnego działania peptydów AMP [36]:

- „dywanowy” (*carpet mechanism*),
- „klepek beczki” (*barrel stave*),
- „pierścieniowy” (*toroidal pore model*),
- „nieuporządkowanych pierścieniowych porów” (*disordered toroidal pore model*).

Mechanizm „dywanowy” zakłada, że peptydy oddziałują elektrostatycznie z głowami fosfolipidowymi w wielu miejscach i szczelnie pokrywają powierzchnię błony, co prowadzi do jej destabilizacji [37]. Dochodzi do zmniejszenia potencjału błonowego i uwolnienia składników cytoplazmy na zewnątrz komórki. Na skutek zerwania wiązań lipidowych następuje zniszczenie warstwy lipidowej, tworzą się odpowiednie micelle, składające się z fragmentów błony lipidowej [38]. Peptydem o działaniu dywanowym jest m.in. cytropina 1.1 i aureliany 1.2 i 2.5 [39].

Peptydy α -helikalne tworzą w membranie wiązkę z kanałem w środku, przypominającą beczkę zbudowaną z klepek. Stąd nazwa mechanizmu — „klepek beczki”. Hydrofobowe części helisy ustawiają się w sąsiedztwie lipidów błonowych. Na skutek związania hydrofilowego fragmentu peptydu z hydrofilowymi fragmentami lipidów powstaje wewnętrzna część szczeliny. Ukształtowanie się porów w błonie prowadzi do wycieku składników cytoplazmy i zmniejszenia potencjału błonowego [40]. Według tego mechanizmu działa m.in. gramicydyna A i alametycyna [41].

Według mechanizmu „pierścieniowego” działają magaininy i protegryny. Peptydy te są zdolne do wnikiwania między dwie warstwy błony tak, że pojedyncza warstwa fosfolipidowa zagina się do środka i tworzy szczelinę. Jest to możliwe dzięki temu, że peptyd podczas przechodzenia przez błonę dwuwarstwową jest nierozzerwalnie połączony z polarnymi częściami lipidów. W szczelinie znajdują się głowy lipidowe oraz peptydy [42].

Peptydy, których aktywność przeciwdrobnoustrojowa jest związana z mechanizmem „nieuporządkowanych pierścieniowych porów”, mogą być zakotwiczone

w błonie pod różnym kątem a nie prostopadle do błony jak w mechanizmie „pierścieniowym” [35, 43].

Z niektórych „piesień literaturowych wynika, że opisane mechanizmy działania peptydów przeciwbakteryjnych, mimo bardzo intensywnych badań, nie do końca wyjaśniają obserwowane zjawiska [44]. Zauważono bowiem, że wiele peptydów wykazuje zdolność do przenikania przez błonę cytoplazmatyczną i do kumulacji wewnątrz komórki. Udowodniono, że peptydy AMP interkalują z DNA i powodują zaburzenia w jego strukturze. Następuje zmiana kąta skręcenia helisy, zmiany odległości między parami zasad oraz średnicy cząsteczki DNA. Prowadzi to do zahamowania skutecznej replikacji i transkrypcji. Stopień uszkodzenia DNA, jako matrycy genetycznej, zależy od struktury peptydu AMP [19]. Defensyny HNP-1, HNP-2 są zdolne do redukcji DNA i RNA oraz do syntezy białek, defensyna HNP-1 zaś — do hamowania syntezy β -galaktozydazy [45]. Stwierdzono, że ludzka defensyna α osiąga swoją toksyczność wobec *Trypanosoma cruzi* na drodze utworzenia porów w błonie komórkowej oraz w błonie wici a następnie na skutek zapoczątkowania fragmentacji DNA jądra komórkowego [46]. Niektóre peptydy przeciwdrobnoustrojowe wykazują także aktywność związaną z blokowaniem enzymów [47].

Do niewątpliwych zalet niektórych peptydów AMP należy zdolność do wiązania się z lipopolisacharydem LPS, dzięki czemu zapobiegają skutkom wstrząsu septycznego [48–50].

Oporność bakterii na działanie peptydów przeciwdrobnoustrojowych

Drobnoustroje mają zdolność wykształcania mechanizmów obronnych pozwalających na uniknięcie ataku znanych, wcześniej stosowanych substancji. Uodparnianie się drobnoustrojów na peptydy AMP jest jednak procesem niezwykle powolnym. Ewolucyjne zmiany dotyczą zarówno peptydów AMP, jak i samych drobnoustrojów. Na podstawie porównania czasu ekspozycji drobnoustrojów na działanie peptydów AMP (liczonego praktycznie biorąc od początku istnienia organizmów wytwarzających AMP) z czasem oddziaływania na nie antybiotyków (liczonym od chwili ich wprowadzenia do lecznictwa) a także częstotliwości takich oddziaływań, można stwierdzić, że oporność mikroorganizmów na peptydy AMP jest nieznaczna. Natomiast, po ponad osiemdziesięciu latach stosowania, liczna grupa antybiotyków jest już dziś całkowicie nieskuteczna.

Ze względu na niezwykle powolny, ale jednak przebiegający proces uodparniania się drobnoustrojów na peptydy AMP, należy przeanalizować mechanizmy prowadzące do ograniczenia wiązania i wbudowywania się peptydu AMP w błonę komórkową drobnoustrojów oraz zmiany w przepuszczalności błony cytoplazmatycznej [51]. Jednym z zaobserwowanych zjawisk powodujących narastanie oporności jest zmiana polaryzacji błony mik-

roorganizmów na kationową, występująca, m.in. u szczepów *Staphylococcus aureus* i *Salmonella enterica* [52]. Modyfikacja zewnętrznej błony komórkowej następuje na skutek acylacji lipidu A lipopolisacharydu, opisanej w przypadku np. *Salmonella enterica* [53] a także *Staphylococcus aureus* [54]. Wytwarzanie otoczek polisacharydowych to kolejny mechanizm budowania oporności mikroorganizmów, ważny zwłaszcza w przypadku indukowania oporności na β -defensyny przez *Klebsiella pneumoniae* [55]. Innym możliwym sposobem nabywania oporności na działanie AMP jest produkcja enzymów mających zdolność degradacji peptydów AMP. Enzymy takie wytwarzają bakterie z rodziny *Proteus*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Enterococcus* i *Streptococcus* [56]. Wiele patogenów ma pompy wyrzutowe (*efflux pumps*) o aktywności zależnej od stężenia jonów potasu, dzięki czemu jest możliwe usuwanie, np. defensyn, z komórki bakteryjnej, a jednocześnie pobieranie jonów potasu do jej wnętrza [57].

PEPTYDY AMP JAKO ŹRÓDŁO LEKÓW

Peptydy AMP stanowią źródło inspiracji do opracowania nowej grupy leków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Dokładne poznanie procesów życiowych jest podstawą stwarzającą możliwość wykorzystania peptydów AMP jako naturalnych wzorców leków. Postęp ewolucyjny doprowadził do ogromnego zróżnicowania budowy peptydów AMP a to z kolei, do niewielkiej — co najważniejsze — oporności szczepów bakterii na ich działanie [10]. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa jest warunkowana dodatnim ładunkiem cząsteczki oraz możliwością przyjmowania przez nią struktury amfipatycznej (zazwyczaj prawie połowa cząsteczki jest hydrofobowa). Peptydy AMP są uważane za doskonałe leki o działaniu bakteriostatycznym lub bakteriobójczym, zachowujące zdolność do neutralizacji uwalnianych przez bakterię endotoksyn [58]. Podstawą aktywności bakteriobójczej i bakteriostatycznej tej grupy peptydów jest możliwość ich oddziaływania z błoną komórkową drobnoustrojów [59]. Ustalono, że struktury peptydów AMP są bogate w aminokwasy zasadowe, takie jak: lizyna, histydyna czy arginina oraz aminokwasy o resztach lipofilnych/aromatycznych.

W warunkach ograniczonego dostępu do materiału biologicznego alternatywą jest synteza chemiczna poszukiwanych związków. Nowoczesne techniki syntezy peptydów pozwalają na efektywne uzyskanie różnorodnej grupy tych związków. Prawdopodobnie jednak proste odtworzenie sekwencji aminokwasowej nie wystarczy. Najczęściej naturalne peptydy przeciwdrobnoustrojowe uzyskują swoją aktywność w organizmie na drodze synergii łączącej działanie peptydu z jego umiejscowieniem — wewnątrzleukocytarnym lub wewnątrz nabłonkowym. Ważne jest opracowanie właściwego sposobu podania leku, tak aby skutecznie dotarł do komórki docelowej [20]. Zsyntetyzowany chemicznie peptyd powinien

pokonać bariery biologiczne i znaleźć się w miejscu zakażenia. Biorąc pod uwagę rozmiary cząsteczki oraz jej duży ładunek dodatni, należy się spodziewać oczekiwanego powolnego przenikania peptydu do tkanek. Odpowiednio zaprojektowane małowładczkowe peptydy syntetyczne pozwalają na dość dużą swoistość wiązania z określoną komórką docelową [60]. Poznanie mechanizmów działania naturalnych peptydów przeciwbakteryjnych oraz określenie elementów strukturalnych odpowiedzialnych za aktywność biologiczną umożliwi odtworzenie ich przy użyciu innych aktywnych antybiotyków peptydowych. Obecnie powszechnymi postaciami leków peptydowych AMP są kremy, maści do stosowania miejscowego oraz preparaty do płukania ust [61].

Syntetyczne peptydy przeciwdrobnoustrojowe

Zastosowanie technik chemii kombinatorycznej pozwala na szybkie syntetyzowanie homologicznych rodzin peptydowych, przetestowanie ich właściwości biologicznych oraz skuteczną interpretację zależności pomiędzy strukturą peptydu a jego aktywnością przeciwdrobnoustrojową. W wyniku przeszukiwania biblioteki związków składających się z aminokwasów: Lys, Leu, Val, Phe, Ser, Glu, Pro, i tworzących wyłącznie 10-peptyd, uzyskano związek KLS2 (KKVVFVKFK-NH₂) wykazujący wysoką aktywność przeciwbakteryjną i szerokie spektrum działania [62, 63]. Analogiczną technikę z powodzeniem zastosowano do otrzymania aktywnego 18-peptydu YLK (YKLLKLLKLLKLLKLLKLLK-NH₂) [64, 65].

Szczególnie interesującą grupą związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym są syntetyczne lub półsyntetyczne, kationowe lipopeptydy. Ich strukturę zaprojektowano opierając się na cechach strukturalnych naturalnych peptydów AMP. Przedstawicielem wspomnianej grupy jest daptomycyna, która wiąże się z błonami komórkowymi drobnoustrojów (zarówno w fazie wzrostu, jak i stacjonarnej) w wyniku czego następuje ich depolaryzacja i jednoczesna ucieczka jonów potasu. W konsekwencji dochodzi do zahamowania syntezy białek, RNA, DNA oraz śmierci komórki — w nieznanym stopniu spowodowanej cytolizą. Preparat wykazuje też aktywność wobec bakterii Gram(+). Niektórzy badacze sugerują, że działanie daptomycyny jest związane z zahamowaniem syntezy peptydoglikanów lub kwasu lipoteichowego, stanowiącego element ściany komórkowej [66]. Daptomycynę dopuszczono w Stanach Zjednoczonych i w Europie do leczenia skomplikowanych zakażeń skóry i tkanek miękkich, wywoływanych przez *Staphylococcus spp.* i *Streptococcus spp.*, oraz infekcyjnego zapalenia wsierdza i bakteriemii wywoływanych przez *Staphylococcus aureus* [67, 68].

Wiele firm farmaceutycznych prowadzi intensywne badania nad zastosowaniem peptydów przeciwdrobnoustrojowych w terapii różnych schorzeń. Szereg związków przedstawionych poniżej znajduje się w fazie badań klinicznych lub przedklinicznych.

Analog indolicydyny, MBI-594AN, jest aktywny w leczeniu trądziku [69]. Zakończono III fazę badań klinicznych. Charakteryzuje się dużą aktywnością wobec bakterii *Propionibacterium agnes*, której oporność wobec stosowanych obecnie antybiotyków gwałtownie rośnie. *Propionibacterium agnes* wykazuje oporność na erytromycyny, klindamycyny i inne antybiotyki [70].

Równie obiecujące badania dotyczą preparatu o roboczej nazwie MBI-226 (12-peptyd), będącego analogiem indolicydyny, aktywnej w przypadku zakażeń związanych ze stosowaniem cewników [71, 72].

Peptyd P113 — analog histatyny — wykazuje aktywność wobec bakterii Gram(+) i Gram(-) oraz grzybów z rodziny *Candida albicans* [73]. Przeszedł pomyślnie I i II etap badań klinicznych dotyczących stosowania go w leczeniu kandydozy jamy ustnej pacjentów zakażonych wirusem HIV [69].

Niepowodzeniem zakończył się III etap badań klinicznych peptydu o roboczej nazwie MSI-78. Jest to syntetyczny analog magaininy, o szerokim spektrum działania, wykazujący aktywność wobec bakterii *Helicobacter pylori* [74]. MSI-78 był przewidziany do leczenia wielobakteryjnych zakażeń w przypadku stopy cukrzycowej [75–77].

Syntetyczny analog protegryny-1, IB-367, przeszedł II fazę badań klinicznych, jako składnik płynu przeciwinfekcyjnego, w leczeniu zapalenia błony śluzowej jamy ustnej [28, 78]. Po zakończeniu trzeciego etapu zawrócono go jednak ponownie do drugiego etapu badań klinicznych [79].

DENDRYMERY PEPTYDOWE

Dendrymery to stosunkowo nowe, rozgałęzione polimery, zbudowane z centralnego rdzenia, koncentrycznie rozmieszczonych elementów rozgałęziających oraz grup funkcyjnych znajdujących się na powierzchni peptydu. Nazwa dendrymery pochodzi od greckiego słowa *dendron* — drzewo. W literaturze spotkać można także określenie arborole, od łacińskiego słowa *arbor* — drzewo lub związki kaskadowe.

Dendrymery stanowią struktury topologiczne często występujące na naszej planecie. Niezliczone przykłady takich struktur można znaleźć w nieożywionych systemach, są to np. ślad po błysku pioruna, kryształek śniegu, w świecie biologii — gałęzie drzew, korzenie roślin, struktury raf koralowych, system naczyń krwionośnych, neurony [80].

Koncepcję cyklicznie następujących po sobie reakcji chemicznych prowadzących do otrzymania kaskadowo-rozgałęzionej cząsteczki, jako pierwszy w roku 1978 opisał F. Vögtle [81]. Metoda ta, później nazwana „metodą rozbieżną”, dawała z niewielką wydajnością trudny w izolowaniu produkt o budowie rozgałęzionej.

Za twórcę nowej grupy rozgałęzionych, dobrze zdefiniowanych strukturalnie makrocząsteczek jest uważany D.A. Tomalia. W roku 1985 opublikował on pracę, w któ-

rej opisał metodę syntezy dendrymeru poliamidoaminowego (PAMAM), nazwaną później „rozbieżną” [82, 83]. Pod koniec lat osiemdziesiątych do rozwoju syntezy dendrymerów przyczynili się badacze skupieni wokół Frécheta i Hawkera [84–86]. W czasie, w którym pojawiły się pierwsze doniesienia o syntezie dendrymerów, M. Maciejewski [87] i, rok później, J. P. De Gennes i H. Hervet [88] przedstawili analizę teoretyczną ich możliwej struktury przestrzennej. Szczególną uwagę zwrócono na problem gwałtownie rosnącej, z generacji na generację, liczby merów, podczas gdy dostępna dla nich przestrzeń rośnie proporcjonalnie do liniowego wymiaru meru w potęgze trzeciej.

Dendrymery znalazły zastosowanie w badaniach medycznych, głównie jako mimetyki białek, media transportujące środki farmaceutyczne przez bariery biologiczne, leki przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciw-wirusowe, a także przeciwnowotworowe. Obecne są także w terapii genowej, jako związki pracujące w kompleksach typu „gość – gospodarz”, czynniki kontrastujące, wskaźniki różnych jonów metali.

Spośród bardzo zróżnicowanej rodziny dendrymerów należy wyróżnić dendrymery peptydowe. Są to związki składające się wyłącznie z reszt aminokwasowych lub stanowiące połączenie cząstek organicznych z resztami aminokwasowymi. Wielofunkcyjność takich konstrukcji, a także łatwość otrzymywania, teoretycznie pozwalają na szerokie zastosowanie ich w biotechnologii a także biochemii i biomedycynie.

Rozgałęzione peptydy tworzące struktury dendrymeryczne są syntetyzowane przede wszystkim na bazie lizyny jako elementu rozwijającego, ponieważ zawiera ona dwie grupy aminowe zdolne do generowania rozgałęzienia. Ze względu na zasadowość dendrymery lizynowe wykazują powinowactwo do ujemnie naładowanych membran biologicznych oraz cząsteczek z udziałem np. ugrupowania fosforanowego. Dzięki temu stanowią podstawę do syntezy nośników DNA. Przykładowo dendrymer zawierający 8 lub 16 końcowych grup aminowych zmieszany z plazmidem DNA utworzy kompleks dendrymer-DNA, zdolny do efektywniejszego oddziaływania z komórkami niż niemodyfikowany DNA [89–91].

Strategię multiplikowania aktywnych farmakoforów na dendrymerach skutecznie wykorzystano do otrzymywania makrocząsteczki o właściwościach przeciwbakteryjnych. Dołączenie do dendrymeru polilizynowego 2–8 kopii naturalnego bakteriostatycznego cztero-peptydu R4 (RLYR) lub ośmiopeptydu R8 (RLYRKVYG), aktywnych fragmentów naturalnych liniowych peptydów – protegryny i tachyplesyny – pozwoliło na uzyskanie związku biologicznie czynnego [92]. Polilizynowy dendrymer z przyłączonymi resztami mannozy efektywnie inhibuje adhezję komórek *Escherichia coli* do komórek krwi koni, dzięki czemu jest aktywnym związkiem bakteriostatycznym [93]. Dendrymer lizynowy IV generacji, modyfikowany 32 grupami disiarczyny naftyli, okazał

się skutecznym lekiem przeciwko wirusowi opryszczki zwykłej – *herpes simplex virus* [94].

Opracowane przez J. Janiszewską oraz Z. Urbańczyk-Lipkowską małowcząsteczkowe dendrymery peptydowe stanowią unikatową rodzinę dendrymerów charakteryzujących się dużą aktywnością przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą [95–98]. Właściwości małowcząsteczkowych dendrymerów peptydowych przeczą teorii, że dendrymer pełni funkcję jedynie biernego szkieletu, na którego bazie można uzyskać związek aktywny przeciwdrobnoustrojowo, w wyniku sfunkcjonalizowania jego powierzchni zewnętrznej grupami aktywnymi. Wykazano, że właściwości zsyntetyzowanych małowcząsteczkowych dendrymerów peptydowych są wprost zależne od budowy szkieletu makrocząsteczki. Dzięki odpowiedniej konstrukcji dendrymer jest aktywnym związkiem *per se*, a nie jedynie matrycą do multiplikowania elementów aktywnych [96]. Grupy oddziałujące komplementarnie z miejscem wiążącym mogą być wybierane z różnych miejsc gałęzi drzewa dendrymerowego, a modyfikacji podlega nie tylko powierzchnia dendrymeru, ale również jego wnętrze. Grupy funkcyjne aktywnych biologicznie liniowych peptydów są odpowiednio rozmieszczone w przestrzeni, dzięki jednej ze struktur przyjmowanych przez łańcuch peptydowy. Taki układ nazwano „farmakoforem ciągłym”, ponieważ tworzą go wybrane reszty aminokwasowe połączone ze sobą poprzez łańcuch peptydowy. Liniowe peptydy zazwyczaj są labilne, a na ich strukturę wpływają różne czynniki, m.in. pH, obecność lipidów, białek, cukrów. Struktura aktywna stanowi więc jedynie część konformacji, które może przybrać peptyd. Autorki założyły i wykazały prawdziwość teorii, że zwiększenie ilości grup aktywnych w przestrzeni topologicznie równoważnej, daje szansę w dendrymerach peptydowych (w przeciwieństwie do liniowych peptydów) na topograficzną substitucję grup oddziałujących z miejscem wiążącym. Model współdziałania grup znajdujących się wewnątrz struktury dendrymeru nazwano modelem „farmakoforu nieciągłego” [96]. Dzięki szczególnemu topograficznemu rozmieszczeniu grup funkcyjnych szkieletu lizynowego uzyskuje się wysoką aktywność biologiczną związków, towarzyszącą stosunkowo niewielkiej liczbie reszt aminokwasowych w cząsteczce peptydu [96].

PODSUMOWANIE

Rosnąca oporność mikroorganizmów na działanie antybiotyków, wprowadzonych w latach 40. XX w., znacznie ogranicza możliwości leczenia pacjentów. Zakażenia szpitalne stanowią istotny odsetek powikłań okołooperacyjnych. Choroby wywołane w wyniku niekontrolowanego rozwoju drobnoustrojów są przyczyną śmierci ponad 11 milionów ludzi rocznie [99]. Najczęściej są to zakażenia wirusem HIV oraz powikłania bakteryjne związane z obniżoną odpornością pacjenta chorego na AIDS [100]. Jednocześnie liczba nowych antybiotyków

zmniejsza się drastycznie. W latach 1983–1987 opracowano 16 substancji, w latach 1993–1997 – 10, w latach 1998–2002 – 7, a latach 2008–2012 – już tylko 2 substancje o działaniu antybiotycznym [101, 102]. Obecnie najczęściej badań dotyczy poszukiwania nowoczesnych analogów związków już wykorzystywanych w lecznictwie. Tylko dwa, opracowane w ostatnich latach antybiotyki: daptomycyna i linezolid, są związkami działającymi według nowych mechanizmów bójczych. Pojawienie się w szpitalach wieloopornych szczepów, takich jak: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* i inne, wpłynęło na wzrost zapotrzebowania na nowe leki skuteczne w leczeniu zakażeń o tej etiologii. Odsetek szczepów opornych (MRSA) wzrósł z 36 % w 1992 roku do 62 % w 2002 roku [103]. Według *European Academies Science Advisory Council* (EASAC), w 2007 roku w Europie zanotowano ok. 175 tys. udokumentowanych przypadków śmierci w wyniku szpitalnych zakażeń szczepami drobnoustrojów odpornych na stosowane terapie. Intensyfikuje się więc badania genomu mikroorganizmów chorobotwórczych (*genomic approaches*) oraz prace zmierzające do rozwoju szczepionek.

Działanie endogennych peptydów przeciwdrobnoustrojowych na szerokie spektrum mikroorganizmów stało się inspiracją do poszukiwania nowych antybiotyków o znaczeniu klinicznym. Coraz częściej podejmowane są próby wykorzystania aktywnych peptydów w leczeniu zakażeń związanych z biofilmem [104]. Bakterie tworzące biofilm cechuje bowiem zwiększona oporność na działanie szeregu antybiotyków. Na przykład penicylina, jest rozkładana przez β -laktamazy nim dostanie się do głębszych warstw biofilmu. Peptydy AMP są bardziej skuteczne: Temporyna A jest aktywna w leczeniu przewlekłe zainfekowanych ran [105], Cetropina 1.1 zwalcza infekcje odcewnikowe wywołane przez *Staphylococcus aureus* [106], natomiast IB-367 jest aktywny wobec biofilmów formowanych przez bakterie Gram(+) [107].

Obiecującymi syntetycznymi peptydami przeciwdrobnoustrojowymi są małowcząsteczkowe dendrymery peptydowe, których charakterystyczna architektura molekularna pozwala na tworzenie aktywnych przeciwdrobnoustrojowo cząsteczek, w wypadku niewielkiej ilości tworzących je reszt aminokwasowych. Skraca to znacznie czas potrzebny na wytworzenie cząsteczki aktywnej, co jest istotne ze względów ekonomicznych [108].

Syntetyczne analogi peptydów przeciwdrobnoustrojowych stanowią cenną alternatywę dla antybiotyków dotychczas stosowanych. Właściwe wykorzystanie biologicznych mechanizmów działania peptydów przeciwdrobnoustrojowych może się przyczynić nie tylko do skutecznej terapii wielu chorób, ale także do ich profilaktyki. Leki na bazie peptydów AMP mogą być wykorzystane jako samodzielne związki, lub składniki preparatów złożonych, w których wykorzystuje się synergiję działania peptydów z konwencjonalnymi lekami oraz jako peptydy immunomodulujące lub neutralizujące endotoksynę.

LITERATURA

- [1] Lopez A.D., Mathers C.D., Ezzati M., Jamison D.T., Murray C.J.: *Lancet* **2006**, 367, 9524, 1747. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68770-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68770-9) [2] Gabay J.E.: *Science* **1994**, 264, 373. <http://dx.doi.org/10.1126/science.8153623> [3] Skarnes R.C., Watson D.W.: *J. Exp. Med.* **1956**, 104, 829. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.104.6.829> [4] Hirsh J.G., Cohn Z.A.: *J. Exp. Med.* **1960**, 112, 1005. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.112.6.1005> [5] Porter E.A., Wang X., Lee H.S., Weisblum B., Gellman S.H.: *Nature* **2000**, 405, 565. <http://dx.doi.org/10.1038/35007145> [6] Ganz T., Selsted M.E., Harwig S.S., Daher K., Bainton D.F., Lehrer R.I.: *J. Clin. Invest.* **1985**, 76, 1427. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI112120> [7] Selsted M.E., Harwig S.S., Ganz T., Schilling J.W., Lehrer R.I.: *J. Clin. Invest.* **1985**, 76, 1436. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI112121> [8] Antimicrobial Peptide database (APD), Antimicrobial Sequence Database (AMSDb). [9] Kamysz W.: *Nucl. Med. Rev.* **2005**, 8 (1), 78. [10] Bulet P., Stocklin R., Menin L.: *Immunol. Rev.* **2004**, 198, 169. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.0124.x> [11] Broekaert W.F., Terras F.R., Cammue B.P., Osborn R.W.: *Plant Physiol.* **1995**, 108, 1353. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.108.4.1353> [12] Yeaman M.R., Yount N.: *Pharmacol. Rev.* **2003**, 50, 27. <http://dx.doi.org/10.1124/pr.55.1.2> [13] Boman H.G.: *Annu. Rev. Immunol.* **1995**, 13, 61. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.iy.13.040195.000425> [14] Guni-Guerra E., Lugo-Reyes S., Teran L.M.: *Immunol.* **2010**, 135, 1. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2009.12.004> [15] Mookherjee N., Hancock R.E.: *Cell. Mol. Life Sci.* **2007**, 64, 922. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-007-6475-6> [16] Boman H.G.: *J. Internal Med.* **2003**, 254, 197. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2796.2003.01228.x> [17] Hancock R., Diamond G.: *Trends Microbiol.* **2000**, 8, 402. [http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01823-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01823-0) [18] Bals R.: *Respir. Res.* **2001**, 1, 141. <http://dx.doi.org/10.1186/rr25> [19] Brogden K.A.: *Nat. Rev. Microbiol.* **2005**, 3, 238. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1098> [20] Witkowska D., Bartys A., Gamian A.: *Postępy Hig. Med. Dośw.* **2008**, 62, 694. [21] Dennison S.R., Howe J., Morton L.H., Brandenburg K., Harris F., Phoenix D.A.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2006**, 347, 1006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.06.181> [22] Całkosiński I., Zasadowski A., Bronowicka-Szydełko A., Dzierzba K., Seweryn E., Dobrzyński M., Gamian A.: *Postępy Hig. Med. Dośw.* **2009**, 63, 537. [23] Zasloff M.: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1987**, 15, 5449. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.84.15.5449> [24] Mader S., Hoskin D.W.: *Expert Opin. Invest. Drugs* **2006**, 15, 933. <http://dx.doi.org/10.1517/13543784.15.8.933> [25] Lehmann J., Retz M., Sidhu S.S., Suttman H.: *Eur. Urol.* **2006**, 50, 141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eururo.2005.12.043> [26] Aerts A.M., Francois I.E., Cammue B.P., Thevissen K.: *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, 65, 2069. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-008-8035-0> [27] Zhao C., Ganz T., Lehrer R.I.: *FEBS Lett.* **1995**, 368, 197. <http://dx.doi.org/10.1016/>

- 0014-5793(95)00633-K [28] Giacometti A., Cirioni O., Ghiselli R., Mochcegianni F., Viticchi C., Orlando F.: *Peptides* **2003**, 24, 1747. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2003.07.027> [29] Papo N., Shai Y.: *J. Biol. Chem.* **2005**, 18, 10 378. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M412865200> [30] Ouellette A.J., Hsieh M.M., Nosek M.T., Cano-Gauci D.F., Huttner K.M.: *Infect. Immun.* **1994**, 62, 5040.
- [31] Ganz T.: *Science* **2002**, 298, 977. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1078708> [32] Strate B.W., Beljaars L., Molema G.: *Antiviral Res.* **2001**, 52, 225. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-3542\(01\)00195-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-3542(01)00195-4) [33] Gifford J.L., Hunter H.N., Vogel H.J.: *Cell. Mol. Life Sci.* **2005**, 62, 2588. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-005-5373-z> [34] Niedzwiedzka-Rystwej P., Mękal A., Deptula W.: *Alergia Astma Immunologia* **2010**, 15 (1), 35. [35] Melo M.N., Ferre R., Castanho M.A.: *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, 7, 245. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2095> [36] Nguyen L.T., Haney E.F., Vogel H.J.: *Trends Biotechnol.* **2011**, 29 (9), 464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.05.001> [37] Ganz T.: *Nat. Rev. Immunol.* **2003**, 3, 710. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1180> [38] Marcotte I., Wegener K.L., Lam Y.H., Chia B.C., de Planque M.R., Bowie J.H., Auger M., Separovic F.: *Chem. Phys. Lipids* **2003**, 122, 107. [http://dx.doi.org/10.1016/S0009-3084\(02\)00182-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0009-3084(02)00182-2) [39] Dennison S.R., Morton L.H., Shorrocks A.J., Harris F., Phoenix D.A.: *Colloids Surf., B* **2009**, 68, 225. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.10.007> [40] Powers J.P., Hancock R.E.: *Peptides* **2003**, 24, 1681. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2003.08.023>
- [41] Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E.: *Clin. Microbiol. Rev.* **2006**, 19, 491. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00056-05> [42] Sato H., Feix J.B.: *Biochim. Biophys. Acta* **2006**, 1758, 1245. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.02.021> [43] Sengupta D., Leontiadou H., Mark A.E., Marrink S.J.: *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, 1778, 2308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.06.007> [44] Palfy R., Gardlik R., Behuliak M., Kadasi L., Turna J., Celec P.: *Mol. Med.* **2009**, 15, 51. <http://dx.doi.org/10.2119/molmed.2008.00087> [45] Cudic M., Otvos L.: *Curr. Drug Targets* **2002**, 3, 101. <http://dx.doi.org/10.2174/1389450024605445> [46] Nia M., Madison, Kleshchenko Y.: *Infect. Immun.* **2007**, 75, 4780. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00557-07> [47] Otvos L., Rogers M.E., Consolvo P.J., Condie B.A., Lovas S., Bulet P., Blaszczyk-Thurin M.: *Biochemistry* **2000**, 39, 14 150. <http://dx.doi.org/10.1021/bi0012843> [48] Giacometti A., Cirioni O., Ghiselli R., Orlando F., Mochcegianni F. i in.: *J. Chemother.* **2003**, 15 (2), 129. <http://dx.doi.org/10.1179/joc.2003.15.2.129> [49] Hancock R.E., Capple D.S.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43 (6), 1317. [50] Gough M., Hancock R.E., Kelly N.M.: *Infect. Immun.* **1996**, 64 (12), 4922.
- [51] Peschel A., Collins L.V.: *Peptides* **2001**, 22, 1651. [http://dx.doi.org/10.1016/S0196-9781\(01\)00500-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0196-9781(01)00500-9) [52] Philippott M.P.: *Mol. Immunol.* **2003**, 40, 457. [http://dx.doi.org/10.1016/S0161-5890\(03\)00154-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0161-5890(03)00154-8) [53] Guo L., Lim K.B., Gunn J.S., Bainbridge B., Darveau R.P., Hackett M., Miller S.I.: *Science* **1997**, 276, 250. <http://dx.doi.org/10.1126/science.276.5310.250> [54] Fedtke I., Gotz F., Peschel A.: *Int. J. Med. Microbiol.* **2004**, 294, 189. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2004.06.016> [55] Moranta D., Regueiro V., March C., Llobet E., Margareto J., Larrate E., Garmendia J., Bengoechea J.A.: *Infect. Immun.* **2010**, 78, 1135. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00940-09> [56] Schmid-tchen A., Frick I. M., Andersson E., Tapper H., Bjorck L.: *Mol. Microbiol.* **2002**, 422, 157. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2002.03146.x> [57] Mason K.M., Munson R.S., Bakaletz L.O.: *Infect. Immun.* **2005**, 73, 599. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.73.1.599-608.2005> [58] Chen X., Howe J., Andra J., Rossle M., Richter W. i in.: *Biochim. Biophys. Acta* **2007**, 1768, 2421. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.05.001> [59] Tossi A., Sandri L., Giangaspero A.: *Pept. Sci.* **2000**, 55, 4. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0282\(2000\)55:1%3C4::AID-BIP30%3E3.3.CO:2-D](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0282(2000)55:1%3C4::AID-BIP30%3E3.3.CO:2-D) [60] Sato A.K., Viswanathan M., Kent R.B., Wood C.R.: *Curr. Opin. Biotechnol.* **2006**, 17, 638. <http://dx.doi.org/10.1016/j.copbio.2006.10.002>
- [61] Mosca D.A., Hurst M.A., So W., Viajar B.S., Fuji C.A., Falla T.J.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, 44, 1803. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.44.7.1803-1808.2000> [62] Hong S.Y., Oh J.E., Kwon M., Choi M.J., Lee J.H., Lee B.L., Moon H.M., Lee K.H.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, 42, 2534. [63] Hong S.Y., Oh J.E., Lee K.H.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43, 1704. [64] Blondelle S., Takahashi E., Houghten R., Perez-Paya E.: *Biochem J.* **1996**, 313, 141. [65] Blondell S., Houghten R.: *Trends Biotechnol.* **1996**, 14, 60. [http://dx.doi.org/10.1016/0167-7799\(96\)80922-X](http://dx.doi.org/10.1016/0167-7799(96)80922-X) [66] Cotroneo N., Harris R., Perlmutter N., Beveridge T., Silverman J.A.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, 52, 2223. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01410-07> [67] Micklefield J.: *Revealed Chem. Biol.* **2004**, 11, 887. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2004.07.001> [68] Nguyen K.T., Ritz D., Gu J.Q., Alexander D., Chu M., Miao V., Brian P., Baltz R.H.: *PNAS* **2006**, 103, 17 462. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0608589103> [69] Vlieghe P., Lisowski V., Martinez J.: *Drug Discover Today* **2010**, 15, 40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2009.10.009> [70] Tan H.H.: *Am. J. Clin. Dermatol.* **2004**, 5, 79. <http://dx.doi.org/10.2165/00128071-200405020-00002>
- [71] Sader H.S., Fedler K.A., Rennie R.P., Stevens S., Jones R.N.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, 48, 3112. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.8.3112-3118.2004> [72] Rubinchik E., Dugourd D., Algara T., Pasetka C., Friedland D.: *Int. J. Antimicrob. Agents* **2009**, 34, 457. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.05.003> [73] Marr A.K., Gooderham W.J., Hancock R.E.: *Curr. Opin. Pharmacol.* **2006**, 6 (5), 468. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2006.04.006> [74] Iwahori A., Hirota Y., Sampe R., Miyano S., Takahashi N. i in.: *Biol. Pharm. Bull.* **1997**, 20, 805. <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.20.805> [75] Hancock R.E., Chapple D.S.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43, 1317. [76] Shanmugam G., Polavarapu P.L., Gopinath D., Jayakumar R.: *Pept. Sci.* **2005**, 80 (5), 636. <http://dx.doi.org/10.1002/bip.20132> [77] Gottler L.M., Rama-

- moorthy A.: *BBA-Protein Struct. M.* **2009**, 1788, 1680. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.10.009> [78] Obrecht D., Robinson J.A., Bisang C., de Marco S.J., Moehle K., Gombert F.O.: *Curr. Med. Chem.* **2009**, 16, 42. <http://dx.doi.org/10.2174/092986709787002844> [79] Gordon Y.J., Romanowski E.G.: *Curr. Eye Res.* **2005**, 30 (7), 505. <http://dx.doi.org/10.1080/02713680590968637> [80] Mizerahi A., Ben-Ner E., Katz M.J., Kedem K., Glusman J.G., Libersat F.: *J. Comp. Neurol.* **2000**, 422, 415. [http://dx.doi.org/10.1002/1096-9861\(20000703\)422:3,415::AID-CNE8.3.0](http://dx.doi.org/10.1002/1096-9861(20000703)422:3,415::AID-CNE8.3.0)
- [81] Buhleier E., Wehner W., Vögtle F.: *Synthesis* **1978**, 155. [82] Tomalia D.A., Dewald J.R., Hall M.J., Martin S.J., Smith P.B.: „Preprints of the 1st SPSJ International Polymer Conference”, *Soc. of Polym. Sci. Japan*, Kyoto 1984, 65. [83] Tomalia D.A., Baker H., Dewald J., Hall M., Kallos G. i in.: *Polym. J.* **1985**, 17, 117. <http://dx.doi.org/10.1295/polymj.17.117> [84] Hawker C.J., Freché J.M.J.: *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1990**, 1010. <http://dx.doi.org/10.1039/c39900001010> [85] Hawker C.J., Freché J.M.J.: *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 7638. <http://dx.doi.org/10.1021/ja00177a027> [86] Freché J.M.J., Jiang Y., Hawker C.J., Philippides A.E.: *Proc. IUPAC Int. Symp., Macromol.* (Seoul) **1989**, 19. [87] Maciejewski M.: *Macromol. Sci., A* **1982**, 17, 689. <http://dx.doi.org/10.1080/00222338208062416> [88] de Gennes J.P., Harvet H.: *J. Phys. Lett.* **1983**, 44, 351. <http://dx.doi.org/10.1051/jphyslet:01983004409035100> [89] Choi J.S., Lee E.J., Jeong Y.J., Park J.S.: *Bioconjug. Chem.* **1999**, 10, 62. <http://dx.doi.org/10.1021/bc9800668> [90] Toth G.K., Varadi G., Nagy Z.: *Pept. Res.* **1993**, 6, 272.
- [91] Shah D.S., Sakthivel T., Toth I., Florence A.T., Wilderspin A.F.: *Int. J. Pharm.* **2000**, 208, 41. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(00\)00534-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00534-2) [92] Tam J.P.: *Eur. J. Biochem.* **2002**, 269, 923. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0014-2956.2001.02728.x> [93] Nagahori N., Lee R.T., Nishimura S., Page D., Roy R., Lee Y.C.: *Chem. Biochem.* **2002**, 3, 836. [http://dx.doi.org/10.1002/1439-7633\(20020902\)3:9<836::AID-CBIC836>3.0.CO;2-2](http://dx.doi.org/10.1002/1439-7633(20020902)3:9<836::AID-CBIC836>3.0.CO;2-2) [94] Bourne N., Stanberry L.R., Kern E.R., Holan G., Matthews B., Bernstein D.I.: *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, 44, 2471. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.44.9.2471-2474.2000> [95] Janiszewska J., Swieton J., Lipkowski A.W., Urbanczyk-Lipkowska Z.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 3711. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.08.009> [96] Janiszewska J., Urbanczyk-Lipkowska Z.: *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, 13, 220. <http://dx.doi.org/10.1159/000104751> [97] Janiszewska J., Sowinska M., Rajnisz A., Solecka J., Urbanczyk-Lipkowska Z.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 1388. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.12.051> [98] Janiszewska J., Sowinska M., Rajnisz A., Solecka J., Urbanczyk-Lipkowska Z.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 5330. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.06.064> [99] The World Health Report — 2003, Geneva 2003. [100] Nagappan V., Kazanjian P.: *HIV Clin Trials* **2005**, 6, 213. <http://dx.doi.org/10.1310/A3Q4-UQQN-X9EN-44HE>
- [101] Spellberg B.: *CID* **2004**, 38 (9), 1279. <http://dx.doi.org/10.1086/420937> [102] Boucher H.W.: *CID* **2009**, **4891**, 1. <http://dx.doi.org/10.1086/595011> [103] Mc Donald L.C.: *CID* **2006**, 42, 65. <http://dx.doi.org/10.1086/499404> [104] Dawgul M., Barańska-Rybak W., Bielinska S., Nowicki R., Kamysz W.: *Alergia Astma Immunologia* **2010**, 15 (4), 220. [105] Simenetti O., Cirioni O., Goteri G.: *Peptides* **2008**, 29, 520. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2007.12.011> [106] Cirioni O., Giacometti A., Ghiselli R.: *Peptides* **2006**, 27, 1210. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2005.10.007> [107] Ghiselli R., Giacometti A., Cirioni O.: *J. Parent Ent. Nur.* **2007**, 31, 463. <http://dx.doi.org/10.1177/0148607107031006463> [108] Bruckdorfer T., Marder O., Albericio F.: *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2004**, 5, 29. <http://dx.doi.org/10.2174/1389201043489620>

Otrzymano 24 IX 2013 r.