

阳离子聚氨基酸的合成及抗菌性能

段雨秀^{1,2}, 万朋奇², 高郭文猎², 张文龙², 邓明琥¹, 肖春生²

(1. 东北师范大学化学学院, 长春 130024;

2. 中国科学院长春应用化学研究所生态环境高分子材料重点实验室, 长春 130022)

摘要 制备了一系列具有不同侧基结构的阳离子聚氨基酸(PALG_n)材料. 这种阳离子聚氨基酸在体外均显示出一定的抗菌活性. 其中, 疏水基团比例为10%, 疏水基团为正丁基结构的 PALG₂₀-Bu₁表现出最佳的抗菌性能, 对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*)的最小抑菌浓度(MIC)为12.5 μg/mL. 进一步的机理研究表明, PALG₂₀-Bu₁能够有效破坏细菌细胞膜的完整性, 导致细菌死亡. 由于这种独特的抗菌机制, PALG₂₀-Bu₁表现出快速的杀菌动力学. 本文工作为治疗临床细菌感染提供了一种新策略.

关键词 细菌感染; 细菌耐药性; 聚氨基酸; 抗菌高分子

中图分类号 O631.1

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20240334

Synthesis and Antibacterial Efficacy of Cationic Polypeptides

DUAN Yuxiu^{1,2}, WAN Pengqi², GAOGUO Wenlie², ZHANG Wenlong²,

DENG Mingxiao^{1*}, XIAO Chunsheng^{2*}

(1. Faculty of Chemistry, Northeast Normal University, Changchun 130024, China;

2. Key Laboratory of Polymer Ecomaterials, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

Abstract A series of cationic poly(α -amino acid)s (PALG_n) materials with different side group structures was synthesized. The synthesized cationic poly(α -amino acid)s exhibited certain antibacterial activity *in vitro*. Among them, poly(γ -allyl-L-glutamate)₂₀-butyl₁(PALG₂₀-Bu₁) with the optimal ratio of cationic/hydrophobic group ratio showed the best antibacterial ability, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 12.5 μg/mL against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Escherichia coli* (*E. coli*). Further mechanistic studies indicated that PALG₂₀-Bu₁ could effectively disrupt the integrity of bacterial cell membranes, leading to bacterial death. Due to this unique antibacterial mechanism, PALG₂₀-Bu₁ exhibited rapid bactericidal kinetics. In summary, this work proposes a promising strategy for the treatment of clinical bacterial infections.

Keywords Bacterial infection; Bacterial resistance; Poly(α -amino acid)s; Antibacterial polymer

细菌感染一直严重威胁着人类的健康^[1,2]. 自1928年第一种抗生素青霉素问世以来, 人们通过化学合成或从天然产物中分离出多种抗生素^[3,4]. 然而, 由于抗生素的滥用, 细菌耐药性正在稳步增强^[5-11]. 根据世界卫生组织估计, 在全球范围内, 每年约有70万人因细菌耐药性而死亡^[12]. 此外, 目前新型抗生素开发进展缓慢, 自1987年以来, 只有一种脂肽类抗生素进入临床^[13], 迫切需要开发新型抗菌药物^[14].

收稿日期: 2024-07-03. 网络首发日期: 2024-08-19.

联系人简介: 邓明琥, 男, 博士, 教授, 主要从事抗菌高分子材料应用方面的研究. E-mail: dengmx330@nenu.edu.cn

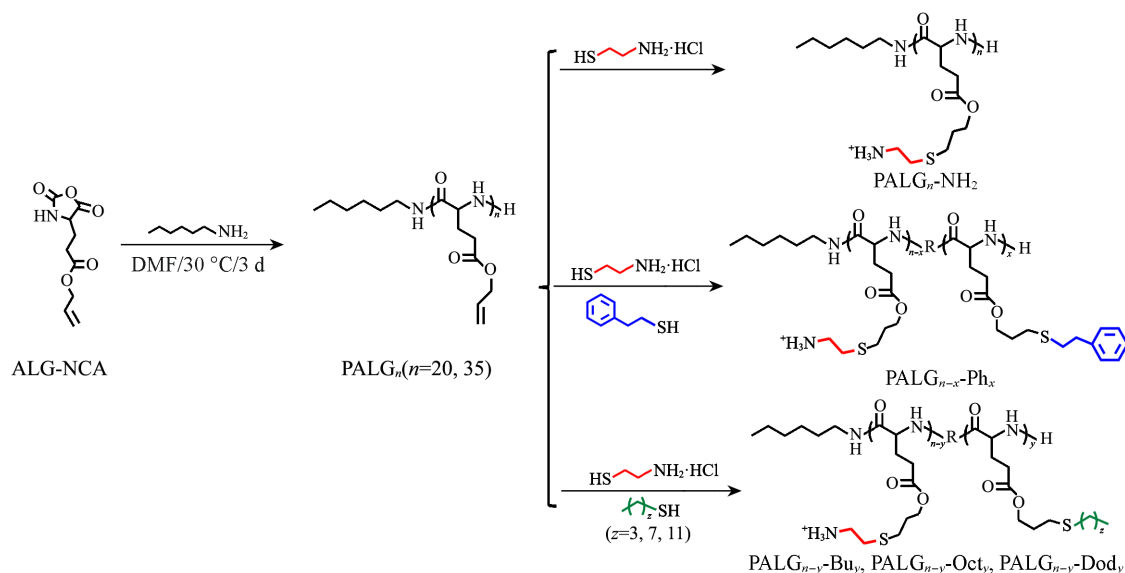
肖春生, 男, 博士, 研究员, 主要从事功能化聚氨基酸的制备及生物医学应用方面的研究. E-mail: xiaocs@ciac.ac.cn

基金项目: 国家优秀青年科学基金(批准号: 52222307)和吉林省科技厅青年成长科技项目(批准号: 20230508153RC)资助.

Supported by the National Science Fund for Excellent Young Scholars of China(No.52222307) and the Youth Growth Technology Project of Jilin Provincial Department of Science and Technology, China(No.20230508153RC).

抗菌肽(AMPs)是一类天然抗菌剂,具有广谱抗菌活性,广泛存在于各种生命体中^[15-20]. 由于具有独特的阳离子和两亲性结构,AMPs可以通过静电和疏水相互作用与带负电的细菌细胞膜结合,破坏细菌细胞膜的完整性,从而杀死细菌,且不易诱导细菌产生耐药性^[21,22]. 然而,由于生产成本低、生物利用度低和对蛋白酶不稳定等缺点,AMPs的临床应用受到了极大限制^[23-25]. 近年来,具有正电荷和疏水结构的阳离子抗菌聚合物被广泛研究,以作为传统AMPs的替代物^[26]. 其中,通过*N*-羧基内酰胺环状单体(NCA)开环聚合获得的聚氨基酸类抗菌高分子材料不仅具有良好的生物降解性和生物相容性,还可以通过丰富的化学手段进行结构修饰,从而获得具有独特结构的聚氨基酸^[22]. 尽管阳离子抗菌聚氨基酸作为一种抗菌剂已经取得了一定的成功,但如何合理设计其结构以获得最佳的抗菌性能和生物相容性仍然是一个亟待解决的问题.

本文利用开环聚合(ROP)和聚合后修饰策略合成了一系列具有不同聚合度(DP)和不同疏水结构的阳离子聚氨基酸(PALG_{*n*}),并系统探究了其抗菌性能(Scheme 1). 其中, PALG₂₀-Bu₁对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*)表现出良好的抗菌活性. 进一步的抗菌机理研究表明, PALG₂₀-Bu₁可以有效破坏细菌细胞膜完整性,导致细菌死亡,并表现出快速的杀菌动力学. 这种阳离子聚氨基酸材料有望为治疗临床细菌感染提供新的思路.



Scheme 1 Schematic illustration of the preparation of cationic polypeptides

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

L-谷氨酸(*L*-Glu)、三光气、甲氧西林(Methicillin)、阿莫西林(Amoxicillin)和安息香二甲醚(DMPA),分析纯,上海阿拉丁生化科技有限公司;烯丙醇,分析纯,山东西亚化工有限公司;硫酸、无水硫酸钠、三乙胺、乙醇和乙酸乙酯,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;正己胺、SYTO™9和碘化丙啶(PI),分析纯,上海Sigma-Aldrich生化技术有限公司;半胱胺盐酸盐、丁硫醇、1-巯基辛烷、2-苯基乙硫醇、1-十二烷硫醇和曲拉通 X-100(Triton X-100),分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、二氯甲烷(CH₂Cl₂)、正己烷和四氢呋喃(THF),分析纯,国药集团化学试剂有限公司,通过溶剂纯化系统(MB SPS-800, MBRAUN, Germany)纯化;*N*-苯基-1-萘胺(NPN)、3,3'-二丙基硫杂二羰花青碘化物[DiSC3(5)]和碘化丙啶(PI),分析纯,上海化成工业发展有限公司;*S. aureus*(ATCC 25923)、*E. coli*(ATCC 25922)和MH琼脂培养基,山东鲁微微生物科技有限公司;L929小鼠肺成纤维细胞,上海一研生物技术有限公司;4%(体积分数)兔血细胞,上海远慕生物科技有限公司;RPMI-1640培养基、磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.4)和噻唑兰(Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT),大连美仑生物技术有限公司.

Zeiss Gemini SEM 500型场发射扫描电子显微镜(SEM), 美国蔡司公司; Varioskan LUX型酶标仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Zetasizer Nano ZS90型纳米粒度电位仪, 英国 Malvern 公司; LSM510型显微镜, 日本尼康公司; Perkin-Elmer LS50B型荧光光谱仪, 美国 PerkinElmer 公司.

1.2 实验过程

1.2.1 PALG_n的合成 参照文献[27]方法制备 γ -烯丙基-L-谷氨酸酯N-羧基环内酸酐(ALG-NCA). 参照文献[28]方法, 以正己胺作为引发剂, 通过ALG-NCA的开环聚合(ROP)合成PALG. 在干燥的烧瓶中, 用10 mL无水DMF溶解0.033 g(0.33 mmol)正己胺; 将1.750 g(8.0 mmol)ALG-NCA溶于15 mL无水DMF中, 加入到正己胺溶液中; 室温搅拌72 h后, 用去离子水透析72 h, 冷冻干燥得到白色粉末状PALG₂₀, 产率为65%. 改变正己胺与ALG-NCA的摩尔比为1:35, 采用相同的方法合成PALG₃₅.

1.2.2 阳离子聚氨基酸的合成 参照文献[19]方法制备阳离子聚氨基酸. 将0.800 g PALG₂₀(含4.74 mmol烯丙基基团)、0.069 g(0.50 mmol)2-苯基乙硫醇和0.400 g(1.56 mmol)光引发剂DMPA溶于50 mL DMF中; N₂气鼓泡30 min, 使用365 nm(15 mW/cm²)的紫外灯照射30 min; 在室温下搅拌24 h后, 加入0.320 g(1.25 mmol)DMPA和1.940 g(17.1 mmol)半胱胺盐酸盐, 使用紫外灯(15 mW/cm²)照射30 min后, 室温搅拌48 h; 将溶液转移到透析袋(M_{wco}=2000)中, 用去离子水透析72 h; 冻干后得到苯乙硫醇修饰疏水侧基的阳离子聚氨基酸(PALG₂₀-Ph₁)白色粉末, 产率为72%. 其它阳离子聚氨基酸的合成见本文支持信息表S1.

1.2.3 体外抗菌性能表征 将*S. aureus*和*E. coli*在37 °C下培养12 h; 然后用4 mL PBS(pH=7.4)清洗2次并稀释至1×10⁶ CFU/mL; 将100 μL菌液加入到96孔板中, 随后将PBS(pH=7.4)和不同浓度材料分别加入96孔板中, 于37 °C培养1 h; 将100 μL培养后的溶液均匀涂布在MH琼脂培养基表面, 于37 °C下培养24 h后进行菌落计数.

1.2.4 血液相容性表征 通过体外溶血实验评估材料的血液相容性^[29,30]. 用PBS(pH=7.4)缓冲液离心4%兔血细胞悬液, 丢弃上层液体, 收集血细胞并重悬于PBS(pH=7.4)缓冲液中; 阳离子聚氨基酸材料初始浓度为800 μg/mL, 并使用PBS梯度稀释, 将500 μL上述稀释后的材料和500 μL 4%(体积分数)兔血细胞均匀混合; 将500 μL Triton-X(体积分数1%)和500 μL体积分数4%的兔血细胞均匀混合作为阳性对照, 将500 μL PBS(pH=7.4)和500 μL体积分数4%的兔红细胞均匀混合作为阴性对照. 于37 °C培养2 h, 离心后取100 μL上清液转移到96孔板上; 通过测量聚合物处理后576 nm处的吸光度(A)值来评估样品处理后的溶血百分比(Hemolysis, %):

$$\text{Hemolysis} = \frac{A - A_0}{A_{\text{Triton-X}} - A_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: A₀和A_{Triton-X}分别为阴性对照和阳性对照的吸光度值.

1.2.5 细胞毒性测试 将8×10³个L929细胞接种到96孔板中, 加入180 μL RPMI-1640培养基, 于37 °C孵育12 h; 随后, 加入20 μL不同浓度的阳离子聚氨基酸, 孵育24 h后, 向每个孔中加入MTT溶液(最终浓度0.2 mg/mL), 继续孵育4 h后测定每个孔在490 nm处的吸光度. 细胞活力(Cell viability, %)定义为:

$$\text{Cell viability} = \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_{sample}和A_{control}分别为阳离子聚氨基酸处理的孔和对照孔的吸光度.

1.2.6 细胞质膜去极化测试 参照文献[31]方法, 以DiSC3(5)作为检测细菌细胞质膜去极化的探针. 细菌培养12 h后, 使用PBS(pH=7.4)稀释至1×10⁷ CFU/mL; 将100 μL不同浓度的PALG₂₀-Bu₁和PALG₂₀-NH₂溶液与100 μL菌液混合均匀; 以甲氧西林/阿莫西林作为阳性对照, PBS(pH=7.4)作为阴性对照. 连续监测溶液的荧光强度(λ_{ex}=622 nm, λ_{em}=673 nm).

1.2.7 细菌表面电势测试 将细菌用PBS(pH=7.4)洗涤3次, 随后稀释至浓度为1×10⁹ CFU/mL. 将不同浓度的材料和细菌在离心管中混合均匀, 于37 °C下孵育3 h, 最后用纳米粒度电位仪测量ζ电位.

1.2.8 细菌细胞膜完整性测试 用PBS(pH=7.4)将细菌稀释为1×10⁹ CFU/mL. 随后, 将细菌和不同浓

度材料在 37 °C 下培养 3 h, 孵育结束后, 使用 0.22 μm 过滤器过滤细菌溶液并收集上清液. 检测上清液在 260 nm 处的吸收值. 以 PBS 处理组作为对照.

1.2.9 细菌活死染色实验 将 1×10^6 CFU/mL 细菌与 2 倍最小抑菌浓度 (MIC) 的材料在 37 °C 下共培养 30 min. 孵育结束后, 离心细菌悬浮液并除去上清液. 用 SYTO™ 9 和 PI 染色 30 min, 随后使用 PBS 洗涤 2 次. 使用 LSM510 显微镜观察样品荧光.

1.2.10 杀菌动力学测试 使用 PBS (pH=7.4) 将细菌浓度稀释为 1×10^6 CFU/mL. 随后, 将细菌和不同浓度材料溶液混合均匀, 分别孵育 15, 30, 60, 120 和 180 min. 通过平板计数法进行计数. 以 PBS 处理组作为阴性对照.

1.2.11 统计学分析 在上述实验中, 定量的数据重复测定 3 次, 数据以平均值 ± 标准差 (SD) 的形式表示. 使用 *t* 检验方法分析数据的统计学显著性. **p* < 0.05 被认为具有统计学意义, 而 ***p* < 0.01 和 ****p* < 0.001 被认为是高度具有统计学意义.

2 结果与讨论

2.1 阳离子聚氨基酸的合成与表征

阳离子聚氨基酸的合成路线如 Scheme 1 所示. 首先, 使用正己胺引发 ALG-NCA (图 S1 和 S2, 见本文支持信息) 单体的开环聚合, 合成了聚(γ-烯丙基-L-谷氨酸酯) (PALG). 通过调节引发剂正己胺与 NCA 单体的摩尔比, 合成聚合度分别为 20 和 35 的 PALG, 命名为 PALG₂₀ 和 PALG₃₅. 在图 S3 (见本文支持信息) 中, δ 0.88 处的吸收峰为来自正己胺引发剂的一CH₃ 峰, 而 δ 4.7, 4.18, 3.55, 2.58, 2.22, 1.79 和 1.49 处的吸收峰归属于 ALG 单元中的质子, 表明成功制备了 PALG₂₀ 和 PALG₃₅. 随后, 用半胱胺盐酸盐、丁硫醇 (Bu)、1-巯基辛烷 (Oct)、1-十二烷硫醇 (Dod) 或 2-苯基乙硫醇 (Ph) 通过“巯基-烯”点击反应对 PALG 的侧基进行修饰, 得到目标阳离子聚氨基酸, 简称为 PALG_n-NH₂, PALG_{n-x}-Ph_x (*x*=1, 2, 3, 代表疏水基团比例为 10%, 20% 和 30%), PALG_{n-y}-Bu_y, PALG_{n-y}-Oct_y 或 PALG_{n-y}-Bod_y (*y*=1, 2, 3, 代表疏水基团比例为 10%, 20% 和 30%) (表 S1). 由图 S2~S6 (见本文支持信息) 可见, C=C 键 (δ 5.14 和 5.88) 的质子共振峰消失, 表明 PALG 的侧基已经完全反应. 此外, GPC 结果 (表 S2, 见本文支持信息) 表明, 所合成的阳离子聚氨基酸都具有较窄的分子量分布 (1.10~1.33).

2.2 体外抗菌性能和生物相容性

采用涂板法对阳离子聚氨基酸的体外抗菌性能进行了表征, 选择 *S. aureus* (ATCC 25923) 和 *E. coli* (ATCC 25922) 作为实验菌株. 由表 1 可见, 本文合成的 PALG_n 对 *S. aureus* 和 *E. coli* 都表现出一定的抗菌性能. 与高聚合度 (*n*=35) 的聚氨基酸相比, 低聚合度聚氨基酸 (*n*=20) 表现出更好的抗菌性能, 这可能是由于过高的分子量影响了其对细胞壁肽聚糖层的穿透效果^[32-34]. 此外, 疏水基团同样影响聚氨基酸的抗菌活性. 具有较短烷基链或疏水基团比例较低的样品具有更好的抗菌性能, 其中 PALG₂₀-Bu₁ 对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的 MIC 均为 12.5 μg/mL. 为了进一步验证材料的稳定性, 将 PALG₂₀-Bu₁ 和 PALG₂₀-NH₂ 水溶液室温条件下放置 48 h 后, 测试了其对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的抗菌性能. 细菌涂布计数实验结果 (图 S7, 见本文支持信息) 表明, 两种材料的抗菌性能与放置前相比均未发生变化, 证明材料在水溶液中具有较好的稳定性. 由于抗菌材料在实际临床应用中与组织和血液直接接触, 系统评估了阳离子聚氨基酸材料的血液相容性 (表 1). 当 PALG₂₀-Bu₁ 浓度为 400 μg/mL 时, 溶血率仍低于 10%, 表明 PALG₂₀-Bu₁ 具有良好的血液相容性. 由表 1 可见, PALG₂₀-Bu₁ 对 *S. aureus* 和 *E. coli* 具有最高的选择指数 (>32), 良好的生物相容性为其实际应用提供了可能.

通过 MTT 实验进一步验证了材料的生物相容性. 由图 1 可见, 具有正丁基结构的 PALG₂₀-Bu₁ 表现出最低的细胞毒性, 其 50% 抑制浓度 (50% inhibitory concentration, IC₅₀) 为 50 μg/mL. 低细胞毒性可能归因于其较短的疏水侧基, 较短的烷基链对哺乳动物细胞膜中磷脂的非极性部分具有更低的亲和力. 选择具有良好的抗菌性能和生物相容性的阳离子聚氨基酸 PALG₂₀-Bu₁ 进行进一步的抗菌机理表征, 以 PALG₂₀-NH₂ 处理组作为对照组.

Table 1 Minimum inhibitory concentrations(MIC_s) and selectivity index of PALG_n

Polymer	MICs/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ^a		HC ₁₀ ^b /($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Selectivity index of	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i> ^c	<i>E. coli</i> ^c
PALG ₂₀ -NH ₂	12.5	12.5	>200	>16.0	>16.00
PALG ₂₀ -Bu ₁	12.5	12.5	>400	>32.0	>32.00
PALG ₂₀ -Bu ₂	25.0	50.0	25	1.0	0.50
PALG ₂₀ -Bu ₃	100.0	50.0	50	0.5	1.00
PALG ₂₀ -Oct ₁	50.0	25.0	25	0.5	1.00
PALG ₂₀ -Dod ₁	100.0	100.0	25	0.25	0.25
PALG ₂₀ -Ph ₁	25.0	50.0	50	2.0	1.00
PALG ₂₀ -Ph ₂	50.0	50.0	50	1.0	1.00
PALG ₂₀ -Ph ₃	200.0	200.0	100	0.5	0.50
PALG ₃₅ -NH ₂	12.5	12.5	50	4.0	4.00
PALG ₃₅ -Bu ₁	25.0	12.5	25	1.0	2.00
PALG ₃₅ -Bu ₂	50.0	50.0	50	1.0	1.00
PALG ₃₅ -Bu ₃	>200.0	200.0	50	0.25	0.25
PALG ₃₅ -Oct ₁	100.0	25.0	100	1.0	4.00
PALG ₃₅ -Dod ₁	200.0	100.0	100	0.5	1.00
PALG ₃₅ -Ph ₁	25.0	25.0	50	2.0	2.00
PALG ₃₅ -Ph ₂	200.0	200.0	50	0.25	0.25
PALG ₃₅ -Ph ₃	200.0	100.0	100	0.5	1.00

a. Minimum inhibitory concentration (MIC) is the lowest polymer concentration that completely inhibits bacteria growth; b. hemolysis concentration 10% (HC₁₀) is defined as the lowest polymer concentration that induces 10% hemolysis; c. selectivity index is calculated by (HC₁₀)/MIC.

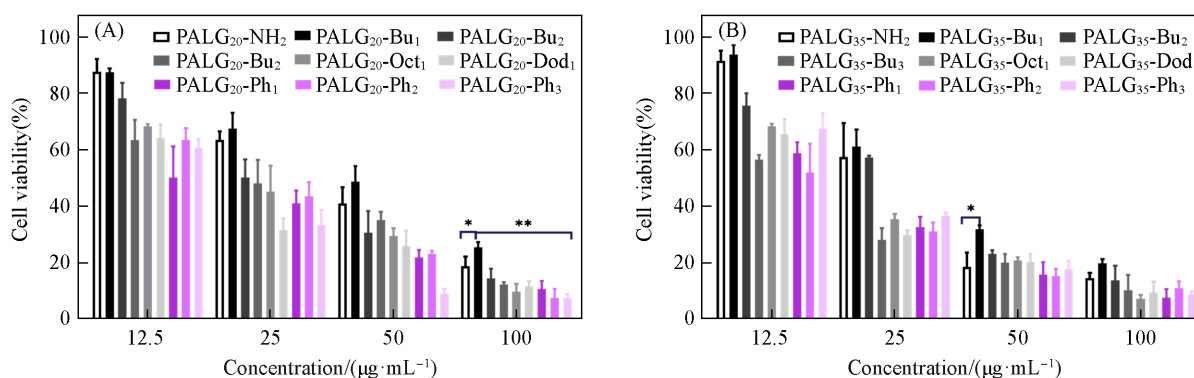


Fig. 1 Viability of L929 cells after incubation with different concentrations of PALG₂₀(A) and PALG₃₅(B) at 37 °C for 24 h

2.3 抗菌机理

为了验证聚氨基酸的抗菌机理, 首先进行了Zeta电势表征. 由图2可见, 加入PALG₂₀-Bu₁处理后, *S. aureus* 的表面电势从-18.1 mV变为-7.2 mV; 加入PALG₂₀-NH₂处理后, *S. aureus* 的表面电势从

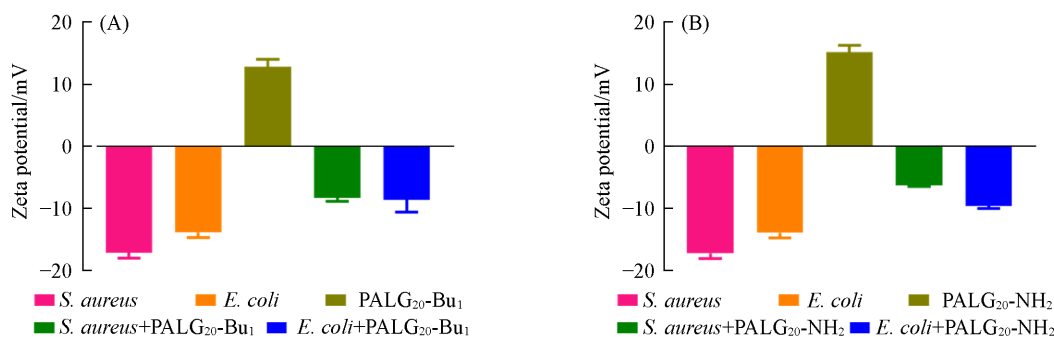


Fig. 2 Zeta-potential change of *S. aureus* and *E. coli* upon PALG₂₀-Bu₁(A) and PALG₂₀-NH₂(B) treatment for 3 h

-18.10 mV 变为 -6.3 mV. 加入 PALG₂₀-Bu₁ 处理后, *E. coli* 的表面电势从 -15.8 mV 变为 -8.1 mV; 加入 PALG₂₀-NH₂ 处理后, *E. coli* 的表面电势从 -15.8 mV 变为 -8.9 mV. 上述实验结果表明, 阳离子聚氨基酸可以通过静电相互作用与负电性细菌结合, 导致细菌膜电位上升.

使用细菌膜电位探针 DiSC3(5) 验证了材料对细菌细胞质膜的去极化能力^[35]. 由图 3 可见, 与抗生素组相比, PALG₂₀-Bu₁ 和 PALG₂₀-NH₂ 处理后的细菌均表现出明显的细胞质膜去极化作用, 且具有浓度依赖性.

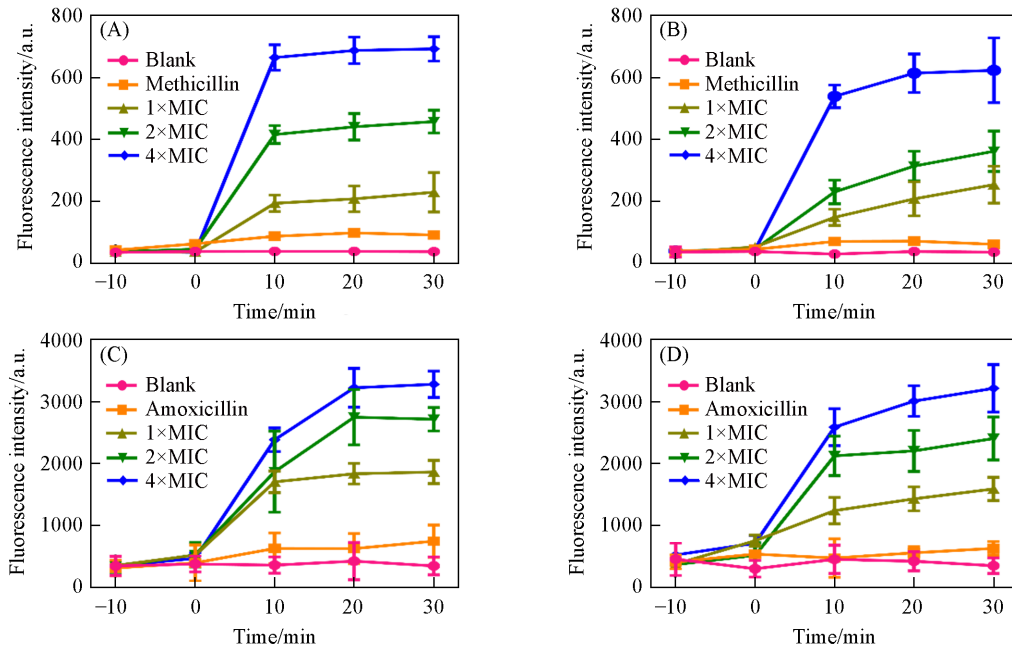


Fig. 3 Cytoplasmic membrane depolarization of *S. aureus*(A, B) and *E. coli*(C, D) following treatment with PALG₂₀-Bu₁(A, C) and PALG₂₀-NH₂(B, D) at different concentrations and methicillin at 4×MIC

通过活/死染色进一步验证聚氨基酸的抗菌机理. 由图 4 可见, PALG₂₀-Bu₁ 和 PALG₂₀-NH₂ 处理组表现出强烈的红色荧光, 证明材料处理后细菌细胞膜结构完整性被破坏^[19].

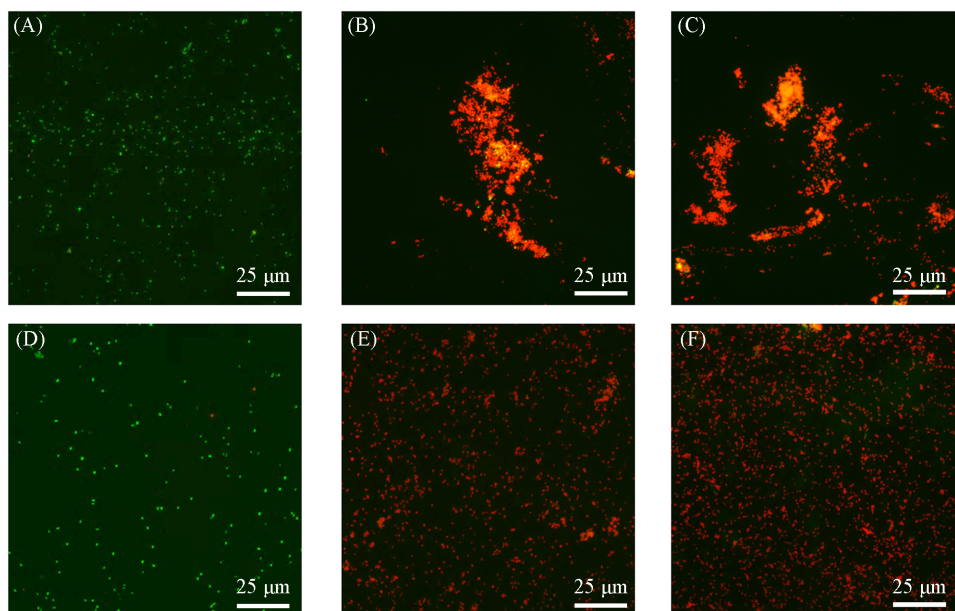


Fig. 4 Fluorescence images of *S. aureus*(A—C) and *E. coli*(D—F) treated with PBS(pH=7.4)(A, D), PALG₂₀-Bu₁(B, E) and PALG₂₀-NH₂(C, F) for 30 min

随后,使用SEM观察材料处理后细菌形态学变化.由图5可见,与PBS组相比,PALG₂₀-Bu₁和PALG₂₀-NH₂处理后细菌膜表面出现明显凹陷、皱缩和变形.

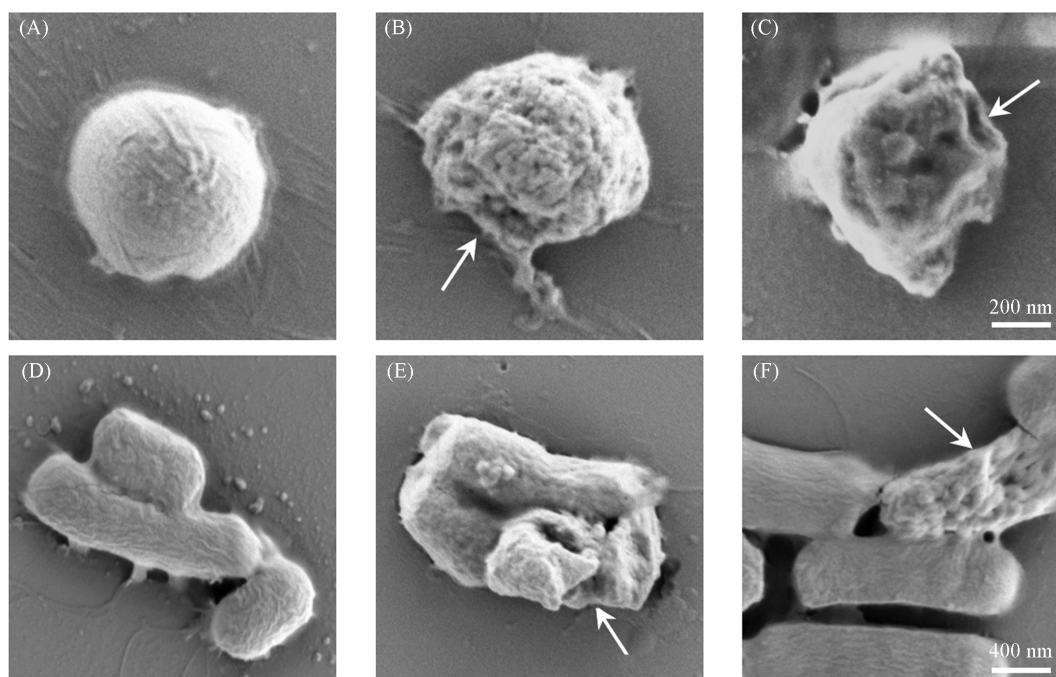


Fig. 5 SEM images on *S. aureus*(A—C) and *E. coli*(D—F) with PBS(A, D), PALG₂₀-Bu₁(B, D) and PALG₂₀-NH₂(C, F)

此外,进一步评估了细菌的细胞膜完整性.由图6可见,处理3 h后,随着材料浓度的增加,*S. aureus*和*E. coli*内容物泄露显著增加.与部分AMPs类似^[26],材料通过静电相互作用附着在细菌表面,破坏细菌细胞膜完整性,导致细菌死亡.

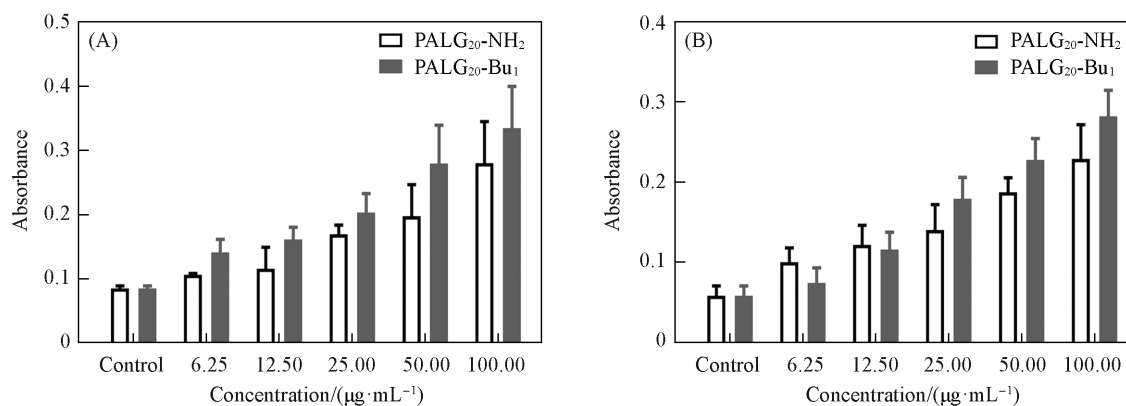


Fig. 6 Plots of the supernatants' absorbance ratio at 260 nm in *S. aureus*(A) and *E. coli*(B) suspension following PALG₂₀-Bu₁ and PALG₂₀-NH₂ treatment for 3 h

2.4 体外抗菌动力学

采用临床广泛使用的抗生素甲氧西林和阿莫西林作为对照组,进一步评估了PALG₂₀-Bu₁和PALG₂₀-NH₂的杀菌动力学.由图7可见,在1×MIC下,PALG₂₀-Bu₁和PALG₂₀-NH₂可以在30 min内完全清除*S. aureus*,但需要120 min才能完全清除*E. coli*,并表现出浓度依赖性.相比之下,即使在4×MIC下,甲氧西林和阿莫西林在180 min内也无法完全清除*S. aureus*和*E. coli*.PALG₂₀-Bu₁和PALG₂₀-NH₂快速的杀菌动力学使其有望成为治疗细菌感染的新型药物.此外,阳离子聚氨基酸对细菌的快速清除可有效限制细菌内毒素和外毒素的分泌和循环,进而防止感染性休克和其它并发症^[36-38].

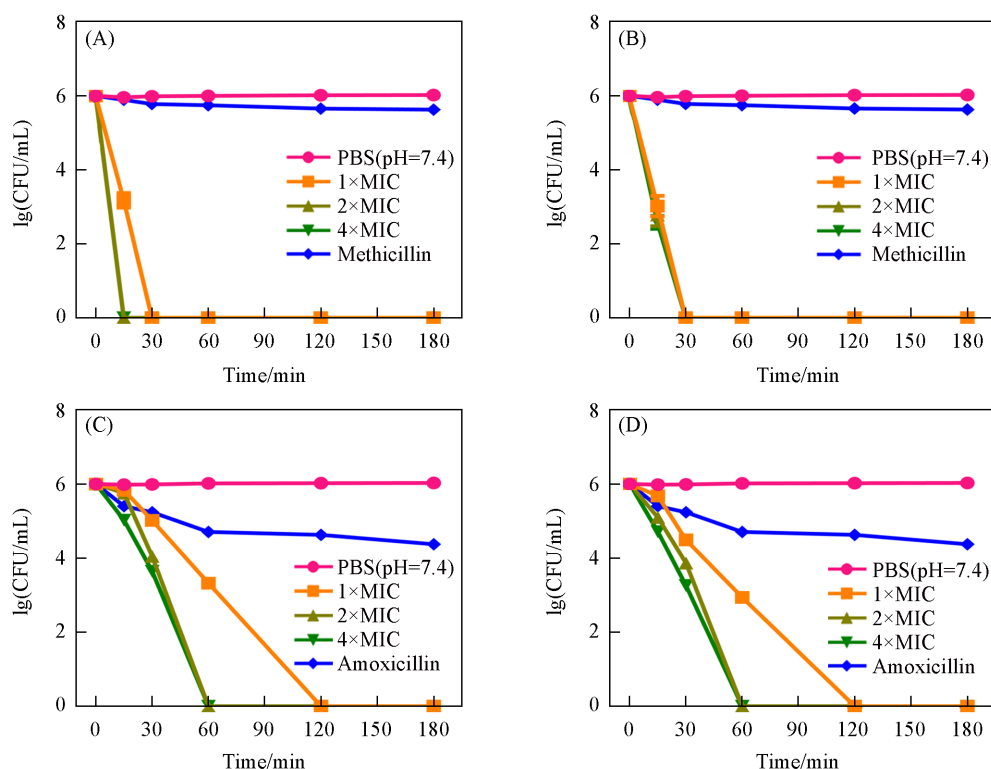


Fig. 7 Colony forming units(CFUs) of *S. aureus*(A, B) and *E. coli*(C, D) after incubation with PALG₂₀-Bu₁(A, C) and PALG₂₀-NH₂(B, D) at various concentrations(1×, 2× and 4×MIC) and incubation with methicillin or amoxicillin at 4×MIC(control)

3 结 论

合成了一系列具有不同侧基结构的阳离子聚氨基酸, 其中PALG₂₀-Bu₁显示出优良的抗菌性能和最高的细菌选择指数. 进一步的机理研究表明, 正电性的PALG₂₀-Bu₁和PALG₂₀-NH₂可以通过静电相互作用与带负电荷的细菌细胞膜结合, 破坏细菌细胞膜结构完整性, 导致细菌死亡. 由于这种独特的杀菌机制, PALG₂₀-Bu₁表现出快速的杀菌动力学. 这种阳离子聚氨基酸材料有望成为一种新型的高效抗菌材料.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/cjcu20240334>.

参 考 文 献

- [1] Khabbaz R. F., Moseley R. R., Steiner R. J., Levitt A. M., Bell B. P., *The Lancet*, **2014**, 384(9937), 53—63
- [2] Shao W. H., Hu X., Shang J., Lin F., Jin L. M., Quan C. S., Zhang Y. M., Li J., *Chem. J. Chinese Universities*, **2022**, 43(10), 20220132(邵文惠, 胡欣, 尚静, 林峰, 金黎明, 权春善, 张艳梅, 李军. 高等学校化学学报, **2022**, 43(10), 20220132)
- [3] Brown E. D., Wright G. D., *Nature*, **2016**, 529(7586), 336—343
- [4] Eliopoulos G. M., Moellering R. C., *Ann. Intern. Med.*, **1982**, 97(5), 755—760
- [5] D'Costa V. M., King C. E., Kalan L., Morar M., Sung W. W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debryne R., Golding G. B., Poinar H. N., Wright G. D., *Nature*, **2011**, 477(7365), 457—461
- [6] Li S., Dong S., Xu W., Tu S., Yan L., Zhao C., Ding J., Chen X., *Adv. Sci.*, **2018**, 5(5), 1700527
- [7] Ding X., Wang A., Tong W., Xu F. J., *Small*, **2019**, 15(20), e1900999
- [8] Guan D., Chen F., Qiu Y., Jiang B., Gong L., Lan L., Huang W., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2019**, 58(20), 6678—6682
- [9] Wang S., Gao Y., Jin Q., Ji J., *Biomater. Sci.*, **2020**, 8(24), 6825—6839
- [10] Hu D., Deng Y., Jia F., Jin Q., Ji J., *ACS Nano*, **2020**, 14(1), 347—359
- [11] Xie X., Gao B., Ma Z., Liu J., Zhang J., Liang J., Chen Z., Wu L., Li W., *CCS Chemistry*, **2021**, 3(7), 1949—1962
- [12] Willyard C., *Nature*, **2017**, 543(7643), 15

- [13] Chen C. H., Lu T. K., *Antibiotics*, **2020**, 9(1), 24
- [14] Kang H. K., Kim C., Seo C. H., Park, Y., *J. Microbiol.*, **2017**, 55(1), 1—12
- [15] Hancock R. E. W., Sahl H. G., *Nat. Biotechnol.*, **2006**, 24(12), 1551—1557
- [16] Park S. C., Park Y., Hahn K. S., *Int. J. Mol. Sci.*, **2011**, 12(9), 5971—5992
- [17] Shang W., Sun Q., Zhang C., Liu H., Yang Y., Liu Y., Gao W., Shen W., Yin D., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2023**, 15(40), 47552—47565
- [18] Liu H., Shen W., Liu W., Yang Z., Yin D., Xiao C., *Bioact. Mater.*, **2024**, 31(14), 206—230
- [19] Shen W., Zhang Y., Wan P., An L., Zhang P., Xiao C., Chen X., *Adv. Mater.*, **2020**, 32(36), e2001108
- [20] Yin R., Wan P., Guo Z., Yi X., Zhang P., Shen W., Chen L., Xiao C., Chen X., *Acta Biomater.*, **2024**, 181(3), 415—424
- [21] Shai Y., *BBA-Biomembranes*, **1999**, 1462(1/2), 55—70
- [22] Wan P., Guo W., Duan Y., Deng M., Xiao C., *Macromol. Biosci.*, **2022**, 22(7), e2200105
- [23] Fjell C. D., Hiss J. A., Hancock R. E. W., Schneider G., *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2012**, 11(1), 37—51
- [24] Ong Z. Y., Wiradharma N., Yang Y. Y., *Adv. Drug Deliver Rev.*, **2014**, 78(12), 28—45
- [25] Marr A. K., Gooderham W. J., Hancock R. E. W., *Curr. Opin. Pharmacol.*, **2006**, 6(5), 468—472
- [26] Wan P., Guo W., Wang Y., Deng M., Xiao C., Chen X., *Adv. Healthcare Mater.*, **2022**, 11(16), e2200268
- [27] Xiao C., Zhao C., He P., Tang Z., Chen X., Jing X., *Macromol. Rapid Commun.*, **2010**, 31(11), 991—997
- [28] Wan P., Wang Y., Guo W., Song Z., Zhang S., Wu H., Yan W., Deng M., Xiao C., *ACS Biomater. Sci. Eng.*, **2022**, 8(2), 903—911
- [29] Li Z., Hao K., He C. L., Tian H. Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2023**, 44(10), 20230154(李真, 郝凯, 贺超良, 田华雨. 高等学校化学学报, **2023**, 44(10), 20230154)
- [30] Guo Z., Huang T., Yin R., Tian Y., Wan P., Yi X., Li G., Zhang P., Xiao C., Chen X., *CCS Chemistry*, **2024**, 6(0), 1—14
- [31] Zhang Q., Ma P., Xie J., Zhang S., Xiao X., Qiao Z., Shao N., Zhou M., Zhang W., Dai C., Qian Y., Qi F., Liu R., *Biomater. Sci.*, **2019**, 7(5), 2144—2151
- [32] Chin W., Yang C., Ng V. W. L., Huang Y., Cheng J., Tong Y. W., Coody D. J., Fan W., Hedrick J. L., Yang Y. Y., *Macromolecules*, **2013**, 46(22), 8797—8807
- [33] Lienkamp K., Tew G. N., *Chem. Eur. J.*, **2009**, 15(44), 11784—11800
- [34] Li P., Zhou C., Rayatpisheh S., Ye K., Poon Y. F., Hammond P. T., Duan H. W., Chan-Park M. B., *Adv. Mater.*, **2012**, 24(30), 4130—4137
- [35] Hodges T. L., Zigelboim-Daum S., Eliopoulos G. M., Wennersten C., Moellering R. C. Jr., *Antimicrob. Agents Ch.*, **1992**, 36(1), 121—125
- [36] Zhong G., Cheng J., Liang Z. C., Xu L., Lou W., Bao C., Ong Z. Y., Dong H., Yang Y. Y., Fan W., *Adv. Healthcare Mater.*, **2017**, 6(7), 201601134
- [37] Defez C., Fabbro-Peray P., Bouziges N., Gouby A., Mahamat A., Daurès J. P., Sotto A., *J. Hosp. Infect.*, **2004**, 57(3), 209—216
- [38] Obritsch M. D., Fish D. N., MacLaren R., Jung R., *Pharmacotherapy*, **2005**, 25(10), 1353—1364

(Ed.: W, K, M)