

王晨, 裴志花. 卤化合成  $\alpha$  螺旋抗菌肽 Cl-FR18 的抑菌活性、安全性及稳定性研究 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (5): 58-63.

WANG C, PEI Z H. Study on bacteriostatic activity, safety and stability of halogenated synthesis of  $\alpha$  helix antibacterial peptide Cl-FR18 [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (5): 58-63.

# 卤化合成 $\alpha$ 螺旋抗菌肽 Cl-FR18 的抑菌活性、安全性及稳定性研究

王晨, 裴志花\*

(吉林农业大学动物医学院, 吉林 长春 130000)

**摘要:** 为了对  $\alpha$  螺旋抗菌肽 FR18 进行卤化并了解卤化抗菌肽 Cl-FR18 的功能特性, 对  $\alpha$  螺旋抗菌肽 FR18 的 N 端第 1 个苯丙氨酸进行氯代, 得到合成肽 Cl-FR18, 并进行抗菌活性、溶血活性、细胞毒性及稳定性检测。结果显示: Cl-FR18 对 7 株指示菌均有良好的抑菌活性, 其中对大肠杆菌 K88 和鲍曼不动杆菌 js1 的最小抑菌浓度 (MIC) 为 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 高于未修饰肽 FR18; Cl-FR18 的溶血活性明显低于蜂毒肽和未修饰肽, 在浓度为 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时仅引起 2.21% 的羊红细胞溶血。Cl-FR18 保留了未修饰肽 FR18 较好的细胞选择性和安全性的特点, 经 Cl-FR18 作用 12 h 后的细胞存活率均在 90% 以上, 且 Cl-FR18 在不同的盐离子、蛋白酶溶液和温度环境中表现出一定的敏感性, MIC 增至 2~8 倍。结果表明, 经卤化后的抗菌肽 Cl-FR18 抑菌谱广, 抑菌活性明显, 且具有良好的安全性, 其卤化合成策略为优化抗菌肽的改造方法提供了理论参考。

**关键词:** 抗菌肽; 抑菌活性; 稳定性; 毒性

中图分类号: S859.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)05-0058-06

## Study on bacteriostatic activity, safety and stability of halogenated synthesis of $\alpha$ helix antibacterial peptide Cl-FR18

WANG Chen, PEI Zhihua\*

(College of Veterinary Medicine, Jilin Agricultural University, Changchun 130000, China)

**Abstract:** This study aimed to halogenate a helix antimicrobial peptide FR18 and to understand the bacteriostatic activity, safety and stability of the halogenated antibacterial peptide Cl-FR18. In this experiment, the first phenylalanine at the N-terminus of  $\alpha$  helix antibacterial peptide FR18 was chlorinated to obtain the synthetic peptide Cl-FR18, and the antibacterial activity, hemolytic activity, cytotoxicity and stability of the peptide were detected. The results showed that Cl-FR18 had good inhibitory activity against all seven strains of index bacteria, among which the MIC value of *Escherichia coli* K88 and *Acinetobacter baumannii* js1 was 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , which was higher than that of the original peptide FR18. The hemolytic activity of Cl-FR18 was significantly lower than that of melittin and original peptide, and only 2.21% of sheep erythrocytes were lysed at a concentration of 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Cl-FR18 retained the characteristics of good cell selectivity and safety of the original peptide FR18, and the cell survival rate after 12 h of Cl-FR18 action was more than 90%. Cl-FR18 showed some sensitivity in different salt ions, protease solutions and temperature environments; and MIC increased by 2-8 times. The halogenated antimicrobial peptide Cl-FR18 had a wide antibacterial spectrum, obvious bacteriostatic activity and good safety, and its halogenated synthesis strategy provided a theoretical reference for optimizing the transformation method of antimicrobial peptide.

**Keywords:** antimicrobial peptide; bacteriostatic activity; stability; toxicity

由于抗生素的广泛应用甚至滥用, 细菌对多种抗生素的耐药性问题日益严重, 世界卫生组织已将其列为 21 世纪三大最重要的公共威胁之一。因此, 需要找到新型抗菌药物替代抗生素以解决病原体耐药性增

加的问题。抗菌肽是一类广泛存在于自然界中具有免疫调节活性和抗炎作用的小分子, 对细菌、真菌、病毒和其他微生物具有广谱的抗菌活性<sup>[1-3]</sup>, 有望替代抗生素。然而多数抗菌肽具有抗菌活性不理想、半衰期短及稳定性差等缺点, 严重限制了其临床应用。为了克服这些缺点, 研究人员尝试采用多种策略对已有的抗菌肽序列进行人工改造, 比如侧链与末端修饰<sup>[4]</sup>、D 型氨基酸代替<sup>[5]</sup>、环化<sup>[6]</sup>、卤化<sup>[7]</sup>、肽模拟物<sup>[8]</sup>等, 来提高肽的抗菌活性和蛋白酶稳定性<sup>[9]</sup>,

收稿日期: 2023-05-05; 修回日期: 2024-03-06

基金项目: 吉林省自然科学基金项目 (20210101040JC)

第一作者: 王晨, 女, 硕士

\* 通信作者: 裴志花, 副教授, 研究方向为肽类药物的开发,

E-mail: peizhihua1978@126.com。

降低细胞毒性，延长半衰期，为获得活性更好、稳定性更高的抗菌肽开辟新道路。

在药物设计中，引入卤素原子要比其他类型的改造更有优势，因为卤素原子能够通过赋予药物靶标更好的亲和力或选择性从而改变配体的理化性质<sup>[10]</sup>。因此，在抗菌肽氨基酸侧链上引入卤素原子能影响抗菌肽的理化性质，从而在一定程度上调节其生物学作用和药理活性<sup>[11]</sup>。比如含有 5, 5, 5-三氟亮氨酸的蜂毒肽可通过增强疏水性而增加抗菌活性和膜亲和力<sup>[12]</sup>；抗菌肽 Buforin 和 Magainin 系列的氟化衍生物，在保持或增加抑菌活性的同时，也表现出更好的蛋白酶稳定性<sup>[13]</sup>；将卤素原子引入蜜蜂肽 Jelleine-1 中，其氯化类似物的体内或体外抗菌活性都是较高的，同时不会增加溶血活性和细胞毒性<sup>[14]</sup>。

本试验是在由实验室设计获得的  $\alpha$  螺旋抗菌肽 FR18 (FRFFRFPFRFFRFFRFFR-NH<sub>2</sub>) 的 N 端引入氯原子，得到了抗菌肽 Cl-FR18，并对其抗菌活性、溶血活性、细胞毒性及稳定性检测，旨在为探索抗菌肽新型改造方法及解决其临床应用问题提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 抗菌肽

抗菌肽 Cl-FR18 和 FR18 均由生工生物工程（上海）股份有限公司进行合成，纯度  $\geq 98\%$ 。

#### 1.1.2 试验菌株和试剂

大肠杆菌 ATCC 25922、K88，金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、ATCC 29213，粪肠球菌 ATCC 29212，肺炎克雷伯菌 CMCC 46117，铜绿假单胞菌 K4，鲍曼不动杆菌 js1，志贺菌 NZ-4，均保存于吉林农业大学药理毒理实验室。

细菌培养采用 MH 培养基，细胞培养采用 10% 胎牛血清 DMEM 培养基，牛血清白蛋白（BSA）购于生工生物工程（上海）股份有限公司；细胞计数试剂盒（CCK-8），双抗（青霉素-链霉素）溶液和胰酶购于北京全式金生物科技有限公司。

### 1.2 抗菌肽最小抑菌浓度（MIC）测定

采用 MIC 测定法对两种肽的抑菌活性进行测定。挑取单菌落于 MH 肉汤培养基中，37 °C 摇床震荡培养至对数生长期（ $OD_{600} = 0.5$ ）后，将细菌悬浮液稀释至  $5 \times 10^5$  CFU/mL。吸取 50  $\mu$ L 细菌悬浮液加入到 96 孔板的前 11 个孔内，然后各孔加入倍比稀释后的肽溶液，其终浓度分别为 128、64、32、16、8、4、2、1、0.5、0.25  $\mu$ g/mL。将 96 孔板于 37 °C 恒温箱中孵育 12~16 h 后，以能够抑制细菌生长的肽浓度

（即无肉眼可见的细菌生长）为 MIC 值。

### 1.3 抗菌肽溶血活性检测

羊红细胞溶血试验用来评估两种肽对哺乳动物正常细胞的溶血活性，溶血率  $< 10\%$  认为没有溶血活性。具体步骤如下：采集新鲜羊血保存于肝素钠抗凝管中，3 000 r/min 离心 10 min 后弃上清液，用 PBS（pH=7.4）洗涤 3 次，将红细胞配制成 2% 的红细胞悬液。将 100  $\mu$ L 不同浓度肽液与 100  $\mu$ L 红细胞悬液混匀后在 37 °C 恒温箱孵育 1 h 后离心，吸取上清液 160  $\mu$ L 置于 96 孔板中。100  $\mu$ L 红细胞悬液和 100  $\mu$ L PBS 作为阴性对照，100  $\mu$ L 红细胞悬液和 100  $\mu$ L 2% Triton-100 作为阳性对照。用酶标仪测算出在 570 nm 处的 OD 值，按照公式计算<sup>[15]</sup>：溶血率 =  $(OD_{\text{测定}} - OD_{\text{阴性对照}}) / (OD_{\text{阳性对照}} - OD_{\text{阴性对照}}) \times 100\%$ ，本试验重复 3 次。

### 1.4 抗菌肽细胞毒性检测

采用细胞增殖与毒性检测方法（CCK-8）测定抗菌肽对真核细胞的细胞毒性，具体步骤如下：将复苏后的小鼠单核巨噬细胞（RAW264.7）转移到含 10% 胎牛血清的 5 mL DMEM 中，于 37 °C，5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养过夜。弃去培养液后加入 2 mL 0.2% 的胰酶消化 2 min，之后加入 3 mL 的细胞培养液吹打成单细胞悬液，将其加入到 96 孔板中，每孔 50  $\mu$ L。等待细胞完成贴壁后，在 1~10 孔分别加入 50  $\mu$ L 同 MIC 终浓度梯度的抗菌肽溶液，培养箱中培养 6 h 后加入 10  $\mu$ L CCK-8 溶液再放入培养箱中培养 1~4 h。酶标仪 450 nm 处测量 OD 值，本试验重复 3 次。

### 1.5 抗菌肽稳定性检测

#### 1.5.1 盐离子稳定性测定

分别将终浓度为 2.5 mmol/L 的 CaCl<sub>2</sub>，150 mmol/L 的 NaCl，4.5 mmol/L 的 KCl，6 mmol/L 的 NH<sub>4</sub>Cl，1 mmol/L 的 MgCl<sub>2</sub>，8 mmol/L 的 ZnCl<sub>2</sub> 和 4 mmol/L 的 FeCl<sub>3</sub> 溶液与同 MIC 终浓度梯度的抗菌肽稀释液混合，测定 Cl-FR18 和 FR18 在生理盐溶液环境下对大肠杆菌 ATCC 25922 的 MIC 值，其中未经盐离子处理的抗菌肽作为对照。

#### 1.5.2 温度稳定性测定

将 Cl-FR18 和 FR18 分别在 0、37、100 °C 水浴下处理 30 min 后测定二者对大肠杆菌 ATCC 25922 的 MIC 值，其中未被处理的抗菌肽作为对照组。

#### 1.5.3 蛋白酶稳定性测定

将 Cl-FR18 和 FR18 分别与反应浓度为 1 mg/mL 的胰蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、蛋白酶 K 溶液在 37 °C 水浴 1 h，60 °C 水浴 30 min 后测定经蛋白酶处理的抗菌肽对大肠杆菌 ATCC 25922 的 MIC 变化，其中未被处理的抗菌肽作为对照组。

## 1.6 数据统计与分析

使用 Microsoft Excel 软件对上述试验中所有数据进行处理, 使用生物信息工具软件 ExPasy 和 PEP-FOLD<sub>3</sub> 对其理化性质和二级结构进行预测分析, 利用 GraphPad Prism 绘制溶血曲线和毒性统计图, 数据以“平均值±标准差”表示。

## 2 结果

### 2.1 抗菌肽的分子设计

对 FR18 序列参数进行分析, 根据卤代氨基酸位点选取原则, 在 FR18 N 端的第 1 个苯丙氨酸上引入氯原子设计并合成了抗菌肽 Cl-FR18, 各项序列参数见表 1。使用 ExPasy 对肽的理化性质进行分析, 使用 PEP-FOLD<sub>3</sub> 对二级结构进行预测 (图 1)。

表 1 抗菌肽的理化参数分析

肽	氨基酸数	序列	理论分子质量	静电荷	H <sup>2</sup>	等电点
FR18	18	FRRFFRFPRRPFRFFRRF-NH <sub>2</sub>	2 639. 16	8	0. 427	12. 85
Cl-FR18	18	aFRRFFRFPRRPFRFFRRF-NH <sub>2</sub>	2 674. 66	8	0. 427	12. 85

注: 序列小写字母 a 代表 3-Cl-phe。

二级结构和溶剂可及性预测

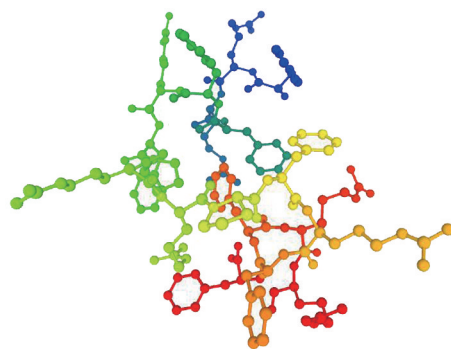
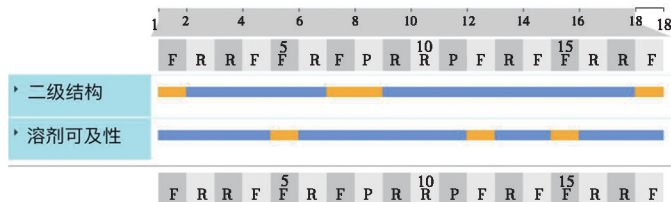


图 1 抗菌肽 FR18 的二级结构预测图

### 2.2 Cl-FR18 和 FR18 的 MIC 测定

抗菌肽 Cl-FR18 和 FR18 对多种革兰阴性细菌和革兰阳性细菌的抑菌活性结果如表 2 所示。卤化肽 Cl-FR18 保持了未修饰肽 FR18 的抗菌活性, 同时对

大肠杆菌 K88、鲍曼不动杆菌 js1 和金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 的抗菌活性 (4 μg/mL) 都高于未修饰肽, 这说明对抗菌肽进行卤化的设计思路是正确的。

表 2 抗菌肽对细菌的 MIC 的影响

类型	菌种	MIC		抑制活性	
		FR18	Cl-FR18	FR18	Cl-FR18
革兰阴性菌	大肠杆菌 ATCC 25922	4	8		
	大肠杆菌 K88	8	4		
	肺炎克雷伯菌 CMCC 46117	8	8	10.0	8.0
	铜绿假单胞菌 K4	16	16		
	鲍曼不动杆菌 js1	8	4		
	志贺菌 NZ-4	16	8		
革兰阳性菌	金黄色葡萄球菌 ATCC 25923	8	4		
	金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	8	8	10.7	9.3
	粪肠球菌 ATCC 29212	16	16		

### 2.3 Cl-FR18 和 FR18 的溶血活性检测

由图2可知, 抗菌肽在1~128 μg/mL浓度下, FR18和Cl-FR18的溶血率均低于10%。卤化后的肽浓度为16 μg/mL时仅会引起2.21%的羊红细胞溶血, 溶血活性低于蜂毒肽和未修饰肽。

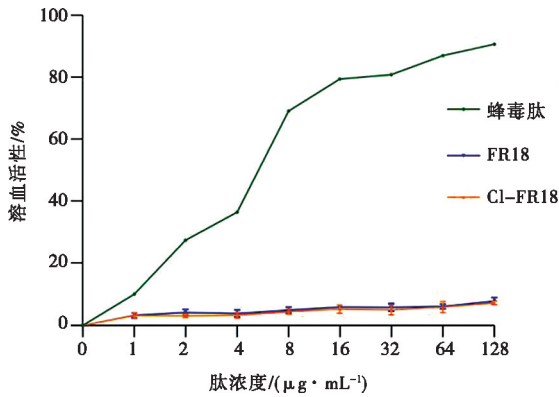


图2 抗菌肽的溶血活性

### 2.4 Cl-FR18 和 FR18 的细胞毒性检测

如图3所示, 经抗菌肽Cl-FR18作用12 h后的细胞存活率均在90%以上, 保留了未修饰肽FR18细胞毒性低的优点; 在32~64 μg/mL时, 经卤化肽Cl-

FR18作用后的细胞存活率要高于未修饰肽, 具有较强的细胞选择性。Cl-FR18对RAW264.7细胞的毒性作用与溶血活性表现出相同的作用趋势。

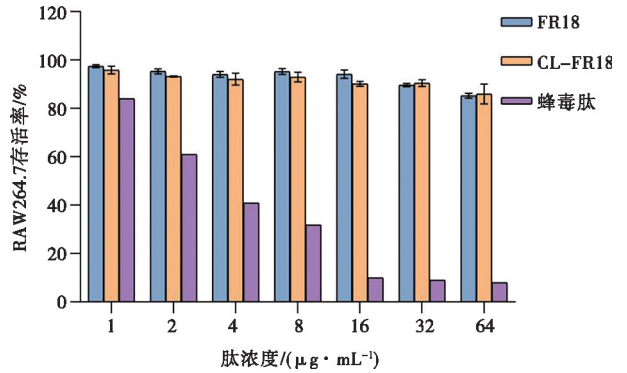


图3 抗菌肽对RAW264.7的细胞毒性作用比较

### 2.5 Cl-FR18 和 FR18 的稳定性检测

#### 2.5.1 盐离子稳定性

由表3可见FR18和Cl-FR18在不同盐离子的MIC值, 生理盐浓度下的Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>对Cl-FR18和FR18的抗菌活性影响较小。

表3 抗菌肽在不同生理盐溶液中对大肠杆菌 ATCC 25922 的 MIC 影响

肽	对照	生理盐溶液						
		CaCl <sub>2</sub>	NaCl	KCl	NH <sub>4</sub> Cl	MgCl <sub>2</sub>	ZnCl <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub>
FR18	4	4	4	8	4	8	8	4
Cl-FR18	8	16	16	32	32	16	16	16

#### 2.5.2 温度稳定性

由表4可见抗菌肽Cl-FR18和FR18在不同温度下孵育后, 对大肠杆菌ATCC 25922的抑菌活性变化。与未修饰肽相比, Cl-FR18同样具有良好的稳定性, 经100℃热处理30 min, 其MIC值仅增加2倍, 且37℃环境下抑菌活性不变。

表4 经温度处理后抗菌肽对大肠杆菌 ATCC 25922 的 MIC 影响

肽	对照	温度/℃		
		0	37	100
FR18	4	4	16	4
Cl-FR18	8	8	16	8

#### 2.5.3 蛋白酶稳定性

由表5可以看出, 除木瓜蛋白酶和蛋白酶K外, 经氯代后的肽蛋白酶稳定性不如未修饰肽, 对大肠杆

菌ATCC 25922的MIC值增加了2~16倍, 这可能需要进一步的改造。

表5 抗菌肽经4种蛋白酶处理后对大肠杆菌 ATCC 25922 的 MIC 的影响

肽	对照	蛋白酶			
		胰蛋白酶	胃蛋白酶	木瓜蛋白酶	蛋白酶K
FR18	4	8	64	>128	>128
Cl-FR18	8	>128	>128	>128	>128

## 3 讨论

由于多重耐药细菌的出现和传播, 市场对新型抗菌药物替代抗生素的需求日益增加。抗菌肽是生物体先天免疫系统的重要组成部分, 因其抗菌谱广和较低毒性受到广泛关注。然而, 其抗菌活性低、稳定性差等缺点限制了临床应用, 因此人工改造抗菌肽序列成

为一种提高抗菌肽生物学特性的有效策略。由于卤化可以用于改善药物的降解性、亲脂性、膜透化活性和分解代谢稳定性<sup>[16-17]</sup>，所以对卤化抗菌肽的研究也日渐增多。抗菌肽的选择性卤化能通过增强疏水性使其抗菌活性和膜亲和力增加<sup>[12]</sup>。有研究表明，经氟化的亮氨酸和缬氨酸可以显著增强序列较短的蛋白质的化学稳定性，这使得引入人工氟化氨基酸成为修饰蛋白质的独特方式<sup>[18]</sup>。Buforin 和 Magainin 两种肽的氟化衍生物，在保持或增加未修饰肽抑菌活性的同时，也表现出更好的蛋白酶稳定性<sup>[13]</sup>。通过 Bolt 等<sup>[19]</sup>的研究证明，抗菌肽中氟原子的添加能增强其对革兰阳性菌和革兰阴性菌的抗菌活性，对哺乳动物细胞产生的毒性较低或无毒。最近有研究证明氯或溴原子的添加能增加抗菌肽对革兰阳性细菌的抗菌活性<sup>[7]</sup>，这与 Lee 等<sup>[20]</sup>试图通过 Nspe 单元掺入氟原子以增强抗菌肽 Peptoid 1 的抗菌活性但并未得到改善的结果一致。因此，通过引入卤代氨基酸来增强抗菌活性或蛋白稳定性的效果不能一概而论，这取决于氨基酸侧链上引入卤素原子的选择，取代位置和数量。将 4 种卤素原子引入蜜蜂肽 Jelleine-1 中，其氯化类似物在体内或体外抗菌活性是最好的，同时不会增加溶血活性和细胞毒性<sup>[14]</sup>。卤化抗菌肽将成为临床应用上的有效药物，比如贾等人确定了抗菌肽 Jelleine-I 的卤代衍生物 Br-J-I 可以成为结直肠癌（CRC）治疗的辅助药物<sup>[21]</sup>。

FR18 是本实验室设计出具有良好活性的  $\alpha$  螺旋抗菌肽，为探究卤化对抗菌肽理化特性的影响，参考 Jia<sup>[14]</sup>的方法，同时考虑成本问题，在抗菌肽 FR18 的结构基础上对 N 端的第 1 个苯丙氨酸氯代，从而得到新的衍生抗菌肽 Cl-FR18。抑菌试验表示：Cl-FR18 有良好的抗菌活性，除对大肠杆菌 ATCC 25922 的抗菌活性增加 2 倍外，对其他菌的抑菌活性持平或高于 FR18，说明苯丙氨酸的氯代并没有导致抑菌活性降低。溶血试验表示：Cl-FR18 在 1~128  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度下均没有溶血活性，且 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$  仅会引起 2.21% 的羊红细胞溶血。细胞毒性试验表示：Cl-FR18 在 32~64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时，对细胞的毒性低于未修饰肽，说明卤化后的抗菌肽具有更强的细胞选择性。

已知在肽或类肽的化学结构中引入卤素通常会增加分子的疏水性<sup>[22]</sup>，这可能会导致构象变化从而影响抗菌肽特性。本试验为筛选和鉴定具有良好生物活性的抗菌肽和开发新型的抗菌药物提供了一定的试验基础，为 Cl-FR18 在兽医临床中的应用提供了一定的试验依据。

## 4 结论

本研究将氯原子引入到抗菌肽 FR18 上合成卤化

肽 Cl-FR18，对这两种抗菌肽的体外生物学活性进行对比研究。结果表明，卤化抗菌肽 Cl-FR18 对革兰阳性菌和革兰阴性菌均有明显的抑制作用，抗菌效果高于未修饰肽，且 Cl-FR18 保留了未修饰肽较低的溶血活性和细胞毒性，不过 Cl-FR18 对温度及蛋白酶敏感度要高于未修饰肽。卤化为进一步研究改造抗菌肽提供了一种可行策略，具有深入研究价值和应用前景。

## 参考文献：

- [1] VAN EIJK M, BOEREFIJN S, CEN L, et al. Cathelicidin-inspired antimicrobial peptides as novel antifungal compounds [J]. *Med Mycol*, 2020, 58 (8): 1073-1084.
- [2] BUCCINI D F, CARDOSO M H, FRANCO O L. Antimicrobial peptides and cell-penetrating peptides for treating intracellular bacterial infections [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 612931.
- [3] KURPE S R, GRISHIN S Y, SURIN A K, et al. Antimicrobial and amyloidogenic activity of peptides. Can antimicrobial peptides be used against SARS-CoV-2? [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (24): 9552.
- [4] NGUYEN L T, CHAU J K, PERRY N A, et al. Serum stabilities of short tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptide analogs [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (9): 12684.
- [5] LU J, XU H, XIA J, et al. D- and unnatural amino acid substituted antimicrobial peptides with improved proteolytic resistance and their proteolytic degradation characteristics [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 563030.
- [6] DATHE M, NIKOLENKO H, KLOSE J, et al. Cyclization increases the antimicrobial activity and selectivity of arginine- and tryptophan-containing hexapeptides [J]. *Biochemistry*, 2004, 43 (28): 9140-9150.
- [7] MOLCHANOVA N, NIELSEN J E, SORENSEN K B, et al. Halogenation as a tool to tune antimicrobial activity of peptoids [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 14805.
- [8] HASAN A, SAXENA V, CASTELLETTO V, et al. Chain-end modifications and sequence arrangements of antimicrobial peptoids for mediating activity and nano-assembly [J]. *Front Chem*, 2020, 8: 416.
- [9] 汪庆, 张瑞芬, 王亚楠, 等. 抗菌肽结构改造与人工智能研发策略 [J]. *微生物学报*, 2022, 62 (11): 4353-4366.
- [10] JIANG S, ZHANG L, CUI D, et al. The important role of halogen bond in substrate selectivity of enzymatic catalysis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34750.
- [11] MARDIROSSIAN M, RUBINI M, ADAMO M, et al. Natural and synthetic halogenated amino acids-structural and bioactive features in antimicrobial peptides and peptidomimetics [J]. *Molecules*, 2021, 26 (23): 7401.
- [12] NIEMZ A, TIRRELL D A. Self-association and membrane-binding behavior of melittins containing trifluoroisoleucine [J]. *J Am Chem Soc*, 2001, 123 (30): 7407-7413.
- [13] MENG H, KUMAR K. Antimicrobial activity and protease stability of

- peptides containing fluorinated amino acids [J]. J Am Chem Soc, 2007, 129 (50): 15615-15622.
- [14] JIA F, ZHANG Y, WANG J, et al. The effect of halogenation on the antimicrobial activity, antibiofilm activity, cytotoxicity and proteolytic stability of the antimicrobial peptide Jelleine-I [J]. Peptides, 2019, 112: 56-66.
- [15] YIN L M, EDWARDS M A, LI J, et al. Roles of hydrophobicity and charge distribution of cationic antimicrobial peptides in peptide-membrane interactions [J]. J Biol Chem, 2012, 287 (10): 7738-7745.
- [16] HUANG J, HAO D, CHEN Y, et al. Inhibitory effects and mechanisms of physiological conditions on the activity of enantiomeric forms of an  $\alpha$ -helical antibacterial peptide against bacteria [J]. Peptides, 2011, 32 (7): 1488-1495.
- [17] 李剑勋, 步雨珊, 刘银雪, 等.  $\alpha$ -螺旋抗菌肽 YHX-1 的从头设计及抑菌活性研究 [J]. 食品科学技术学报, 2022, 40 (3): 98-104.
- [18] BUER B C, MARSH E N. Fluorine: a new element in protein design [J]. Protein Sci, 2012, 21 (4): 453-462.
- [19] BOLT H L, EGGIMANN G A, JAHODA C, et al. Exploring the links between peptoid antibacterial activity and toxicity [J]. Medchemcomm, 2017, 8 (5): 886-896.
- [20] LEE J, KANG D, CHOI J, et al. Effect of side chain hydrophobicity and cationic charge on antimicrobial activity and cytotoxicity of helical peptoids [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28 (2): 170-173.
- [21] JIA F, YU Q, WANG R, et al. Optimized antimicrobial peptide Jelleine-I derivative Br-J-I Inhibits fusobacterium nucleatum to suppress colorectal cancer progression [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (2): 1469.
- [22] GENTRY C L, EGLETON R D, GILLESPIE T, et al. The effect of halogenation on blood-brain barrier permeability of a novel peptide drug [J]. Peptides, 1999, 20 (10): 1229-1238.

