

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ – СОВРЕМЕННАЯ АЛЬТЕРНАТИВА АНТИБИОТИКАМ

Цепелев В.Ю.¹, Лазарева И.А.¹, Гунов С.В.¹

¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail: kurskmed@mail.ru

В настоящее время глобальной проблемой современной медицины и всего человечества является антибиотикорезистентность микроорганизмов к широкому кругу антибактериальных средств. Повсеместное и бесконтрольное применение антибактериальных препаратов, нарушение схем лечения, а также содержание данных веществ в пищевых продуктах способствует широкому распространению этого явления. Причем появление устойчивости микроорганизмов возможно не только к одному, а к целому ряду антибактериальных препаратов. Особенно опасно появление мультирезистентных форм бактерий, способствующих развитию трудноизлечимых и смертельно опасных заболеваний. В связи с этим поиск и разработка новых групп препаратов, способных влиять на жизнедеятельность и развитие бактерий, является особенно актуальным. Одной из потенциальных групп соединений, обладающих необходимым набором антибактериальных эффектов, являются антимикробные пептиды (АМП). Это гетерогенная группа молекул с различными механизмами реализации, приводящими к гибели патогенов. Уничтожение клеток происходит воздействием на клеточные мембраны или внутриклеточные компоненты. Особенность АМП – высокая метаболическая активность и низкая вероятность возникновения привыкания и проявления побочных эффектов. В последние десятилетия АМП стали мощными альтернативными агентами, которые удовлетворяют потребность в новых противомикробных средствах для преодоления растущих проблем устойчивости к антибиотикам.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, классификация, вторичная структура, механизм действия, комбинирование АМП с антибиотиками, лекарственная устойчивость.

ANTIMICROBIAL PEPTIDES – A MODERN ALTERNATIVE TO ANTIBIOTICS

Tsepelev V.Yu.¹, Lazareva I.A.¹, Gunov S.V.¹

¹ Federal State Educational Institution of Higher Education «Kursk State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Kursk, e-mail: kurskmed@mail.ru

Currently, the global problem of modern medicine and all mankind is the antibiotic resistance of microorganisms to a wide range of antibacterial agents. Widespread and uncontrolled use of antibacterial drugs, violation of treatment regimens, as well as the content of these substances in food products contributes to the widespread spread of this phenomenon. Moreover, the emergence of resistance of microorganisms is possible not only to one, but to a number of antibacterial drugs. Especially dangerous is the appearance of multi-resistant forms of bacteria that contribute to the development of intractable and deadly diseases. In this connection, the search and development of new groups of drugs that can affect the vital activity and development of bacteria is especially relevant. One of the potential groups of compounds with the necessary set of antibacterial effects are antimicrobial peptides (AMP). This is a heterogeneous group of molecules with different mechanisms of implementation, leading to the death of pathogens. The destruction of cells occurs by exposure to cell membranes or intracellular components. The peculiarity of AMP is high metabolic activity and low probability of addiction and side effects. In recent decades, AMP have become powerful alternative agents that meet the need for new anti-infective agents to overcome the growing problems of antibiotic resistance.

Keywords: antimicrobial peptides, classification, secondary structure, mechanism of action, combination of LAMPS with antibiotics, drug resistance.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) сообщает, что устойчивость к антибиотикам продолжает расти во всем мире, и предупреждает, что приближается период, когда лечение инфекций ими будет неэффективно [1]. Увеличение числа устойчивых бактериальных штаммов вызвало необходимость разработки новых антимикробных агентов, которые можно использовать в лечении заболеваний [2]. Последние годы эпидемии и

пандемии показали, что общественное здравоохранение потенциально находится под глобальной угрозой с точки зрения инфекционных заболеваний, и потребность в современных и эффективных противомикробных препаратах для борьбы с возникающими микробными заболеваниями сохраняется. АМП являются потенциальными многофункциональными терапевтическими агентами, которые эффективны в отношении широкого спектра микроорганизмов. Их называют «природными антибиотиками». Некоторые АМП могут вызывать быструю гибель грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов, паразитов, инкапсулированных вирусов или опухолевых клеток в течение нескольких минут. АМП имеют низкий риск развития резистентности и даже могут ингибировать устойчивые к антибиотикам микроорганизмы [3]. Все эти преимущества делают АМП идеальными кандидатами для фармакологических применений.

Цель исследования - изучить классификацию АМП, многогранный механизм действия, возможность использования с антибиотиками с целью предотвращения роста устойчивости у микроорганизмов.

Материалы и методы исследования. Был проведён анализ современной литературы и исследований, существующих по данной теме.

Результаты исследования и их обсуждение. Историческое открытие антимикробных пептидов относится к 1939 году, когда Дюбос выделил антимикробное вещество из штамма почвенной бациллы [4]. Далее было выявлено наличие АМП в структуре прокариот и эукариот. По этим данным, одна только кожа лягушки содержит около 300 различных пептидов. Учёные из Японии смогли изучить антимикробный механизм бомбининов H2 и H4, полученных из кожи лягушки *Bombina variegata*. Эти вещества продемонстрировали высокую эффективность против возбудителей лейшманиоза. Кроме того, были обнаружены другие антимикробные пептиды: дефензины из лейкоцитов кролика, лактоферрин из коровьего молока и пептиды, полученные из женского репродуктивного тракта. В проводимом исследовании были выделены несколько штаммов бактерий, которые способны продуцировать АМП против *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* и золотистого стафилококка [5].

Группа исследователей представила лактоферрин, модифицированный в N-концевом домене, который проявил высокую активность против микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью [6].

Структурная организация антимикробных пептидов играет ключевую роль в понимании механизмов их воздействия на клетки мишени. Повсеместное значение получила классификация АМП по вторичной структуре. Выделяют следующие виды: α -спиральные, β -пластинчатые, смешанные (α -спиральные/ β -пластинчатые) и циклические структуры, а также с отсутствием выраженной вторичной структуры в растворах.

Пептиды α -спирали являются наиболее изученной группой АМП. Например, магайнин из кожи африканской когтистой лягушки *X. Laevis*; мелиттин, обнаруженный в яде медоносной пчелы *Apis mellifera*; кателицидин человека, полученный из LL-37. Данные пептиды являются хорошо изученными и представляют собой амфифильную α -спиральную вторичную структуру в мембраномиметической среде. Наличие альфа-спирали играет ключевую роль в механизме взаимодействия с мембраной бактериальной клетки, приводящего к ее гибели. При нарушении структуры альфа-спирали происходит сильное снижение антибактериальной активности. Спирали с противоположным расположением катионных и гидрофобных доменов легче взаимодействуют с мембраной бактерий, тем самым повышая антибактериальную эффективность [7]. Наличие спиральной структуры опосредует гемолитический и токсический эффект на клетки мишени.

В недавних исследованиях Манта [8] представлено значительное снижение гемолитической активности пептидов посредством замены двух необычных аминокислотных остатков, диаминамасляной кислоты и диаминопропионовой кислоты на полярной поверхности амфипатических α -спиральных пептидов, разработанных *de novo*.

Большая группа пептидов характеризуется β -листовой конформацией, которая состоит по меньшей мере из пары двух β -нитей, связывающихся дисульфидными связями, обеспечивающих стабилизацию и биологические функции пептидов. Присутствие солевых мостиков и циклизация способствуют дополнительной стабилизации вторичной структуры пептидов. β -листовые АМП из-за своей повышенной стабильности не характеризуются конформационными изменениями при взаимодействии с фосфолипидами мембран [9]. Данная группа пептидов проявляет амфипатический характер, присущий β -нитям, которые разделены на полярные и неполярные домены [10]. К β -пластинчатым АМП относятся β -шпильчатые пептиды и циклические α -, β - и θ -дефензины. β -шпильки имеют антипараллельные β -слои, стабилизированные дисульфидными мостиками [11]. Протегрины, полученные из лейкоцитов свиней, проявляют антибактериальную активность. Механизм реализации антимикробного эффекта объясняется моделью ступенчатого образования пор, начиная с антипараллельной димеризации в мембранной среде с последующим образованием олигомеров и их сборкой в октамерную структуру пор, которая действует как неконтролируемый канал переноса ионов в биологических мембранах [12].

Дефензины – хорошо описанная и изученная группа АМП с широким спектром действия против бактерий, вирусов, грибков. α -дефензины обнаруживаются в нейтрофилах, а β -дефензины в эпителиальных клетках различных тканей.

Дефензины содержат от 3 до 6 дисульфидных мостиков, а положение внутримолекулярных дисульфидных связей определяет их класс. Связи дисульфидных

мостиков в положении Cys1-Cys6, Cys2-Cys4 и Cys3-Cys5 характерны для α -дефенинов, а C1-C5, C2-C4 и C3-C6 для β -дефенинов. θ -дефенины впервые были выделены в лейкоцитах макаки-резуса. Структура θ -дефенинов представлена циклической цистеиновой лестницей с циклическим пептидным остовом, сшитым тремя параллельными дисульфидами. Конформация циклической цистеиновой лестницы обеспечивает антимикробную активность за счёт стабилизации циклического остова [13].

Высокостабильные циклические пептиды характеризуются большой площадью поверхности и ограниченной гибкостью, что обеспечивает наилучшее связывание и селективность [14].

АМП смешанного типа имеют структуру α -спирали / β -листа, обеспечивающую стабилизацию дисульфидных мостиков. CSa β -содержащие дефенины присутствуют в растениях и насекомых и обладают выраженным антимикробным эффектом [15]. В амфипатической структуре остатки с положительным зарядом находятся в спирали, а β -слой состоит из гидрофобных аминокислотных остатков. АМП имеют неструктурированную форму в водных растворах, но быстро способны изменять конформацию и принимать четко определенную форму.

Амфипатический модельный пептид GL13K находится в неупорядоченном состоянии в воде, проявляет α -спиральную структуру в присутствии цвиттерионных модельных мембран (DOPC) и переходит в преимущественно β -листовую конформацию в анионных мембранах (DOPG) [16].

Понимание вторичной структуры АМП даёт возможность изучить механизм их действия.

Основная мишень АМП – бактериальная мембрана патогена. В современной литературе описано множество моделей их механизма действия, приводящего к осмотическому лизису. Разрушение мембраны возможно с включением сразу нескольких моделей, что было недавно доказано [17].

Модель «бочкообразного стержня» показывает, что пептиды проникают в мембрану и направляют свои гидрофобные участки к липидному ядру бислоя, образуя трансмембранную пору. Экспериментальные доказательства этой модели были получены в результате структурных и биофизических исследований очень гидрофобных последовательностей, некоторые из которых лишены какого-либо заряда [18].

Модель «ковра» предполагает, что АМП накапливаются параллельно поверхности мембраны, образуя «ковёр» [19]. Как только достигнута пороговая концентрация пептидов, они оказывают «детергентный» эффект, приводящий к разрыву клеточной мембраны.

Обширные экспериментальные доказательства этого механизма были получены для многих катионных амфипатических пептидов, таких как магайнины [20].

Модель «тороидальных пор» подразумевает, что АМП перпендикулярно проникают в мембрану благодаря взаимодействию между липидным бислоем и гидрофильной областью пептидов. При этом мембрана деформируется и, таким образом, образует «тороидальную пору» [21].

«Агрегатная» модель предполагает образование агрегатов пептидов и липидов, что позволяет перемещать АМП через мембраны.

При рассмотрении этих моделей следует иметь в виду, что, с одной стороны, липидные бислои являются мягкими и могут приспосабливать свою форму и толщину к пептидам, вставленным в мембрану. С другой стороны, пептиды покрывают очень динамичное и гибкое конформационное пространство, и при взаимодействии также реагируют с мембраной. Таким образом, в зависимости от состава липидов, концентрации пептидов, соли и буфера может образовываться множество различных супрамолекулярных соединений. Эти соображения были включены в модель SMART, которая учитывает, что пептиды и липиды корректируют свою конформацию и форму при взаимодействии друг с другом, тем самым охватывая полный спектр возможностей взаимодействия между АМП и мембранами [22].

Некоторые пептиды проникают через цитоплазматическую мембрану и нацелены на клеточные процессы, необходимые для выживания патогена, включая ингибирование репликации ДНК, синтез белка, вмешательство в биосинтез нуклеиновых кислот, метаболизм, деление клеток и связывающие липополисахариды (ЛПС) белки [23].

Действительно, было показано, что некоторые катионные АМП образуют комплексы и флокулируют нуклеиновые кислоты или другие анионные макромолекулы из-за их средства с отрицательно заряженными фосфодиэфирными связями [24]. Френатин 2.3S интернализуется в бактериальных клетках после дестабилизации их мембран и может связывать нуклеиновые кислоты [25]. Низкие концентрации других пептидов влияют на синтез белка. АМП с триптофаном уничтожают синегнойную палочку за счет подавления экспрессии генов, иницирующих репликацию ДНК [26]. Tur1A связывается с рибосомами и блокирует трансляцию мРНК в белки [27]. Танатин нацелен на бактериальные ЛПС и индуцирует опосредованную ЛПС агрегацию [28]. Тридекаптин блокирует синтез АТФ в бактериях и активен в отношении множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) и устойчивых к колистину энтеробактерий [29]. АМП способны проявлять иммунорегуляторные функции, обеспечивая накопление и активацию иммунных клеток. Дефензины усиливают выработку интерлейкина-1, а кателицидин VF проявляет иммуномодулирующую активность [30].

Антибиотики в сочетании с АМП – перспективная модель лечения, обеспечивающая преодоление антибиотикорезистентности, повышение эффективности, снижение токсических и побочных эффектов, вызванных повышенной дозой препарата. Такое сочетание позволяет увеличить проницаемость мембран бактерий, снизить элиминацию антибиотиков, регулировать внутриклеточный ионный гомеостаз, ингибировать образование биопленки [31]. Сочетание низина с пенициллином, хлорамфениколом, ципрофлоксацином, индолицидином или азитромицином обеспечивает синергический эффект на метициллинрезистентный золотистый стафилококк, предотвращая образование биопленки или ингибируя прикрепление бактерий [32; 33]. Комбинация тетрациклинового антибиотика демеклоциклина гидрохлорида (DMCT) и антимикробного пептида SAAP-148 обладает синергической антибактериальной активностью для борьбы с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) штаммов *P. aeruginosa* PAO1 и *P. aeruginosa* ATCC27853 [34]. LEAP-2 повышает активность ампициллина против *Vibrio parahaemolyticus* [35]. Пептид LL-37 человека [36], пептид-P2 из *Xenopus laevis* [37], HsAFP1, входящий в структуру растительных клеток [38], в комбинации с различными группами антибиотиков показали себя высокоэффективными в борьбе с бактериальными инфекциями. Антипсевдомонадные пептиды, полученные из эскулентина-1а, способны улучшать активность азтреонама в ингибировании роста бактерий и уничтожении клеток *pseudomonas* [39]. Комбинированное действие АМП обеспечивает лучшую эффективность, однако таких сочетаний немного. К ним относится сочетание PGLa и магаинина 2 - два амфифильных α -спиральных мембранолитических пептида из кожи лягушки, принадлежат к семейству магаининов [40]. Была предложена новая молекулярная модель комплекса PGLa-магаинин 2, в которой каждый мономер PGLa связывается с одной молекулой магаинина 2 на ее С-конце [41]. PGLa быстро внедряются и извлекаются из мембраны, а магаинин 2, наоборот, способен к агрегации на поверхности мембраны, образуя гетеродимеры. PGLa-магаинин 2 позволяет остаткам PGLa и MAG2 хорошо интегрироваться в мембрану [42]. Сочетание магаинина 2 и тахиплесина 1 усиливает распознавание бактериальной мембраны путём образования олигомерных структур перед контактом [43]. В недавнем исследовании группы Бхунии сообщалось, что два АМП, VG16KRKP и KYE28, проявляют синергические антимикробные эффекты против патогенов растений и протеаз за счет формирования необычного пептидного комплекса [44]. Антимикробные эффекты могут быть улучшены при комбинировании с другими соединениями или лекарствами. Наилучшую антибактериальную активность низин проявляет в комбинации с лимонной кислотой против *S. aureus* и *L. Monocytogenes*, что связано с сильным повреждением структуры и высвобождением содержимого клетки [45]. В исследовании Ahn et al. [46] выявлено, что С-концевые 15 аминокислот HBD3-C15 усиливают бактерицидную и антибиопленочную активность

дезинфицирующих средств. Комбинированное применение низина А и эпислон-поли-L-лизина проявляет синергическую активность в отношении грамположительных *Bacillus cereus* и *L. monocytogenes* [47].

Антимикробные пептиды имеют хорошие перспективы применения, однако существует ряд проблем при их использовании:

- АМП повреждают клеточную мембрану эукариот и вызывают гемолитические побочные эффекты;
- растущие производственные затраты и технические проблемы ограничивают их производство;
- их стабильность лимитирована определенными значениями pH;
- АМП обладают пониженной активностью в присутствии железа;
- легко гидролизуются протеазами.

В связи с этим идеальный по своим свойствам АМП должен соответствовать следующим характеристикам:

- 1) высокая антимикробная активность;
- 2) низкая токсичность для мембран млекопитающих;
- 3) высокая стабильность к протеазам и окружающей среде;
- 4) низкая способность к связыванию с сывороткой;
- 5) простота доступа и низкая стоимость производства.

Рациональный дизайн антибактериальных пептидов должен быть сосредоточен на следующих пяти аспектах: длина цепи, вторичная структура, суммарный заряд, гидрофобность и амфифильность.

Выводы. АМП – это мощная альтернатива антибактериальным лекарственным средствам в борьбе с инфекционными заболеваниями. Разработка синтетических антимикробных пептидов связана с развитием технологий контролируемой полимеризации с возможностью имитировать структуру естественных АМП, что является инновационным подходом в борьбе с растущей распространенностью мультирезистентных инфекций. Антимикробные пептиды имеют различные классификации, но чаще всего подразделяются по вторичной структуре, так как это даёт возможность понимать механизм их действия.

Список литературы

1. Xie J., Zhao Q., Li S., Yan Z., Li J., Li Y., Mou L., Zhang B., Yang W., Miao X., Jiang X., Wang R. Novel antimicrobial peptide CPF-C1 analogs with superior stabilities and activities against multidrug-resistant bacteria. *Chemical Biology & Drug Design*. 2017. Vol. 90 no. 5. P. 690-702. DOI: 10.1111/cbdd.12988.
2. Neubauer D., Jaśkiewicz M., Migoń D., Bauer M., Sikora K., Sikorska E., Kamysz E., Kamysz W. Retro analog concept: comparative study on physico-chemical and biological properties of selected antimicrobial peptides. *Amino Acids*. 2017. Vol. 49. no. 10. P. 1755-1771. DOI: 10.1007/s00726-017-2473-7.
3. Mahlapuu M., Björn C., Ekblom J. Antimicrobial peptides as therapeutic agents: opportunities and challenges. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020. Vol. 40. no. 7. P. 978-992. DOI: 10.1080/07388551.2020.1796576.
4. Bednarska N.G., Wren B.W., Willcocks S.J. The importance of the glycosylation of antimicrobial peptides: natural and synthetic approaches. *Drug Discovery Today*. 2017. Vol. 22. no. 6. P. 919-926. DOI: 10.1016/j.drudis.2017.02.001.
5. Naima A.K., Al-Mankhal A.J.A., Al-Shafi M.J. Isolation, purification and characterization of antimicrobial peptides derived from *Saccharomyces boulardii*. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2018. Vol. 24. no. 3. P. 455-461. DOI: 10.1007/s10989-017-9632-2.
6. Mishra S.K., Acharya J., Kattel H.P., Koirala J., Rijal B.P., Pokhrel B.M. Metallo-beta-lactamase producing gram-negative bacterial isolates. *Journal of Nepal Health Research Council*. 2012. Vol. 10. no. 22. P. 208-213.
7. Wiradharma N., Sing M.Y., Khan M., Ong Z.Y., Yang Y.Y. Rationally designed α -helical broad-spectrum antimicrobial peptides with idealized facial amphiphilicity. *Macromolecular Rapid Communications*. 2013. Vol. 34. no. 1. P. 74-80. DOI: 10.1002/marc.201200534.
8. Mant C.T., Jiang Z., Gerald, Davis T., Nelson K.L., Bevers S., Hodges R.S. De novo designed amphipathic α -Helical antimicrobial peptides incorporating dab and dap residues on the polar face to treat the gram-negative pathogen, *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 62. no. 7. P. 3354-3366. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01785.
9. Kumar P., Kizhakkedathu J.N., Straus S.K. Antimicrobial Peptide: diversity, mechanism of action and strategies to improve the activity and biocompatibility in vivo. *Biomolecules*. 2018. Vol. 8. no. 1. P. 4. DOI: 10.3390/biom8010004.
10. Lee T.H., Hall K.N., Aguilar M.I. Antimicrobial peptide structure and mechanism of action: a focus on the role of membrane structure. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 16. no. 1. P. 25-39. DOI: 10.2174/1568026615666150703121700.
11. Edwards I.A., Elliott A.G., Kavanagh A.M., Zuegg J., Blaskovich M.A., Cooper M.A. Contribution of amphipathicity and hydrophobicity to the antimicrobial activity and cytotoxicity of

β -Hairpin peptides. *ACS Infectious Diseases*. 2016. Vol. 2. no. 6. P. 442-450. DOI: 10.1021/acsinfecdis.6b00045.

12. Usachev K.S., Kolosova O.A., Klochkova E.A., Yulmetov A.R., Aganov A.V., Klochkov V.V. Oligomerization of the antimicrobial peptide Protegrin-5 in a membrane-mimicking environment. Structural studies by high-resolution NMR spectroscopy. *European Biophysics Journal*. 2017. Vol. 46. no. 3. P.293-300. DOI: 10.1007/s00249-016-1167-5.

13. Conibear A.C., Rosengren K.J., Daly N.L., Henriques S.T., Craik D.J. The cyclic cystine ladder in θ -defensins is important for structure and stability, but not antibacterial activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2013. Vol. 288. no. 15. P. 10830-10840. DOI: 10.1074/jbc.M113.451047.

14. Falanga A., Nigro E., De Biasi M.G., Daniele A., Morelli G., Galdiero S., Scudiero O. Cyclic peptides as novel therapeutic microbicides: engineering of human defensin mimetics. *Molecules*. 2017. Vol. 22. no. 7. P.1217. DOI: 10.3390/molecules22071217.

15. Dias De O., Franco O.L. Cysteine-stabilized $\alpha\beta$ defensins: from a common fold to antibacterial activity. *Peptides*. 2015. Vol. 72. P. 64-72. DOI: 10.1016/j.peptides.2015.04.017.

16. Harmouche N., Aisenbrey C., Porcelli F., Xia Y., Nelson S.E.D., Chen X., Raya J., Vermeer L., Aparicio C., Veglia G., Gorr S.U., Bechinger B. Solution and solid-state nuclear magnetic resonance structural investigations of the antimicrobial designer peptide GL13K in membranes. *Biochemistry*. 2017. Vol. 56. no. 32. P. 4269-4278. DOI: 10.1021/acs.biochem.7b00526.

17. Huan Y., Kong Q., Mou H., Yi H. Antimicrobial Peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. DOI: 10.3389/fmicb.2020.582779.

18. Salnikov E.S., Raya J., De Zotti M., Zaitseva E., Peggion C., Ballano G., Toniolo C., Raap J., Bechinger B. Alamethicin supramolecular organization in lipid membranes from ^{19}F solid-state NMR. *Biophysical Journal*. 2016. Vol. 111. no. 11. P. 2450-2459. DOI: 10.1016/j.bpj.2016.09.048.

19. Chongsiriwatana N.P., Wetzler M., Barron A.E. Functional synergy between antimicrobial peptoids and peptides against gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011. Vol. 55. no. 11. P. 5399-5402. DOI: 10.1128/AAC.00578-11.

20. LaRock C.N., Nizet V. Cationic antimicrobial peptide resistance mechanisms of streptococcal pathogens. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2015. Vol. 1848. no. 11. P. 3047-3054. DOI: 10.1016/j.bbamem.2015.02.010.

21. Wimley W.C. Describing the mechanism of antimicrobial peptide action with the interfacial activity model. *ACS Chemical Biology*. 2010. Vol. 5. no. 10. P. 905-917. DOI: 10.1021/cb1001558.

22. Bechinger B. The SMART model: soft membranes adapt and respond, also transiently, in the presence of antimicrobial peptides. *Journal of Peptide Science*. 2015. Vol. 21. no. 5. P. 346-355. DOI: 10.1002/psc.2729.

23. Le C.F., Fang C.M., Sekaran S.D. Intracellular targeting mechanisms by antimicrobial peptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017. Vol. 61. no. 4. P. 1-16. DOI: 10.1128/AAC.02340-16.
24. Chongsiriwatana N.P., Lin J.S., Kapoor R., Wetzler M., Rea J.A.C., Didwania M.K., Contag C.H., Barron A.E. Intracellular biomass flocculation as a key mechanism of rapid bacterial killing by cationic, amphipathic antimicrobial peptides and peptoids. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. no. 1. P. 16718. DOI: 10.1038/s41598-017-16180-0.
25. Talapko J., Meštrović T., Juzbašić M., Tomas M., Erić S., Horvat Aleksijević L., Bekić S., Schwarz D., Matić S., Neuberg M, Škrlec I. Antimicrobial peptides - mechanisms of action, antimicrobial effects and clinical applications. *Antibiotics*. 2022. Vol. 11. no. 10. P. 1417. DOI: 10.3390/antibiotics11101417.
26. Han X., Kou Z., Jiang F., Sun X., Shang D. Interactions of designed Trp-containing antimicrobial peptides with DNA of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *DNA Cell Biology*. 2021. Vol. 40. no. 2. P. 414-424. DOI: 10.1089/dna.2019.4874.
27. Mardirossian M., Pérébasquine N., Benincasa M., Gambato S., Hofmann S., Huter P., Müller C., Hilpert K., Innis C.A., Tossi A., Wilson D.N. The Dolphin proline-rich antimicrobial peptide Tur1A inhibits protein synthesis by targeting the bacterial ribosome. *Cell Chemical Biology*. 2018. Vol. 25. no. 5. P. 530-539. DOI: 10.1016/j.chembiol.2018.02.004.
28. Dash R., Bhattacharjya S. Thanatin: an emerging host defense antimicrobial peptide with multiple modes of action. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22. no. 4. P. 1522. DOI: 10.3390/ijms22041522.
29. Jangra M., Kaur M., Tambat R., Rana R., Maurya S.K., Khatri N., Ghafur A., Nandanwar H. Tridecaptin M, a new variant discovered in mud bacterium, shows activity against Colistin and extremely drug-resistant Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2019. Vol. 63. no. 6. P. 1-16. DOI: 10.1128/AAC.00338-19.
30. Liu C., Qi J., Shan B., Gao R., Gao F., Xie H., Yuan M., Liu H., Jin S., Wu F., Ma Y. Pretreatment with cathelicidin-BF ameliorates *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in mice by enhancing NETosis and the autophagy of recruited neutrophils and macrophages. *International Immunopharmacology*. 2018. Vol. 65. P. 382-391. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.10.030.
31. Mathur H., Field D., Rea M.C., Cotter P.D., Hill C., Ross R.P. Bacteriocin-antimicrobial synergy: a medical and food perspective. *Frontiers in Microbiology*. 2017. Vol. 8. P. 1205. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01205.
32. Dosler S., Mataraci E. In vitro pharmacokinetics of antimicrobial cationic peptides alone and in combination with antibiotics against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Peptides*. 2013. Vol. 49. P.53-58. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.08.008.

33. Mataraci E., Dosler S. In vitro activities of antibiotics and antimicrobial cationic peptides alone and in combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012. Vol. 56. no. 12. P. 6366-6371. DOI: 10.1128/AAC.01180-12.
34. Li S., She P., Zhou L., Zeng X., Xu L., Liu Y., Chen L., Wu Y. High-throughput identification of antibacterials against *Pseudomonas aeruginosa*. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. P. 1-12. DOI: 10.3389/fmicb.2020.591426.
35. Chen Y., Wu J., Cheng H., Dai Y., Wang Y., Yang H., Xiong F., Xu W., Wei L. Anti-infective effects of a fish-derived antimicrobial peptide against drug-resistant bacteria and its synergistic effects with antibiotic. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. P. 1-7. DOI: 10.3389/fmicb.2020.602412.
36. Lin L., Nonejuie P., Munguia J., Hollands A., Olson J., Dam Q., Kumaraswamy M., Rivera H. Jr., Corriden R., Rohde M., Hensler M.E., Burkart M.D., Pogliano J., Sakoulas G., Nizet V. Azithromycin synergizes with cationic antimicrobial peptides to exert bactericidal and therapeutic activity against highly multidrug-resistant gram-negative bacterial pathogens. *EBioMedicine*. 2015. Vol. 2. no. 7. P.690-698. DOI: 10.1016/j.ebiom.2015.05.021.
37. Zhang Y., Liu S., Li S., Cheng Y., Nie L., Wang G., Lv C., Wei W., Cheng C., Hou F., Hao L. Novel short antimicrobial peptide isolated from *Xenopus laevis* skin. *Journal of Peptide Science*. 2017. Vol. 23. no. 5. P. 403-409. DOI: 10.1002/psc.2990.
38. Vriens K., Cools T.L., Harvey P.J., Craik D.J., Spincemaille P., Cassiman D., Braem A., Vleugels J., Nibbering P.H., Drijfhout J.W., De Coninck B., Cammue B.P., Thevissen K. Synergistic activity of the plant defensin HsAFP1 and caspofungin against *Candida albicans* biofilms and planktonic cultures. *PLoS One*. 2015. Vol. 10. no. 8. P. 1-22. DOI: 10.1371/journal.pone.0132701.
39. Casciaro B., Loffredo M.R., Luca V., Verrusio W., Cacciafesta M., Mangoni M.L. Esculentin-1a derived antipseudomonal peptides: limited induction of resistance and synergy with aztreonam. *Protein and Peptide Letters*. 2018. Vol. 25. no. 12. P. 1155-1162. DOI: 10.2174/0929866525666181101104649.
40. Glattard E., Salnikov E.S., Aisenbrey C., Bechinger B. Investigations of the synergistic enhancement of antimicrobial activity in mixtures of magainin 2 and PGLa. *Biophysical chemistry*. 2016. Vol. 210. P. 35-44. DOI: 10.1016/j.bpc.2015.06.002.
41. Zerweck J., Strandberg E., Kukharenko O., Reichert J., Burck J., Wadhvani P. Molecular mechanism of synergy between the antimicrobial peptide PGLa and magainin 2. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. no. 1. P. 1-21. DOI: 10.1038/s41598-017-12599-7
42. Ma W., Sun S., Li W., Zhang Z., Lin Z., Xia Y., Yuan B., Yang K. Individual roles of peptides PGLa and magainin 2 in synergistic membrane poration. *Langmuir*. 2020. Vol. 36. no. 26. P. 7190-7199. DOI: 10.1021/acs.langmuir.0c00194.

43. Remington J.M., Liao C., Sharafi M., Ste Marie E.J., Ferrell J.B., Hondal R.J., Wargo M.J., Schneebeli S.T., Li J. Aggregation state of synergistic antimicrobial peptides. *The Journal of Physical Chemistry Letters*. 2020. Vol. 11. no. 21. P. 9501-9506. DOI: 10.1021/acs.jpcclett.0c02094.
44. Ilyas H., Kim J., Lee D., Malmsten M., Bhunia A. Structural insights into the combinatorial effects of antimicrobial peptides reveal a role of aromatic-aromatic interactions in antibacterial synergism. *Journal of Biological Chemistry*. 2019. Vol. 294. no. 40. P. 14615-14633. DOI: 10.1074/jbc.RA119.009955.
45. Zhao X., Zhen Z., Wang X., Guo N. Synergy of a combination of nisin and citric acid against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food additives & contaminants: Part A: chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*. 2017. Vol. 34. no. 12. P. 2058-2068. DOI: 10.1080/19440049.2017.1366076.
46. Ahn K.B., Kim A.R., Kum K.Y., Yun C.H., Han S.H. The synthetic human beta-defensin-3 C15 peptide exhibits antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*, both alone and in combination with dental disinfectants. *The Journal of Microbiology*. 2017. Vol. 55. no. 10. P. 830-836. DOI: 10.1007/s12275-017-7362-y.
47. Badaoui Najjar M., Kashtanov D., Chikindas M.L. Epsilon-poly-L-lysine and nisin A act synergistically against gram-positive food-borne pathogens *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*. 2007. Vol. 45. no. 1. P. 13-18. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2007.02157.x.