

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS COMO POSIBLES
AGENTES TERAPÉUTICOS CONTRA LA
BACTERIA *Propionibacterium acnes***

Diana Milena Gómez Moreno

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, D.C., Colombia
2018

PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS COMO POSIBLES AGENTES TERAPÉUTICOS CONTRA LA BACTERIA *Propionibacterium acnes*

Diana Milena Gómez Moreno

Trabajo final de maestría presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias-Química

Directora:

Dr. Sc Química Luz Mary Salazar Pulido

Línea de Investigación:

Compuestos Antimicrobianos

Grupo de Investigación:

Bioquímica y Biología Molecular de las *Micobacterias*

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Bogotá, D.C., Colombia

2018

Dedicatoria

A DIOS

“La ciencia es al mundo, como el agua a la vida”

Agradecimientos

A Dieu, parce que dans son immensité et sa miséricorde, il me permet de réaliser un autre rêve de la vie.

À Maria Cristina pour son amour inconditionnel, sa patience, son travail acharné, son dévouement, son exemple et son soutien dans ce projet de vie, merci d'être le meilleur scientifique que j'ai jamais connu..

À Humberto, pour son exemple, ses conseils et ses paroles avisées au bon moment, pour être le meilleur père du monde.

À Nicolás d'être l'ami que j'ai toujours voulu avoir, pour son exemple et ses conseils et le soutien inconditionnel qu'il m'a apporté.

À Yahson, mon bien-aimé, avec qui j'aimerais partager une vie commune et le remercier à chaque instant pour chaque détail et chaque effort qu'il a déployés pour moi.

Un merci spécial à Dr. Sc Qca. Luz Mary Salazar pour ses précieux conseils, son enseignement et sa collaboration au développement de cette recherche.

À l'Université nationale de Colombie de m'avoir permis d'être dans leurs salles de classe et de laisser dans mon cœur le sceau UNAL.

À tous merci.

Resumen

Una alternativa promisoriosa se ha encontrado para tratar una de las enfermedades epiteliales que más aqueja a la población mundial, se trata de los péptidos antimicrobianos que combaten la enfermedad del acné, desde el punto de vista dermatológico el acné es una enfermedad causada por la presencia de la bacteria comensal *Propionibacterium acnés*, la cual genera un problema de salud especialmente en la población joven que se ve afectada por secuelas de inflamación y pigmentación. El proceso infeccioso causado es reconocido por el sistema inmunológico generando la activación de péptidos antimicrobianos como respuesta complementaria del sistema inmune innato, estas biomoléculas se han constituido en posibles agentes terapéuticos en reemplazo de los fármacos convencionales que presentan efectos adversos en los pacientes y han generado resistencia bacteriana. En este documento se presenta una revisión de aspectos relevantes de la enfermedad, características de los péptidos antimicrobianos en general y los péptidos más relevantes que han demostrado actividad bactericida contra este patógeno.

Palabras clave: Acné, *Propionibacterium acnes*, Anfipaticidad, Defensina, Granulisina, LZ1, Anti-inflamatorio, Bactericida.

Abstract

A promising alternative has been found to treat one of the epithelial diseases that most afflicts the world population, it is the antimicrobial peptides that fight acne disease, from the dermatological point of view acne is a disease caused by the presence of the commensal bacterium *Propionibacterium acnes*, which generates a health problem especially in the young population that is affected by sequelae of inflammation and pigmentation. The infectious process caused is recognized by the immune system generating the activation of antimicrobial peptides as a complementary response of the innate immune system, these biomolecules have become potential therapeutic agents in replacement of conventional drugs that have adverse effects in patients and have generated resistance bacterial. This document presents a review of relevant aspects of the disease, characteristics of antimicrobial peptides in general and the most relevant peptides that have demonstrated bactericidal activity against this pathogen.

Keywords: Acne, *Propionibacterium acnes*, Amphipathicity, Defensin, Granulisin, LZ1, Anti-inflammatory, Bactericide.

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Lista de figuras.....	XII
Lista de tablas	XIII
Introducción	1
1. Acné	5
1.1 Fisiopatología del acné	6
1.2 Bacteria <i>Propionibacterium acnes</i>	8
1.3 Tratamientos convencionales	9
2. Péptidos Antimicrobianos (PAMs)	11
2.1 Clasificación de péptidos antimicrobianos.....	17
2.1.1 Fuente Biológica	17
2.1.2 Características de la secuencia.....	18
2.1.3 Conformación estructural	21
2.1.4 Patrones de enlace covalente	23
2.1.5 Función biológica	24
2.1.6 Blanco Molecular.....	25
2.2 Modelos de acción de péptidos antimicrobianos	25
3. Obtención y evaluación biológica de péptidos antimicrobianos.....	31
3.1 Metodologías de obtención de péptidos antimicrobianos	31
3.1.1 Síntesis biológica	31
3.1.2 Síntesis recombinante.....	32
3.1.3 Síntesis química.....	32
3.1.4 Síntesis enzimática	35
3.2 Ensayos de actividad antimicrobiana	36
4. Péptidos antimicrobianos promisorios para combatir el acné	39
5. Análisis de los péptidos antimicrobianos promisorios.....	45
6. Conclusiones y recomendaciones.....	51
6.1 Conclusiones	51
6.2 Recomendaciones	52
Bibliografía	55

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Patología del acné en la unidad pilosebácea. A. Folículo piloso sano B. Folículo piloso taponado. Adaptado de (Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. et al. 2016).....	6
Figura 1-2: Estadios del acné. Adaptado de (Ito et al. 2018)	7
Figura 2-1: Clasificación de Péptidos Antimicrobianos según fuente biológica. Adaptado de (Guangshun Wang, Li, and Wang 2016).	17
Figura 2-2: Distribución de péptidos antimicrobianos en el reino animal. Adaptado de (Guangshun Wang, Li, and Wang 2016).	18
Figura 2-3: Distribución de péptidos antimicrobianos según carga neta de la secuencia. Adaptado de (Guangshun Wang 2017).....	19
Figura 2-4: Distribución de péptidos antimicrobianos según longitud de la secuencia. Adaptado de (Guangshun Wang 2017).....	20
Figura 2-5: Distribución de péptidos antimicrobianos según la hidrofobicidad de la secuencia. Adaptado de (Guangshun Wang 2017; Fan et al. 2016).....	21
Figura 2-6: Modelos de acción propuestos para la interacción péptido antimicrobiano – patógeno. Adaptado de (Peters, Shirliff, and Jabra-Rizk 2010).	26
Figura 2-7: Modelos de interacción del péptido sobre la membrana del microorganismo. Adaptado de (Le, Fang, and Sekaran 2017).	28
Figura 3-1: Esquema general de la síntesis de péptidos en fase sólida. Tomado de (Guzmán, Barberis, and Illanes 2007; Gómez Moreno 2016).....	34
Figura 3-2: Modelo termodinámico de la síntesis enzimática de péptidos. Adaptado de (Bastida et al. 2018).....	35
Figura 3-3: Modelo cinético de la síntesis enzimática de péptidos. Adaptado de (Xu Qin, a Anne C. Khuong, a Zheng Yu, a Wenzhe Du and Grossa 2013).	36
Figura 5-1: Análisis de la secuencia en el servidor.....	47

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1 Bases de datos de péptidos antimicrobianos (Gabere and Noble 2017).....	14
Tabla 2. Clasificación de péptidos antimicrobianos según conformación estructural.	23
Tabla 3. Clasificación Universal de péptidos antimicrobianos según patrones de enlace (Zhou and Huang 2015).	23
Tabla 4 Péptidos antimicrobianos con su mecanismos de acción propuesto (Brogden 2005).....	29

Introducción

El acné es una de las enfermedades epiteliales más comunes que afecta aproximadamente al 80% de la población mundial entre los 16 a 35 años de edad, es causada por múltiples factores como la predisposición genética, alteración hormonal, niveles de estrés, irritación cutánea y respuesta a medicamentos, entre otras. Esta enfermedad se limita a la unidad pilosebácea (folículo piloso y glándula sebácea) donde adquiere diversos grados de severidad, se manifiesta clínicamente por la aparición de comedones con tendencia a inflamación y finalmente ocasiona cicatriz perjudicando la autoestima y la calidad de vida de aquellos que la padecen. La evolución de la enfermedad se rige principalmente por el aumento en la producción de sebo, hiperqueratinización, obstrucción folicular e incremento en la colonización de la bacteria *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), presente en la microbiota de la piel (Fox et al. 2016). Para el control de esta enfermedad se han desarrollado tratamientos externos que disminuyen la sintomatología tales como tópicos bacteriostáticos, antiinflamatorios, medicamentos hormonales, reductores en la producción de sebo e incluso cosméticos, que producen efectos secundarios importantes como eritemas, sequedad, descamación o escozor, en ocasiones irreversibles. Para dar una alternativa al tratamiento de la enfermedad se ha venido estudiando la respuesta innata del sistema inmune del paciente ante la presencia de este microorganismo invasor, resaltando la gran importancia de los péptidos antimicrobianos como las moléculas de defensa propias del hospedero que funcionan como parte de la protección natural del cuerpo, pues actúan contra una amplia variedad de microorganismos como la *P. acnes*, demostrando en estudios la capacidad bactericida que tienen para inhibir su crecimiento.

Dada la relevancia de estas moléculas peptídicas de proteger la epidermis y actuar contra la invasión y proliferación de variedad de gérmenes y aun conociendo poco de sus funciones y virtudes, es pertinente hacer una revisión bibliográfica actualizada y completa de posibles péptidos antimicrobianos que se usen como control de infección bacteriana y

como potenciales agentes terapéuticos contra microorganismos que se encuentran localizados en la piel como la *P. acnes*, y que a la vez sirvan como soporte para futuras investigaciones relacionadas con la enfermedad del acné.

Para llevar a cabo la revisión se recopilaron, organizaron y analizaron diferentes fuentes bibliográficas relacionadas con investigaciones específicas en el tema, provenientes de diversas bases de datos como ScienceDirect, Scopus, Scielo, NCBI (National Center for Biotechnology Information), PubMed, Springer Nature, y Sistema Nacional de Bibliotecas de la Universidad Nacional de Colombia (Sinab). En las bases consultadas se utilizaron motores de búsqueda que recopilaron las palabras claves acordes al presente estudio, acompañado de operadores lógicos que permitían direccionar dicha búsqueda, como ejemplo: (Antimicrobial peptide **and** *Propionibacterium acnes*) (*acne vulgaris* **and/or** sebum **and** defensina or cathelicidine). La información recopilada se filtró por rango de tiempo, donde se escogieron los péptidos más relevantes encontrados para combatir la enfermedad del acné desde el año 2000 en adelante.

Esta revisión presenta diferentes candidatos peptídicos provenientes de diversas fuentes biológicas con propiedades bactericidas, que pueden ser moléculas potencialmente útiles para el tratamiento alternativo del acné. De las moléculas que han presentado mayor actividad antimicrobial contra la bacteria *P. acnes* según reportes bibliográficos y que proviene del ser humano es la Granulisina comparándola con un fármaco convencional para tratar esta enfermedad (Climdamicina), aun así, este péptido no ha salido de la fase clínica por motivos de ensayos toxicológico para una población mayor. De igual forma está el péptido sintético LZ1 el cuál proviene del análisis y la fusión de secuencias provenientes de varias familias de péptidos antimicrobianos, sus estudios superan la fase in vitro e in vivo y es posible encontrarlo en el mercado únicamente en países orientales, pero con exclusivo seguimiento médico, pues se continúan realizando ensayos toxicológicos. Por este motivo se hace de exclusiva importancia continuar en el estudio e investigación de estas moléculas peptídicas promisorias que actúan contra una enfermedad que ataca a una gran población a nivel mundial (mayor al 80%) y tiene un tiempo de duración sustancial en la vida de quien la padece. Además de que las implicaciones secundarias de los péptidos antimicrobianos son significativamente menores comparadas contra un fármaco convencional.

Producto de la revisión presentada y con la experiencia del grupo de investigación en péptidos antimicrobianos se plantea un posible estudio a realizar de algunas regiones de las secuencias de dichos péptidos que no han sido estudiadas previamente, con ello, se

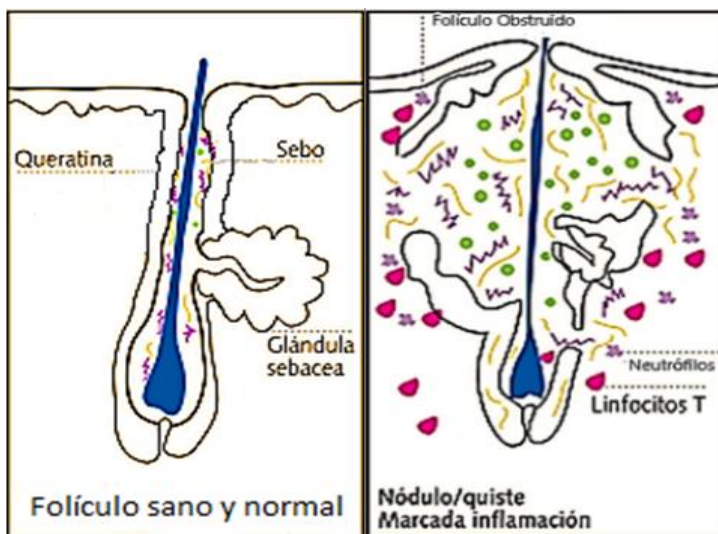
proponen modificaciones en la secuencia que puedan generar cambios estructurales, cambios en la carga e hidrofobicidad para tratar de potenciar la respuesta inmune generada por péptidos, por medio de herramientas bioinformáticas que ayudan a encontrar las posibles secuencias a ensayar. Con las secuencias analizadas en este trabajo se plantearía como perspectiva a futuro hacer la síntesis química de los péptidos ya diseñados y realizar los ensayos de actividad contra la bacteria *P. acnes*, así obtener una posible alternativa terapéutica contra la enfermedad.

1. Acné

El acné también conocido como acné vulgar (*acné vulgaris*) es una enfermedad que afecta la piel, se centra en la inflamación crónica de los poros o unidades pilosebáceas que contienen células queratinocitos, glándulas sebáceas y folículos pilosos; estos poros se lubrican por la sustancia que produce la glándula sebácea denominada sebo, el cual también funciona como transportador de células epiteliales muertas a la superficie por medio del canal folicular (W. H. Li et al. 2018). Cuando se presenta la obstrucción en la salida del poro debido a un incremento de células epiteliales muertas y se impide el flujo normal de sebo, se forma un tapón donde las bacterias presentes en la microbiota de la piel invaden el absceso y propician la infección e hinchazón del folículo como se muestra en la Figura 1-1, a la izquierda se observa un folículo sano y normal y a la derecha un folículo piloso taponado por la sobreproducción de grasa, inflamado por la presencia de la bacteria *P. acnes* y rodeado de células de respuesta inmediata como Linfocitos T y neutrófilos, asemejando el estadio nodular en la enfermedad del acné. En este proceso, los factores más relevantes de la patogénesis del acné son: la hiperqueratinización anormal, el incremento en la secreción de sebo y la inflamación del poro por la presencia exagerada de flora microbiana en el interior del orificio (Saint-Jean and Dreno 2016).

La mayoría de los granos se distribuyen en la zona superior del tronco y es el rostro el lugar más afectado, las consecuencias pueden ser tanto físicas como psicológicas e impactan finalmente en el entorno psicosocial del paciente (Koreck et al. 2003). Según la Organización Mundial de la Salud, el 80% de la población entre los 15 a los 35 años padece la alteración epitelial en algún momento de su vida, considerando que la presencia de estas lesiones decrece con la edad (Tabri et al. 2017; Özçelik et al. 2018; Wolkenstein et al. 2018).

Figura 1-1: Patología del acné en la unidad pilosebácea. A. Folículo piloso sano B. Folículo piloso taponado. Adaptado de (Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. et al. 2016).



1.1 Fisiopatología del acné

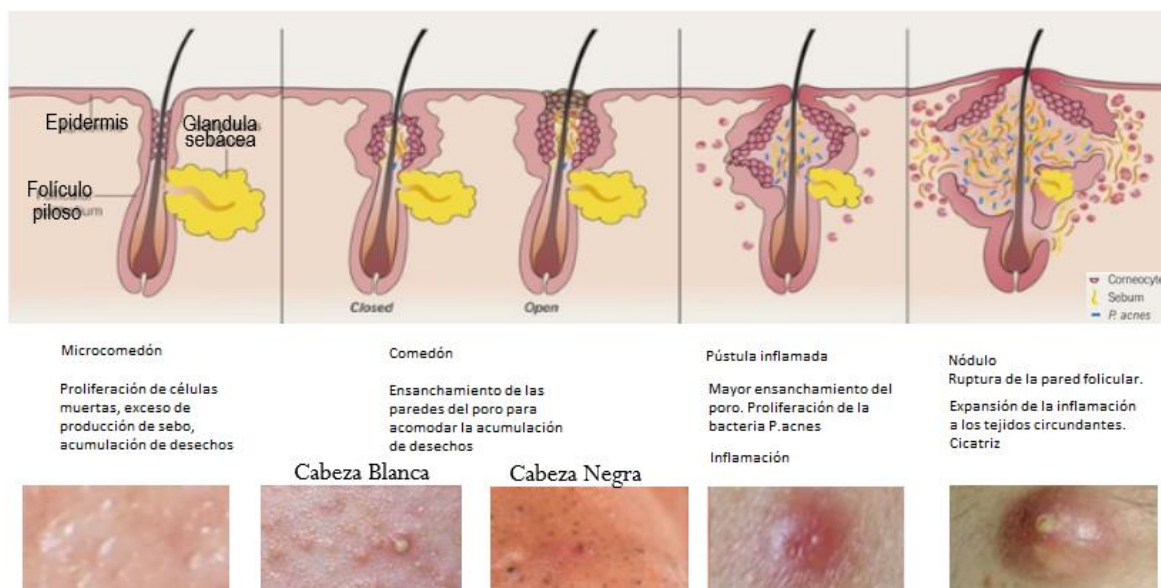
Se desconocen las etapas en las que se desarrolla la patología causada por el acné, sin embargo, son cuatro los factores patogénicos que ocasionan el desarrollo de esta dermatopatía; hiperseborrea, queratinización folicular anormal, colonización microbiana de la unidad pilosebácea e inflamación local, a su vez estos determinan los estadios en la evolución de la enfermedad (Hanna-Leena Kelh  la 2016; Ruiz-Esmenjaud and Julieta Ruiz Esmenjaud 2018).

La lesión generalmente inicia con hiperseborrea o aumento en la secreción de sebo él cual altera la glándula sebácea (Dréno 2017) provocando sobreproducción de grasa en la epidermis (Lynn et al. 2016). Este hecho perturba el ciclo de descamación epitelial denominado hiperqueratinización del ducto pilosebáceo, causado por la acumulación de células muertas de queratinocitos en la punta del canal folicular dando lugar a la formación de tapones de grasa que impiden el flujo normal del sebo generando abultamientos conocidos como comedones que impiden la evacuación normal del fluido (Tahir 2016; Marks et al. 2019).

El comedón puede cerrarse cuando los corneocitos muertos, el sebo y la presencia de flora microbiana generan un tapón en el poro, la presión de la masa retenida crea una pápula de

color blanco que puede producir la ruptura interna del tejido epitelial invadiendo la dermis y propiciando inflamación interna. Por otro lado, el comedón abierto también conocido como punto negro se origina por la mezcla entre melanina y grasa oxidada retenida en el interior del poro, si el quiste se revienta puede interactuar con los microorganismos bacterianos que circundan el poro como la *P. acnes*, lo cual favorece la inflamación y evolución a pústula o pápula (Figura 1-2) (Tahir 2016; Dréno et al. 2018).

Figura 1-2: Estadios del acné. Adaptado de (Ito et al. 2018)



La formación del comedón en la unidad pilosebácea genera un ambiente idóneo para la propagación de microorganismos que circundan la microbiota de la piel como la bacteria *P. acnes* (Luengo 2011; Quintero et al. 2015). La *P. acnes* en proporciones normales en compañía de otras bacterias evitan la colonización de organismos patógenos como *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, la proliferación descontrolada de la *P. acnes* puede desencadenar respuestas adversas (Danby 2014; Patel et al. 2016) como la inflamación, debido a que el Sistema Inmune Innato (S.I.I.) del hospedero detecta la presencia de la bacteria en el sebocito, el S.I.I. es capaz de activar las vías clásicas del sistema inmunológico a través de células de respuesta inmediata (Spittaels and Coenye 2018; Williams, Dellavalle, and Garner 2012) como los neutrófilos, macrófagos y queratinocitos que reconocen la presencia de un microorganismo invasor por medio de receptores tipo Toll (*Toll Like Receptors*, por su sigla en inglés TLRs -2 y -4), los cuales se encargan de

inducir la producción de células con características proinflamatorias como interleuquinas (*Interleukins*, por su sigla en inglés IL -6, -8, -12), interferón gamma (*Interferon gamma*, por su sigla en inglés IFN- γ) y factor de necrosis tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor*, por su sigla en inglés TNF- α), que contribuyen al daño del tejido y la inflamación local (Zouboulis, Katsambas, and Kligman 2014; W. H. Li et al. 2018).

Así mismo, esta respuesta inflamatoria puede estimular la producción de moléculas complementarias del sistema inmune con actividad antimicrobiana, como el péptido Beta-Defensina Humana -2 (*Human Beta Defensin -2*, por su sigla en inglés hBD-2) (Muguet Guenot et al. 2018), este polipéptido interactúa electrostáticamente con la membrana del microorganismo invasor generándole lisis en la superficie de la misma, favoreciendo el desequilibrio osmótico y posterior muerte del patógeno. Este estadio de inflamación genera físicamente la formación de nódulos y quistes que en numerosas ocasiones dejan en el paciente la marca de la cicatriz (Williams, Dellavalle, and Garner 2012; Anina Lambrechts, Nuno de Canha, and Lall 2018).

1.2 Bacteria *Propionibacterium acnes*.

La bacteria *Propionibacterium acnes*, es una bacteria comensal de lento crecimiento que coloniza la superficie de la dermis humana junto con otros microorganismos como *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Pseudomonas spp* y evita que organismos patógenos invadan la piel pues se localiza principalmente en áreas sebáceas (rostro, tronco superior, zona genitourinaria), se considera que es un microorganismo oportunista debido a que causa infecciones y lesiones epiteliales al entrar en contacto con los triglicéridos provenientes de la glándula sebácea (Perry and Lambert 2011). El microbio es de característica Gram-positiva, anaerobia facultativa, clasificada en el género *Propionibacterium*, tiene forma alargada y no presenta flagelo que le permita movimiento (Achermann et al. 2014) no es esporulado por ende incapaz de transportarse por aire, al entrar en contacto con el metabolismo celular puede fermentar lactato y producir acetato, succinato y propionato, compuesto del cual proviene su nombre *Propionibacterium acnes* (Corvec et al. 2018).

1.3 Tratamientos convencionales

Evitar la colonización de la bacteria *P.acnes* en la unidad pilosebácea es la clave para controlar y disminuir los efectos del acné, para esto se han planteado diversos tratamientos que cumplen dicha función (Marson and Baldwin 2019) como; productos no farmacológicos que incluyen limpiadores cutáneos generalmente con alcohol o lociones a base de agua, entre otros, permiten actuar como atenuador de la enfermedad; productos farmacológicos que se prescriben según la gravedad y la zona en la cual se ubica la dermatopatía, pueden ser tópicos como compuestos retinoides, peróxido de benzoilo, antibióticos como la tetraciclina, eritromicina, clindamicina y sistémicos para mujeres como anticonceptivos orales a base de estrógenos (Saint-Jean and Dreno 2016). Sin embargo, los efectos adversos como irritación cutánea, sequedad, eritema y fotosensibilidad, varían según la dosis empleada. Se genera controversia cuando en algunos estudios se demuestra la resistencia y tolerancia que presentan las bacterias ante el uso frecuente de estos medicamentos, a pesar de esto, el empleo de estas terapias es usual para tratar el acné, por tal motivo se hace necesario emplear agentes más seguros y eficientes que disminuyan los efectos colaterales (Zouboulis, Katsambas, and Kligman 2014; Quintero et al. 2015). Recientemente se viene estudiando el mecanismo de defensa del sistema inmune del hospedero, donde se resalta la actividad de los péptidos antimicrobianos como complementos de defensa ante la presencia de un microorganismo invasor mostrando resultados promisorios como posibles candidatos para el tratamiento de la enfermedad cutánea (Spittaels and Coenye 2018; Williams, Dellavalle, and Garner 2012; Danby 2014).

2. Péptidos Antimicrobianos (PAMs)

Los péptidos antimicrobianos son moléculas que contienen residuos de aminoácidos unidos covalentemente a través de un enlace amida (generalmente tienen menos de 8 Kda de peso molecular, aunque existen de mayor longitud) (Guzmán, Barberis, and Illanes 2007; Cruz et al. 2014) están ampliamente distribuidos en todos los reinos de la naturaleza, su función principal es complementar la respuesta del sistema inmune innato ante la presencia de cualquier microorganismo patógeno (Shai 2002). Constituyen componentes esencialmente conservados de la línea de defensa del hospedero contra infecciones provenientes de invasores como bacterias, hongos, parásitos y virus, presentan diversos roles para lisar o inhibir el crecimiento del microorganismo y/o favorecen procesos inflamatorios, inmunomoduladores, quimiotácticos, angiogénicos; también favorecen la proliferación celular, la fagocitosis, la reparación de daño tisular, inducen la liberación de citoquinas, inducen la respuesta acoplada al sistema inmune adaptativo, entre otros (Travkova, Moehwald, and Brezesinski 2017).

Desde la década de 1920 los péptidos antimicrobianos han sido centro de estudio por su amplio espectro de acción sobre microorganismos que van desde virus hasta parásitos, destacándose su aplicación en la industria farmacéutica por su potencial uso clínico (Bahar and Ren 2013). En 1947, el científico Alexander Fleming identificó la actividad bactericida procedente de la mucosidad de un estornudo que contaminó una caja de Petri en la cual crecía un cultivo bacteriano, días después observó dichas bacterias lisadas, a la sustancia que causó la muerte se le dio el nombre de lisozima (Nakatsuji and Gallo 2012). Lizosima es la primer molécula peptídica que actúa sobre la membrana bacteriana (con acción antimicrobiana, su peso molecular pequeño hacen que sea reconocida como una de las proteínas enzimática más pequeñas o podría estar entre los péptidos más grandes), En otro trabajo de Fleming se descubrió la penicilina, con esto se inició la búsqueda de nuevos antibióticos y con el trabajo de esta investigación el científico ganó el premio nobel en medicina en 1945 (Ganz 2005), los grandes hallazgos y usos modernos de nuevas

moléculas no han impedido que la evolución de los microorganismos también se haya dado y la gradual tolerancia y/o resistencia a los fármacos convencionales propuestos para su control generen un problema de salud pública en el mundo, por esta razón en la actualidad se estudian e identifican nuevos compuestos bioactivos algunos propios del hospedero como los denominados péptidos antimicrobianos los cuales constituyen una nueva alternativa de control (Carneiro et al. 2015).

La gramicidina es un péptido aislado de la bacteria *Bacillus brevis*, se caracterizó por ser el primer péptido antimicrobiano comercializado como antibiótico y fue probado en las heridas de piel de un cerdo dando como resultado la disminución de la lesión formada; (Dubos 1939). En 1960 la lactoferrina fue la primera proteína de gran tamaño aislada de la leche con estudios de actividad antibacterial (Phoenix, Dennison, and Harris 2013). A finales de la década del sesenta, se estudió en la piel de la rana *Bombina variegata* el péptido antimicrobiano que hoy en día lleva el nombre de bombinina, a mediados de los años setenta se reportaron péptidos con posible respuesta antimicrobiana provenientes de leucocitos de conejo y humano, estas células hacen parte de la primera línea de defensa del hospedero de allí se deriva el nombre de los péptidos α -defensinas, al determinar su estructura fueron las primeras moléculas en ser reconocidas por estabilizar la conformación tridimensional con cisteínas (Park, Okhovat, and Kim 2017).

En 1981, Booman *et al.* experimentó inyectando una bacteria en la polilla *Cecropia*, la cual indujo en su sistema inmune el potente péptido antimicrobiano cecropina con tendencia estructural alfa helicoidal, otro avance reconocido tuvo lugar en 1987 cuando Zasloff y colaboradores, caracterizaron el péptido catiónico magainina proveniente la rana africana *Xenopus laevis* (Bahar and Ren 2013).

A mediados de los años noventa se experimentó con modificaciones genéticas, al deletar un gen que codifica a un péptido antimicrobiano en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, de allí se concluyó la susceptibilidad del hospedero al ser infectado fácilmente por la falta de la molécula de defensa. A principios del siglo XXI una nueva clase de péptidos antimicrobianos fue descubierta, teniendo en cuenta mecanismos de interacción con la membrana del patógeno, dentro de estos se encuentran las catelicidinas, proteínas que tienen la tendencia según estudios de interacción, de formar poros en la membrana celular promoviendo la muerte del microorganismo, así mismo el descubrimiento de la β - defensina, cuya diferencia con la α -defensina, es la distribución espacial del número de enlaces di-sulfuros presentes en su secuencia, esta característica

parece ser la esencia de su actividad. Con el inicio de estos estudios, se amplió extensivamente la investigación en moléculas propias del hospedero con actividad microbicida y la capacidad de interactuar con la membrana del microorganismo al punto de generar lisis celular (S. J. Kang et al. 2012).

Actualmente, se han identificado más de 2000 péptidos con acción antimicrobiana tanto naturales como sintéticos (generalmente análogos con acción mejorada), estos se clasifican según el organismo de origen, las características de la secuencia y la tendencia estructural mayoritaria, entre otras; así mismo, estas moléculas presentan un amplio espectro de actividad biológica, de las más relevantes se encuentran la antibacteriana, antiviral y antifúngica (G. Wang, Li, and Wang 2016). La recopilación de estos péptidos de encuentran en bases de datos y las más completas en péptidos antimicrobianos que a la fecha se encuentran en la literatura son: la *APD3 (Antimicrobial Peptide Database 3)* la cual cuenta con 2995 péptidos antimicrobianos distribuidos en, 335 bacteriocinas / bacterias, 4 de arqueas, 8 de protistas, 13 de hongos, 343 de plantas y 2206 de animales, (Gabere and Noble 2017) incluidos algunos péptidos sintéticos, la amplia actividad biológica es de tipo antibacteriana, anticoagulante, antiviral, antifúngica, antiparasitaria, antimalárica, anticancerígena, antioxidante, quimiotáctica, insecticida, inhibidores de proteasas, espermicida, péptidos cicatrizantes, entre otras (G. Wang, Li, and Wang 2016, 2009; Z. Wang 2003). La otra base de datos que sobresale es *CAMP_{R3}, (Collection of Anti-Microbial Peptides)* la cual contiene más de 10247 secuencias de péptidos antimicrobianos de los cuales 4857 son validados experimentalmente y 5390 son predichos, 757 estructuras y 45 familias de PAMs (Waghu et al. 2016, 2014; Thomas et al. 2009), en la tabla 1 se recopila la información de las bases de datos más relevantes reportadas a la fecha.

Tabla 1 Bases de datos de péptidos antimicrobianos (Gabere and Noble 2017).

Base de Datos	Contenido	Lugar	Página Web / Ref.
IMGT Immuno- informatics	Provee acceso a bases de datos de péptidos antimicrobianos	Web / multimedia	http://imgt.cines.fr/textes/Immunoinformatics.html#datPEP /
AMP_Scanner	Predictor de péptidos antimicrobianos basado en redes neuronales	Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas, Institutos Nacionales de Salud de Rockville, EE. UU.	https://www.dveltri.com/ascan/ / (Veltri, Kamath, and Shehu 2018)
APD3	Base de datos de péptidos antibacteriales, antifúngicos antivirales, entre otros.	Centro Médico de la Universidad de Nebraska	http://aps.unmc.edu/AP/main.html http://aps.unmc.edu/AP/main.php /(G. Wang, Li, and Wang 2016)
AntiBP2	Servidor predictor de péptidos antibacteriales en proteínas de secuencia	Centro de Bioinformática, Instituto de Tecnología Microbiana, Chandigarh, India	http://www.imtech.res.in/raghava/antibp2/ /(Lata, Mishra, and Raghava 2010)
BaAMPs	Base de Datos de péptidos antimicrobianos probados contra bacterias biofilm	Instituto de Nanociencia de CNR (Consejo Nacional de Investigación) e Instituto Italiano de Tecnología (IIT) en colaboración con Escuela Normal Superior (SNS) y la Universidad de Pisa (UniPI)	http://www.baamps.it/ / (Di Luca et al. 2015)
BACTIBAS E: Database Dedicated	Base de datos que contiene bacteriocinas gram-positivas y gram-negativas	Unidad de Proteómica Funcional y Biopreservación de Alimentos, Instituto Superior de Ciencias Biológicas Aplicadas de Túnez, Universidad El Manar, Túnez.	http://bactibase.hamamila.org/main.php / (Hammami et al. 2010)

to Bacteriocin			
CAMP _{R3}	Colección de péptidos antimicrobianos y proteínas	Instituto Nacional de Investigación en Salud Reproductiva - Mumbai, India	http://www.bicnirrh.res.in/antimicrobial/ / (Waghu et al. 2016)
ClassAMP	Predictor usado para la clasificación de péptidos antimicrobianos	Centro de Informática Biomédica, NIRRH, Mumbai, India	http://www.bicnirrh.res.in/classamp/ / (Joseph et al. 2012)
CPPsite	Base de datos de péptidos que penetran en la célula	Centro de Bioinformática Instituto de Tecnología Microbiana, Chandigarh, India	http://crdd.osdd.net/raghava/cppsite/ / (Agrawal et al. 2016)
DBAASP	Base de datos de actividad antimicrobiana y estructura de péptidos	Laboratorio de Bioinformática del Centro de Biomedicina Experimental Ivane Beritashvili (IBCEB, GEORGIA) y Oficina de Infraestructura Cibernética y Biología Computacional (OCICB / NIAID / NIH, EE. UU.)	https://dbaasp.org/home https://dbaasp.org/dbaasp-site-new/ / (Pirtskhalava et al. 2016)
Defensins Knowledge-base	Base de datos enfocada en información acerca de la familia de péptidos antimicrobianos defensinas	Centro Internacional de la vista Singapore, c/o, 11 Third Hospital Avenue, Level 6, Singapore.	http://defensins.bii.a-star.edu.sg/ / (Seebah et al. 2007)
HLP	Servidor que predice la vida media de un péptido en el ambiente del intestino, así mismo, predice la estabilidad del péptido.	Instituto Tecnológico de Microbiología, Chandigarh, India.	http://webs.iitd.edu.in/raghava/hlp/index.html / (A. Sharma et al. 2014)
InverPep	Base de datos de péptidos antimicrobianos de origen invertebrado	Grupo de Biología Funcional e investigación en Ecología y Sistemática de Insectos Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín	http://ciencias.medellin.unal.edu.co/gruposdeinvestigacion/prospeccionydisenobiomoleculas/InverPep/public/home_en / (Gómez, Giraldo, and Orduz 2017)

Hemolytik	Base de datos de péptidos hemolíticos y no hemolíticos	Centro de ciencia y bioinformática, Instituto Tecnológico de Microbiología, Chandigarh, India	http://crdd.osdd.net/raghava/hemolytik/index.php (Gautam et al. 2014)
LAMP	Base de datos de péptidos antimicrobianos	Instituto de Ciencia Tecnología e Innovación, Shanghai, China	http://biotechlab.fudan.edu.cn/database/lamp/ (Zhao et al. 2013)
Peptaibol Database	Base de datos de péptidos con actividad antimicrobiana	Base de datos Peptaibol c / o Profesor B. A. Wallace., Departamento de Cristalografía, Birkbeck College, Universidad de Londres.	http://peptaibol.cryst.bbk.ac.uk/home.shtml (Whitmore 2004)
StraPep	Base de datos de péptidos biológicamente activos	Universidad Huazhong, Facultad de Ciencias de la vida y tecnología Wuhan, China.	http://isyslab.info/StraPep/ (J. Wang et al. 2018)
iAMPpred:	Base de predicción de péptidos antimicrobianos con estudios de incorporación de características composicionales, fisicoquímicas y estructurales en Chous general PseAAC.	Instituto de Investigación de Estadística y Agricultura (ICAR), New Delhi, India.	http://cabgrid.res.in:8080/amppred/ (Meher et al. 2016; Meher, Sahu, and Rao 2016; X. Xiao et al. 2013)

El grupo de investigación dirigido por el Dr. Hancock, ha estudiado la interacción del péptido antimicrobiano - patógeno demostrado el uso viable de estas biomoléculas en comparación con los antibióticos (Hancock and Scott 2002), estas investigaciones han despertado el interés de la industria farmacéutica para usar los péptidos antimicrobianos como potenciales agentes terapéuticos, pues se ha evidenciado la capacidad de disminuir efectos secundarios que otras moléculas sintéticas convencionales como Benzamicyn® (eritromicina con peróxido de benzoilo), suelen provocar entre ellas están, alergias, dolor localizado, trastornos emocionales, entre otros efectos en los pacientes que padecen acné (Morales Toquero and Ocampo Candiani 2009).

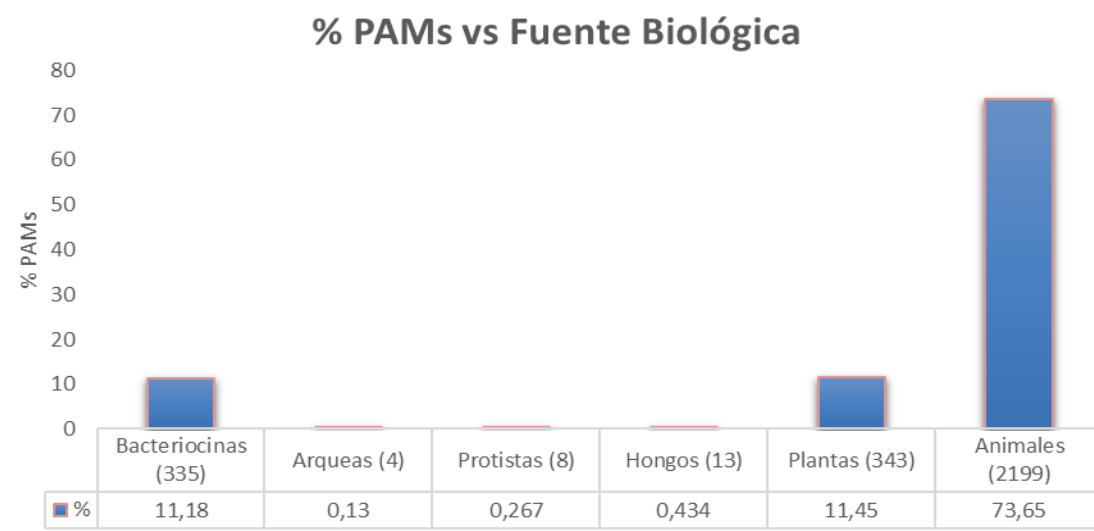
2.1 Clasificación de péptidos antimicrobianos

La diversidad de péptidos antimicrobianos encontrados en las bases de datos en términos de secuencia, estructura y función continua en crecimiento, por tanto, su clasificación sigue actualizándose continuamente (G. Wang 2015). No obstante, se pueden clasificar basados en la fuente biológica, características de la secuencia, propiedades estructurales, función biológica y blanco molecular (Mojsoska and Jenssen 2015).

2.1.1 Fuente Biológica

Se ha adoptado la clasificación propuesta por R. Whittaker (1969), la cual se basa en los cinco reinos naturales; procariotas (bacteriocinas), protistas (algas/arqueas), hongos, plantas y animales, esta clasificación es la primera forma de categorizar los péptidos en las bases de datos (Waghu et al. 2016), tal como se muestra en la Figura 2-1. Así mismo los péptidos antimicrobianos dependiendo la fuente biológica tienen funciones antibióticas contra una amplia variedad de microorganismos competitivos o patogénicos (Mahlapuu et al. 2016).

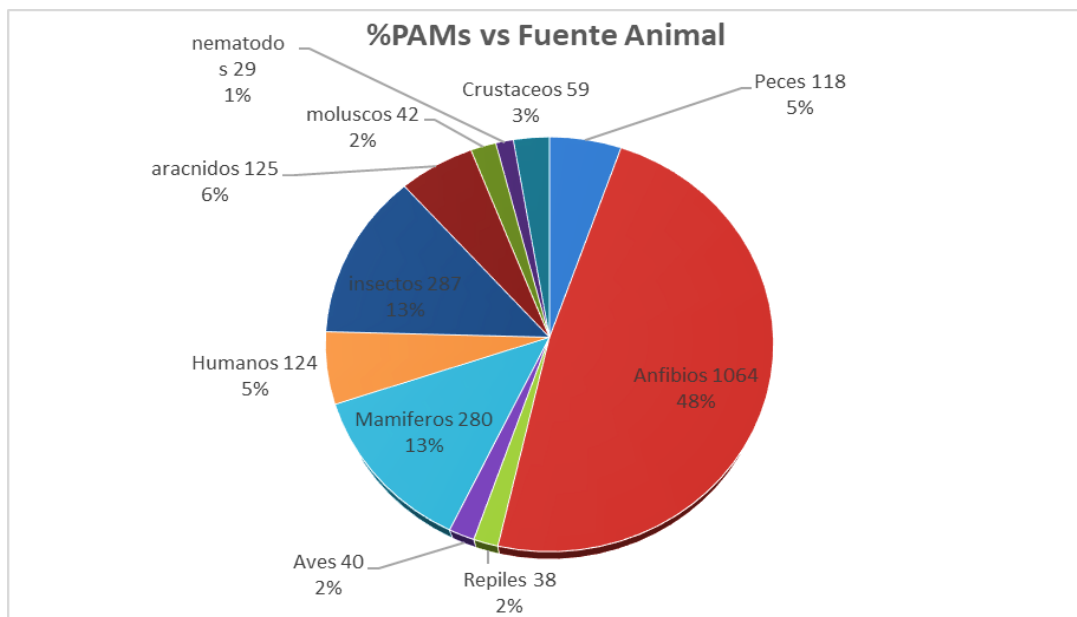
Figura 2-1: Clasificación de Péptidos Antimicrobianos según fuente biológica. Adaptado de (G. Wang, Li, and Wang 2016).



La base de datos de péptidos antimicrobianos de origen animal tiene el mayor número de moléculas reportadas y estudiadas, esto permite una sub-clasificación que comprende

especies vertebradas (peces, anfibios, reptiles, aves y humanos) e invertebradas (insectos, arácnidos, moluscos, nematodos, crustáceos), aproximadamente tienen la distribución que se observa en la Figura 2-2, reportando que el mayor porcentaje de péptidos proviene de los anfibios, seguido de los mamíferos e insectos y la especie humana aporta del total solo un 5% de los PAMs reconocidos a la fecha.

Figura 2-2: Distribución de péptidos antimicrobianos en el reino animal. Adaptado de (G. Wang, Li, and Wang 2016).



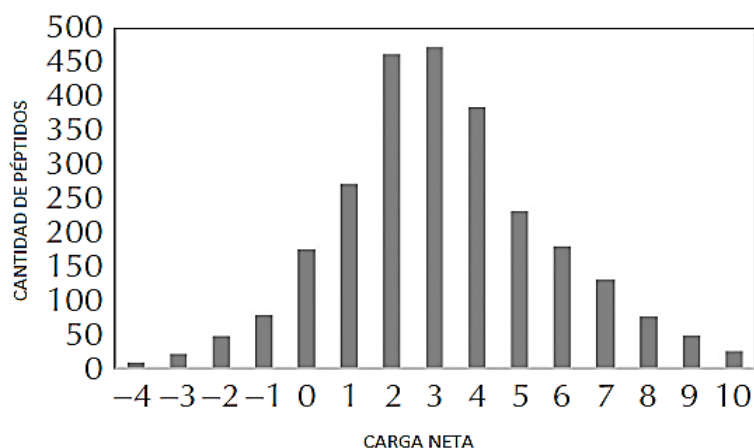
2.1.2 Características de la secuencia

Los péptidos antimicrobianos pueden ser clasificados por sus características o propiedades de secuencia tales como, la carga que adquiere la molécula una vez entra en contacto con el medio, la longitud la cual se afecta con el número de residuos que componen la molécula, la hidrofobicidad que influye en la relación con el solvente y la anfipaticidad que afecta la interacción con el microorganismo.

- Carga: la interacción electrostática de los péptidos antimicrobianos con los fosfolípidos de la membrana permite clasificar estas secuencias como catiónicos, neutros o aniónicos dependiendo de su composición de aminoácidos a pH fisiológico; los péptidos catiónicos contienen residuos que le proporcionan carga

positiva como la arginina, histidina y lisina, esta composición le da estabilidad al péptido al momento de la interacción con la bicapa, pues esta última se compone de fosfolípidos hidroxilados como el fosfatidilglicerol y la cardiolipina que presentan carga negativa y abundan en la membrana del patógeno. Los péptidos aniónicos tienen en su secuencia mayor proporción de aminoácidos cargados negativamente como el ácido aspártico y/o ácido glutámico los cuales se ha demostrado que interactúan con el grupo amonio de la fosfatidiletanolamina, un glicerofosfolípido abundante en la membrana citoplasmática de microorganismos. Generalmente los PAMs son de carga positiva (+3) (figura 2-3) para favorecer las interacciones electrostáticas con la bicapa lipídica cargada negativamente en bacterias, sin embargo, se ha encontrado que la actividad hemolítica es directamente proporcional a la carga del péptido porque la alta presencia de residuos catiónicos favorece la afinidad y adsorción por la membrana disminuyendo la selectividad del blanco celular. (Bobone 2014; Zhou and Huang 2015; Fan et al. 2016).

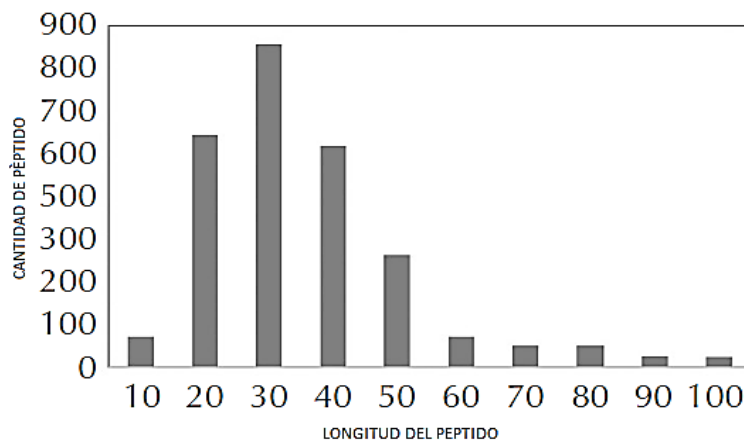
Figura 2-3: Distribución de péptidos antimicrobianos según carga neta de la secuencia. Adaptado de (G. Wang 2017).



- Longitud: el tamaño de los péptidos antimicrobianos oscila de 300Da a 8000Da (de 3 a 75 residuos) aproximadamente, sin embargo, la mayor población se encuentra en el rango de 21 a 30 aminoácidos (~80%) (Figura 2-4) (GuangShun 2010; Fan et al. 2016), se ha reportado que la longitud del péptido antimicrobiano influye en la capacidad para atravesar la membrana, pues dependiendo de la cantidad y el tipo de aminoácidos del péptido se puede estimar si logra atravesar la bicapa lipídica. De igual forma un mínimo

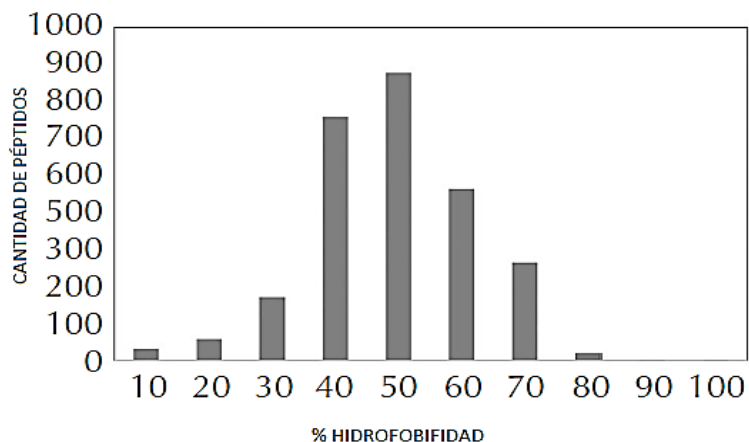
de aminoácidos se necesitan para formar estructuras secundarias, al menos 7 aminoácidos para una hoja-beta y 3,6 para una conformación de solo una vuelta en una estructura alfa-helicoidal (Gagnon et al. 2017).

Figura 2-4: Distribución de péptidos antimicrobianos según longitud de la secuencia. Adaptado de (G. Wang 2017).



- **Hidrofobicidad:** es un parámetro que determina el grado en el que la secuencia se une e inserta a la región hidrofóbica de la membrana, porque dependiendo el tipo de aminoácido que compone la cadena se verá favorecida la interacción con la región apolar de la bicapa lipídica (Yeaman 2003), también permite establecer qué tan soluble es la molécula de interés basados en la interacción de la cadena lateral de los aminoácidos con el medio acuoso, teniendo en cuenta que esta propiedad oscila generalmente entre el 40 al 50 % en la mayoría de los péptidos (Figura 2-5) (Burns, Olszowy, and Ciborowski 2016). Estudios demuestran que la hidrofobicidad favorece la actividad antimicrobiana y refuerza la tendencia alfa-helicoidal del péptido, sin embargo, si el porcentaje de hidrofobicidad es alto (>65%) es posible que se potencie la actividad hemolítica y aumente la toxicidad contra células no microbianas por formación de agregados por interacciones hidrofóbicas, disminuyendo la selectividad antimicrobiana (Zelezetsky and Tossi 2006). Esta propiedad se calcula teniendo en cuenta la escala de hidrofobicidad *GRAVY* (*Grand Average of Hydrophobicity* de sus siglas en inglés), de Kyte, J. and Doolittle (Kyte and Doolittle 1982), este índice de hidropaticidad ((hidrofobicidad / hidrofiliidad) /n) (n= aminoácidos totales) es un promedio de los aminoácidos dividido por el número total de residuos presentes en la secuencia, si el resultado es positivo hay en su mayoría residuos hidrofóbicos, por otro lado, si el resultado es negativo, se indica tendencia hidrofílica en la cadena peptídica.

Figura 2-5: Distribución de péptidos antimicrobianos según la hidrofobicidad de la secuencia. Adaptado de (G. Wang 2017; Fan et al. 2016).



- Anfipaticidad: esta propiedad de la molécula se refiere a la presencia y abundancia relativa de residuos hidrofílicos e hidrofóbicos que componen la secuencia (P. Kumar, Kizhakkedathu, and Straus 2018a), la distribución de los aminoácidos en el espacio facilita las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas del péptido con la membrana del microorganismo, su posterior inserción y disrupción, es una característica que se define mejor en los péptidos con tendencia alfa helicoidal por que la estructura tridimensional permite localizar las regiones en el péptido y así mismo predecir teóricamente que sección del péptido interactúa con el medio y que sección con la bicapa lipídica (Gagnon et al. 2017). Este parámetro puede cuantificarse por medio del momento hidrofóbico (μH) de cada aminoácido, un valor alto se relaciona proporcionalmente con la actividad antimicrobiana.

2.1.3 Conformación estructural

De acuerdo a las características de la secuencia Van 't Hof y colaboradores, organizan los péptidos antimicrobianos de acuerdo a la similitud de la estructura secundaria, proponiendo cuatro categorías que se muestran en la Tabla 2 (Van 'T Hof et al. 2001), las cuales son, alfa -helicoidal, hoja beta plegada, combinación alfa-beta y conformación extendida o sin estructura definida (*random coil*) (Yeaman 2003). Así mismo, se ha observado la relación entre la estructura que adoptan y la función que cumplen (Jenssen, Hamill, and Hancock 2006)(Huang, Huang, and Chen 2010).

-
- Péptidos alfa-helicoidales: consisten en aquellas secuencias cuya tendencia estructural es de tipo alfa-helicoidal, en este grupo se encuentran la mayoría de los péptidos antimicrobianos, siendo de gran relevancia por el tipo de asociación con la membrana del microorganismo ya que debido a su distribución espacial permiten una interacción total y teniendo en cuenta las características de la secuencia pueden eventualmente promover ruptura en la membrana del patógeno (Bobone 2014; Giulio .A 2006).
 - Péptidos en conformación hoja-Beta: estas moléculas adoptan una estructura más restringida en la cual se enlazan por lo menos dos tramos de la misma cadena por medio de un enlace disulfuro y/o por la interacción de puentes de hidrógeno entre átomos de la cadena principal una vez se pliega la secuencia. Esta conformación se estabiliza al interactuar con la superficie de la bicapa lipídica del huésped ya que según estudios es posible que por la estructura del péptido se extiende sobre la membrana del microorganismo e interactúe con está alterándola por medio de la formación de canales que permiten el desequilibrio osmótico (Giulio .A 2006).
 - Péptidos combinados alfa-beta: son secuencias combinadas entre estructuras lineales con tendencia helicoidal y conformaciones tipo hoja beta, donde se presentan puentes disulfuro intramoleculares que permiten la existencia de loops o bucles, se ha reportado en estudios que los loops tienden a comportarse como inhibidores de sitios activos como es el caso de la defensina que bloquea el sitio activo de la alfa amilasa, aunque todavía es desconocida la forma exacta en la que este proceso ocurre (Harder and Schröder 2016).
 - Péptidos sin estructura definida: estas secuencias son ricas en aminoácidos como prolina o triptófano los cuales distorsionan la estructura tridimensional por su voluptuosidad, promoviendo una disposición espacial de la cadena aleatoria o desordenada (“random”). Muchas de estas moléculas no presentan actividad al interactuar con la membrana de un microorganismo, pero estudios han demostrado que cuando la secuencia tiene estos residuos se le facilita la internalización en la bicapa por interacciones hidrofóbicas con las cadenas alifáticas de los lípidos, una vez penetran la membrana pueden interactuar con diferentes organelos en el interior de la célula afectando el tiempo de vida media del patógeno (Seo et al. 2012).




Tabla 2. Clasificación de péptidos antimicrobianos según conformación estructural.


Estructura	Ejemplos
α	Cecropina, Dermicidina, Catelicidina LL-37
β	Alfa defensina humana, protegrina
$\alpha\beta$	Beta defensina humana
Sin estructura	Indolicidina

2.1.4 Patrones de enlace covalente

Se ha propuesto un sistema de Clasificación Universal (UC por sus siglas en inglés *Universal Classification*) el cual se basa en generalizar los patrones de conexión intramolecular de la cadena polipeptídica (Tabla 3) teniendo en cuenta los enlaces covalentes inter e intracatenarios, lo cual permite unificar la clasificación de los péptidos de inmunidad innata proveniente de un amplio espectro de fuentes biológicas. (G. Wang 2015; G. Wang, Li, and Wang 2016) se definen cuatro grupos con las convenciones, U: Universal; C: Clasificación; L: Lateral; S: Tio; B: *Backbone*: Cadena Principal.

Tabla 3. Clasificación Universal de péptidos antimicrobianos según patrones de enlace (Zhou and Huang 2015).

Clase	Característica	Enlace	Símbolo	Imagen
I	Péptido Lineal	Ninguno	UCLL	
II	Entre las cadenas laterales del péptido (intra o intercatenario)	$C\beta-S-S-C\beta$ Disulfuro $C\beta-S-C\beta$ Tioéter	UCSS	
III	Entre la cadena lateral y el <i>backbone</i> (residuos E8 o D9 enlazado al N-terminal del grupo amino)	CO-NH amida CO-O éster $C\beta-S-C\alpha$ Tioéter	UCSB	

IV	Péptido circular entre las terminaciones del <i>backbone</i>	CO–NH amida	UCBB	
----	--	-------------	------	---

Este método de clasificación agrupa todas las formas de péptidos antimicrobianos que se encuentran en los reinos de la naturaleza, sin embargo, debe complementarse con los sistemas de clasificación existentes ya que permite mejorar la búsqueda de la molécula en las bases de datos.

2.1.5 Función biológica

El péptido antimicrobiano de origen natural suele tener amplio espectro de actividades una vez entra en contacto con la bacteria, parásito, hongo o virus. Esta característica potencia la propiedad de ser un antibiótico alternativo, a continuación se resaltan las funciones más relevantes (S. Wang et al. 2016; G. Wang, Li, and Wang 2016; GuangShun 2014).

- **Actividad Antibacterial:** Es la capacidad que tienen algunas moléculas para evitar el crecimiento y proliferación de microorganismos en un organismo sin dañarlo, en este proceso interactúan tanto el parásito como el sistema inmune del hospedero, la acción tiene lugar cuando la bacteria oportunista encuentra al paciente con enfermedades previas, inmunodeficiente, o con daños en la epidermis. Más de la mitad de los péptidos reportados en las bases de datos tienen un amplio espectro contra bacterias Gram positivas y Gram negativas como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus*, etcétera, La mayor parte de la población de péptidos antimicrobianos poseen esta función y se observa principalmente cuando la especie antibacterial entra en contacto con la superficie de la membrana bacteriana y por seguimiento con técnicas microscópicas como la de fluorescencia y con seguimiento de señales en el espectro de resonancia magnética nuclear, el modelo de acción propuesto para péptidos usualmente catiónicos con esta actividad es por formación de micelas que provocan lisis y posterior muerte celular (Castañeda-Casimiro et al. 2009; S. Wang et al. 2016).
- **Actividad Antifúngica:** Ciertos péptidos antimicrobianos han sido estudiados e identificados para tratar afecciones del ser humano provenientes de hongos como la *Candidiasis*, la cual es una infección micótica. Estudios realizados por medio de técnicas microscópicas, sugieren que moléculas como la Catelicidina humana (LL-37) generan

fijación sobre la superficie del microorganismo, permeabilizan la membrana y finalmente causan lisis celular (S. Wang et al. 2016; Lakshmaiah Narayana and Chen 2015).

- Actividad Antiviral: Una población de los péptidos ha registrado actividad antiviral (G. Wang, Li, and Wang 2016) contra diferentes virus envueltos incluyendo el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus del papiloma humano (VPH) entre otros. La mayoría de los virus poseen una cubierta cargada negativamente, por tanto los péptidos que interactúan son de característica catiónica como la protegrina y generan el bloqueo de los receptores de superficie de la célula huésped, uno de los mecanismos más relevantes entre el hospedero-patógeno (Harder and Schröder 2016).

2.1.6 Blanco Molecular

Esta clasificación se basa en el tipo de diana alcanzado por el péptido una vez entra en contacto con el microorganismo, suele categorizarse en péptidos que interactúan con la membrana y la distorsionan, y aquellos que presentan actividad solo si atraviesan la membrana. Si los péptidos solo se quedan en la superficie de la membrana e/o interactúan con ella pueden generar diferentes modelos de acción, dentro de los modelos planteados están los agregados de superficie (modelo “carpetas”) y los que se internalizan en la bicapa lipídica (modelo “barril y poro toroidal”), cualquiera de los dos podría ocasionar lisis membranal y posterior muerte celular (Bechinger and Gorr 2017).

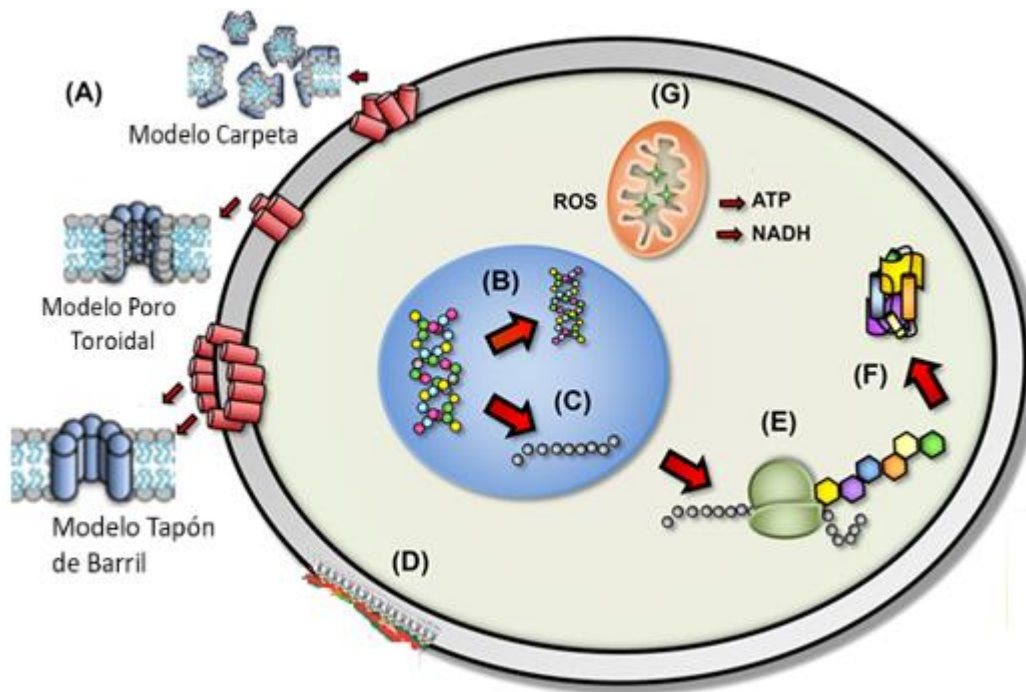
Estudios muestran una estrecha relación entre la concentración del péptido y la capacidad de atravesar la membrana, es decir, si la concentración del péptido es mayor a la concentración mínima inhibitoria (CMI) generalmente el modelo de acción conduce a lisis membranal por interacción superficial con la bicapa, pero si la concentración se encuentra por debajo de la CMI, el péptido puede penetrar la membrana accediendo a los organelos del microorganismo (Shah et al. 2016). Una vez se encuentran en el interior los péptidos antimicrobianos se dirigen a diferentes organelos como ribosoma o núcleo entre otros, afectando sus funciones, inhibiendo procesos metabólicos y conduciendo finalmente a la muerte del invasor (Calvo and Martínez-Martínez 2009).

2.2 Modelos de acción de péptidos antimicrobianos

La capacidad de algunos péptidos antimicrobianos para ejercer su acción bactericida depende usualmente de su habilidad para interactuar con la membrana o pared celular y/o blancos internos como el núcleo (síntesis de ADN) o ribosoma (síntesis de proteínas),

como se menciona en la sección 2.1.6 blanco molecular (L. Zhang et al. 2016b). Mientras algunos péptidos ejercen acción directa con su actividad antibacterial, otros actúan atacando al huésped por medio de daño celular o estimulación del sistema inmune. La forma cómo interactúan péptido–patógeno es la clave para entender su modo de acción (Figura 2-6), y las propiedades característica de la secuencia determinan dicha interacción (P. Kumar, Kizhakkedathu, and Straus 2018b).

Figura 2-6: Modelos de acción propuestos para la interacción péptido antimicrobiano – patógeno. Adaptado de (Peters, Shirliff, and Jabra-Rizk 2010).



(A) Mecanismos de acción sobre membrana (B) Inhibición de la síntesis de ADN (C) Inhibición en la síntesis de ARN (D) Inhibición de las enzimas necesarias para unir las proteínas estructurales de la pared celular (E) Inhibición en la función ribosomal y síntesis de proteínas (F) Bloqueo de las chaperonas necesarias para el plegamiento adecuado de las proteínas (G) Inhibición de respiración celular en mitocondria, formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y liberación de ATP y NADH (H. Xiao et al. 2015).

Se han usado varias técnicas para evaluar las posibles vías de acción por las cuales los péptidos antimicrobianos entran en contacto con los microorganismos, sin embargo, cada método proporciona una vista ligeramente diferente de la actividad del péptido y ninguna

técnica individual ha sido capaz de determinar con certeza el mecanismo de interacción (Brogden 2005).

La microscopia electrónica es la técnica que permite visualizar los efectos de los péptidos antimicrobianos en las células huésped e identificar los sitios diana generales por medio de una visualización tridimensional de la superficie (Choi, Rangarajan, and Weisshaar 2016), la marcación por medio de fluoresceína permite seguir al péptido antimicrobiano y observar la acción de permeabilizar las vesículas de membrana (Rangarajan, Bakshi, and Weisshaar 2013; Choi, Yang, and Weisshaar 2015), otra manera de evaluar la formación y estabilidad de un poro propiciado por un péptido es por formación de canales iónicos, esta propiedad permite entender la relevancia del potencial de membrana en la neutralización de un organismo patógeno, la técnica generalmente usada “Patch-clamp” permite monitorear la conductancia de los canales dependientes del voltaje en las bicapas lipídicas de membrana (S. Sharma, Sahoo, and Bhunia 2015; Shoji and Kawano 2018).

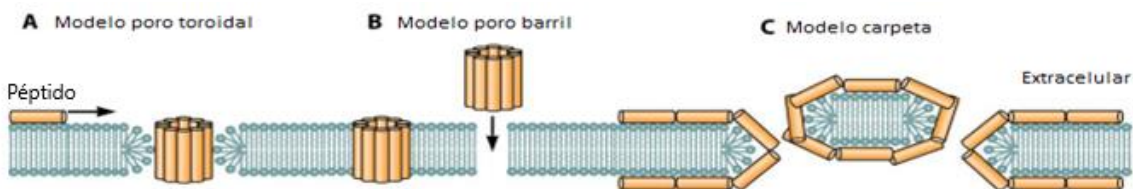
Otra técnica que determina con mayor exactitud la estructura del péptido y a su vez puede sugerir la orientación del mismo con respecto a la membrana es la espectroscopia de resonancia magnética nuclear en solución, así mismo, la resonancia magnética nuclear de estado sólido ha logrado investigar la penetración e inserción de estas moléculas en la bicapa lipídica del huésped (Buffy et al. 2004; Laadhari et al. 2017; Sani and Separovic 2016), finalmente otras tecnologías utilizadas como, cristalografía de rayos X, infrarrojo (IR) (F.-Y. Chen, Lee, and Huang 2003), entre otras, han permitido hacer un acercamiento al momento de la interacción péptido-patógeno. Aunque el conjunto de resultados permite plantear posibles modelos de acción, se hace necesario continuar con la investigación en interacción molecular (Sudheendra et al. 2015).

La relación que existe entre el péptido y el lípido de la membrana del microorganismo es inicialmente de carácter electrostático, específicamente con los grupos fosfato en las bacterias Gram negativas o moléculas de ácido lipoteicoico en las bacterias Gram positivas, esta interacción permite formular que a relaciones de baja concentración el péptido se encuentra usualmente paralelo a la membrana, a medida que se incrementa la relación péptido/lípido la posición de la molécula se re-arregla y se torna vertical facilitando la inserción en la bicapa lipídica (simulando un tornillo) (Raghuraman and Chattopadhyay 2007). Esta teoría da como resultado la formación de poros o canales a través de la membrana y se han propuesto varios modelos para explicar la formación de los poros y la permeabilización de la misma (J. Han et al. 2017).

Los poros en la membrana ocasionan la pérdida del potencial de membrana, la liberación de componentes intracelulares y finalmente la muerte celular, estas características dependen de la geometría del poro formado y de la interacción del péptido antimicrobiano con la bicapa lipídica (J. Li et al. 2017), un modelo de acción propuesto es la formación del poro “tipo barril”, el cual conlleva a un orificio cilíndrico revestido del péptido en el que la cara hidrofóbica de los péptidos interactúan directamente con las cadenas de acilo en el núcleo de fosfolípidos mientras que el lado hidrófilo de los péptidos está orientado hacia el interior del poro (Le, Fang, and Sekaran 2017). El otro modelo probable que permite alterar la membrana por medio de canales es el de “tipo toroidal” cuyo nombre hace referencia a generar una curvatura cerrada al girar en torno a un eje, es decir, hay una integración entre los péptidos antimicrobianos y las cadenas lipídicas, donde las regiones hidrófilas del péptido se enfrentan al interior del poro y las regiones hidrofóbicas permanecen en contacto con el fosfolípido forzando una curvatura en la bicapa, promoviendo la unión entre la membrana externa e interna, estos poros se caracterizan por tener distancias cortas dentro de la membrana (Mihajlovic and Lazaridis 2010; Bertelsen et al. 2012).

Existe otro posible mecanismo que explica la ruptura de la membrana una vez hay contacto péptido-patógeno, el modelo “tipo carpeta o alfombra” es usado para describir la capacidad de agregación de los péptidos sobre la membrana y generar tensión a modo de detergente promoviendo la formación de micelas (Swithenbank and Morgan 2017; Dosler 2017). La atracción electrostática péptido-membrana cubre la superficie del huésped en diversos sitios a modo de alfombra favoreciendo la ruptura de la membrana (L. Wang et al. 2017). El ejemplo de estos modelos de acción se muestra en la figura 2-7.

Figura 2-7: Modelos de interacción del péptido sobre la membrana del microorganismo. Adaptado de (Le, Fang, and Sekaran 2017).



Así mismo, en la tabla 4 se encuentran algunos de los péptidos antimicrobianos que con prevalencia se presentan como respuesta complementaria del sistema inmune específicamente ante la presencia de la bacteria *Propionibacterium acnes* a los cuales se les ha estudiado y propuesto el mecanismo de acción péptido-patógeno (Brogden 2005).

Tabla 4 Péptidos antimicrobianos con su mecanismos de acción propuesto (Brogden 2005).

Modelo de acción	Péptido de ejemplo	Ref.
Poro barril	Alameticina, Defensina	(Brogden 2005; Lee, N. Hall, and Aguilar 2015)
Poro toroidal	Magainina, LL-37	(Pfalzgraff, Brandenburg, and Weindl 2018)
Carpeta	Cecropina	(Rangarajan, Bakshi, and Weisshaar 2013)

Los modelos expuestos anteriormente han sido los más estudiados, sin embargo, se han propuesto más modelos que permiten explicar los diversos tipos de interacción del péptido con el microorganismo y para revisiones más detalladas se sugieren los siguientes autores (de Alencare Silva et al. 2018; H. K. Kang et al. 2017; Zerweck et al. 2017; Lee, N. Hall, and Aguilar 2015).

3. Obtención y evaluación biológica de péptidos antimicrobianos

3.1 Metodologías de obtención de péptidos antimicrobianos

La fabricación de productos terapéuticos basados en péptidos son metodologías o procesos costosos que limitan su desarrollo y producción, la metodología planteada dependía de muchas variables para lograr pureza, o conseguir solubilidad, buen rendimiento, estabilidad, mecanismos de entrega y administración de la dosis, además de evaluar otros criterios como modificaciones en las cadenas laterales e incorporación de moléculas no naturales, entre otras. Sin embargo, con el desarrollo de nuevas técnicas de síntesis se ha reconsiderado que la elaboración de un fármaco peptídico propuesto como alternativa al fármaco convencional, con procesos más sencillos que pueden generar costo beneficio favorable para la industria y su posterior consumidor. (Goodwin, Simerska, and Toth 2012; Fosgerau and Hoffmann 2015) (da Costa et al. 2015). La producción de los péptidos se basa en varias metodologías de síntesis, de las más relevantes se encuentran la síntesis biológica, síntesis recombinante, síntesis química y síntesis enzimática.

3.1.1 Síntesis biológica

La mayoría de los péptidos antimicrobianos son producidos por codificación genética (97%) y se sintetizan en el ribosoma, estas moléculas se pueden expresar constitutivamente para mantener el huésped sano teniendo en cuenta las necesidades del sistema de defensa innato, un ejemplo de ello es la producción de catelicidinas y defensinas humanas las cuales se expresan ante la presencia de un microorganismo invasor como la *P. acnes* (Boman 2003; Le, Fang, and Sekaran 2017).

Por otro lado, existe una baja proporción de péptidos que son el resultado de la síntesis no ribosomal, mediada por un complejo enzimático de sintetazas peptídicas no ribosomales

(*NRPSs: Nonribosomal synthesis peptides synthetases*), las cuales funcionan como un ensamblador lineal de aminoácidos que facilitan la construcción de la cadena peptídica sin seguir órdenes del código genético, esta estrategia se emplea principalmente en bacterias y hongos (Süssmuth and Mainz 2017; Yang and Yousef 2018), esta alternativa de síntesis propone la incorporación de aminoácidos modificados a la biomolécula para asemejarla con los fármacos convencionales como gramicidina y colistina (GuangShun 2010; G. Wang 2017).

3.1.2 Síntesis recombinante

Otra metodología ampliamente empleada es el sistema recombinante, en el cual, a grandes rasgos se diseña y sintetiza una plantilla de ácido desoxirribonucleico que codifica un péptido o proteína de interés, este gen se introduce en un vector de plásmido que actúa como complejo de almacenamiento y permite la posterior expresión de la información, finalmente, se transfiere a la célula huésped donde se genera el proceso de replicación (Vlieghe et al. 2010; García n.d.; Cai and Heilshorn 2014).

En comparación con la síntesis biológica y la síntesis química, esta metodología puede ser más rentable para la producción de péptidos a gran escala ya que permite la obtención de moléculas mayores a cincuenta residuos, a pesar de tener inconvenientes como que el gen recombinante limita la velocidad de reacción y la técnica dificulta la incorporación de aminoácidos no naturales lo cual limita las modificaciones en la secuencia (da Costa et al. 2015; Reddy 2017; Duro-Castano, Conejos-Sánchez, and Vicent 2014).

3.1.3 Síntesis química

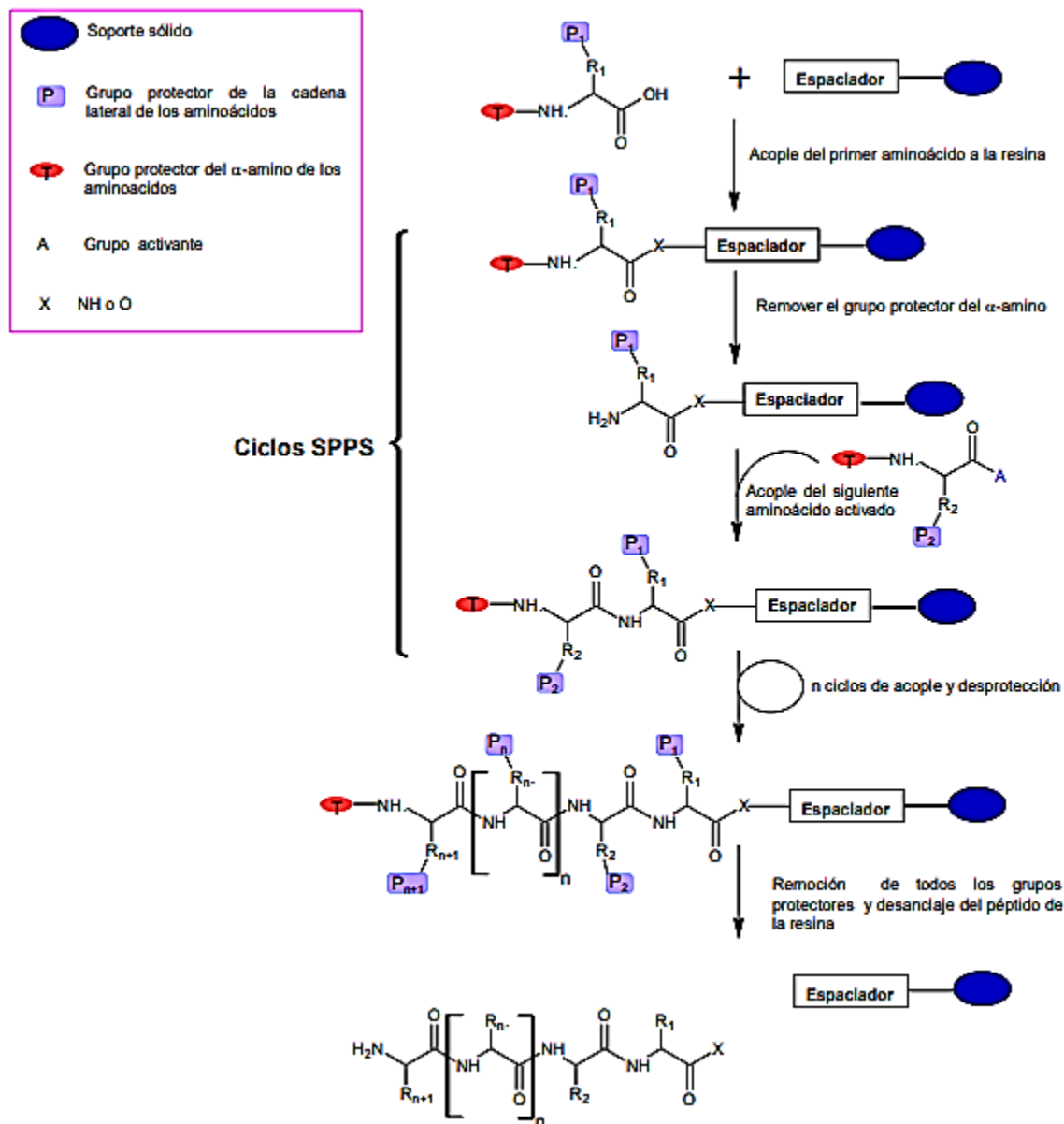
Esta estrategia de obtención de PAMs a diferencia de las anteriores requiere menos tiempo de producción, se puede incorporar un gran número de moléculas no naturales y otras estructuras químicas de forma relativamente sencilla. La investigación en síntesis química de péptidos inició en 1901 con la obtención del dipéptido (glicilglicina) realizado por el químico Emil Fischer, el desarrollo de este estudio permitió avanzar en el diseño y síntesis de productos que mejoraron la estrategia, como la contribución de los investigadores Bergmann y Zervas en 1932 con la elaboración de grupos protectores tanto para el N-terminal (el grupo carbobenzoxilo) como para las cadenas laterales de los aminoácidos dando como resultado el direccionamiento de la síntesis. En 1956, Vincent Du Vigneaud

obtuvo el premio nobel de Química por el diseño y síntesis en fase líquida de un péptido funcional (oxitocina) que imitaba una biomolécula hormonal compuesta por nueve aminoácidos naturales (Mitchell 2007). La estrategia de síntesis de péptidos revolucionó cuando el bioquímico Bruce Merrifield, introdujo la síntesis en Fase Sólida dejando de lado la metodología convencional (fase líquida), por este avance recibió el premio Nobel de Química en 1984 y actualmente es la metodología más empleada para la obtención de estas biomoléculas (Paradís-Bas, Tulla-Puche, and Albericio 2016).

El desarrollo de la metodología de síntesis de péptidos en fase sólida (*SPPS, solid phase peptide synthesis*) utiliza una matriz funcionalizada e insoluble llamada resina, a la cual se une el carbono terminal del primer aminoácido del péptido, este aminoácido viene protegido en la cadena lateral si es necesario y bloqueado en el grupo amino terminal. El proceso consiste en elongar la cadena peptídica por medio de la unión secuencial de aminoácidos estratégicamente protegidos en la cadena lateral y en el grupo alfa amino (Gómez Moreno 2016), para unir dichos aminoácidos se inicia por desbloquear el N-terminal que se encuentra anclado a la resina y se procede a realizar el acople por medio de la formación de un enlace amida (enlace peptídico) entre el grupo funcional carboxilo del aminoácido entrante y alfa amino del aminoácido previamente unido al soporte polimérico (Guzmán, Barberis, and Illanes 2007).

Teniendo en cuenta la estrategia de síntesis empleada, se realiza el proceso de desprotección en el cual se retira el grupo protector del alfa amino del aminoácido para continuar con el siguiente acople, estos ciclos de acople y desprotección son repetidos hasta finalizar la secuencia, una vez es concluido el péptido se procede a desanclar la molécula de la matriz sólida y a retirar los grupos protectores de las cadenas laterales y del amino terminal considerando la estrategia de síntesis inicialmente planteada, finalmente se procede a purificar y caracterizar el péptido sintetizado, el esquema general de la síntesis se muestra en la Figura 3-1 (Qvit and Kornfeld 2016; Varela Quitian 2016).

Figura 3-1: Esquema general de la síntesis de péptidos en fase sólida. Tomado de (Guzmán, Barberis, and Illanes 2007; Gómez Moreno 2016).

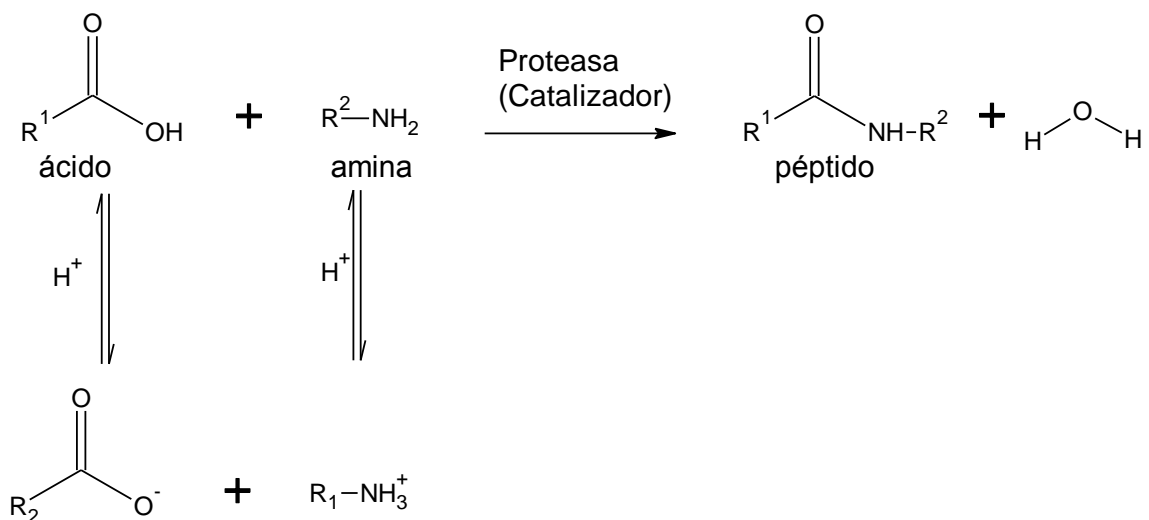


La síntesis de péptidos en fase sólida es considerada la metodología más costosa y menos ecológica con el medio ambiente comparada con las técnicas anteriores, sin embargo, cabe resaltar que esta estrategia de síntesis aprovecha las características de rapidez y sistematización del proceso, evitando pasos intermedios de purificación y pérdida del producto, mejorando el rendimiento en el resultado final.

3.1.4 Síntesis enzimática

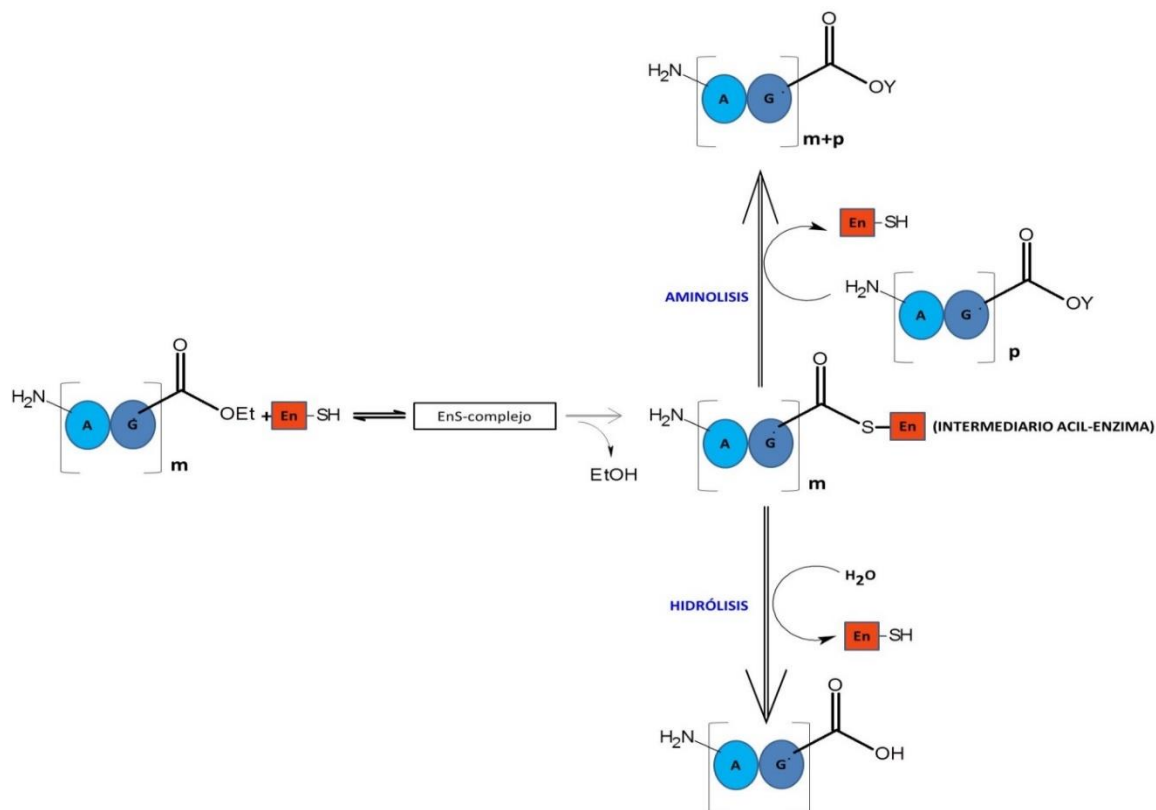
La síntesis de péptidos catalizada por enzimas ha sido considerada como otra alternativa para la construcción de estas moléculas, con la característica particular de disminuir reacciones colaterales como la racemización. Esta técnica es posible desarrollarla por dos mecanismos principales, el primero es la inversión directa del catalizador o método termodinámico. En el cual hay un sistema bifásico agua solvente orgánico que permite dirigir el equilibrio hacia la formación del enlace peptídico por medio de la presencia de proteasas que actúan como catalizadores que incrementan la velocidad de formación del enlace, pero no intervienen en la reacción, en este esquema (Figura 3-2) el C-terminal actúa como donador acilo el cual no requiere de previa activación y reacciona directamente con el nucleófilo N- terminal del otro aminoácido. Claramente la presencia de agua y la variación del pH en el cual se encuentren las especies ionizadas, alteran el rendimiento neto de la reacción. (Guzmán, Barberis, and Illanes 2007).

Figura 3-2: Modelo termodinámico de la síntesis enzimática de péptidos. Adaptado de (Bastida et al. 2018).



El segundo modelo es la aminólisis de los aminoácidos o ésteres peptídicos protegidos por el grupo amino (N) también llamado método cinético. En este mecanismo de síntesis enzimática el catalizador interviene en la reacción y actúa como transferasa formado un intermediario acil-encima el cual permite la posterior formación del enlace amino solo si se controla la velocidad de reacción de lo contrario la presencia de protones conllevará la reacción de hidrólisis (Figura 3-3) (F. Chen, Zhang, and Wang 2010).

Figura 3-3: Modelo cinético de la síntesis enzimática de péptidos. Adaptado de (Xu Qin, a Anne C. Khuong, a Zheng Yu, a Wenzhe Du and Grossa 2013).



Estos métodos de síntesis enzimática permiten según las necesidades del laboratorio acceder a moléculas con propiedades que mejoran posiblemente el efecto farmacológico inicialmente planteado.

3.2 Ensayos de actividad antimicrobiana

Una vez obtenido el péptido antimicrobiano con las características fisicoquímicas ideales según la necesidad de la investigación y con posible actividad biológica, es pertinente corroborar por medio de ensayos biológicos la sensibilidad del microorganismo en presencia del péptido, cerciorar que no tenga efectos nocivos en el hospedero y determinar la viabilidad de las células en presencia de la molécula. Por este motivo las pruebas iniciales requieren determinar la susceptibilidad antimicrobiana donde se plantea el control del proceso infeccioso de la bacteria en el huésped (Ageitos et al. 2017). Para esto se tienen en cuenta dos parámetros;

- La concentración mínima inhibitoria (CMI), es la mínima concentración de una especie antimicrobiana capaz de impedir el crecimiento y producción de un microorganismo en condiciones normalizadas (Kishi et al. 2018; Greber et al. 2019).
- La concentración mínima bactericida (CMB), es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas (Mojsoska, Zuckermann, and Jenssen 2015).

Por otro lado, se evalúa la probabilidad de que el péptido ejerza un efecto adverso sobre las células transportadoras del huésped, para ello se lleva a cabo un ensayo de hemólisis. El cual consta de la liberación de hemoglobina en el plasma por el fenómeno de desequilibrio osmótico debido a la destrucción de los glóbulos rojos (eritrocitos) (S. K. Zhang et al. 2016).

Finalmente se hace necesario determinar la viabilidad de las células diferentes a eritrocitos por medio de un ensayo de citotoxicidad. El cual considera la capacidad de un compuesto o molécula para interactuar con una célula (especialmente humana) y ejercer un efecto tóxico, alterarla y finalmente destruirla (Oliva et al. 2018; Shirley et al. 2018).

Así mismo, otro índice que permite parametrizar la selectividad, actividad antibacteriana del péptido y el efecto tóxico comparado con un fármaco convencional, es:

- Cálculo del índice terapéutico (IT), es un parámetro que representa la especificidad de los agentes antimicrobianos a los microorganismos. Un valor alto de índice terapéutico indica una alta selectividad al microorganismo y se determina con la relación entre la concentración mínima de hemólisis (CMH: es la concentración más baja del péptido que produce 100% de hemólisis) y la CMI (es la concentración mínima inhibitoria del péptido sobre el microorganismo) (ver ecuación (3.1)) (Jiang et al. 2018).

$$IT = \frac{CMH}{CMI} \quad (3.1)$$

Si el valor es mayor a uno se encuentra mayor afinidad del péptido por células procariotas, pero si es menor la preferencia disminuye y si es igual a la unidad no se presenta diferencia en la selección de células.

4. Péptidos antimicrobianos promisorios para combatir el acné

En los últimos años los péptidos antimicrobianos se han considerado moléculas promisorias en la defensa del hospedero por sus funciones como agentes antibacterianos teniendo en cuenta, la diversidad en los posibles mecanismos de acción, la relativa afinidad según las propiedades del péptido hacia la membrana del microorganismo, el amplio espectro de interacción antimicrobiana y especialmente la baja resistencia de las cepas bacterianas ante la presencia del péptido (Ramos and Desgarenes 2007). A continuación, se describen algunos de los PAMs más estudiados con actividad bactericida contra *P. acnes*:

4.1 Las defensinas, son las moléculas más ampliamente estudiadas y caracterizadas producidas por células queratinocitas, desempeñan un papel muy importante en el sistema inmune innato especialmente en la piel y el hígado, son secuencias compuestas de 28 – 42 aminoácidos, de característica catiónica y ricas en cisteínas que le permiten formar puentes disulfuro y estabilizarse por la conformación que adoptan generalmente del tipo hoja beta (Marcinkiewicz and Majewski 2016), estudios demuestran que estas moléculas interactúan con el microorganismo por medio de interacciones electrostáticas con la membrana lipídica del huésped generando poros posiblemente modelo carpeta y promoviendo la muerte del microbio por desequilibrio osmótico (L. Zhang et al. 2016a). Se encuentran principalmente dos subtipos alfa y beta, la alfa-defensina suele localizarse en las células de paneth del intestino o en neutrófilos granulados, su expresión suele ser constitutiva, mientras que la beta-defensina humana (hBD) que también se subdivide en dos grupos tipo I y II, se expresan de forma regulada. La hBD-1 fue aislada de suero de sangre y la hBD-2 ha sido identificada como molécula pro-inflamatoria en las lesiones de psoriasis y acné activada por la presencia de la bacteria *P. acnes*, lo cual indica que la aparición de

estas moléculas en la unidad pilosebácea sirve para proteger y dar aviso de invasiones microbianas (Borovaya et al. 2014). Investigaciones demuestran que el uso de antibióticos sistémicos como la Isotretinoína® y la Doxiciclina® reducen drásticamente la presencia de estas moléculas evitando el estadio inflamatorio de la enfermedad, sin embargo se desconocen los efectos a largo plazo en la liberación de las defensinas, pues son moléculas importantes del sistema inmune innato que alertan la presencia de un agente patógeno (Aksoy et al. 2018).

4.2 Los péptidos provenientes de la familia Catelicidina, fueron de los primeros reportados en los mamíferos a la par que la beta defensina, la proteína se puede escindir formando diferentes secuencias con actividad antimicrobial, en el humano se ha identificado solamente la Catelicidina LL-37 también conocida como proteína antimicrobiana catiónica humana (hCAP18) (Tonarelli and Simonetta 2014), es un péptido catiónico compuesto por 37 aminoácidos con regiones anfipáticas y tendencia alfa-helicoidal, es expresado por diferentes células como, queratinocitos, mastocitos, neutrófilos, células T y se ha encontrado en fluidos como la saliva y sudor humano (Zeth and Sancho-Vaello 2017). Se ha demostrado su expresión por estímulos inflamatorios y alteraciones en la piel donde interactúa con la bacteria inicialmente por acción electrostática con la membrana y en otras investigaciones indican que por su estructura terciaria es capaz de insertarse en la membrana promoviendo la formación de poros tipo barril que concluyen en la muerte del patógeno, así mismo para su accionar requiere de la presencia de la vitamina D en su forma activa (GuangShun 2014; G. Wang et al. 2015).

La Catelicidina es una molécula con respuesta múltiple ante la presencia de un microorganismo invasor, puede actuar como bactericida, angiogénico, estimulador del efecto sinérgico con la beta-defensina ya que actúan como quimioatractor de células protectoras que combaten la inflamación generada por la *Propionibacterium acnes* específicamente en la enfermedad del acné (Quintero et al. 2015). Se han realizado estudios comparando la Catelicidina humana LL-37 con la Catelicidina- BF proveniente de serpiente, mostrando la potente actividad antimicrobial de estos péptidos contra la *P. acnes* y teniendo como blanco el antibiótico convencional Clindamicina®, sin embargo, se demostró que la Catelicidina- BF posee mayor efecto antiinflamatorio y capacidad de supresión de la colonia *P. acnes*, por la producción de radicales libres de

oxígeno, convirtiéndose en otra fuerte alternativa para el tratamiento del acné (Y. Wang et al. 2011; Fox et al. 2016).

4.3 La Granulisina, es un péptido proveniente de la familia saposina con código genético conservado, se encuentra en células asesinas naturales (NK, *natural killer*, de sus siglas en inglés) y linfocitos T citotóxicos (CTL, *cytotoxic T lymphocytes*, de sus siglas en inglés), posee 145 aminoácidos de los cuales contiene dos enlaces disulfuro que le permiten estabilizar cinco regiones alfa-helicoidales en su estructura terciaria, tiene un amplio espectro bactericida en el cual se incluye la bacteria Gram positiva *P. acnes* (Hsiao et al. 2016). Este péptido ha presentado alternativas para el tratamiento de la enfermedad, el fragmento más relevante contiene los residuos del 31-50 del C-terminal de la secuencia con efectos antibacterianos y antiinflamatorios en especial cuando ese fragmento es sintetizado con D-aminoácidos (S. J. Wang et al. 2005; Niyonsaba et al. 2017). Estudios muestran que péptidos derivados de la Granulisina ya han sido probados en pacientes con acné y el resultado físico es la reducción del número de pústulas encontradas en la enfermedad, gracias a que el péptido suprime la liberación de citoquinas mediadas por *P. acnes* las cuales favorecen el proceso inflamatorio, igualmente inhibe el reconocimiento de la bacteria alterando los patrones moleculares asociados a patógenos que se encuentran en las células blancas del hospedero (Lim et al. 2015; Pfalzgraff, Brandenburg, and Weindl 2018). Por esta razón, la modificación de un segmento de la secuencia de la Granulisina y sus derivados han sido patentados como productos promisorios contra la enfermedad del acné (Modlin and Gallo 2008) aun así, se sigue estudiando esta molécula porque se observó que una vez aplicado el tópico había disminución del estadio nodular de la enfermedad en un periodo de 2 a 4 semanas, sin embargo culminado este tiempo se presentaban leves reacciones colaterales en la epidermis, como baja adsorción cutánea limitando los resultados esperados (Lim et al. 2015).

4.4 El péptido LZ1 fue diseñado y sintetizado por Zhang y colaboradores, teniendo en cuenta las secuencias y estructuras tridimensionales de las familias de péptidos antimicrobianos más relevantes, Cecropinas, Magaininas, Defensinas y Catelicidinas de esta investigación se analizó que la longitud óptima del péptido es menor o igual a 39 residuos de aminoácidos, el peso molecular oscila en 4kDa, la secuencia debe tener características anfipáticas para promover mejor interacción tanto con la membrana del

microorganismo como con el medio en el que se encuentre. De allí que el péptido LZ1 contiene 15 aminoácidos (VKRWKKWWRKWKKV-NH₂) con tendencia alfa helicoidal y presenta propiedades anfipáticas, fue desarrollado para actuar como bactericida inhibiendo en el crecimiento de las bacterias *Propionibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermis* encontradas en el sebocito durante el estadio inflamatorio de la enfermedad del acné, además presenta actividad antiinflamatoria porque impide la secreción de citoquinas e interleuquinas las cuales promueven el proceso de inflamación (Z. Zhang et al. 2013). El péptido LZ1 en su última investigación fue valorado en fase clínica y se demostró su amplio espectro antimicrobial, baja actividad hemolítica y citotóxica en células eucariotas, en ensayos *in vivo* posteriores en ratones Kunming comparó la concentración mínima inhibitoria del péptido LZ1 con el fármaco convencional Clindamicina®, obteniendo 0,6 (µg/ml) y 2,3 (µg/ml) respectivamente, lo cual reafirma la fuerte actividad bactericida del péptido contra la *P. acnes*, finalmente se analizó la actividad antibacterial en plasma humano y la actividad antiinflamatoria en la oreja del ratón contrastando el resultado con Catelicidina LL-37 y Eritromicina®, de estos ensayos se concluyó que efectivamente el péptido no es perjudicial en eritrocitos en los ensayos de hemólisis, ni en queratinocitos en los ensayos de citotoxicidad, de igual forma el péptido LZ1 disminuye el porcentaje de células epiteliales inflamadas por causa de la *P. acnes*, por estas razones el péptido se encuentra patentado y está a la venta por su fabricante, sin embargo se deben seguir haciendo estudios que certifiquen la baja toxicidad de la molécula en la población en general (Lai Wei Zhang Zhiye 2012; Z. Zhang et al. 2013).

4.5 El péptido antimicrobiano CEN1HC-Br estudiado por el grupo de Cheng et al. fue aislado del erizo verde de mar, proviene del péptido Centrocina1 un péptido heterodimérico que se compone de dos cadenas, la primera llamada cadena pesada por que posee 30 aminoácidos y un átomo de bromo (30 aa, CEN1HC-Br) y la segunda es la cadena liviana por que se compone por 12 aminoácidos (12 aa, CEN1LC), estas secuencias se encuentran unidas por un enlace disulfuro intercatenario. En el estudio se decidió separar las cadenas y se observó una diferencia marcada en actividad antibacterial entre las secuencias, mostrando que la cadena liviana no contribuía en actividad antibacterial contra el patógeno. También se comparó la cadena bromada con la cadena sin el halógeno, dando valores cercanos de concentración mínima

inhibitoria 6 y 12 mg/L respectivamente, el estudio continuo con la cadena pesada porque la presencia del átomo de bromo influye negativamente en la cascada de liberación de citoquinas e interleuquinas, moléculas que promueven la inflamación del poro (Björn et al. 2012). La presencia de la cadena pesada CEN1HC-Br, atenúa la actividad de la bacteria *P. acnes* en el sebocito evitando que receptores de membrana (TLR-2 de sus siglas en inglés) reconozcan la presencia del microorganismo patogénico, impidiendo finalmente la inflamación. Por último, se comparó la efectividad del péptido bromado contra un fármaco convencional como blanco positivo Clindamicina® para para lisar la membrana de la bacteria y la prueba de concentración mínima inhibitoria (4mg/L y 512 mg/L, respectivamente) demostró la superioridad del péptido en efectividad (R. Han et al. 2018).

5. Análisis de los péptidos antimicrobianos promisorios.

Teniendo en cuenta la gran cantidad de información de péptidos antimicrobianos contra la enfermedad del acné y que algunos de estos han sido patentados, son pocos los que han superado las fases clínicas de estudio, por este motivo se hace necesario diseñar nuevos modelos peptídicos partiendo de los resultados obtenidos en estudios previos o tratar de optimizar las secuencias anteriormente mencionadas considerando las propiedades estructurales, de carga, de hidrofobicidad y anfipaticidad para tratar de obtener un mejor péptido antimicrobiano que permita combatir la bacteria *P. acnes* y pueda reducir los efectos adversos de la dermatopatía como la inflamación, enrojecimiento, generación de quistes y posterior cicatrización.

De las moléculas ya estudiadas, se resalta la capacidad que tienen para interferir en la colonización y proliferación de la bacteria *Propionibacterium acnes*, además de disminuir los efectos del estadio inflamatorio causado por esta enfermedad, interviniendo en la cascada de liberación de células pro inflamatorias como citoquinas e interleuquinas.

Así mismo, los péptidos que se presentan tienen características similares como el origen biológico, pues provienen de fuentes animales y humanas, así mismo, las características de secuencia son similares con carga positiva mayor o igual a +3, las longitudes si varían con un rango entre 10 a 40 residuos de aminoácidos como la Catelicidina LL-37, la composición hidrofóbica en estas secuencias tiende a estar entre un 30% a un 60%, afectando directamente la anfipaticidad, pues dependiendo de esta propiedad se puede determinar el tipo de interacción probable del péptido con la membrana del microorganismo invasor y si es posible la internalización de la molécula en la bicapa lipídica (G. Wang, Li, and Wang 2016; Lau and Dunn 2018).

La mayoría de los péptidos presentan conformación estructural alfa-helicoidal y solo unos pocos como la beta-defensina humana tienen tendencia hoja-beta, otro ejemplo es el péptido antimicrobiano Indolicidina el cual no tiene una estructura terciaria definida, de este último se deriva el péptido sintético Omiganan, el cual muestra actividad antibacteriana

contra la *P.acnes* y se encuentra en fase clínica, los demás péptidos tienen tendencia alfa helicoidal, Catelicidina LL-37, Granulisina, LZ1 y CEN1HC-Br. La función biológica que prevalece en este grupo de moléculas es la actividad antibacteriana, ya que la bacteria a la cual van dirigidos es de característica Gram positiva no esporulada, se intenta siempre reforzar en el péptido sintetizado la función bactericida evitando actividad citotóxica y hemolítica en el hospedero.

La asociación de todas características estructurales ha permitido plantear un posible modelo de acción para cada péptido, sin embargo, es pertinente aplicar varias técnicas analíticas como dicroísmo circular, Resonancia Magnética Nuclear (RMN) o cristalografía, diferentes tipos de microscopía o de infrarrojo, pues cada técnica proporciona información específica para explicar la interacción más probable entre péptido-patógeno, definiendo posibles mecanismos de acción en la superficie o en el interior de la célula que favorezcan la muerte del patógeno (Lee, N. Hall, and Aguilar 2015; Martinez et al. 2018).

Teniendo en cuenta los péptidos presentados en esta revisión se optó por seguir estudiando la Granulisina (J. Kumar et al. 2005; Krensky 2000), ya que es una molécula que se encuentra en el ser humano y por sus propiedades innatas líticas debido a que proviene de las células asesinas naturales y de los linfocitos T citotóxicos, es muy probable que la actividad bactericida sobre el patógeno sea efectiva (Hsiao et al. 2016).

De las investigaciones previas sobre esta proteína de 145 aminoácidos, se realizó un estudio con el programa de análisis y predicción de péptidos antimicrobianos de primera generación *AntiBP Server* (Lata, Sharma, and Raghava 2007), el cual determinó que la región C-terminal compuesta por 75 aminoácidos es la más óptima para encontrar fragmentos con actividad antibacterial y antiinflamatoria, de igual manera la secuencia **NH₂-RVCRTGRSRWRDVCR-CO₂H** obtuvo el mayor puntaje de actividad antimicrobiana en el programa *AntiBP Server*, este péptido ya fue patentado y se han realizado posteriores investigaciones (Modlin and Gallo 2008; S. J. Wang et al. 2005).

Para cuando fue patentada la secuencia mencionada, la segunda y hasta ahora última versión del servidor de predicción de péptidos antibacterianos salió al mercado "*AntiBP2*" (Lata, Mishra, and Raghava 2010) al analizar de nuevo y detenidamente la secuencia de la Granulisina con este programa se encontró que los resultados no coincidían con el fragmento anteriormente reportado el cual tiene ahora un valor de predicción muy bajo

(0.025), por el contrario se encuentra una nueva región en la secuencia **KKMVDKPTQRSVSNA** con un puntaje de 0.73 que no ha sido investigado hasta el momento (Figura 5-1).

Figura 5-1: Análisis de la secuencia en el servidor

Secuencia de Granulisin (145aa): rojo; Secuencia patentada; verde; Secuencia propuesta

MATWALLLLAAMLLGNPLVSRSLSPYDILARAHLRDEEKSCPLAQEGPQGDLLTKTQELGRDYRTCLTIVQK**KKMVDKPTQRSVSNA**AT**RVCRTRGRSRWRDVC**RNFMRRYQSRVTQGLVAGETAQQICEDLRLCIPSTGPL

Software primera generación

PEPTIDE	START POSITION	SCORE	Antibacterial Activity
RVCRTRGRSRWRDVC	18	1.521	YES
TGRSRWRDVCNFM	22	0.477	YES
VSNAAATRVCRTRGRSR	12	0.423	YES
CRTRGRSRWRDVCNFM	20	0.199	YES
VCRTRGRSRWRDVCN	19	0.150	YES
SVSNAAATRVCRTRGRS	11	-0.085	NO
RSVSNAAATRVCRTRGR	10	-0.093	NO
AATRVCRTRGRSRWRD	15	-0.101	NO
VDKPTQRSVSNAATR	4	-0.113	NO
MVDKPTQRSVSNAATR	3	-0.266	NO
TRVCRTRGRSRWRDVC	17	-0.272	NO
SNAATRVCRTRGRSRW	13	-0.344	NO
TQRSVSNAATRVCRTR	8	-0.506	NO
RTGRSRWRDVCNFM	21	-0.545	NO
ATRVCRTRGRSRWRD	16	-0.751	NO
NAATRVCRTRGRSRWR	14	-0.768	NO
PTQRSVSNAATRVCR	7	-0.990	NO
KKMVDKPTQRSVSNA	1	-1.063	NO

Software segunda generación

PEPTIDE	START POSITION	SCORE	Antibacterial Activity
KKMVDKPTQRSVSNA	1	0.739	YES
AATRVCRTRGRSRWRD	15	0.280	YES
VCRTRGRSRWRDVCN	19	0.178	YES
VDKPTQRSVSNAATR	4	0.130	YES
MVDKPTQRSVSNAATR	3	0.045	YES
RVCRTRGRSRWRDVC	18	0.025	YES
RTGRSRWRDVCNFM	21	-0.062	NO

Si el nuevo programa es más efectivo en su predicción que el anterior algo que hay que explorar y teniendo en cuenta que con el anterior se han logrado resultados promisorios de actividad antibacteriana, como aporte de este trabajo se diseña un nuevo péptido con base en esta nueva secuencia y se plantean las fases importantes que podría contemplar un proyecto de investigación.

- Diseño del péptido

A partir de la proteína Granulisin (GNLY), con PDB ID: 1L9L (<https://www.uniprot.org/uniprot/P22749>) se utilizó el servidor para predicción de péptidos antimicrobianos AntiBP2 (<http://crdd.osdd.net/raghava/antibp2/index.html>) y se seleccionó la secuencia molde de 15 aminoácidos (**KKMVDKPTQRSVSNA**) con el mayor puntaje de actividad antibacteriana (0.739) con una carga de +3 a pH fisiológico. Se utilizó la secuencia nativa para generar un péptido análogo teniendo en cuenta los aminoácidos que se encuentran con mayor frecuencia en péptidos antimicrobianos en el N-terminal y C-terminal según el programa de predicción (Lata, Mishra, and Raghava 2010),

(GKMVLKPKQRSKLNA) además de seguir los parámetros de longitud, carga, hidrofobicidad y estructura, adicionalmente se plantea con este péptido probar su actividad biológica contra la bacteria.

Después de evaluar varios cambios en la secuencia y de analizarlos con el programa se logró diseñar un péptido promisorio para investigar su actividad. El péptido análogo generado (GKMVLKPKQRSKLNA) tiene cambios de K1G, D5L, T8K, V12K y S13L, carga de +5, tendencia alfa helicoidal pues la presencia de las leucinas favorece la formación de dicha estructura y un valor de actividad antibacteriana de 1.3 con el programa de predicción AntiBP2 (ver Anexo 2).

- Síntesis del péptido

En el grupo de investigación de Compuestos Antimicrobianos, una vez diseñada la secuencia, se procedería a la síntesis del péptido mediante la metodología en fase sólida con la química Fmoc/tBu (9-Fluorenilmetiloxycarbonil/ter-butilo), siguiendo el protocolo que se describe a continuación, el cual se realizara a presión y temperatura ambiente (Chingaté et al. 2015).

La síntesis se realiza en dirección C a N-terminal; Inicialmente se procede a hinchar la resina Rink Amida-Fmoc (0.5 meq g^{-1}) con DCM (diclorometano) durante 20 min, para remover el grupo protector Fmoc se utiliza una solución de piperidina al 20% en DMF (dimetilformamida) ($2 \times 10'$), luego se procede lavar con DMF ($3 \times 2'$), IPA (isopropanol) ($1 \times 2'$), DMF ($2 \times 1'$) y DCM ($2 \times 1'$) para retirar remanentes del reactivo y dejar la resina en condiciones de acople si es requerido. Es necesario monitorear la remoción del grupo protector Fmoc mediante el test de Kaiser, si la resina y la solución adquieren coloración azul o verdosa indica un ensayo positivo para aminas libres y se puede proceder a realizar el acople, de lo contrario (solución amarilla) el ensayo es negativo y se repite el procedimiento de desprotección.

Para acoplar el aminoácido, se utilizan 5 equivalentes del residuo (con respecto a la carga de la resina), 5 equivalentes del agente de acople HBTU (Hexafluorophosphate Benzotriazole Tetramethyl Uronium) y 10 equivalentes de DIPEA (N,N-Diisopropiletilamina), disolver en DMF (3mL/100mg de resina), mezclar con la resina por 1 hora en agitación constante.

Luego de drenar la solución y lavar la resina con DMF ($3 \times 1'$) y DCM ($2 \times 1'$) para verificar que la acilación haya sido efectiva, se realiza un ensayo de ninhidrina (test de Kaiser) (Anexo 1) si el resultado es negativo se procede a desproteger el grupo Fmoc del N-

terminal como se describe anteriormente, en caso contrario se repite el ciclo de acople variando el activador del aminoácido hasta obtener la incorporación total de este residuo. Se realizan ciclos sucesivos de acople y desprotección de acuerdo al número de aminoácidos que contenga el péptido.

Una vez se sintetiza el péptido, se procede a retirar los grupos protectores de las cadenas laterales de los aminoácidos y a desanclar el péptido del soporte sólido con una solución que contiene TFA/TIS/EDT/H₂O (ácido trifluoroacético/ triisopropilsilanol/etanodiol/agua) en proporciones 94:2.5:1:2.5 respectivamente (2 ml de solución de clivaje por cada 50 mg de resina) y se deja reaccionar por 3 horas. Para precipitar el péptido se adiciona éter etílico frío a la solución y se deja secar a temperatura ambiente. Finalmente, el péptido se analiza por cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa, espectrometría de masas y dicroísmo circular.

Posterior a la síntesis se haría la evaluación del péptido en ensayos de actividad antimicrobiana, llevando a cabo el siguiente protocolo:

- **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)**

Este ensayo se realiza en una microplaca de 96 posos, se mezclan 100 μ L de diluciones en serie del péptido (50 mg/mL) con 100 μ L de una dilución 1:100 de las células *M. smegmatis* mc 2 155 en fase logarítmica OD 600: 0,4-0,5. Para el pozo de control positivo se utiliza 1,0 μ L de kanamicina y el control negativo con medio de cultivo y suspensión bacteriana. La placa se incuba a 37°C por 4 días, luego se agregan 30 μ L del indicador (resazurina 5mg/mL) se incuba por 24h. Con el indicador resazurina, si hay cambio de color del caldo de amarillo a púrpura, se indica crecimiento bacteriano y la CIM se define como la concentración de péptidos más baja evitando este cambio de color.

- **Ensayo de Hemolisis**

Este procedimiento requiere una muestra de glóbulos rojos humanos (\leq 3 mL) suspendidos en una solución salina al 0.9%, se procede a mezclar con 0.1 mL de diluciones de péptidos en serie (max 4,0 mg/mL; min 0.015mg/mL) en placas de 96 pozos con fondo en V. Se requiere incubar por 2h a 37°C con 5% de CO₂, y luego a centrifugar las placas a 3500rpm, los sobrenadantes se recogen para determinan la concentración de hemoglobina en un espectrofotómetro digital a OD540.

- Ensayo de citotoxicidad

Se debe sembrar en cajas de 96 pozos, 0.1 mL de células en suspensión (concentración de 1×10^5 células/mL en medio RPMI 1640 suplementado con suero de ternera fetal al 5%, e incubadas a $37^\circ\text{C}/24\text{h}/P_{\text{atm}}$ CO_2 al 5%) con 0.1 mL de diluciones seriadas del péptido (max 2,5 mg/mL; min 0.019mg/mL). La incubación de las células continuó por 72h, luego se evalúa la viabilidad celular por el método de Alamar Blue; se adiciona resazurina (Sigma Aldrich, USA) a una concentración de 44mM y después de 4h adicionales de incubación, se leen las unidades arbitrarias de fluorescencia (UFA) utilizando un espectrofluorómetro (Genios Tecan Plate Reader) y el Software Magellan®). Se utiliza kenamicina con las células como control negativo. Los datos se procesan en Microsoft Excel para estimar los porcentajes de viabilidad celular, usando la fórmula: % de viabilidad a concentración X = (UFA a concentración X x 100) / (UFA de células en condiciones normales de cultivo).

6. Conclusiones y recomendaciones

6.1 Conclusiones

El énfasis del estudio de los PAMs de los últimos años se debe a los efectos biológicos que presentan, pueden ser empleados por separado como antimicrobianos o en combinación con antibióticos debido a su efecto sinérgico. Sin embargo, las investigaciones in vivo no han demostrado una buena actividad antimicrobiana, por lo que se siguen buscando diversas alternativas para optimizar su acción con el objetivo de emplearlos como agentes terapéuticos alternos a los antibióticos y posiblemente sin los efectos adversos en los pacientes y sin desarrollar resistencia bacteriana.

En este estudio, se elaboró una revisión bibliográfica donde se recopiló información relevante del problema del acné causado por la bacteria *Propionibacterium acnes*, donde inicialmente se revisaron aspectos generales de la enfermedad, la fisiopatología y los tratamientos convencionales utilizados para combatirla, estos tratamientos de control mostraron algunos problemas de resistencia de la bacteria y efectos secundarios en el individuo afectado. Por este motivo se presentaron los péptidos antimicrobianos como una opción terapéutica y novedosa para tratar esta enfermedad, por medio de una revisión amplia del tema, teniendo en cuenta propiedades, características, metodologías de interacción con el microorganismo y técnicas de obtención de estas moléculas peptídicas, finalmente se muestra el panorama de uso de algunas de estas moléculas en el tratamiento de la enfermedad del acné, mostrando la variedad del origen biológico de estos PAMs pero la similitud en propiedades fisicoquímicas, las cuales permiten centrar y orientar la búsqueda de un péptido antimicrobiano "ideal".

De igual forma se identificaron los candidatos peptídicos más relevantes que han mostrado actividad antibacterial e inclusive anti-inflamatoria, contra la *P. acnes* y se han propuesto como tratamiento a la enfermedad del acné, sin embargo, siguen en estudio como es el

caso de la Granulisina, hay otros como el péptido LZ1 que ya se encuentran en el mercado oriental, pero con exclusiva prescripción médica.

Por último, se planteó el diseño de un péptido derivado de un fragmento de la Granulisina que no ha sido estudiado, a esta secuencia se le realizaron modificaciones siguiendo las recomendaciones esbozadas en esta revisión para mejorar teóricamente su actividad antibacteriana y así dejar planteado el inicio de una investigación para futuros estudios con los péptidos más promisorios encontrados como candidatos terapéuticos contra la bacteria *Propionibacterium acnes*.

6.2 Recomendaciones

Con los dos péptidos antimicrobianos diseñados derivados de la Granulisina, se plantea desarrollar un proyecto de investigación que dé cuenta del desarrollo sintético teniendo en cuenta la metodología de síntesis en fase sólida que maneja el grupo de investigación de Compuestos Antimicrobianos y de la actividad biológica de estas moléculas contra la bacteria siguiendo las metodologías revisadas como la concentración mínima inhibitoria, ensayos de hemólisis y citotoxicidad. Si estas moléculas peptídicas son adecuadas, se buscarán alianzas posteriores de acuerdo con los resultados previos hasta la obtención de un producto farmacéutico que incluya el péptido diseñado.

Anexo 1. Solución de Ninhidrina

Solución de Ninhidrina (Test de Kaiser)

1. Preparar las siguientes soluciones:

1.1 **Solución 1:** Disolver 40 g de fenol p.a. en 10 mL de etanol absoluto y guardar en un frasco ámbar y en un ambiente fresco).

1.2 **Stock de KCN:** Disolver 65 mg de KCN en 100 mL de agua.

1.3 **Solución 2:** Luego tomar 1 mL de esta solución y completar hasta 50 mL con piridina (recién destilada sobre ninhidrina).

1.4 **Solución A:** Mezclar las soluciones 1 y 2 en proporción de volúmenes de 1:10 y agitar. Almacenar en la oscuridad.

1.3 **Solución B:** Disolver 1.25 g de ninhidrina en 25 mL de etanol absoluto.

2. Colocar una pequeña cantidad de la resina-péptido a ensayar en el respectivo tubo de ensayo.

3. Adicionar 3 gotas de A y 1 gota de B y agitar

4. Realizar un blanco de reactivos.

5. Calentar los tubos de ensayo en un bloque de calentamiento por 3 minutos a 100°C.

6. Resultados:

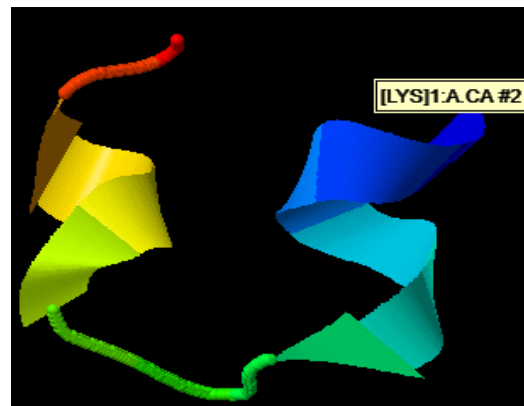
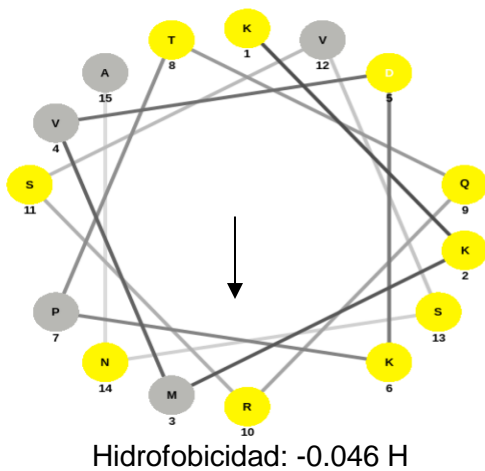
a. Resina-péptido y solución azul a verdosa: ensayo positivo.

b. Resina-péptido incolora: ensayo negativo.

Anexo 2. Representación estructural del péptido nativo y el péptido análogo propuesto.

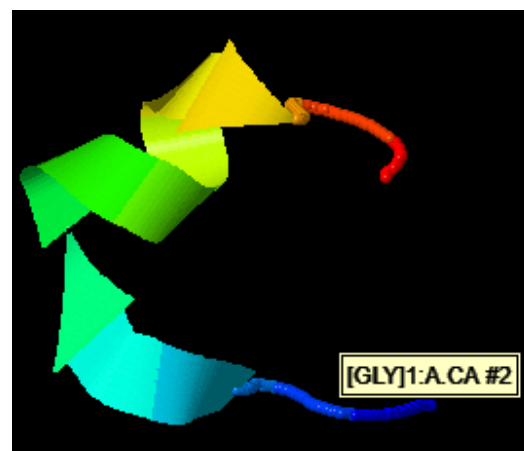
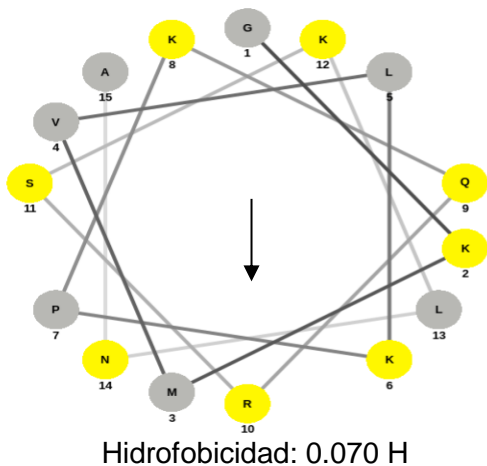
La representación helicoidal se realizó con el programa *HelicalWheel* (<http://lbqp.unb.br/NetWheels/>), el color gris indica aminoácidos apolares y el color amarillo aminoácidos polares. Y el diseño de predicción estructural se obtuvo con el programa I-TASSER (C. Zhang, Freddolino, and Zhang 2017)

Secuencia nativa: **KKMVDKPTQRSVSNA**



Predicción tridimensional – I-TASSER
C-Score: -1.00

Secuencia análoga: **GKMVLKPKQRSKLNA**



Predicción tridimensional – I-TASSER
C-Score: -0.93

Bibliografía

- 'T Hof, Wim Van, Enno C.I. Veerman, Eva J. Heimerhorst, and Arie V. Nieuw Amerongen. 2001. "Antimicrobial Peptides: Properties and Applicability." *Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1515/BC.2001.072>.
- Achermann, Yvonne, Ellie J C Goldstein, Tom Coenye, and Mark E Shirtliff. 2014. "Propionibacterium Acnes: From Commensal to Opportunistic Biofilm-Associated Implant Pathogen." *Clinical Microbiology Reviews* 27 (3). Am Soc Microbiol:419–40. <http://www.mdpi.com/1424-8247/7/5/545/htm>.
- Ageitos, J. M., A. Sánchez-Pérez, P. Calo-Mata, and T. G. Villa. 2017. "Antimicrobial Peptides (AMPs): Ancient Compounds That Represent Novel Weapons in the Fight against Bacteria." *Biochemical Pharmacology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.09.018>.
- Agrawal, Piyush, Sherry Bhalla, Salman Sadullah Usmani, Sandeep Singh, Kumardeep Chaudhary, Gajendra P. S. Raghava, and Ankur Gautam. 2016. "CPPsite 2.0: A Repository of Experimentally Validated Cell-Penetrating Peptides." *Nucleic Acids Research* 44 (D1):D1098–1103. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1266>.
- Aksoy, Gülhan, Esra Adisen, Özlem Erdem, and Ahmet Burhan Aksakal. 2018. "Comparison of Efficacy of Doxycycline and Isotretinoin on Cutaneous Human Beta-Defensin-1 and -2 Levels in Acne Vulgaris." *Indian Journal of Dermatology* 63 (5). Wolters Kluwer India Pvt Ltd:380–85. http://10.0.16.7/ijd.IJD_402_16.
- Alencare Silva, Thuany de, Mariana Carolina Braga, Gustavo Oliveira Silva Santana, Felipe Saldanha-Araujo, Robert Pogue, Simoni Campos Dias, Octavio Luiz Franco, and Juliana Lott de Carvalho. 2018. "Breaking the Frontiers of Cosmetology with Antimicrobial Peptides." *Biotechnology Advances*, August 14, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.005>.
- Anina Lambrechts, Isa, Marco Nuno de Canha, and Namrita Lall. 2018. "Exploiting Medicinal Plants as Possible Treatments for Acne Vulgaris." In *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being*, 117–43. Academic Press.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812475-8.00004-4>.

- Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria., J, A Tarragón Cros, J Morata Alba, and A Tarragón Cros. 2016. *Revista Pediatría de Atención Primaria. Pediatría Atención Primaria*. Vol. 18. Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322009000700002&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- Bahar, Ali Adem, and Dacheng Ren. 2013. "Antimicrobial Peptides." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* 6 (12):1543—1575. <https://doi.org/10.3390/ph6121543>.
- Bastida, A., R. M. Blanco, S. G. Zárate, E. García-Junceda, and J. M. Guisán. 2018. "Highly Improved Enzymatic Peptide Synthesis by Using Biphasic Reactors." *Biocatalysis and Biotransformation* 36 (3):271–78. <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1326484>.
- Bechinger, B, and S-U Gorr. 2017. "Antimicrobial Peptides: Mechanisms of Action and Resistance." *Journal of Dental Research* 96 (3). International Association for Dental Research:254–60. <https://doi.org/10.1177/0022034516679973>.
- Bertelsen, Kresten, Jerzy Dorosz, Sara Krogh Hansen, Niels Chr. Nielsen, and Thomas Vosegaard. 2012. "Mechanisms of Peptide-Induced Pore Formation in Lipid Bilayers Investigated by Oriented ³¹P Solid-State NMR Spectroscopy." Edited by Hendrik W. van Veen. *PLoS ONE* 7 (10). Public Library of Science:e47745. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047745>.
- Björn, Camilla, Joakim Håkansson, Emma Myhrman, Veronika Sjöstrand, Tor Haug, Kerstin Lindgren, Hans-Matti Blencke, Klara Stensvåg, and Margit Mahlapuu. 2012. "Anti-Infectious and Anti-Inflammatory Effects of Peptide Fragments Sequentially Derived from the Antimicrobial Peptide Centrocin 1 Isolated from the Green Sea Urchin, *Strongylocentrotus Droebachiensis*." *AMB Express* 2 (1):67. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-67>.
- Bobone, Sara. 2014. *Peptide and Protein Interaction with Membrane Systems*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06434-5>.
- Boman, Hans G. 2003. "Antibacterial Peptides: Basic Facts and Emerging Concepts." *Journal of Internal Medicine*. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2003.01228.x>.
- Borovaya, Alena, Yvonne Dombrowski, Stephanie Zwicker, Olga Olisova, Thomas Ruzicka, Ronald Wolf, Jürgen Schaubert, and Miklós Sárdy. 2014. "Isotretinoin Therapy Changes the Expression of Antimicrobial Peptides in Acne Vulgaris." *Archives of*

- Dermatological Research* 306 (8). Springer:689–700.
- Brogden, Kim A. 2005. “Antimicrobial Peptides: Pore Formers or Metabolic Inhibitors in Bacteria?” *Nature Reviews Microbiology*. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1098>.
- Buffy, Jarrod J, Melissa J. McCormick, Sungsool Wi, Alan Waring, Robert I Lehrer, and Mei Hong. 2004. “Solid-State NMR Investigation of the Selective Perturbation of Lipid Bilayers by the Cyclic Antimicrobial Peptide RTD-1.” *Biochemistry* 43 (30):9800–9812. <https://doi.org/10.1021/bi036243w>.
- Burns, A., P. Olszowy, and P. Ciborowski. 2016. “Biomolecules.” In *Proteomic Profiling and Analytical Chemistry*, 7–24. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63688-1.00002-1>.
- Cai, Lei, and Sarah C. Heilshorn. 2014. “Designing ECM-Mimetic Materials Using Protein Engineering.” *Acta Biomaterialia* 10 (4). Acta Materialia Inc.:1751–60. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.028>.
- Calvo, Jorge, and Luis Martínez-Martínez. 2009. “Mecanismos de Acción de Los Antimicrobianos.” *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica* 27 (1):44–52. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.11.001>.
- Carneiro, V A, H S Duarte, M G V Prado, M L Silva, M S Teixeira, and Y M V Santos. 2015. “Antimicrobial Peptides : From Synthesis to Clinical Perspectives.” *Formatex* 49:81–90. <http://www.microbiology5.org/microbiology5/book/81-90.pdf>.
- Castañeda-Casimiro, Jessica, Antonio José, Ortega-Roque, Adriana Marcela Venegas-Medina, Alejandra Aquino-Andrade, Jeanet Serafín-López, Sergio Estrada-Parra, and Iris Estrada. 2009. *Péptidos Antimicrobianos: Péptidos Con Múltiples Funciones*.
- Chen, Fang-Yu, Ming-Tao Lee, and Huey W. Huang. 2003. “Evidence for Membrane Thinning Effect as the Mechanism for Peptide-Induced Pore Formation.” *Biophysical Journal* 84 (6):3751–58. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(03\)75103-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)75103-0).
- Chen, Feifei, Fangkai Zhang, and A Wang. 2010. “Recent Progress in the Chemo-Enzymatic Peptide Synthesis.” *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 4 (10):721–30. [http://www.academicjournals.org/ajpp/PDF/pdf2010/October/Chen et al.pdf](http://www.academicjournals.org/ajpp/PDF/pdf2010/October/Chen%20et%20al.pdf).
- Chingaté, Sandra, Gabriela Delgado, Luz Mary Salazar, and Carlos Yesid Soto. 2015. “The ATPase Activity of the Mycobacterial Plasma Membrane Is Inhibited by the LL37-Analogous Peptide LLAP.” *Peptides* 71 (December 2017). Elsevier Inc.:222–28. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.07.021>.
- Choi, Heejun, Nambirajan Rangarajan, and James C. Weisshaar. 2016. “Lights, Camera,

- Action! Antimicrobial Peptide Mechanisms Imaged in Space and Time.” *Trends in Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.11.004>.
- Choi, Heejun, Zhilin Yang, and James C Weisshaar. 2015. “Single-Cell, Real-Time Detection of Oxidative Stress Induced in Escherichia Coli by the Antimicrobial Peptide CM15.” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201417703. <https://doi.org/10.1073/pnas.1417703112>.
- Corvec, S., M. A. Dagnelie, A. Khammari, and B. Dréno. 2018. “Taxonomy and Phylogeny of Cutibacterium (Formerly Propionibacterium) Acnes in Inflammatory Skin Diseases.” *Annales de Dermatologie et de Venereologie*, December 15, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2018.11.002>.
- Costa, João Pinto da, Marta Cova, Rita Ferreira, and Rui Vitorino. 2015. “Antimicrobial Peptides: An Alternative for Innovative Medicines?” *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6375-x>.
- Cruz, J., C. Ortiz, F. Guzmán, R. Fernández-Lafuente, and R. Torres. 2014. “Antimicrobial Peptides: Promising Compounds Against Pathogenic Microorganisms.” *Current Medicinal Chemistry* 21 (20). <https://doi.org/10.2174/0929867321666140217110155>.
- Danby, F William. 2014. *Acne: Causes and Practical Management*. Hoboken, UNITED KINGDOM: John Wiley & Sons, Incorporated. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/unal/detail.action?docID=1865612>.
- Dosler, Sibel. 2017. “Antimicrobial Peptides: Coming to the End of Antibiotic Era, the Most Promising Agents.” *Istanbul Journal of Pharmacy* 47 (2):72–76. <https://doi.org/10.5152/IstanbulJPharm.2017.0012>.
- Dréno, B. 2017. “What Is New in the Pathophysiology of Acne, an Overview.” *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. <https://doi.org/10.1111/jdv.14374>.
- Dréno, B., S. Pécastaings, S. Corvec, S. Veraldi, A. Khammari, and C. Roques. 2018. “Cutibacterium Acnes (Propionibacterium Acnes) and Acne Vulgaris: A Brief Look at the Latest Updates.” *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. <https://doi.org/10.1111/jdv.15043>.
- Dubos, René J. 1939. “Studies on a Bactericidal Agent Extracted from a Soil Bacillus: I. Preparation of the Agent. Its Activity in Vitro.” *The Journal of Experimental Medicine* 70 (1). The Rockefeller University Press:1–10.

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19870884>.
- Duro-Castano, Aroa, Inmaculada Conejos-Sánchez, and María J. Vicent. 2014. "Peptide-Based Polymer Therapeutics." *Polymers* 6 (2):515–51. <https://doi.org/10.3390/polym6020515>.
- Fan, Linlin, Jian Sun, Meifeng Zhou, Jie Zhou, Xingzhen Lao, Heng Zheng, and Hanmei Xu. 2016. "DRAMP: A Comprehensive Data Repository of Antimicrobial Peptides." *Scientific Reports* 6. <https://doi.org/10.1038/srep24482>.
- Fosgerau, Keld, and Torsten Hoffmann. 2015. "Peptide Therapeutics: Current Status and Future Directions." *Drug Discovery Today*. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.10.003>.
- Fox, Lizelle, Candice Csongradi, Marique Aucamp, Jeanetta Du Plessis, and Minja Gerber. 2016. "Treatment Modalities for Acne." *Molecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/molecules21081063>.
- Gabere, Musa Nur, and William Stafford Noble. 2017. "Empirical Comparison of Web-Based Antimicrobial Peptide Prediction Tools." *Bioinformatics* 33 (13):1921–29. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx081>.
- Gagnon, Marie Claude, Erik Strandberg, Ariadna Grau-Campistany, Parvesh Wadhvani, Johannes Reichert, Jochen Bürck, Francesc Rabanal, Michèle Auger, Jean François Paquin, and Anne S. Ulrich. 2017. "Influence of the Length and Charge on the Activity of α -Helical Amphipathic Antimicrobial Peptides." *Biochemistry* 56 (11):1680–95. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.6b01071>.
- Ganz, Tomas. 2005. "Defensins and Other Antimicrobial Peptides: A Historical Perspective and an Update." *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* 8 (3):209–17. <https://doi.org/10.2174/1386207053764594>.
- García, José Luis. n.d. "Ingeniería Genética Y Biotecnología." Accessed August 12, 2018. <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/535/553&a=bi&pagenumber=1&w=100>.
- Gautam, Ankur, Kumardeep Chaudhary, Sandeep Singh, Anshika Joshi, Priya Anand, Abhishek Tuknait, Deepika Mathur, Grish C Varshney, and Gajendra P.S. Raghava. 2014. "Hemolytik: A Database of Experimentally Determined Hemolytic and Non-Hemolytic Peptides." *Nucleic Acids Research* 42 (D1). Oxford University Press:D444-9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1008>.
- Giulio .A, Zhao .H. 2006. "Antimicrobial Peptides : Basic Mechanism of Action and Emerging

- Pharmacological Interest.” *Asian Journal of Biochemistry* 1 (1):28–40. <https://doi.org/10.3923/ajb.2006.28.40>.
- Gómez, Esteban A., Paula Giraldo, and Sergio Orduz. 2017. “InverPep: A Database of Invertebrate Antimicrobial Peptides.” *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 8 (March):13–17. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.10.003>.
- Gómez Moreno, Diana Milena. 2016. “Diseño Y Síntesis de Un Péptido Con Y Sin Restricción Conformacional de Una Proteína Expresada Por El Gen Pb-1 DE *Oryza Sativa* Involucrada En El Mecanismo de Defensa Contra La *Pyricularia*.” *Repository Universidad Distrital*. <http://repository.udistrital.edu.co/handle/11349/3467>.
- Goodwin, D, P Simerska, and I Toth. 2012. “Peptides as Therapeutics with Enhanced Bioactivity.” *Current Medicinal Chemistry* 19 (26):4451–61. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22830348>.
- Greber, Katarzyna E., Joanna Zielińska, Łukasz Nierzwicki, Krzesimir Ciura, Piotr Kawczak, Joanna Nowakowska, Tomasz Bączek, and Wiesław Sawicki. 2019. “Are the Short Cationic Lipopeptides Bacterial Membrane Disruptors? Structure-Activity Relationship and Molecular Dynamic Evaluation.” *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1861 (1):93–99. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.08.013>.
- GuangShun, Wang. 2010. *Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies*. Edited by G Wang. Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845936570.0000>.
- . 2014. “Human Antimicrobial Peptides and Proteins.” *Pharmaceuticals*. <https://doi.org/10.3390/ph7050545>.
- Guzmán, Fanny, Sonia Barberis, and Andrés Illanes. 2007. “Peptide Synthesis: Chemical or Enzymatic.” *Electronic Journal of Biotechnology*. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. <https://doi.org/10.2225/vol10-issue2-fulltext-13>.
- Hammami, Riadh, Abdelmajid Zouhir, Christophe Le Lay, Jeannette Ben Hamida, and Ismail Fliss. 2010. “BACTIBASE Second Release: A Database and Tool Platform for Bacteriocin Characterization.” *BMC Microbiology* 10 (1):22. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-22>.
- Han, Jinzhi, Peng Gao, Shengming Zhao, Xiaomei Bie, Zhaoxin Lu, Chong Zhang, and Fengxia Lv. 2017. “iTRAQ-Based Proteomic Analysis of LI-F Type Peptides Produced by *Paenibacillus Polymyxa* JSa-9 Mode of Action against *Bacillus Cereus*.” *Journal of*

- Proteomics* 150:130–40. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.08.019>.
- Han, Rui, Hans-Matti Blencke, Hao Cheng, and Chun Li. 2018. “The Antimicrobial Effect of CEN1HC-Br against *Propionibacterium Acnes* and Its Therapeutic and Anti-Inflammatory Effects on *Acne Vulgaris*.” *Peptides* 99 (January):36–43. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.11.001>.
- Hancock, R. E. W., and M. G. Scott. 2002. “The Role of Antimicrobial Peptides in Animal Defenses.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97 (16):8856–61. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.16.8856>.
- Hanna-Leena Kelh  l  . 2016. “THE EFFECT OF SYSTEMIC TREATMENT ON IMMUNE RESPONSES AND SKIN MICROBIOTA IN ACNE.” UNIVERSITY OF OULU. <https://doi.org/1796-2234>.
- Harder, Jürgen, and Jens-M. Schröder, eds. 2016. *Antimicrobial Peptides: Role in Human Health and Disease*. Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24199-9>.
- Hsiao, Ya-Wen, Tsung-Ching Lai, Yu-Hsiang Lin, Chia-Yi Su, Jih-Jong Lee, Albert Taiching Liao, Yuan-Feng Lin, Shu-Chen Hsieh, Alexander T H Wu, and Michael Hsiao. 2016. “Granulysin Expressed in a Humanized Mouse Model Induces Apoptotic Cell Death and Suppresses Tumorigenicity.” *Oncotarget* 8 (48). Impact Journals LLC:83495–508. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11473>.
- Huang, Yibing, Jinfeng Huang, and Yuxin Chen. 2010. “Alpha-Helical Cationic Antimicrobial Peptides: Relationships of Structure and Function.” *Protein & Cell* 1 (2):143–52. <https://doi.org/10.1007/s13238-010-0004-3>.
- Ito, Kotaro, Saori Masaki, Manabu Hamada, Tetsuo Tokunaga, Hisashi Kokuba, Kenji Tashiro, Ichiro Yano, Shinichiro Yasumoto, and Shinichi Imafuku. 2018. “Efficacy and Safety of the Traditional Japanese Medicine Keigairengyoto in the Treatment of *Acne Vulgaris*.” *Dermatology Research and Practice* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4127303>.
- Jenssen, Håvard, Pamela Hamill, and Robert E W Hancock. 2006. “Peptide Antimicrobial Agents.” *Clinical Microbiology Reviews* 19 (3). American Society for Microbiology:491–511. <https://doi.org/10.1128/CMR.00056-05>.
- Jiang, Ziqing, Colin T Mant, Michael Vasil, and Robert S Hodges. 2018. “Role of Positively Charged Residues on the Polar and Non-Polar Faces of Amphipathic α -Helical Antimicrobial Peptides on Specificity and Selectivity for Gram-Negative Pathogens.”

- Chemical Biology & Drug Design* 91 (1). John Wiley & Sons, Ltd (10.1111):75–92. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13058>.
- Joseph, Shaini, Shreyas Karnik, Pravin Nilawe, V. K. Jayaraman, and Susan Idicula-Thomas. 2012. “ClassAMP: A Prediction Tool for Classification of Antimicrobial Peptides.” *IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics* 9 (5):1535–38. <https://doi.org/10.1109/TCBB.2012.89>.
- Kang, Hee Kyoung, Cheolmin Kim, Chang Ho Seo, and Yoonkyung Park. 2017. “The Therapeutic Applications of Antimicrobial Peptides (AMPs): A Patent Review.” *Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s12275-017-6452-1>.
- Kang, Su Jin, Do Hee Kim, Tsogbadrakh Mishig-Ochir, and Bong Jin Lee. 2012. “Antimicrobial Peptides: Their Physicochemical Properties and Therapeutic Application.” *Archives of Pharmacal Research*. Pharmaceutical Society of Korea. <https://doi.org/10.1007/s12272-012-0302-9>.
- Kishi, Rosangela Naomi Inui, Dagmar Stach-Machado, Junya de Lacorte Singulani, Claudia Tavares dos Santos, Ana Marisa Fusco-Almeida, Eduardo Maffud Cilli, Juliana Freitas-Astúa, Simone Cristina Picchi, and Marcos Antonio Machado. 2018. “Evaluation of Cytotoxicity Features of Antimicrobial Peptides with Potential to Control Bacterial Diseases of Citrus.” *PLoS ONE* 13 (9):1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203451>.
- Koreck, A, A Pivarcsi, A Dobozy, and L Kemeny. 2003. “The Role of Innate Immunity in the Pathogenesis of Acne.” *Dermatology* 206 (2). Karger Publishers:96–105.
- Krensky, Alan M. 2000. “Granulysin A Novel Antimicrobial Peptide of Cytolytic T Lymphocytes and Natural Killer Cells.” *Biochemical Pharmacology* 59 (4). Elsevier:317–20. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(99\)00177-X](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00177-X).
- Kumar, Jayant, Satoshi Okada, Carol Clayberger, and Alan M Krensky. 2005. “Granulysin: A Novel Antimicrobial.” *Expert Opinion on Investigational Drugs* 10 (2):321–29. <https://doi.org/10.1517/13543784.10.2.321>.
- Kumar, Prashant, Jayachandran N. Kizhakkedathu, and Suzana K. Straus. 2018a. “Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility in Vivo.” *Biomolecules*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/biom8010004>.
- Kumar, Prashant, Jayachandran N Kizhakkedathu, and Suzana K Straus. 2018b.

- “Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility in Vivo.” *Biomolecules*. MDPI Publishing. <https://doi.org/10.3390/biom8010004>.
- Kyte, Jack, and Russell F. Doolittle. 1982. “A Simple Method for Displaying the Hydrophobic Character of a Protein.” *Journal of Molecular Biology* 157 (1). Academic Press:105–32. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(82\)90515-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(82)90515-0).
- Laadhari, Marwa, Alexandre A. Arnold, Andrée E. Gravel, Frances Separovic, and Isabelle Marcotte. 2017. “An In-Cell Solid-State NMR Portrayal of the Action Mechanism of Antimicrobial Peptides with Intact Bacteria.” *Biophysical Journal* 112 (3). Elsevier:23a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2016.11.158>.
- Lai Wei Zhang Zhiye. 2012. Antibacterial peptide LZ1 and application of antibacterial peptide in preparation of antibacterial medicament. CN2012104227513A, issued October 30, 2012. <https://patents.google.com/patent/CN102924574A/en>.
- Lakshmaiah Narayana, Jayaram, and Jyh-Yih Chen. 2015. “Antimicrobial Peptides: Possible Anti-Infective Agents.” *Peptides* 72 (October):88–94. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.05.012>.
- Lata, Sneha, Nitish K Mishra, and Gajendra P S Raghava. 2010. “AntiBP2: Improved Version of Antibacterial Peptide Prediction.” *BMC Bioinformatics* 11 (SUPPL.1). BioMed Central:S19. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-S1-S19>.
- Lata, Sneha, B. K. Sharma, and G. P.S. Raghava. 2007. “Analysis and Prediction of Antibacterial Peptides.” *BMC Bioinformatics* 8 (1). BioMed Central:263. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-263>.
- Lau, Jolene L., and Michael K. Dunn. 2018. “Therapeutic Peptides: Historical Perspectives, Current Development Trends, and Future Directions.” *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 26 (10). The Authors:2700–2707. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.06.052>.
- Le, Cheng Foh, Chee Mun Fang, and Shamala Devi Sekaran. 2017. “Intracellular Targeting Mechanisms by Antimicrobial Peptides.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. <https://doi.org/10.1128/AAC.02340-16>.
- Lee, Tzong Hsien, Kristopher N. Hall, and Marie-Isabel Aguilar. 2015. “Antimicrobial Peptide Structure and Mechanism of Action: A Focus on the Role of Membrane Structure.” *Current Topics in Medicinal Chemistry* 16 (1):25–39. <https://doi.org/10.2174/1568026615666150703121700>.

- Li, Jianguo, Jun Jie Koh, Shouping Liu, Rajamani Lakshminarayanan, Chandra S. Verma, and Roger W. Beuerman. 2017. "Membrane Active Antimicrobial Peptides: Translating Mechanistic Insights to Design." *Frontiers in Neuroscience* 11 (FEB). Frontiers:73. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00073>.
- Li, Wen Hwa, Ali Fassih, Curt Binner, Ramine Parsa, and Michael D. Southall. 2018. "Low-Level Red LED Light Inhibits Hyperkeratinization and Inflammation Induced by Unsaturated Fatty Acid in an in Vitro Model Mimicking Acne." *Lasers in Surgery and Medicine* 50 (2):158–65. <https://doi.org/10.1002/lsm.22747>.
- Lim, Hee Sun, Seung Min Chun, Min Gyu Soung, Jenny Kim, and Seong Jin Kim. 2015. "Antimicrobial Efficacy of Granulysin-Derived Synthetic Peptides in Acne Vulgaris." *International Journal of Dermatology* 54 (7):853–62. <https://doi.org/10.1111/ijd.12756>.
- Luca, Mariagrazia Di, Giuseppe Maccari, Giuseppantonio Maisetta, and Giovanna Batoni. 2015. "BaAMPs: The Database of Biofilm-Active Antimicrobial Peptides." *Biofouling* 31 (2). Taylor & Francis:193–99. <https://doi.org/10.1080/08927014.2015.1021340>.
- Luengo, M Tránsito López. 2011. "Acné Vulgar: Abordaje Fitoterapéutico." *Offarm: Farmacia Y Sociedad* 30 (5). Elsevier España:48–52.
- Lynn, Darren, Tamara Umari, Robert Dellavalle, and Cory Dunnick. 2016. "The Epidemiology of Acne Vulgaris in Late Adolescence." *Adolescent Health, Medicine and Therapeutics* 7. Dove Press:13. <https://doi.org/10.2147/AHMT.S55832>.
- Mahlapuu, Margit, Joakim Håkansson, Lovisa Ringstad, and Camilla Björn. 2016. "Antimicrobial Peptides: An Emerging Category of Therapeutic Agents." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 6. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00194>.
- Marcinkiewicz, Malgorzata, and Slawomir Majewski. 2016. "The Role of Antimicrobial Peptides in Chronic Inflammatory Skin Diseases." *Postepy Dermatologii I Alergologii*. <https://doi.org/10.5114/pdia.2015.48066>.
- Marks, James G., Jeffrey J. Miller, James G. Marks, and Jeffrey J. Miller. 2019. "12 – Pustules." In *Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology*, 166–83. Content Repository Only! <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-43040-1.00012-9>.
- Marson, Justin W., and Hilary E. Baldwin. 2019. "New Concepts, Concerns, and Creations in Acne." *Dermatologic Clinics*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.det.2018.07.002>.
- Martinez, Melina, Paulo C. Maffia, Axel Hollmann, Patricia Maturana, and Liliana C. Semorile. 2018. "Antimicrobial Peptides: Interaction With Model and Biological

- Membranes and Synergism With Chemical Antibiotics.” *Frontiers in Chemistry* 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00204>.
- Meher, Prabina Kumar, Tanmaya Kumar Sahu, A. R. Rao, and S. D. Wahi. 2016. “Identification of Donor Splice Sites Using Support Vector Machine: A Computational Approach Based on Positional, Compositional and Dependency Features.” *Algorithms for Molecular Biology* 11 (1). BioMed Central:16. <https://doi.org/10.1186/s13015-016-0078-4>.
- Meher, Prabina Kumar, Tanmaya Kumar Sahu, and Atmakuri Ramakrishna Rao. 2016. “Prediction of Donor Splice Sites Using Random Forest with a New Sequence Encoding Approach.” *BioData Mining* 9 (1). BioMed Central:4. <https://doi.org/10.1186/s13040-016-0086-4>.
- Mihajlovic, Maja, and Themis Lazaridis. 2010. “Antimicrobial Peptides in Toroidal and Cylindrical Pores.” *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes* 1798 (8):1485–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.04.004>.
- Mitchell, A.R. 2007. “R. Bruce Merrifield and Solid-Phase Peptide Synthesis: A Historical Assessment.” *Biopolymers:Peptide Science*. <https://e-reports-ext.llnl.gov/pdf/355620.pdf>.
- Modlin, Robert L. Richard L., and Gallo. 2008. United States Patent US 7459,439 B2 GRANULYSIN PEPTIDES AND METHODS OF USE THEREOF. 7459,439 B2, issued 2008. <https://doi.org/10.1038/incomms1464>.
- Mojsoska, Biljana, and Håvard Jenssen. 2015. “Peptides and Peptidomimetics for Antimicrobial Drug Design.” *Pharmaceuticals* 8 (3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute:366–415. <https://doi.org/10.3390/ph8030366>.
- Mojsoska, Biljana, Ronald N Zuckermann, and Håvard Jenssen. 2015. “Structure-Activity Relationship Study of Novel Peptoids That Mimic the Structure of Antimicrobial Peptides.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 59 (7). American Society for Microbiology:4112–20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00237-15>.
- Morales Toquero, Amelia, and Jorge Ocampo Candiani. 2009. “Panorama General Y Terapeutica Actual” 7 (1):18–25. <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2009/dcm091d.pdf>.
- Muguet Guenot, Louise, Morgane Vourc’h Jourdain, Mélanie Saint-Jean, Stéphane Corvec, Aurélie Gaultier, Amir Khammari, Marie Le Moigne, Aurélie Boisrobert, Charlotte Paugam, and Brigitte Dréno. 2018. “Confocal Microscopy in Adult Women with Acne.”

- International Journal of Dermatology* 57 (3):278–83. <https://doi.org/10.1111/ijd.13910>.
- Nakatsuji, Teruaki, and Richard L. Gallo. 2012. “Antimicrobial Peptides: Old Molecules with New Ideas.” *Journal of Investigative Dermatology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1038/jid.2011.387>.
- Niyonsaba, François, Chanisa Kiatsurayanon, Panjit Chieosilapatham, and Hideoki Ogawa. 2017. “Friends or Foes? Host Defense (Antimicrobial) Peptides and Proteins in Human Skin Diseases.” *Experimental Dermatology* 26 (11). John Wiley & Sons, Ltd (10.1111):989–98. <https://doi.org/10.1111/exd.13314>.
- Oliva, Rosario, Marco Chino, Katia Pane, Valeria Pistorio, Augusta De Santis, Elio Pizzo, Gerardino D’Errico, et al. 2018. “Exploring the Role of Unnatural Amino Acids in Antimicrobial Peptides.” *Scientific Reports* 8 (1):8888. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27231-5>.
- Özçelik, Sinan, İbrahim Kulaç, Mustafa Yazıcı, and Esra Öcal. 2018. “Distribution of Childhood Skin Diseases according to Age and Gender, a Single Institution Experience.” *Turk Pediatri Arsivi* 53 (2). Turkish Pediatrics Association:105–12. <https://doi.org/10.5152/TurkPediatriArs.2018.6431>.
- Paradís-Bas, Marta, Judit Tulla-Puche, and Fernando Albericio. 2016. “The Road to the Synthesis of ‘difficult Peptides.’” *Chem. Soc. Rev.* <https://doi.org/10.1039/C5CS00680E>.
- Park, Andrew J., Jean Phillip Okhovat, and Jenny Kim. 2017. “Antimicrobial Peptides.” In *Clinical and Basic Immunodermatology: Second Edition*, 26:81–95. Cell Press. https://doi.org/10.1007/978-3-319-29785-9_6.
- Patel, Tulsie, Shailee Patel, Katlein França, and Jonette Keri. 2016. “Acne and Rosacea.” In *Stress and Skin Disorders: Basic and Clinical Aspects*, 7:149–53. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46352-0_15.
- Perry, Alexandra, and Peter Lambert. 2011. “Propionibacterium Acnes: Infection beyond the Skin.” *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 9 (12):1149–56. <https://doi.org/10.1586/eri.11.137>.
- Peters, Brian M., Mark E. Shirliff, and Mary Ann Jabra-Rizk. 2010. “Antimicrobial Peptides: Primeval Molecules or Future Drugs?” Edited by Hiten D. Madhani. *PLoS Pathogens* 6 (10). Public Library of Science:e1001067. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001067>.

- Pfalzgraff, Anja, Klaus Brandenburg, and Günther Weindl. 2018. "Antimicrobial Peptides and Their Therapeutic Potential for Bacterial Skin Infections and Wounds." *Frontiers in Pharmacology*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00281>.
- Phoenix, David A, Sarah R Dennison, and Frederick Harris. 2013. *Antimicrobial Peptides*. *Antimicrobial Peptides*. <https://doi.org/10.1002/9783527652853>.
- Pirtskhalava, Malak, Andrei Gabrielian, Phillip Cruz, Hannah L. Griggs, R. Burke Squires, Darrell E. Hurt, Maia Grigolava, et al. 2016. "DBAASP v.2: An Enhanced Database of Structure and Antimicrobial/cytotoxic Activity of Natural and Synthetic Peptides." *Nucleic Acids Research* 44 (D1):D1104–12. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1174>.
- Quintero, Yleana, Lisbella Asuaje, Francisco Franco, and Rosanelly Roye. 2015. "Propionibacterium Acnes: Pasado, Presente Y Futuro." *Dermatologia Venezolana* 53 (2).
- Qvit, Nir, and Opher S. Kornfeld. 2016. "Development of a Backbone Cyclic Peptide Library as Potential Antiparasitic Therapeutics Using Microwave Irradiation." *Journal of Visualized Experiments*, no. 107(January). <https://doi.org/10.3791/53589>.
- Raghuraman, H, and Amitabha Chattopadhyay. 2007. "Melittin: A Membrane-Active Peptide with Diverse Functions." *Bioscience Reports*. <https://doi.org/10.1007/s10540-006-9030-z>.
- Ramos, Alejandro, and Carmen Desgarenes. 2007. "Artículo de Revisión Péptidos Antimicrobianos: Antibióticos Naturales de La Piel," 57–67. <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2007/rmd072d.pdf>.
- Rangarajan, Nambirajan, Somenath Bakshi, and James C. Weisshaar. 2013. "Localized Permeabilization of E. Coli Membranes by the Antimicrobial Peptide Cecropin A." *Biochemistry* 52 (38):6584–94. <https://doi.org/10.1021/bi400785j>.
- Reddy, Jagan. 2017. "Recombinant Peptide Synthesis," no. February.
- Ruiz-Esmenjaud, Julieta, and Correspondencia Julieta Ruiz Esmenjaud. 2018. "Acné: Historia Y Controversias." *Editorial Dermatol Rev Mex 2018 Mayo-Junio*. Vol. 62. <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2018/rmd183a.pdf>.
- Saint-Jean, M., and B. Dreno. 2016. "Acné." *EMC - Dermatología* 50 (4). Elsevier Masson:1–14. [https://doi.org/10.1016/S1761-2896\(16\)80894-8](https://doi.org/10.1016/S1761-2896(16)80894-8).
- Sani, Marc Antoine, and Frances Separovic. 2016. "How Membrane-Active Peptides Get into Lipid Membranes." *Accounts of Chemical Research* 49 (6):1130–38. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00074>.

- Seebah, Shalin, Anita Suresh, Shaowei Zhuo, Yong How Choong, Hazel Chua, Danny Chuon, Roger Beuerman, and Chandra Verma. 2007. "Defensins Knowledgebase: A Manually Curated Database and Information Source Focused on the Defensins Family of Antimicrobial Peptides." *Nucleic Acids Research* 35 (SUPPL. 1):D265-8. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl866>.
- Seo, Min-Duk, Hyung-Sik Won, Ji-Hun Kim, Tsogbadrakh Mishig-Ochir, and Bong-Jin Lee. 2012. "Antimicrobial Peptides for Therapeutic Applications: A Review." *Molecules* 17 (12). Molecular Diversity Preservation International:12276–86. <https://doi.org/10.3390/molecules171012276>.
- Shah, Pramod, Felix Shih Hsiang Hsiao, Yu Hsuan Ho, and Chien Sheng Chen. 2016. "The Proteome Targets of Intracellular Targeting Antimicrobial Peptides." *Proteomics*. <https://doi.org/10.1002/pmic.201500380>.
- Shai, Yechiel. 2002. "Mode of Action of Membrane Active Antimicrobial Peptides." *Biopolymers* 66 (4). Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company:236–48. <https://doi.org/10.1002/bip.10260>.
- Sharma, Arun, Deepak Singla, Mamoon Rashid, and Gajendra Pal S. Raghava. 2014. "Designing of Peptides with Desired Half-Life in Intestine-like Environment." *BMC Bioinformatics* 15 (1). BioMed Central:282. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-15-282>.
- Sharma, Shruti, Nirakar Sahoo, and Anirban Bhunia. 2015. "Antimicrobial Peptides and Their Pore/Ion Channel Properties in Neutralization of Pathogenic Microbes." *Current Topics in Medicinal Chemistry* 16 (1). Bentham Science Publishers:46–53. <https://doi.org/10.2174/1568026615666150703115454>.
- Shirley, David J, Christina L Chrom, Elizabeth A Richards, Benjamin R Carone, and Gregory A Caputo. 2018. "Antimicrobial Activity of a Porphyrin Binding Peptide." *Peptide Science* 110 (4). John Wiley & Sons, Ltd:e24074. <https://doi.org/10.1002/pep2.24074>.
- Shoji, Kan, and Ryuji Kawano. 2018. "Microfluidic Formation of Double-Stacked Planar Bilayer Lipid Membranes by Controlling the Water-Oil Interface." *Micromachines* 9 (5):253. <https://doi.org/10.3390/mi9050253>.
- Spittaels, Karl Jan, and Tom Coenye. 2018. "Developing an in Vitro Artificial Sebum Model to Study *Propionibacterium Acnes* Biofilms." *Anaerobe* 49 (February). Academic Press:21–29. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2017.11.002>.

- Sudheendra, U. S., Vishnu Dhople, Aritreyee Datta, Rajiv K. Kar, Charles E. Shelburne, Anirban Bhunia, and Ayyalusamy Ramamoorthy. 2015. "Membrane Disruptive Antimicrobial Activities of Human β -Defensin-3 Analogs." *European Journal of Medicinal Chemistry* 91 (February):91–99. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.08.021>.
- Süssmuth, Roderich D., and Andi Mainz. 2017. "Nonribosomal Peptide Synthesis—Principles and Prospects." *Angewandte Chemie - International Edition*. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/anie.2016090>.
Angewandte Chemie - International Edition. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/anie.201609079>.
- Swithenbank, L, and C Morgan. 2017. "The Role of Antimicrobial Peptides in Lung Cancer Therapy." *J Antimicrob Agents* 3 (134):1212–2472.
- Tabri, Farida, Ilhamjaya Patellongi, Siswanto Wahab, and Khairuddin Djawad. 2017. "Analysis of Nutritional Status and Levels of Sebum on Various Age Groups." *American Journal of Clinical and Experimental Medicine* 5 (1):26–29. <https://doi.org/10.11648/j.ajcem.20170501.16>.
- Tahir, Ch Muhammad. 2016. "Pathogenesis of Acne Vulgaris: Simplified." *Journal of Pakistan Association of Dermatology* 20 (2):93–97.
- Thomas, Shaini, Shreyas Karnik, Ram Shankar Barai, Jayaraman Valadi, and Susan Thomas. 2009. *CAMP: A Useful Resource for Research on Antimicrobial Peptides*, *Nucleic Acids Research*. Vol. 38. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp1021>.
- Tonarelli, G., and A. Simonetta. 2014. "Péptidos Antimicrobianos de Organismos Procariotas Y Eucariotas Como Agentes Terapéuticos Y Conservantes de Alimentos." *Fabricib* 17:137–77. <https://doi.org/10.14409/fabricib.v17i0.4316>.
- Travkova, Oksana G., Helmuth Moehwald, and Gerald Brezesinski. 2017. "The Interaction of Antimicrobial Peptides with Membranes." *Advances in Colloid and Interface Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.06.001>.
- Varela Quitian, Yahson Fernando. 2016. "Obtención de Un Péptido Quimérico de Alto Peso Molecular Derivado de Proteínas de Plasmodium Falciparum." Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá.
- Veltri, Daniel, Uday Kamath, and Amarda Shehu. 2018. "Deep Learning Improves Antimicrobial Peptide Recognition." *Bioinformatics*, March.

- <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty179>.
- Vlieghe, Patrick, Vincent Lisowski, Jean Martinez, and Michel Khrestchatisky. 2010. "Synthetic Therapeutic Peptides: Science and Market." *Drug Discovery Today* 15 (1–2):40–56. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.10.009>.
- Waghu, Faiza Hanif, Ram Shankar Barai, Pratima Gurung, and Susan Idicula-Thomas. 2016. "CAMPR3: A Database on Sequences, Structures and Signatures of Antimicrobial Peptides." *Nucleic Acids Research* 44 (D1). Oxford University Press:D1094–97. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1051>.
- Waghu, Faiza Hanif, Lijin Gopi, Ram Shankar Barai, Pranay Ramteke, Bilal Nizami, and Susan Idicula-Thomas. 2014. "CAMP2: Collection of Sequences and Structures of Antimicrobial Peptides." *Nucleic Acids Research* 42 (D1):D1154–58. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1157>.
- Wang, Guangshun. 2015. "Improved Methods for Classification, Prediction, and Design of Antimicrobial Peptides." In *Computational Peptidology*, 1268:43–66. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2285-7_3.
- . 2017. *Antimicrobial Peptides: Discovery, Design and Novel Therapeutic Strategies*. Cabi.
- Wang, Guangshun, Xia Li, and Zhe Wang. 2009. "APD2: The Updated Antimicrobial Peptide Database and Its Application in Peptide Design." *Nucleic Acids Research* 37 (suppl_1). Oxford University Press:D933–37. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn823>.
- . 2016. "APD3: The Antimicrobial Peptide Database as a Tool for Research and Education." *Nucleic Acids Research* 44 (D1). Oxford University Press:D1087–93. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1278>.
- Wang, Guangshun, Biswajit Mishra, Kyle Lau, Tamara Lushnikova, Radha Golla, and Xiuqing Wang. 2015. "Antimicrobial Peptides in 2014." *Pharmaceuticals*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/ph8010123>.
- Wang, Jian, Tailang Yin, Xuwen Xiao, Dan He, Zhidong Xue, Xinnong Jiang, and Yan Wang. 2018. "StraPep: A Structure Database of Bioactive Peptides." *Database* 2018. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/database/bay038>.
- Wang, Linghong, Chao Dong, Xian Li, Wenyan Han, and Xiulan Su. 2017. "Anticancer Potential of Bioactive Peptides from Animal Sources (Review)." *Oncology Reports*. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5778>.

- Wang, Shuai, Xiangfang Zeng, Qing Yang, and Shiyan Qiao. 2016. "Antimicrobial Peptides as Potential Alternatives to Antibiotics in Food Animal Industry." *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms17050603>.
- Wang, Shyh Jeun, Jenny Kim, Karin Zeh, Cheryl J Hertz, Daniel H Anderson, Scott Hart, Ami Oren, et al. 2005. "Granulysin-Derived Peptides Demonstrate Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effects Against *Propionibacterium Acnes*." *Journal of Investigative Dermatology* 125 (2). NIH Public Access:256–63. <https://doi.org/10.1111/j.0022-202x.2005.23805.x>.
- Wang, Yipeng, Zhiye Zhang, Lingling Chen, Huijuan Guang, Zheng Li, Hailong Yang, Jianxu Li, Dewen You, Haining Yu, and Ren Lai. 2011. "Cathelicidin-BF, a Snake Cathelicidin-Derived Antimicrobial Peptide, Could Be an Excellent Therapeutic Agent for *Acne Vulgaris*." Edited by Paul Proost. *PLoS ONE* 6 (7). Public Library of Science:e22120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022120>.
- Wang, Z. 2003. "APD: The Antimicrobial Peptide Database." *Nucleic Acids Research* 32 (90001). Oxford University Press:590D–592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh025>.
- Whitmore, Lee. 2004. "The Peptaibol Database: A Database for Sequences and Structures of Naturally Occurring Peptaibols." *Nucleic Acids Research* 32 (90001):593D–594. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh077>.
- Williams, Hywel C, Robert P Dellavalle, and Sarah Garner. 2012. "Acne Vulgaris." In *The Lancet*, 379:361–72. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60321-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60321-8).
- Wolkenstein, P., A. Machovcová, J. C. Szepietowski, D. Tennstedt, S. Veraldi, and A. Delarue. 2018. "Acne Prevalence and Associations with Lifestyle: A Cross-Sectional Online Survey of Adolescents/young Adults in 7 European Countries." *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 32 (2):298–306. <https://doi.org/10.1111/jdv.14475>.
- Xiao, Hao, Fangyuan Shao, Miaomiao Wu, Wenkai Ren, Xia Xiong, Bie Tan, and Yulong Yin. 2015. "The Application of Antimicrobial Peptides as Growth and Health Promoters for Swine." *Journal of Animal Science and Biotechnology*. BioMed Central. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0018-z>.
- Xiao, Xuan, Pu Wang, Wei Zhong Lin, Jian Hua Jia, and Kuo Chen Chou. 2013. "IAMP-2L: A Two-Level Multi-Label Classifier for Identifying Antimicrobial Peptides and Their Functional Types." *Analytical Biochemistry* 436 (2):168–77. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2013.01.019>.

- Xu Qin, a Anne C. Khuong, a Zheng Yu, a Wenzhe Du, a John Decaturb and, and Richard A. Grossa. 2013. "Simplifying Alternating Peptide Synthesis by Protease-Catalyzed Dipeptide Oligomerization." *The Royal Society of Chemistry* 49:87. <https://doi.org/10.1039/c2cc36381j>.
- Yang, Xu, and Ahmed E Yousef. 2018. "Antimicrobial Peptides Produced by *Brevibacillus* Spp.: Structure, Classification and Bioactivity: A Mini Review." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 34 (4):57. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2437-4>.
- Yeaman, M. R. 2003. "Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance." *Pharmacological Reviews* 55 (1):27–55. <https://doi.org/10.1124/pr.55.1.2>.
- Zelezetsky, Igor, and Alessandro Tossi. 2006. "Alpha-Helical Antimicrobial Peptides-Using a Sequence Template to Guide Structure-Activity Relationship Studies." *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.03.021>.
- Zerweck, Jonathan, Erik Strandberg, Olga Kukhareno, Johannes Reichert, Jochen Bürck, Parvesh Wadhvani, and Anne S Ulrich. 2017. "Molecular Mechanism of Synergy between the Antimicrobial Peptides PGLa and Magainin 2." *Scientific Reports* 7 (1):13153. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12599-7>.
- Zeth, Kornelius, and Enea Sancho-Vaello. 2017. "The Human Antimicrobial Peptides Dermcidin and LL-37 Show Novel Distinct Pathways in Membrane Interactions ." *Frontiers in Chemistry* . <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fchem.2017.00086>.
- Zhang, Chengxin, Peter L Freddolino, and Yang Zhang. 2017. "COFACTOR: Improved Protein Function Prediction by Combining Structure, Sequence and Protein–protein Interaction Information." *Nucleic Acids Research* 45 (W1):W291–99. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx366>.
- Zhang, Ling-juan, Richard L. Gallo, T.W. Cullen, W.B. Schofield, N.A. Barry, E.E. Putnam, E.A. Rundell, et al. 2016a. "Antimicrobial Peptides." *Current Biology: CB* 26 (1). Cell Press:R14-9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>.
- Zhang, Ling-juan, Richard L Gallo, T.W. Cullen, W.B. Schofield, N.A. Barry, E.E. Putnam, E.A. Rundell, et al. 2016b. "Antimicrobial Peptides." *Current Biology: CB* 26 (1). Cell Press:R14-9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.017>.

- Zhang, Shi Kun, Jin Wen Song, Feng Gong, Su Bo Li, Hong Yu Chang, Hui Min Xie, Hong Wei Gao, Ying Xia Tan, and Shou Ping Ji. 2016. "Design of an α -Helical Antimicrobial Peptide with Improved Cell-Selective and Potent Anti-Biofilm Activity." *Scientific Reports* 6. <https://doi.org/10.1038/srep27394>.
- Zhang, Zhiye, Lixian Mu, Jing Tang, Zilei Duan, Fengyu Wang, Lin Wei, Mingqiang Rong, and Ren Lai. 2013. "A Small Peptide with Therapeutic Potential for Inflammatory Acne Vulgaris." Edited by Michael Otto. *PLoS ONE* 8 (8). Public Library of Science:e72923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072923>.
- Zhao, Xiaowei, Hongyu Wu, Hairong Lu, Guodong Li, and Qingshan Huang. 2013. "LAMP: A Database Linking Antimicrobial Peptides." Edited by Bin Xue. *PLoS ONE* 8 (6):e66557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066557>.
- Zhou, Peng, and Jian Huang. 2015. *Computational Peptidology. Computational Peptidology*. Vol. 1268. NIH Public Access. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2285-7>.
- Zouboulis, Christos C., Andreas D. Katsambas, and Albert M. Kligman, eds. 2014. *Pathogenesis and Treatment of Acne and Rosacea*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-69375-8>.