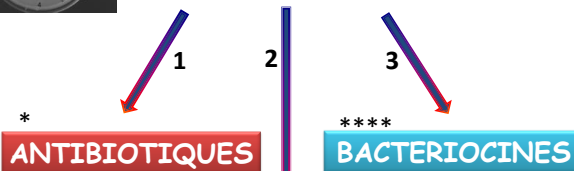
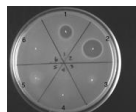


Peptides antimicrobiens comme nouvelles armes thérapeutiques



Maria URDACI
Bordeaux Sciences Agro (ex-ENITA de Bordeaux)
Laboratoire de microbiologie
UMR 5248, CNRS - Univ. Bordeaux - ENITA

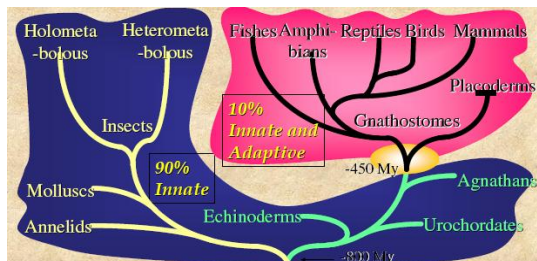
Substances antimicrobiennes « PEPTIDIQUES »



**Peptides antimicrobiens chez les animaux
(invertébrés, vertébrés), plantes**

Producteurs de Peptides Antimicrobiens

1. Procarotes (bactéries); Eucaryotes (fungi)
2. Animaux :
(besoin de se défendre contre les pathogènes)



Substances antimicrobiennes

ANTIBIOTIQUES:

Bactériolytiques, bactériostatiques
Classés selon des analogies structurales en 8 familles essentielles:
beta-lactamines, aminosides, phenicols, cyclines,
macrolides et apparentés, quinolones, sulfamides,
lipopeptides-polypeptides,
inclassables.

BACTERIOCINES:

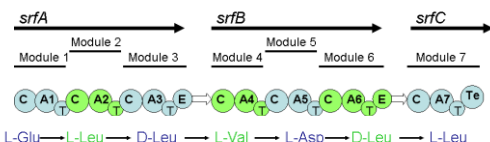
Substances naturelles de **nature protéique**,
Synthétisées par la voie ribosomale,
Bactériolytiques, bactériostatiques
Spectre d'action **étroit**

ANTIBIOTIQUES peptidiques

Les peptides synthétases ou NRPS

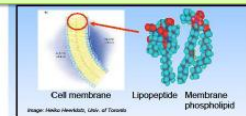
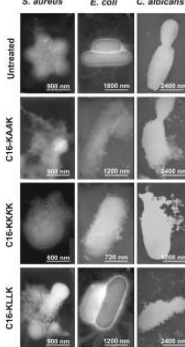
Les synthétases sont des protéines enzymatiques de grand taille, organisées en **modules**.
Chaque module est responsable de l'**incorporation d'un acide aminé spécifique** dans la chaîne peptidique en formation.
Les modules sont eux-mêmes subdivisés en domaines.

- le **domaine d'adénylation (A)** : il permet la reconnaissance d'un acide aminé spécifique et son activation grâce à une réaction d'adénylation.
- le **domaine de thiolation (T)** : il fixe l'acide aminé sur la synthétase de manière covalente par l'intermédiaire d'une liaison thioester.
- le **domaine de condensation (C)** : il permet la formation de la liaison peptidique entre deux monomères.
- le **domaine de la thioestérase (Te)** : il permet de libérer le peptide néoformé.



ANTIBIOTIQUES PEPTIDIQUES : LIPOPEPTIDES

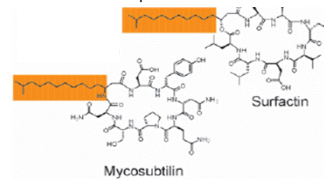
Micros. Electro. coloration négative:
S. aureus, E. coli, et C. albicans,
traités ou non avec les lipopeptides.



Lipopeptides : Mimique des lipides de la membrane
Ils s'insèrent dans la membrane et disruption

Résultat:

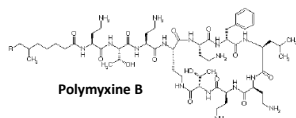
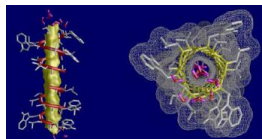
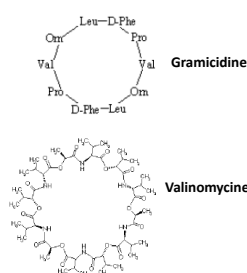
- Courbature de la membrane
- Fluidité
- Formation de pores



Peptides ANTIBIOTIQUES qui perméabilisent la membrane bactérienne

Valinomycine, Gramicidine S, Polymyxine B

- peptides cationiques, synthèse non-ribosomale
- insertion dans la membrane bactérienne et = perméation
- effets toxiques = non pour l'application systémique; **utilisation topique**
- Gramicidine dimérise réversiblement et forme des canaux membranaires



Problèmes de Résistance des bactéries aux antibiotiques utilisées actuellement



Besoin de retrouver de nouveaux composés

Peptides antimicrobiens
comme nouvelles armes
thérapeutiques ???

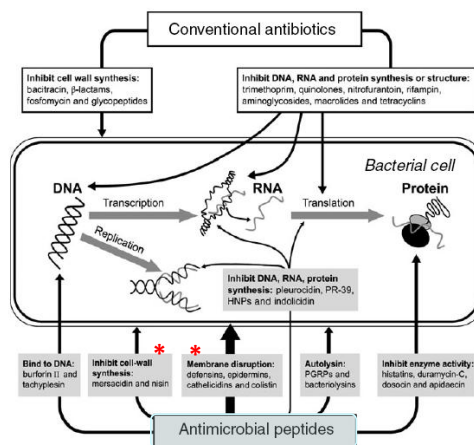
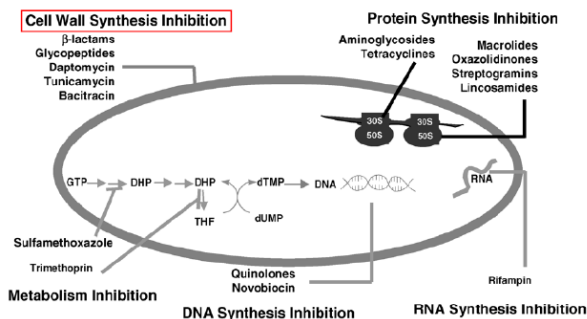
Le dilemme des antibiotiques

- Les bactéries éventuellement vont développer la résistance contre chaque nouveau antibiotique
- La pression/sélection produite par les antibiotiques a comme conséquence l'acquisition des gènes de résistance aux antibiotiques pour les principales bactéries pathogènes
- Une grande variété d'antibiotiques vont faire apparaître la résistance autant dans les malades que dans la biosphère

Principaux problèmes de résistance aux antibiotiques

- Oxacilline-résistance de *Staphylococcus aureus* (ORSA)
- Vancomycine-résistance des enterocoques (VRE)
- Pénicilline-résistance de *Streptococcus pneumoniae*
- Multidrogue résistance de bacilles Gram- :
» *Pseudomonas*, entérobactéries, *klebsiella* et *salmonella*
- Multidrogue-résistance de *Mycobacterium tuberculosis* (MDR-TB)

Cibles antibactériennes



BACTERIOCINES

promise as the next generation of antimicrobials ??

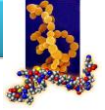
➤ Différentes des antibiotiques :

- ✓ Nature protéique – peptidique
- ✓ Sensibles à l'action d'enzymes protéolytiques (*)
- ✓ Spectre d'activité étroit
- ✓ Cibles différentes aux AT usuels

➤ La *colicine* a été la 1^{ère} bactériocine découverte (1925)
Elle est produite par *Escherichia coli*.

➤ Différent classes selon structure protéique-peptidique:
Classe 1, classe 2, classe 3 et classe 4.

Classes de BACTERIOCINES



➤ Classe 1: les Lantibiotiques

- ✓ Petit peptides de masse moléculaire inférieur à 5 kDa
- ✓ Présence dans la molécule d'acides aminés modifiés post-traductionnellement, tels que la **lanthionine** et la **3-méthyl lanthionine**
- ✓ Présence de résidus deshydratés: 2,3-didehydroalanine (**DHA**) et 2,3-didehydrobutyryne (**DHB**) impliqués dans la formation d'**anneaux thioether**
 - Le type A = linéaires, amphipatiques, de 2 - 3,5 kDa. *
 - Le type B = globulaires, approx. 2 kDa.

* NISINE découverte en 1940

BACTERIOCINES

➤ Classe 2: « pediocin – like » et plus

- ✓ Petit peptides thermostables, Pm inférieur à <13 kDa
- ✓ Dépourvus d'acides aminés modifiés de type lanthionine
- ✓ Subdivisées en trois sous-groupes:
 - ✓ 2a: « pediocin – like »
 - ✓ Activité anti- Listeria
 - ✓ Seq. consensus N-ter : - YGNGV –
 - ✓ Les principaux : Pediocines, Sakacine, Mesentericine, ...
 - ✓ 2b: « à deux peptides»: plantaricines, lactacines.....
 - ✓ 2c: à thiol activé, 1 seul connue.

➤ Classe 3: peptides – protéines thermosensibles, Pm > 30kDa
✓ Helvecitine J, Lactacine B

➤ Classe 4: partie peptidique + partie lipidique ou glucidique
✓ Leuconocine, Lactocine 27

BACTERIOCINES

SPECTRE ANTIMICROBIEN:

- ✓ De étroit à très étroit
- ✓ Celles de la classe 1 (**Lanthibiotiques**): spectre le plus large
- ✓ Beaucoup de bactériocines sont produites par des bactéries Gram⁺, et son spectre d'action est seulement contre les Gram⁺
Quelques exceptions : thermoleovorines produites par *B. thermoleovorans* qu' inhibent Salmonella.

Mode d'action :

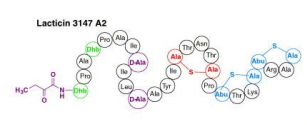
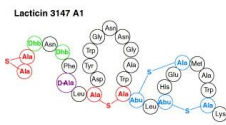
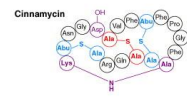
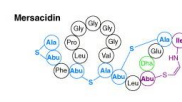
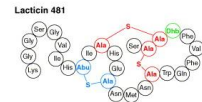
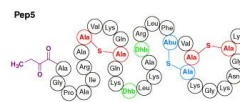
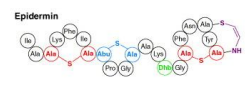
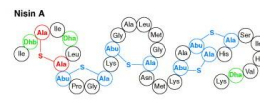
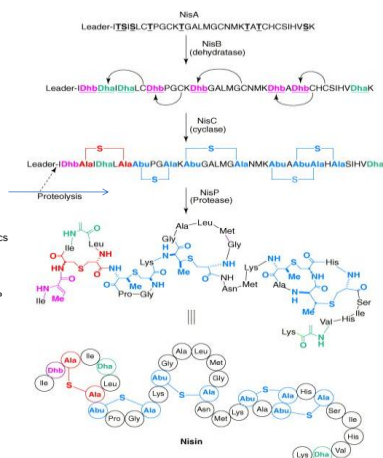
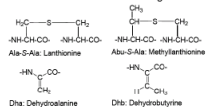
- ✓ **Classe 1** (sauf globulaires) et **classe 2**: formation de **pores** au niveau des membranes bactériennes
- ✓ **Classe 1 globulaires**: inhibiteurs spécifiques d'activités enzymatiques

NISINE

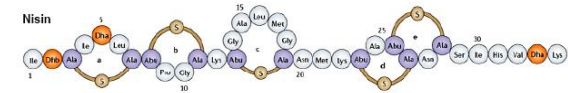
11 genes in nisin synthesis:

nis **ABTCIPRKFE**G

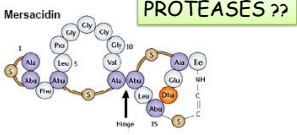
Lantibiotics: lanthionine-containing antibiotics



Current Chemical Reviews



Nisin is produced by *Lactococcus lactis* and is used as a food preservative.



PROTEASES ??



cyclic peptide

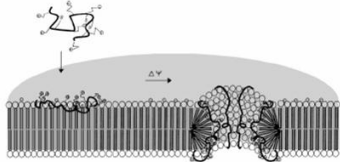
Currently in Phase III clinical trials for i.v. treatment of vancomycin resistant enterococci (VRE).

Mersacidin (from *Bacillus* sp.) and other type B lantibiotics bind to lipid II involving both Glc-NAC and Mur-NAC and prevent incorporation into peptidoglycan.

Mersacidin is active against MRSA (methicillin resistant *S. aureus*) and is currently in preclinical development.

Pore Formation: Type A Lantibiotics

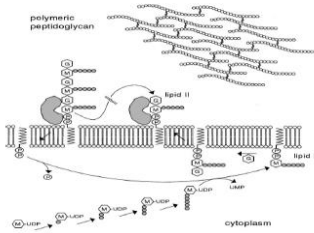
• Roberts (1996) = “Wormhole model”



in vivo formation of transmembrane pores

1. Peptides become amphiphilic upon binding to membranes.
2. This enables insertion into the outer membrane. (Hydrophobic)
3. Electrical potential of membrane drives the peptide residues through carrying surface phospholipid along.

Binding to Lipid II: Type B Lantibiotics



• Binds not to D-Ala-D-Ala but to the disaccharide-PP moiety of Lipid II. “a new target binding site not used by any current antibacterial drug”

Sahl, H-G and Bierbaum, G. Annu. Rev. Microbiol., 1998, 52: 41-79

Domaines d'application des BACTERIOCINES

Applications alimentaires :

- ✓ En général sont thermorésistantes (120°C – 10 min); Stables à de pH entre 3 et 8; Sensibles à l'action d'enzymes protéolytiques (présents dans le tractus gastro-intestinale)
- ✓ Inodores, incolores
- ✓ Compatibles avec les procédés de fabrication et de conservation des aliments
- ✓ Certaines sont reconnues comme « saines » « GRAS » (Generally Recognized as Safe)
- ✓ La Nisine = E234, autorisé dans bc des pays pour l'industrie laitière ou dérivés de viande (anti-Listeria, anti-Clostridium butyricum...).
- ✓ La Pediocine permise dans certains pays, autres en cours
- ✓ Possibilité d'étendre le spectre d'action à des Gram- avec combinaison des traitements physiques ou chimiques.



Utilisations dans les films alimentaires

Domaines d'application des BACTERIOCINES

Applications médicales et vétérinaires :

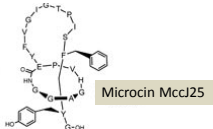
- 1. Les Lanthibiotiques (produites par les Gram+)
 - mastites bovines (Nisine=Ambicin®)
 - Infections de la peau, ulcères
 - La Nisine en solution buccale, action contre la plaque dentaire et inflammations gingivales chez le chien
 -
 -
 -
- 2. Les Colicines et les Microcines (produites par les Gram-)
 -

Lipid II-Targeted Comp.

	Antibiotic	Important strains	MIC (mg l ⁻¹)	Development stage
Lanthibiotiques	Nisin	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis/faecium</i> Vancomycin-resistant Enterococci (VRE) <i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.5–83.6 8.4–33.4 1.5–16 0.03–0.25	Preclinical
	Mutacin	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.1–18.1 1.6–25.6 6.4 0.03–6.4	Preclinical
	Mersacidin	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.78–32 32–64 Not published 2–4	Preclinical
	Ramoplanin	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.03–1.5 0.09–1 0.1–1.5 0.03–0.12	Phase III
	Glyco-lipo-depsipeptide	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.03–0.06 0.06–0.25 0.06–0.12 ≤0.008	Preclinical
	Mannopeptimycin (AC98-6446)	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.03–0.06 0.06–0.25 0.06–0.12 ≤0.008	Preclinical
	Glycopeptide cyclique	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.39 0.78 0.78 Not published	Preclinical
	Depsipeptide cyclique	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.78–1.56 3.13 1.56–3.13	Preclinical
	Lipo-depsipeptide cyclique	<i>S. aureus</i> <i>E. faecalis/faecium</i> VRE <i>S. pneumoniae</i>	0.78–1.56 3.13 1.56–3.13	Preclinical
				(Breukink & De Kruif, Nature Rev. Drug Discov. 2006,

Exemples des possibles utilisations des Bactériocines		
Bactériocines	Souche productrice	Utilisation potentielle
Lanthibiotiques		
Ancovenin	<i>Streptomyces</i> spp.	Treating high blood pressure
Cinnamycin	<i>Streptovorticillium</i> and <i>Streptomyces</i> spp.	Treating inflammations and allergies
Duramycin	<i>Streptovorticillium</i> and <i>Streptomyces</i> spp.	Treating inflammations and allergies
Epidermin	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Treating skin infections *
Gallidermin	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Treating skin infections *
Lacticin 3147	<i>Lactococcus lactis</i>	Treating mastitis infections *
Lanthiopeptin	<i>Streptovorticillium cinnamomeum</i>	Treating Herpes simplex virus
Mersacidin	<i>Bacillus subtilis</i>	Treating vancomycin resistant strains *
Mutacin	<i>Streptococcus mutans</i>	Treating dental caries *
Nisin	<i>Lactococcus lactis</i>	Treating peptic ulcer Antimicrobial inhibiting multi-drug resistant pathogens Antimicrobial barrier in implanted medical devices *

Colicines		
Ia	<i>Escherichia coli</i>	Component in an engineered species specific antibiotic *
E1, E4, E7, E8, K & S4	<i>Escherichia coli</i>	Treating hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome *
Microcines		
24	<i>Escherichia coli</i>	Treating salmonellosis in chicken *
B17	<i>Escherichia coli</i>	Antibacterial agent in cattle *
E294	<i> Klebsiella pneumoniae</i>	Controlling cell proliferation
J25	<i>Escherichia coli</i>	Treating salmonellosis in chicken *
L	<i>Escherichia coli</i>	Treating salmonellosis *
Pyocines		
S-35	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Treating pulmonary infections *
	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>cicadaceae</i>	Treating olive knot disease



Les peptides antimicrobiens (non produits par les microorganismes)

Produits par toutes les espèces du royaume animal et chez les plantes (> 800 peptides Eucaryotiques décrits)

Amoebas → Humans

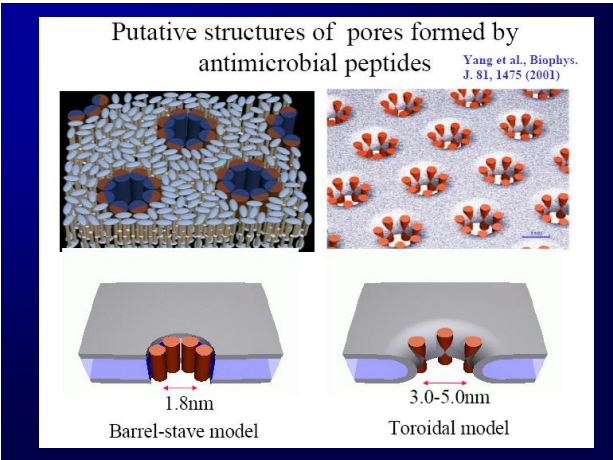
- Produits par de multiples types cellulaires
 - Cellules épithéliales (peau, muqueuse intestinale...)
 - Cellules « spécialisées » de l'immunité naturelle
 - Polynucléaires neutrophiles
 - Macrophages
- Selon les cas, intervention extracellulaire, intracellulaire (bactéries phagocytées) ou les deux

Peptides cationiques antimicrobiens

- Effecteurs de l'immunité innée
 - ✓ Première ligne de défense des organismes multicellulaires, animaux et végétaux
 - ✓ Insectes : réponse systémique inductible
 - ✓ Autres : réponses locales
 - ✓ Chez l'homme : cathélicidines, défensives, histatine....
- Spectre d'activité étendu
 - ✓ Bactéries, champignons, (virus enveloppés, protozoaires...)

Peptides cationiques antimicrobiens

- Peptides cationiques, amphiphiles
- 20 à 50 AA, grande diversité structurale
- Actions multiples concentration dépendantes
 - perméabilisation membranes microbiennes
 - interactions protéines bactériennes
 - immunomodulateurs (chimokines)
- Peu d'action sur cellules animales:
 - les membranes bactériennes on une charge négative plus forte; possèdent bc de PG/PE/PS et pas de stérols.

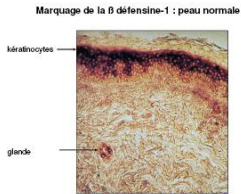


Chez l'homme

2 grandes familles de molécules AT:

- Les Défensines
- Les Cathélicidines (LL37)

Retrouvés majoritairement dans la peau, les muqueuses
Mais aussi produits par des cellules immunitaires



Chez l'homme

- Rôle essentiel dans les défenses de première ligne
- Activité des défensines et des cathélicidines effondrée dans les poumons des enfants mucoviscidiques
 - Inhibition fréquente par hautes concentrations en sel (cf. mucoviscidose)
 - Nouvelles approches thérapeutiques agissant sur la concentration saline du mucus
 - Autres mécanismes?

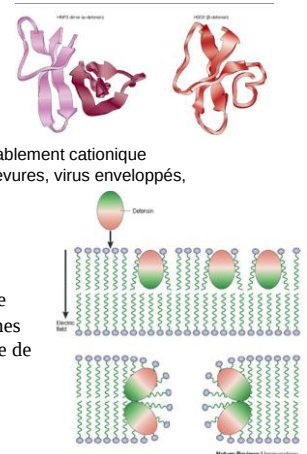
Chez l'homme

- Défensines (feuillet β)
 - β défensines (HBD-1 et HBD-2)
 - Peau et tractus respiratoire
 - α défensines (=cryptidines)
 - Cellules de Paneth de l'intestin
- Cathélicidines (hélices α) (leucocytes)
- Protéines A et D du surfactant (*opsonines* primitives)

Défensines

Peptides antimicrobiens, α ou β

– 29-35 a.a. avec 6 résidus cystéine :
configuration sphérique serrée, invariablement cationique
– Actives sur bactéries (surtout G⁺), levures, virus enveloppés, cellules eucaryotes.



Action par liaison électrostatique avec feuillet externe des membranes et ouverture de celle-ci sous forme de pores.

INVERTEBRES

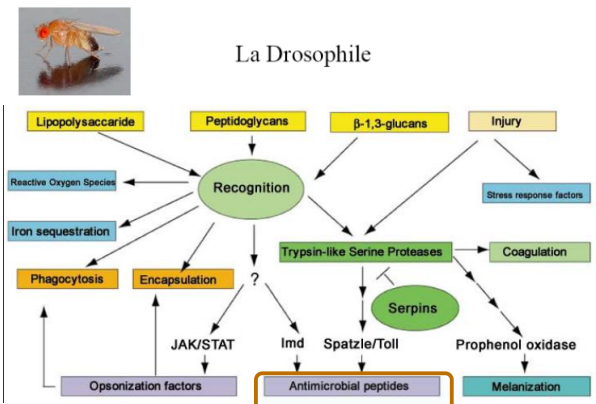
L'immunité chez les invertébrés

Il existe chez les invertébrés une immunité naturelle très solide contre toutes espèces de bactéries et de toxines»

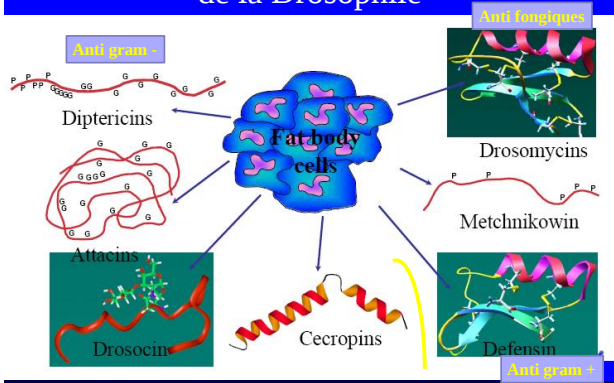
1972 : Hans Boman
Défenses antibactériennes inductibles de la **drosophile**

1981: Purification et caractérisation de la **cécropine**

1983 : Tom Ganz et Bob Lehrer
Purification et caractérisation de peptides antimicrobiens issus de neutrophiles



Réponse antimicrobienne systémique de la Drosophile



PEPTIDO-MIMETIQUES

- Peptidomimétiques: des molécules qui miment la structure peptidique.
- Peptidomimétiques: ont des caractéristiques générales des structures analogues à leur parent, les polypeptides, tels que amphiphilicity.

Exemples d' α -peptidomimétiques: N5N'-linked **oligoureas**, oligopyrrolinones, oxazolidine-2-ones, azatides et azapeptides.

Exemples de β -peptides : les **β -foldamers peptide**, α -aminoxy acids, contenant du soufre β -analogues peptidiques et hydrazino peptides. Exemples de γ -peptides comprennent, sans s'y limiter, **γ -foldamers peptide**, **oligoureas**, oligocarbamates, et phosphodiester.

Développement de nouveaux peptides antimicrobiens

Compound	Indication	Partner	Discovery		Development	
			In vitro	In vivo	Preclinical	Phase I
Plectasine NZ2114	Gram-pos.	sanofi aventis				
Arenicin	Gram-neg.					
Defensins	Broad					

Plectasine = NZ2114

[Novozymes](#)

Plectasine

UCLA
Prof. Robert Lehrer

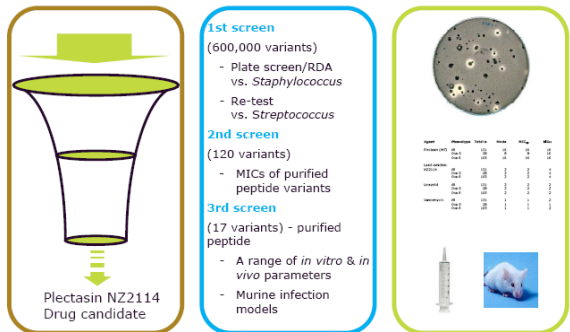
- **Nouvelle défensine fongique**, isolé du champignon *Nigrella Pseudoplectania* (trouvé dans les forêts de pins nord européennes)
- **Possède autant de puissance que la pénicilline et la vancomycine** (et différent mode d'action)
- **Peptide de 4,4 kDa (40 amino acides)**
- **Anti- Gram positif**, à large spectre, en particulier contre *Streptococcus pneumoniae* (causal de la pneumonie), y compris les souches cliniques résistantes aux antibiotiques classiques
- Elle a montré une toxicité extrêmement faible chez la souris.

Plectasin wildtype showed good activity on *Streptococcus* but less on *Staphylococcus*

Bacterial strain	Minimum inhibitory concentration (µg/ml)	
	Vancomycin "Gold Standard"	Plectasin wildtype
MRSA (clinical strain)	1	32
MRSA (clinical strain)	1	16
MRSA (clinical strain)	1	16
MSSA (ATCC 29737)	0.5	8
MSSA (clinical strain)	0.5	1
VRSA (clinical strain)	>64	16
<i>S. pneumoniae</i> (ATCC700671)	0.25	0.25
<i>S. pyogenes</i> (ATCC12344)	0.38	0.06

Goal: Improve the activity against resistant *Staphylococcus*

Protein engineering and high throughput screening lead to new and improved plectasin variant



Plectasin NZ2114 showed good activity on both *Streptococcus* and *Staphylococcus*

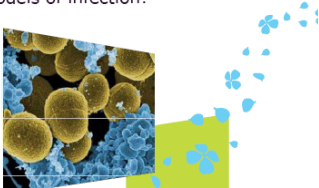


Bacterial strain	Minimum inhibitory concentration (µg/ml)		
	Vancomycin "Gold Standard"	Plectasin wildtype	Plectasin lead NZ2114
MRSA (clinical strain)	1	32	1
MRSA (clinical strain)	1	16	1
MRSA (clinical strain)	1	16	1
MSSA (ATCC 29737)	0.5	8	1
MSSA (clinical strain)	0.5	1	0.5
VRSA (clinical strain)	>64	16	2
<i>S. pneumoniae</i> (ATCC700671)	0.25	0.25	0.06
<i>S. pyogenes</i> (ATCC12344)	0.38	0.06	0.12



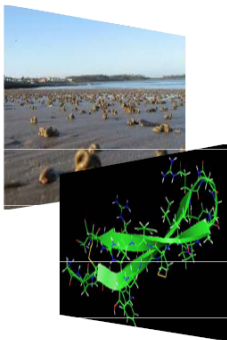
Main characteristics of Plectasin NZ2114 /SAR215500

- New mode of action – inhibits cell wall biosynthesis
- Rapidly cidal agent vs. *staphylococci* & *streptococci*
- Active on resistant strains, e.g., MRSA, VRSA, incl. Linezolid/Cubicin-resistant strains
- Exhibits efficacy in animal models of infection:
 - Thigh infection
 - Sepsis/peritonitis
 - Pneumonia
 - Meningitis
 - Endocarditis



Future AMP activities

- Currently producing the Plectasin NZ2114/ SAR215500 material for clinical phase I trial
- Sanofi-aventis will perform the clinical trials of Plectasin NZ2114/SAR215500
- Continue to develop Arenicin variant against gram-negative infections
 - Early discovery project
 - Isolated from a marine organism (lugworm – *Arenicola marina*)
 - 21 amino acid peptide
 - Potent activity against gram-negative bacteria
 - High unmet medical need for new gram-negative compounds
- Continue to develop AMPs in the anti-inflammatory area



Arenicin-1 (AR-1)

- un nouveau peptide antimicrobien, isolé du polychète marin *Marina Arenicola*
RWCVVYAYVRVRGVLVRYRRCW
- contient un pont disulfure unique entre Cys3 et Cys20, formant un anneau de 18 résidus
- affiché cytotoxicité contre les globules rouges humains
- Elucidation de la structure de AR-1 et ses dérivés devraient faciliter la conception de nouveaux antibiotiques peptide non-cytotoxiques avec de puissants activités antibactériennes

Peptides cationiques antimicrobiens
Développement clinique

• Topiques

- Traitements:
 - ulcérations cutanées chez le diabétique (phase III)
 - brûlures et infections cutanées à *P. aeruginosa* (I)
- Prévention
 - mucites chimio-induites (III)
 - infections cutanées et sur cathéter (III)
- Prévention / traitement
 - gingivites et infections périodontales (II, III)

Andres E et Dimarq LJ Med Mal Infect 2007; 37: 194-9
Chalekson CP et al. J Trauma 2003; 54: 770-4
Chalekson CP et al. Plast Reconstr Surg 2002; 109: 1338-43

Autres « défensines »

- Indolicidine analogues testés dans des infections IP or IV
- Protegrine analogues helps chemotherapy oral mucositis
- Magainine analogue LOCILEX™ Crème en clinical trials diabetic ulcers, not approved

Peptides antimicrobiens:
Problèmes d'utilisation?

- Proteolysis, Sels, Transport,
- Manufacture

Synthèse chimique très chère ; \$100's/gram!

organic mimics or modular design may help

Production possible chez les bactéries ou les plantes

TMV with tobacco (GENEWARE®)

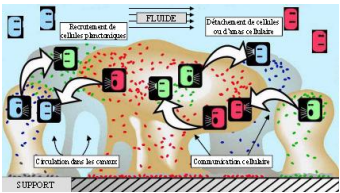
Peptides et peptidomimetics en développement commercial

Company (location)	Drug	Stage of development	Medical use
AM-Pharma (Bilthoven, The Netherlands)	HLF-1-11 (small peptide derived from human lactoferrin)	Phase 2	Allogeneic bone marrow stem cell transplantation-associated infections
BiolineRx (Jerusalem)	BL2060 (a synthetic compound comprising fatty acid and lysine copolymers)	Lead optimization	Anti-infective
Ceragenix (Denver)	CSPA-12 (cationic steroid (ceragenin) that mimics host-defense peptides)	Precinical	Anti-infective
Helix Biomedix (Bothell, Washington, USA)	HB-50 (synthetic natural peptide mimetic of cecropin)	Precinical	Anti-infective
Inimex (Vancouver, BC, Canada)	HB-107 (19-amino-acid fragment of cecropin B) IMX942 (5-amino-acid peptide)	Precinical Lead optimization	Wound healing Immunomodulation; treatment of fevers and neutropenia in chemotherapy patients
Lytix Biopharma (Tromsø, Norway)	Not available	Discovery	Anti-infective, antitumor
Migenix (Vancouver, BC, Canada)	Osmiganan pentahydrochloride/ CP-226/XX-226/CLS001 (12-mer analog of bacitracin)	Phase 3b/phase 2	Prevention of catheter-related infections; dermatology-related infections
Novada Biosystems Ltd. (Hatfield, England)	Mersacidin (bacteriocin)	Precinical	Gram-positive infections
Novobiotics (Cambridge, Massachusetts, USA)	Not available	Discovery	Nail fungus; methicillin-resistant S. aureus
Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark)	Plectasin (fungal defensin)	Precinical	Systemic anti-Gram positive, especially pneumococcal and streptococcal infections
Pasgen (Vancouver, BC, Canada)	PACT13 (Based on the active segment of histatin 5 protein found in human saliva)	Investigational New Drug (IND) approval	Oral candidiasis
PepTx (St. Paul, MN, USA)	PTX002 (33-mer peptide) PTX005 (12-mer peptide) PTX006 (H-solated analog of PTX005) and PTX007 (a nonpeptide structural analog of PTX005)	Discovery	Broad-spectrum antimicrobial antitoxin
Polymedix (Philadelphia)	Peptidomimetics (derived from the anylamide, calixarene, hydrazide and salicylamide series)	Discovery/precinical	Anti-infectives; antimicrobial polymers and coating materials
Zemgen (Woodland Hills, CA, USA)	CZEN-002 (synthetic 8-mer derived from α -melanocyte-stimulating hormone)	Phase 2b	Vulvovaginal candidiasis

Quorum Sensing

communication cellulaire par signaux

- Bacteria change their behaviour according to their numbers –
- Autoinduction of genes



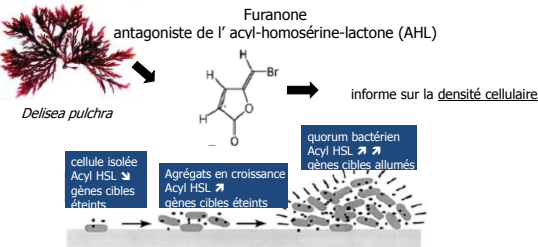
How do bacteria count ?

- Release a messenger molecule
- Concentration of messenger reflects cell concentration

Atténuation de la virulence bactérienne

- Inhibition du quorum sensing bactérien
 - *P. aeruginosa* et bacilles à Gram négatif
 - Antagonistes des N-acyl homosérine lactones
 - Oligonucléotides antisens au niveau des systèmes de régulation
 - Diminution mortalité et virulence dans les modèles animaux expérimentaux
- Inhibition systèmes de sécrétion de type III
 - Diminuer la cytotoxicité pour les cellules phagocytaires
 - Intérêt pour *P. aeruginosa*
- Inhibition des toxines
 - Ex : Exotoxine A de *P. aeruginosa*

Inhibition du Quorum sensing



Peptide hybride : defensine-antiquorum sensing

Peptide	Amino acid sequence	Designation	
RIP	YSPWTFNFC _{CONH2}	RIP	(RIP) : RNA III-inhibiting peptide is a heptapeptide
K ₆ -S4(1-13), Hybrid	ALWKTLKKVVKAK _{CONH2} ALWKTLKKVVKAYSPWTFNFC _{CONH2}	DD ₁₃ -RIP	DD ₁₃ : dermaseptin derivative

(WO/2007/095393)
DISPOSITIFS MEDICAUX ET REVETEMENTS COMPOSES DE PEPTIDES ANTIMICROBIENS
NON infiltrants

Revêtements peptides qui présentent des propriétés bactériostatiques et bactéricides.

- Les infections nosocomiales
 - Résistantes aux médicaments (*Staphylococcus* méthicilline et vancomycine Résistants)
- Cathéters veineux centraux, ainsi que des cathéters urinaires
- Biofilms récalcitrants
 - Le biofilm protège des bactéries à l'intérieur du film
 - Les antibiotiques systémiques sont inefficaces
- Cathéters existants avec: chlorhexidine et la sulfadiazine d'argent ; minocycline,

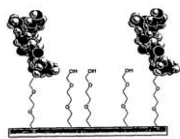
PATCHS: (iode, argent...)
Johnson's Biopatch:
PHMB (Kendall Healthcare Kerlix AMD™)

Les peptides peuvent être enduits sur une variété de différents types de substrats, y compris les implants médicaux comme les prothèses vasculaires, orthopédiques

Brevet:

peptide antimicrobien D28: (FLGVVFKLASKVFPAVFGKV)
D51: (FLFRVASKVFPALIGKFKKK)

quorum sensing inhibiteurs de type ARN-III
peptide inhibiteur (RIP)



peptides sont positionnés sur la surface d'un matériau

FIN

Cecropin-Melittin Hybrid

Lys Trp Lys Leu Phe Lys Lys Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu
1 5 10 15