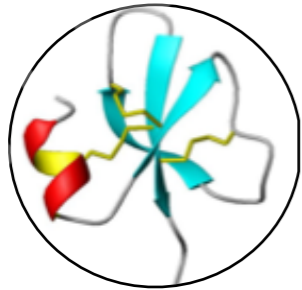


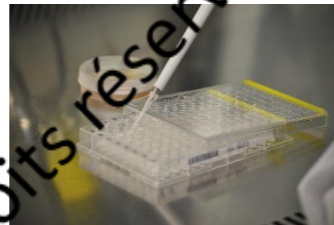
oute repr



Les peptides antimicrobiens et leur potentiel thérapeutique



+



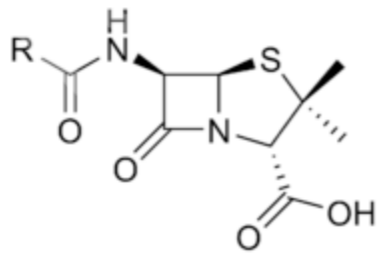
Dr Philippe BULET, PhD, Dr CNRS, Dir Adj GDR MuFoPAM
CR Université de Grenoble Alpes, IAB, Inserm U 1209, CNRS UMR 5309

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

© RICAI 2021

L'aventure des antibiotiques une résistance qui s'accélère

beta lactamine



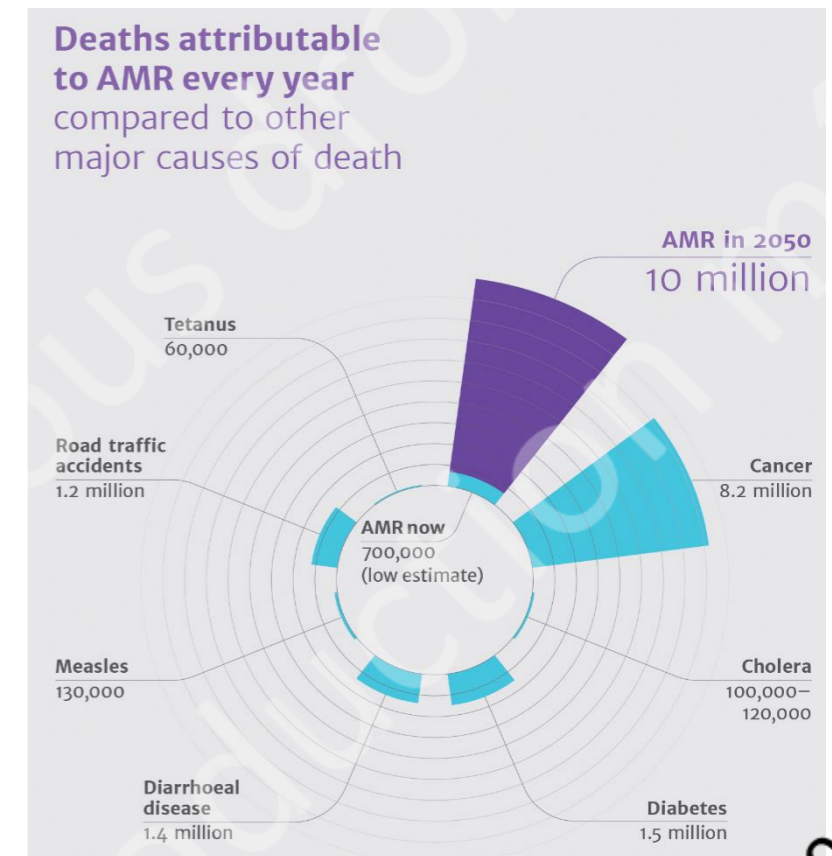
Une découverte majeure du 20^{ème} siècle (1928)
La pénicilline (Sir Alexander Fleming)
La solution contre de nombreuses infections (1941)



2019



U.S. Department of Health and Human Services
Centers for Disease Control and Prevention



**Un usage abusif, émergence de résistances et multi-résistances
Depuis fin 2015 totale résistance de certaines souches
Cause mondiale**

Un besoin urgent en nouveaux antibiotiques une préoccupation mondiale

Une super-bactérie « cauchemardesque » résiste aux antibiotiques

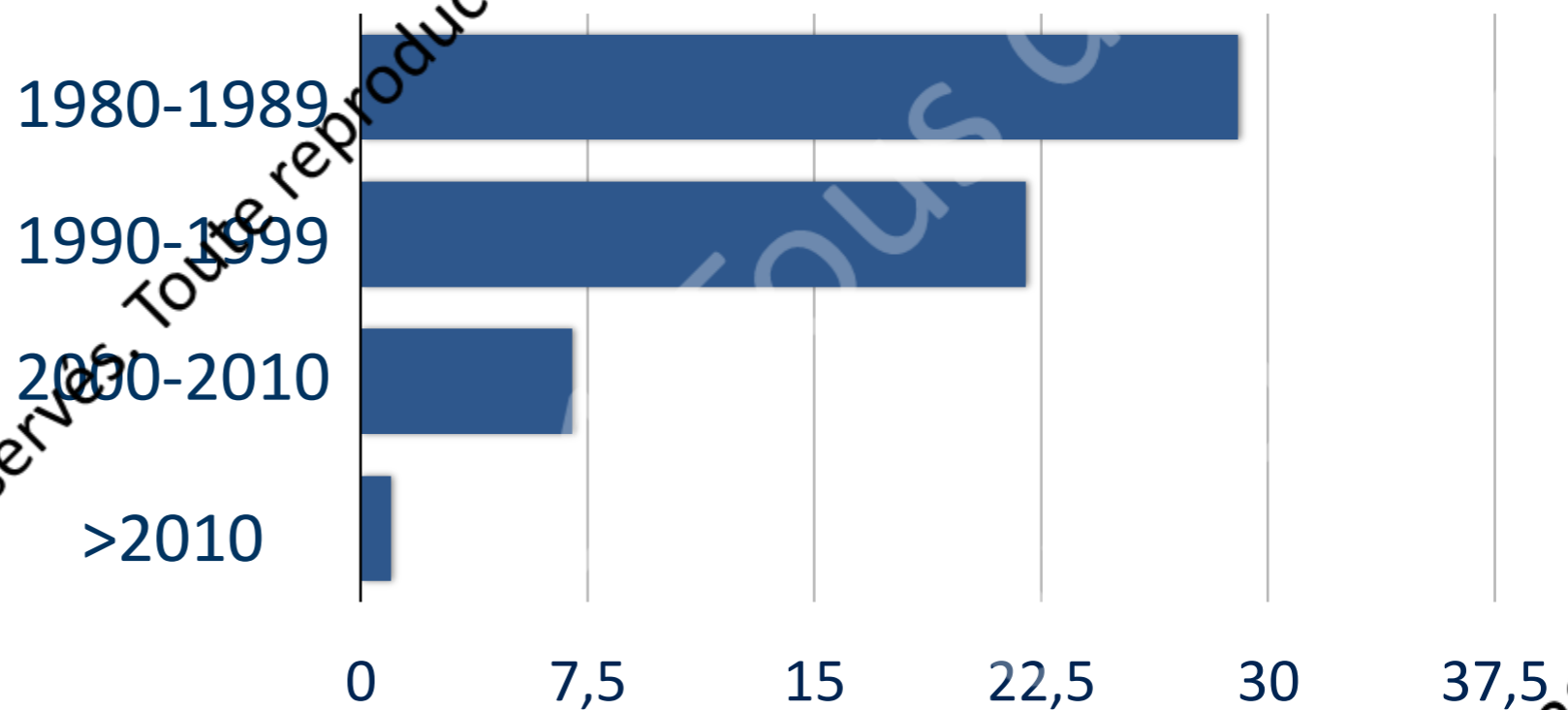
Etats-Unis Une souche mutante de la bactérie *E. coli* résiste à tous les antibiotiques, y compris celui considéré comme la dernière ligne de défense, la colistine. Par L'EXPRESS.fr avec AFP, publié le 27/05/2016 à 11:58

La menace d'une ère pré-antibiotique est réelle !

La Tribune de Genève, 31 Mai 2016

Nombre d'antibiotiques développés et approuvés

application systémique, donnée issues du « Center for Drug Evaluation and Research » (FDA)

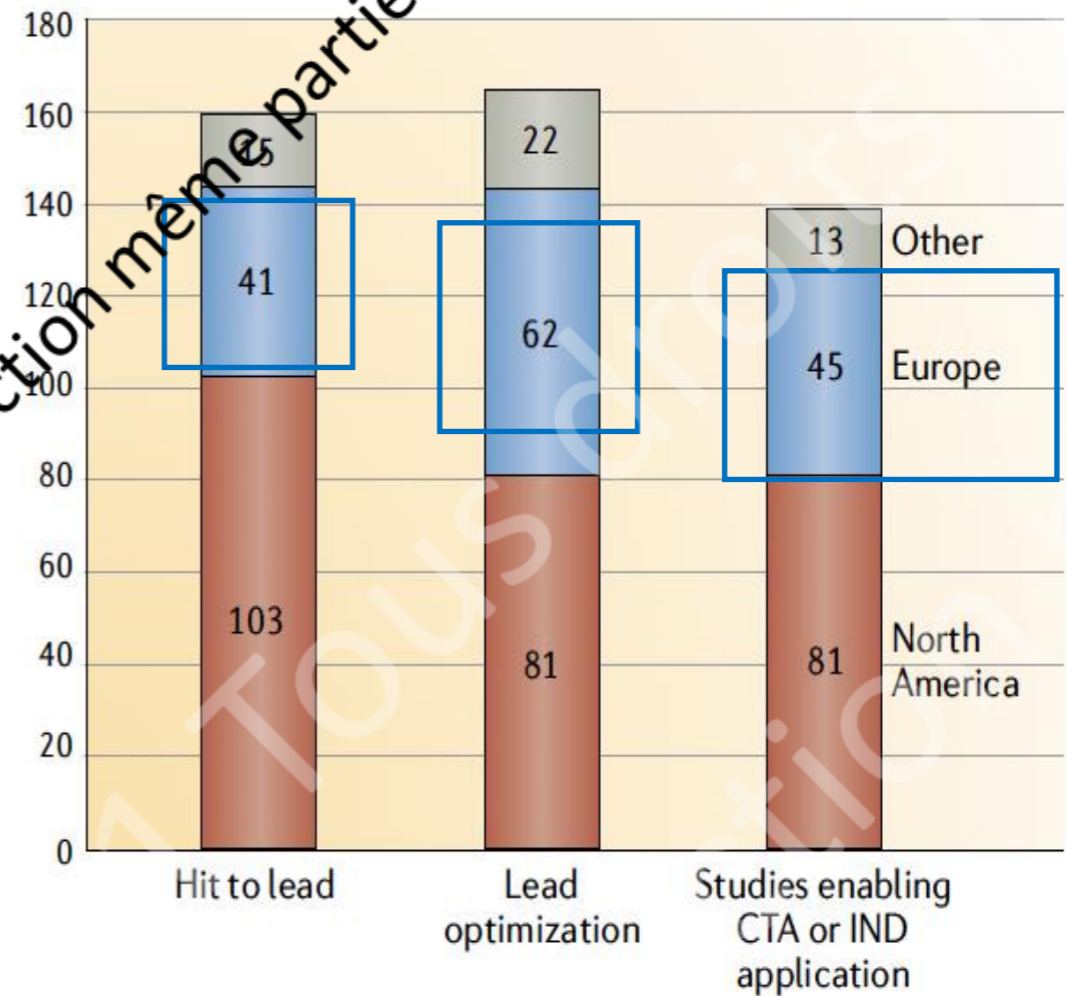
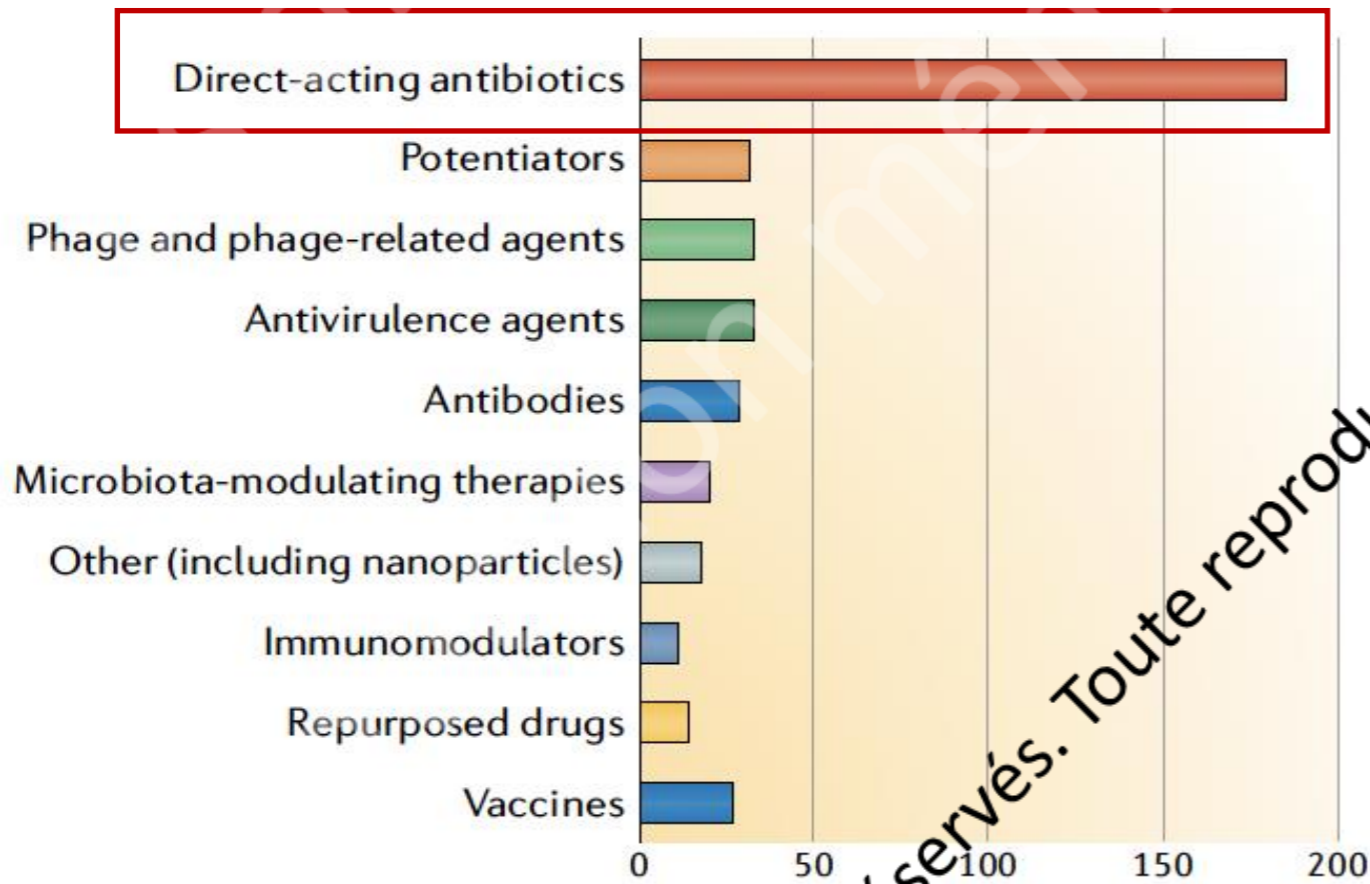


Questions posées

Faut-il chercher de nouveaux antibiotiques à partir de familles déjà connues ?

Faut-il découvrir de nouvelles approches de traitements et/ou de nouvelles familles d'antibiotiques ?

Aperçu sur les produits antibactériens en phase préclinique



CTA : Auto. Essais cliniques

IND : Application pour l'investigation de nouveaux thérapeutiques

Nat Rev Microbiol 18, 275–285 (2020)

135 projets sur petites molécules : nouvelles classes, nouvelles cibles, et nouveaux mécanismes d'action

292 Produits antibactériens (OMS, 2020)

Un besoin urgent en nouveaux antibiotiques

Phage therapy
Natural or engineered viruses that attack and kill bacteria

Lysins
Enzymes that directly and quickly act on bacteria

Antibodies
Bind to particular bacteria or their products, restricting their ability to cause disease

Probiotics
Prevent pathogenic bacteria colonising the gut

Immune stimulation
Boosts the patient's natural immune system

Peptides
Non-mammalian animals' natural defences against infection

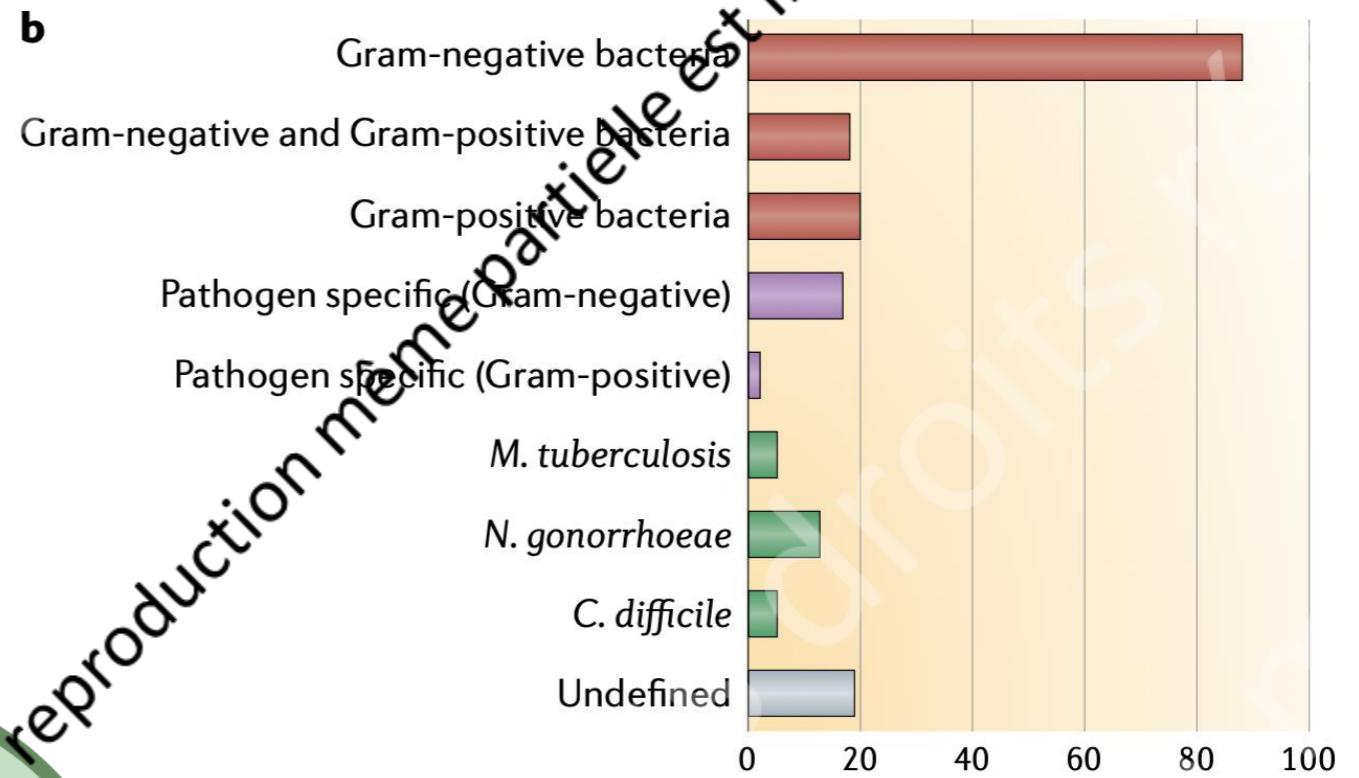
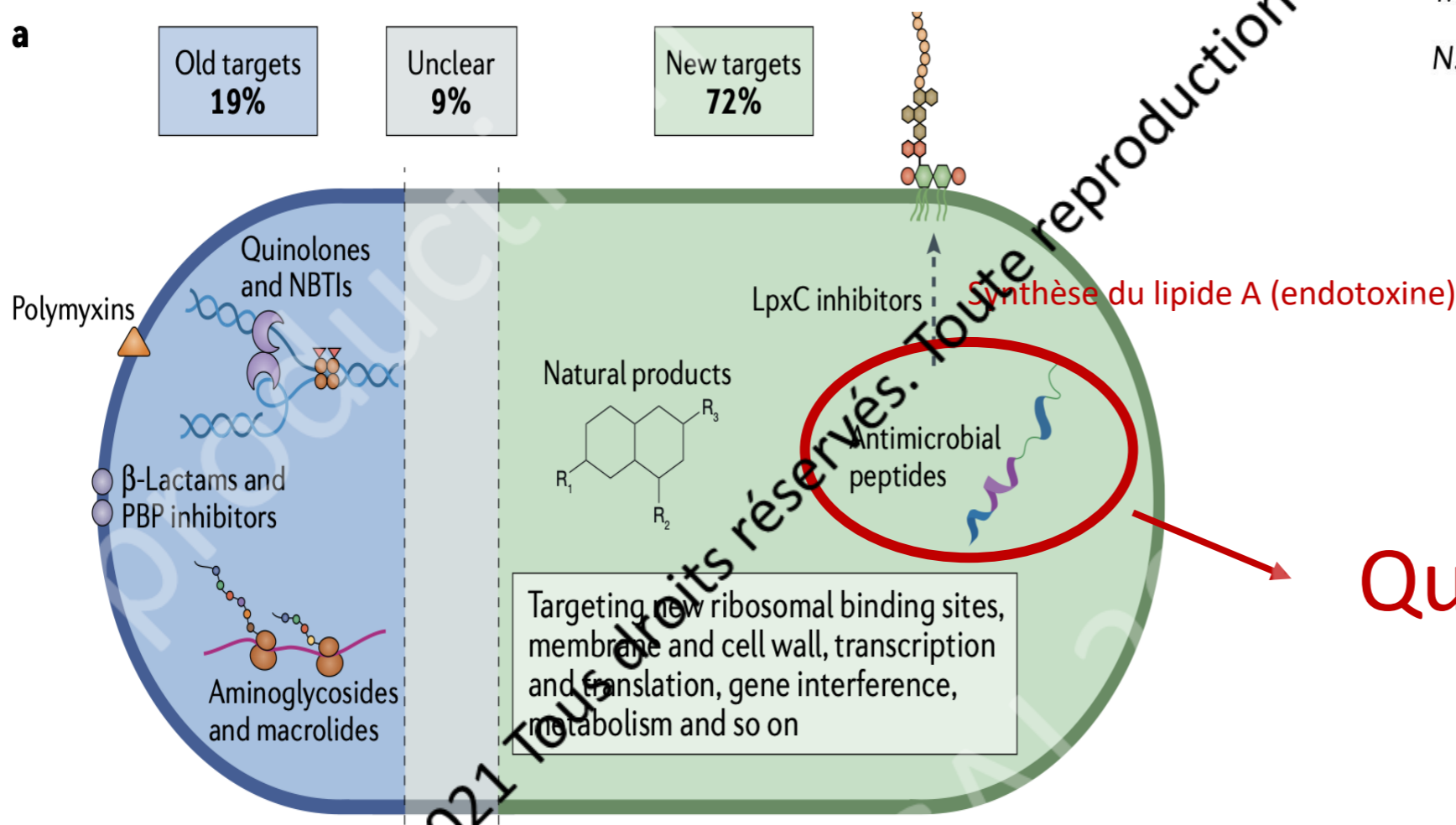
Toute repr

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021

Approches et cibles microbiennes

Nat Rev Microbiol 18, 275–285 (2020)



Qui sont ces PAMs ?

PBP: penicillin-binding protein inhibitors

© RICAI 2021

L'alternative des Peptides AntiMicrobiens

PAMs ou peptides de la défense

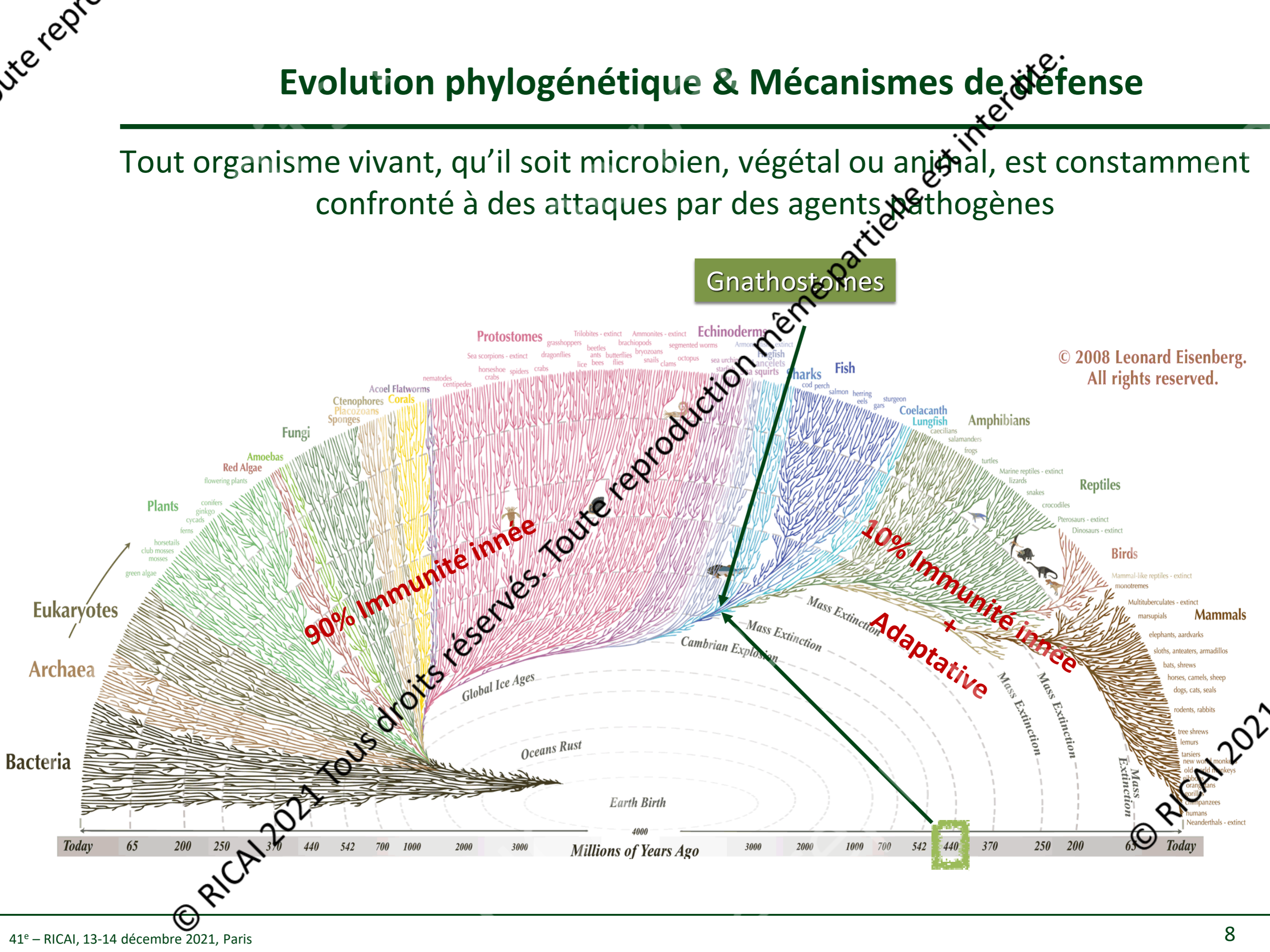
Représentent ils une alternative aux antibiotiques dits conventionnels ?

Si oui pourquoi ne sont ils pas déjà sur le marché ?

Origine, diversité structurale, diversité d'expression, multifonction, mécanismes d'action

Evolution phylogénétique & Mécanismes de défense

Tout organisme vivant, qu'il soit microbien, végétal ou animal, est constamment confronté à des attaques par des agents pathogènes



Immunité innée (RI)	Naturelle, spécificité limitée Pas de mémoire Quelques heures à > 4 jours
Immunité adaptative (RIA)	Haute spécificité antigénique Mémoire Tardive > 4 jours

La réponse immunitaire innée

Une composante clé de nos défenses

Seule présente chez plantes et invertébrés

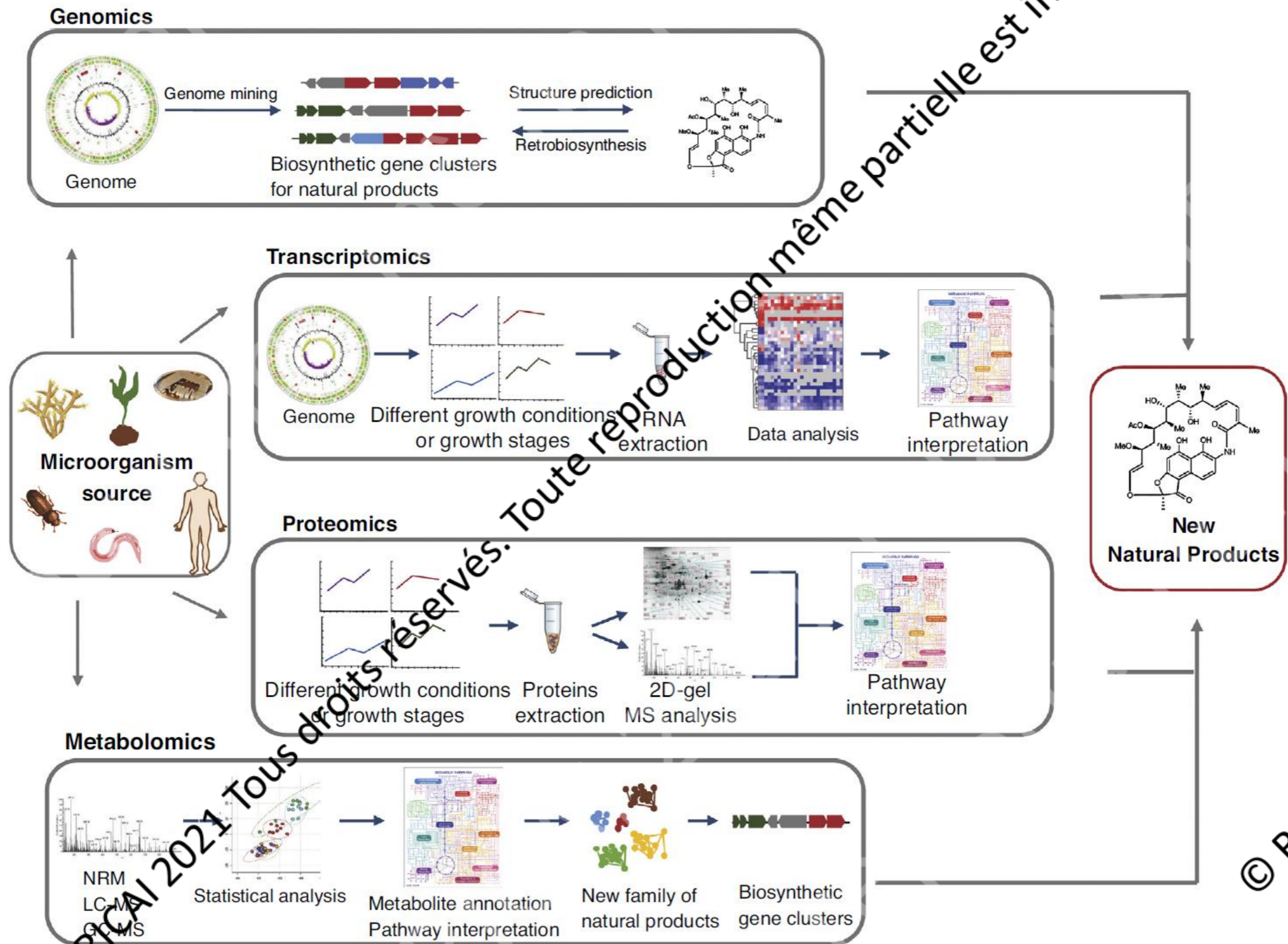
Première ligne de défense chez vertébrés

Stimule et oriente la RIA

Un mécanisme conservé au cours de l'évolution

Un acteur clé : les peptides antimicrobiens

Découverte des PAMs : Approches omiques



APD3, une base de données sur les PAMs

Quelques chiffres (décembre 2021)

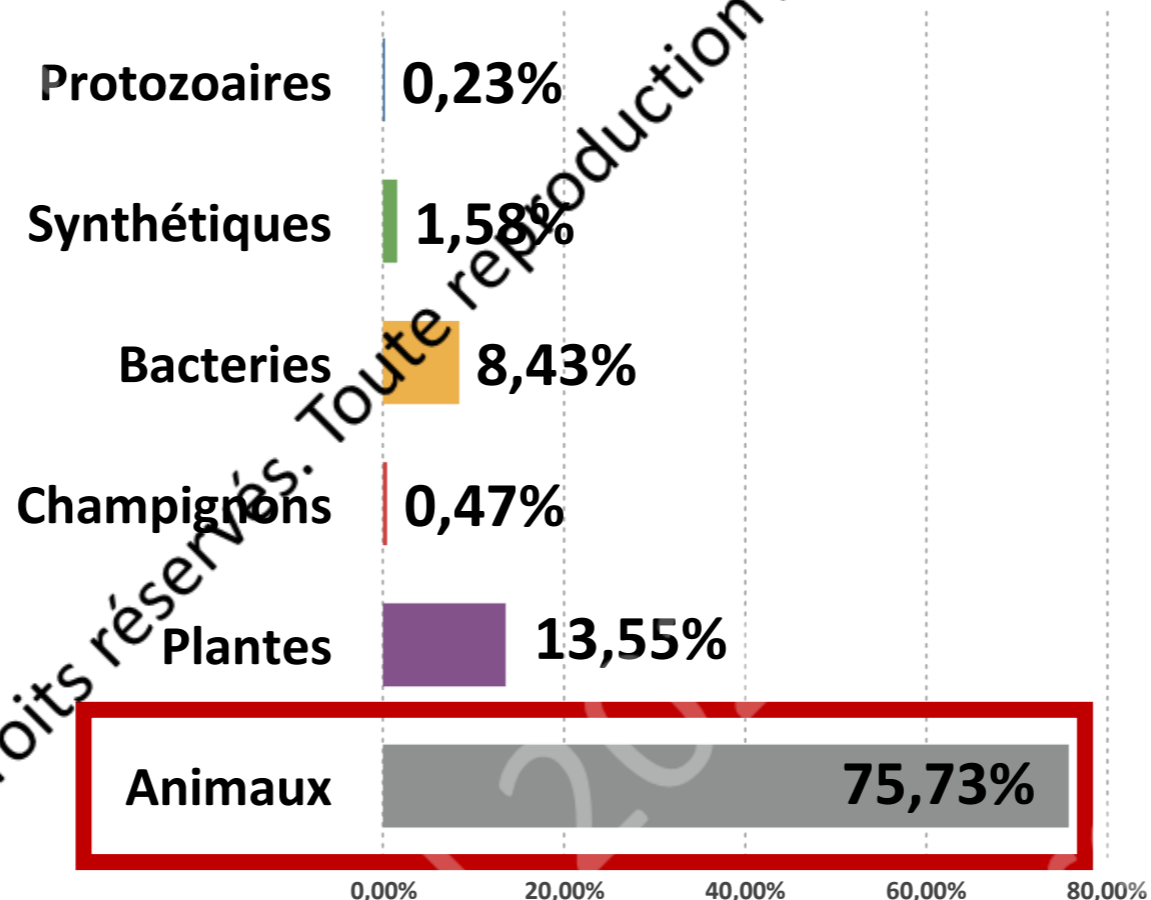
Total 3283 structures

371 bactériocines/peptide antibiotiques de bactéries

5 d'archées, 8 de protistes, 22 de champignons, 361 de plantes,

2431 du règne animal

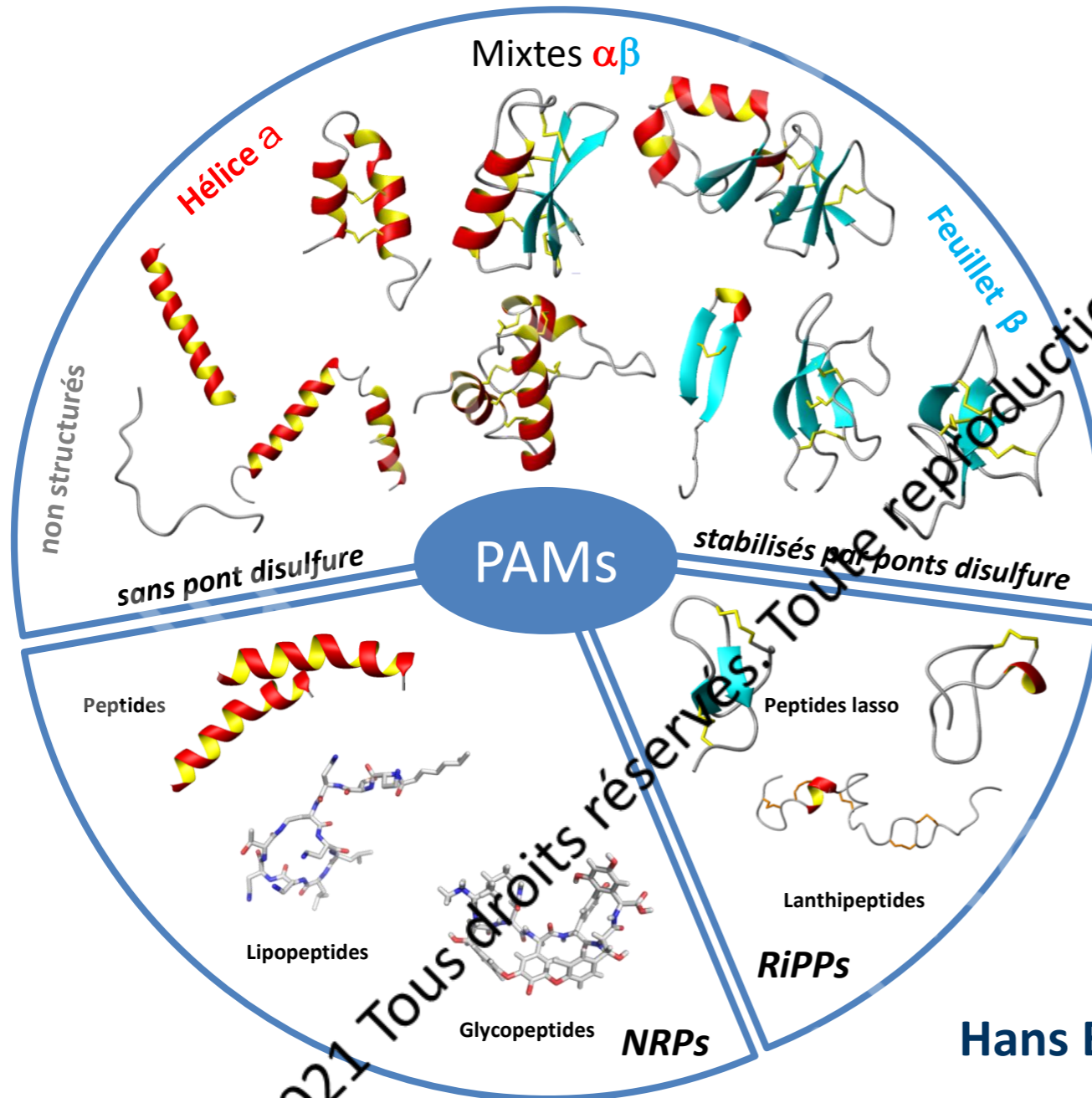
Quelques peptides de synthèse



Les PAMs décrits chez les animaux sont les plus représentés : >75%
48% chez les vertébrés, dont 38% chez les amphibiens

PAMs et diversité structurale

PAMs de plantes, invertébrés, vertébrés



Bombinines (amphibiens)
Kiss et Michael, 1962

Cécropines (insectes)
Boman, 1980

Défensines (humain, insectes)
Lehrer (humain), Hoffmann - Natori (insectes) : 1985

Magainines (amphibiens)
Zasloff, 1987

Dermaseptines (amphibiens)
Nicolas, 1990

Le premier symposium sur PAMs
Hans Boman et Joan Marsh (CIBA FONDATION)
Janvier 1994. (Marsh J. & al., 1994)

PAMs d'origine bactériennes : Bactériocines & RiPPs, NRPs

Propriétés physicochimiques des PAMs

Nombreux points communs

Petite taille

< 10 kDa

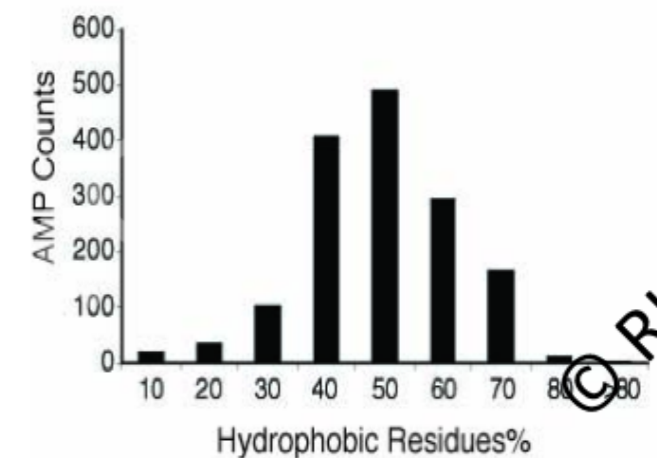
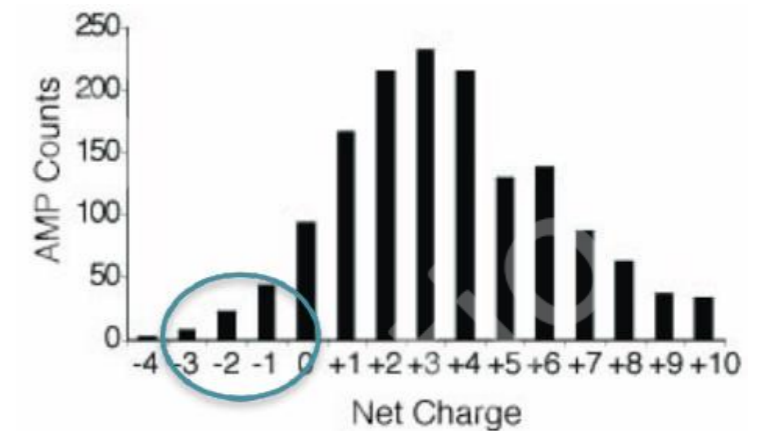
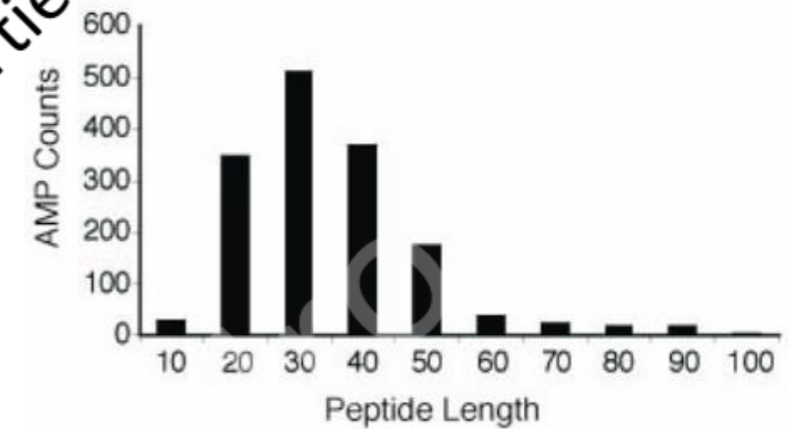
Charge globale positive à pH physiologique

+7 à +11

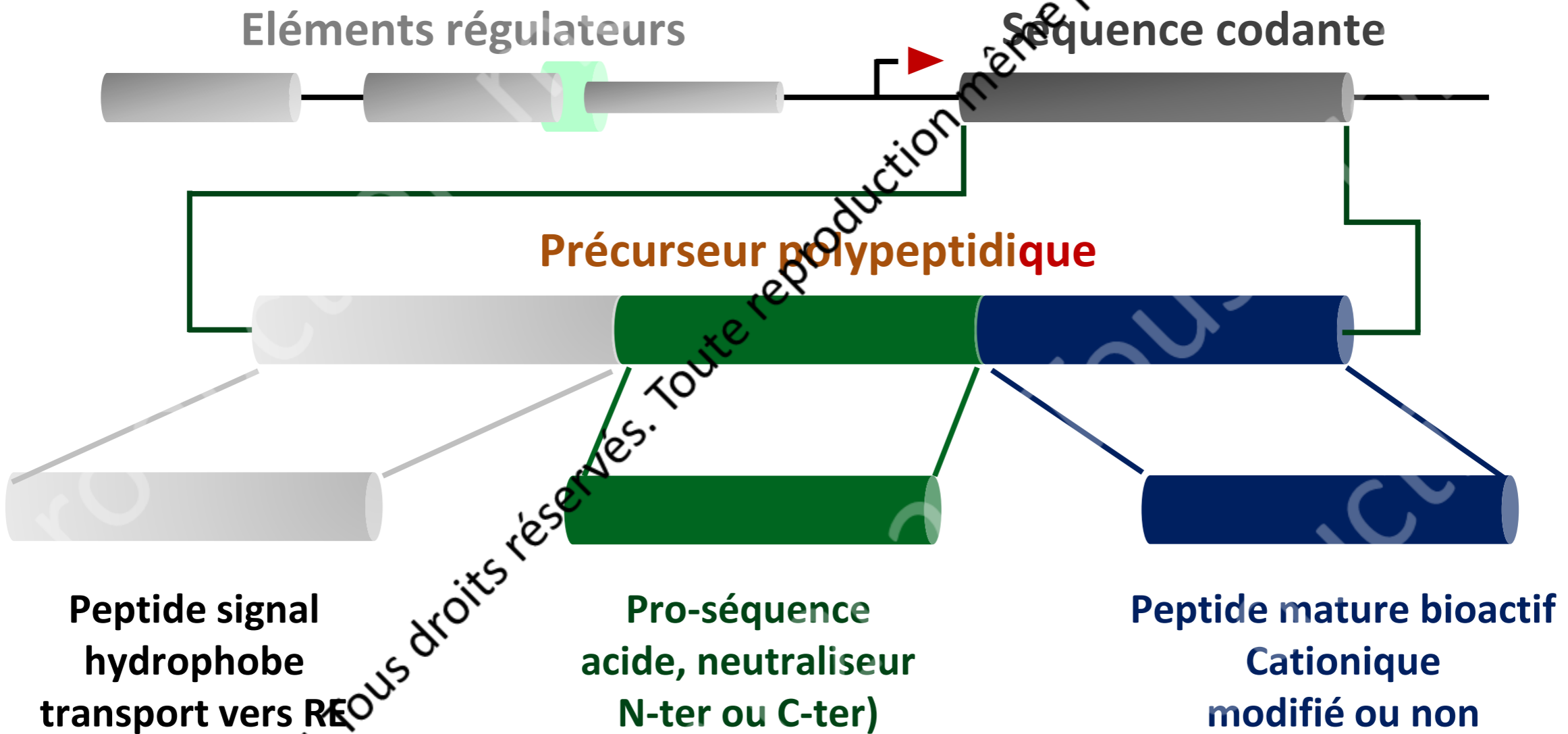
Stéréogéométrie de type amphipathique

face hydrophobe vs face polaire

Malgré cela la classification reste emblématique



Un gène : plusieurs domaines



Peptide signal hydrophobe transport vers RE

Pro-séquence acide, neutraliseur N-ter ou C-ter)

Peptide mature bioactif Cationique modifié ou non

© RICAI 2021 tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021

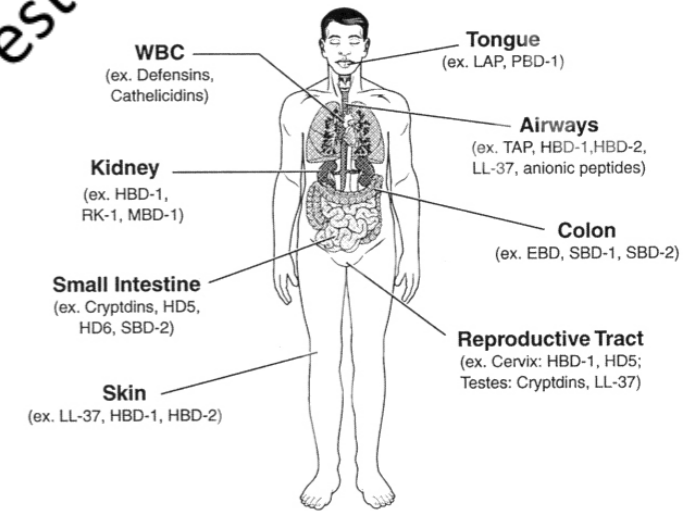
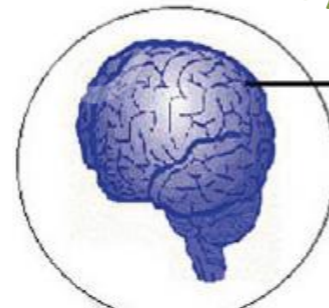
Approches et cibles microbiennes

Nat Rev Microbiol 18, 275–285 (2020)

Peau et muqueuses, SN, foie, TGI et UG, circulatoire, sécrétions (liquide séminal, lait, sueur, etc.)

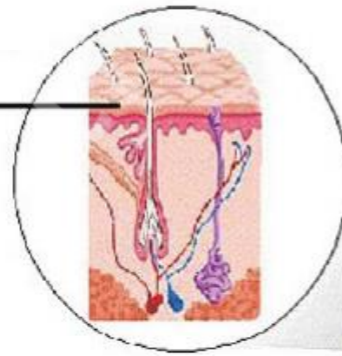
Système nerveux

Cathélicidines
Enkélitine
Chromogranines



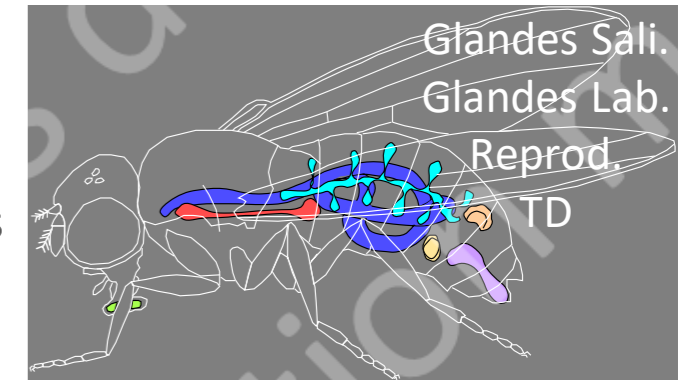
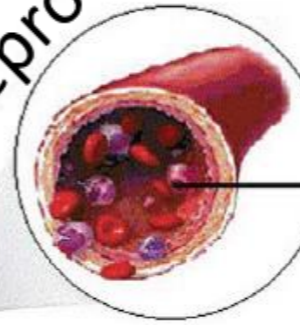
Peau et muqueuses

Cathélicidines
 α -Défensines
 β -Défensines
Dermcidin



Sang

Cathélicidines
 α -défensines
 β -défensines
Bacténécines



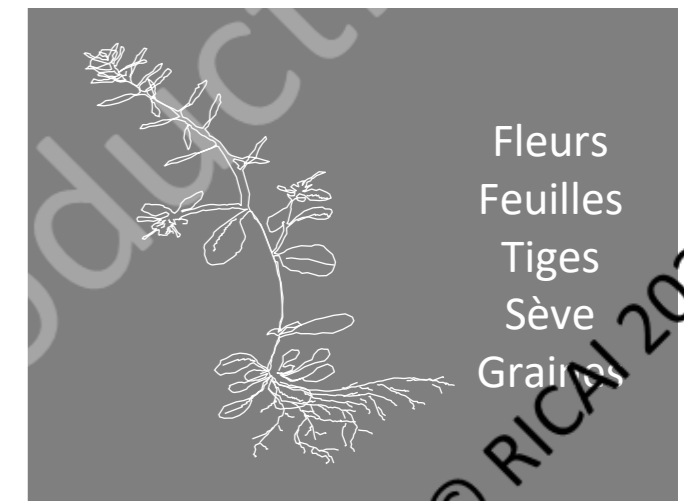
Cellules de Paneth

α -Défensines
Cryptidines



Foie

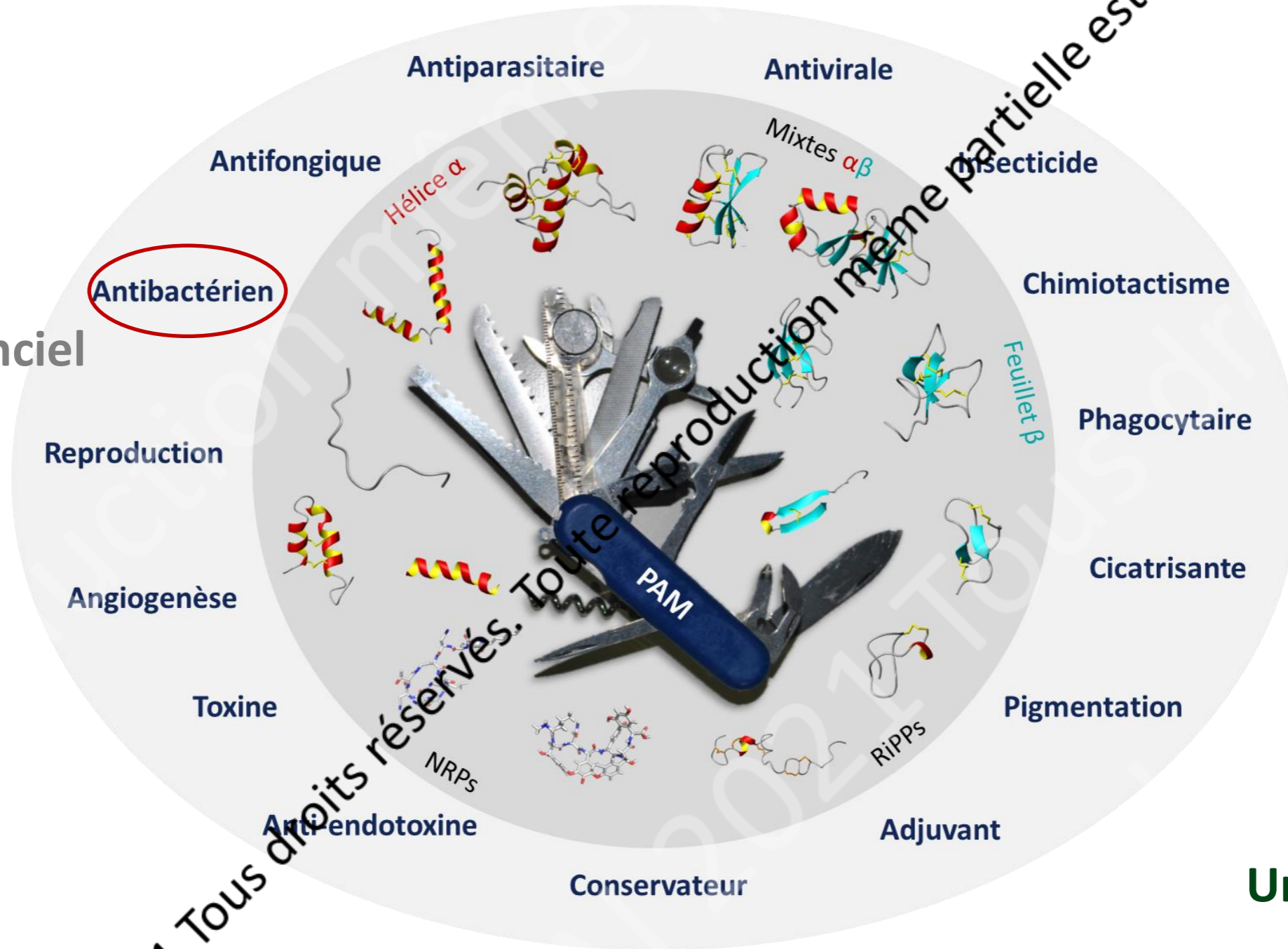
Hepcidine



modifié d'après Osmar N. Silva *et al.*, 2011 Front. Microbiol. doi:10.3389/fmicb.2011.00232

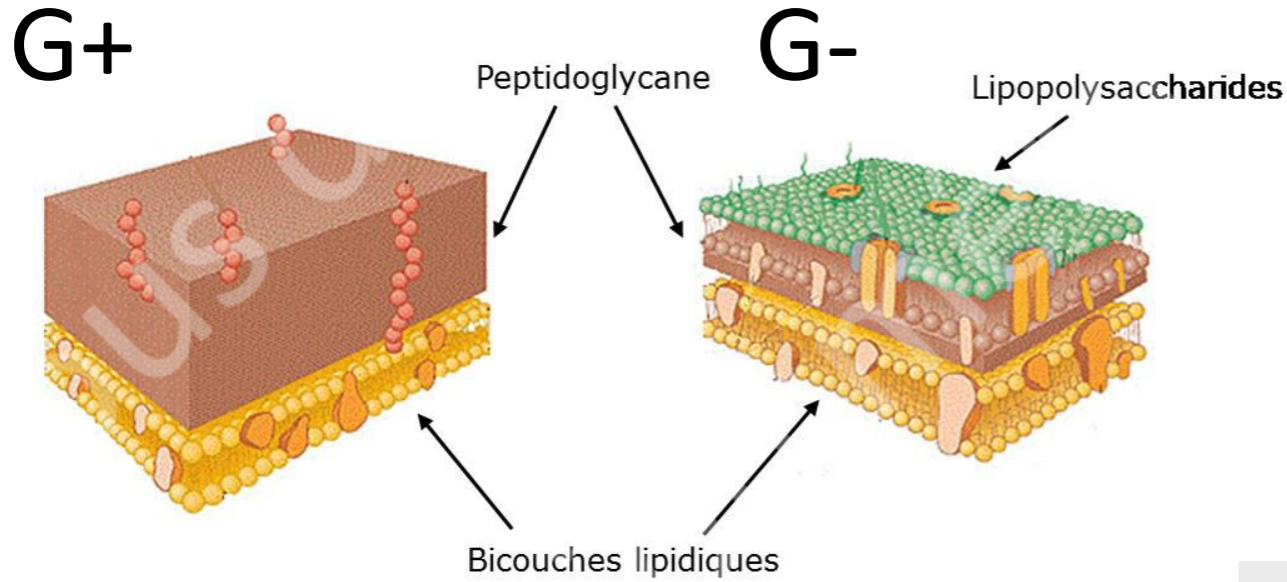
Les PAMs une multifonction à la couteau suisse !

Un passé
circonstanciel



Un présent
enrichi

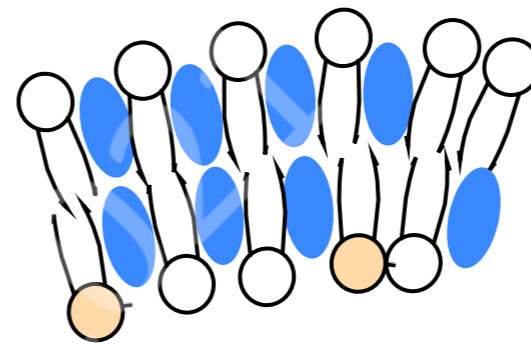
Les PAMs une multifonction à la couteau suisse !



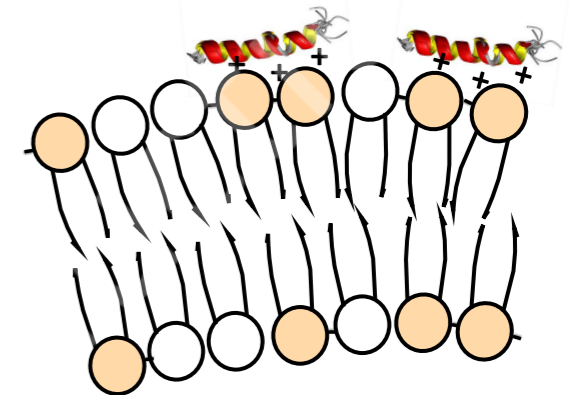
PAMs (pI +7 à +11)

Interactions hydrophobes

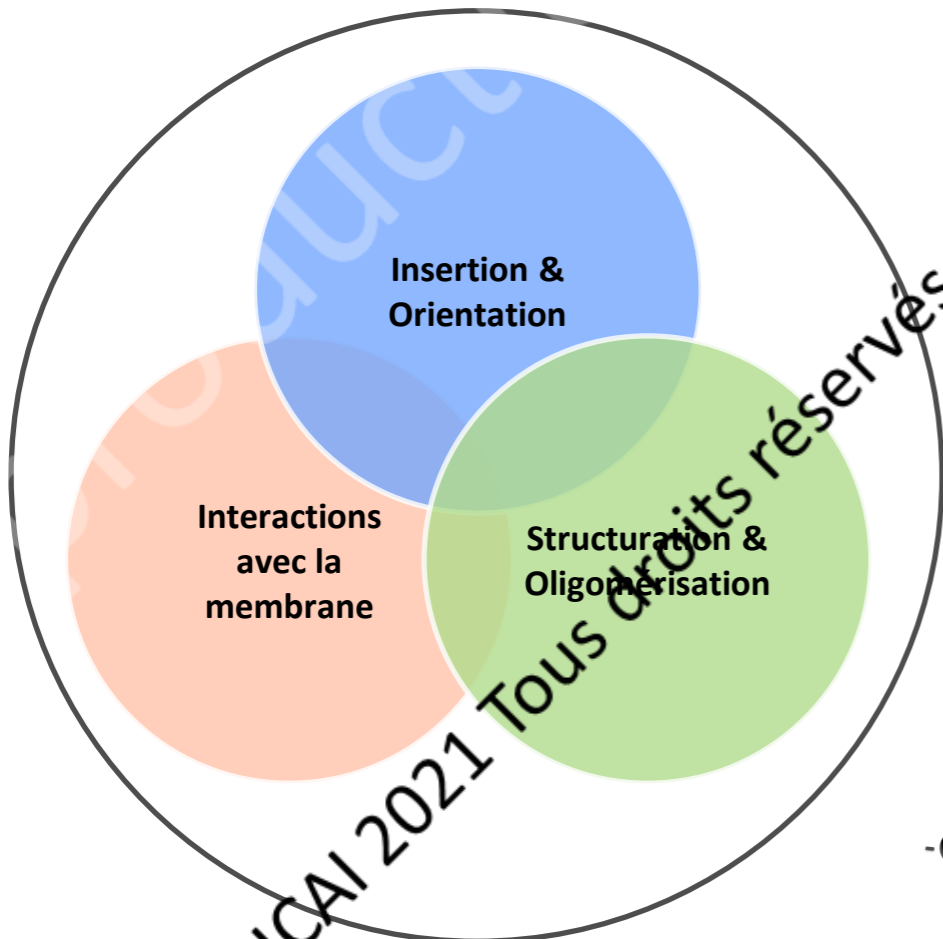
Interactions électrostatiques et hydrophobes






Membrane eucaryotes



Membrane procaryotes



-  Phospholipides zwitterioniques
-  Phospholipides anioniques
-  Renforteur membranaire, stérol

Potentiels de membrane différents :
 approx. -70 mV pour cellules eucaryotes
 approx. > -120 mV pour procaryotes

Toute reproduction même partielle est interdite

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

© RICAI 2021

Divers mécanismes d'action

Perturbation membranaire hélices alpha

CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, July 2006, p. 491-511
0893-8512/06/\$08.00+0 doi:10.1128/CMR.00056-05
Copyright © 2006, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 19, No. 3

Peptide Antimicrobial Agents

Håvard Jenssen, Pamela Hamill, and Robert E. W. Hancock*

Centre for Microbial Diseases and Immunity Research, University of British Columbia, Lower Mall Research Station,
232-2259 Lower Mall, Vancouver, British Columbia V6T 1Z4, Canada

Pas de perturbation membranaire PrPAM

Published online 24 January 2016

Nucleic Acids Research, 2016, Vol. 44, No. 5 2439-2450
doi: 10.1093/nar/gkv1545

Structures of proline-rich peptides bound to the ribosome reveal a common mechanism of protein synthesis inhibition

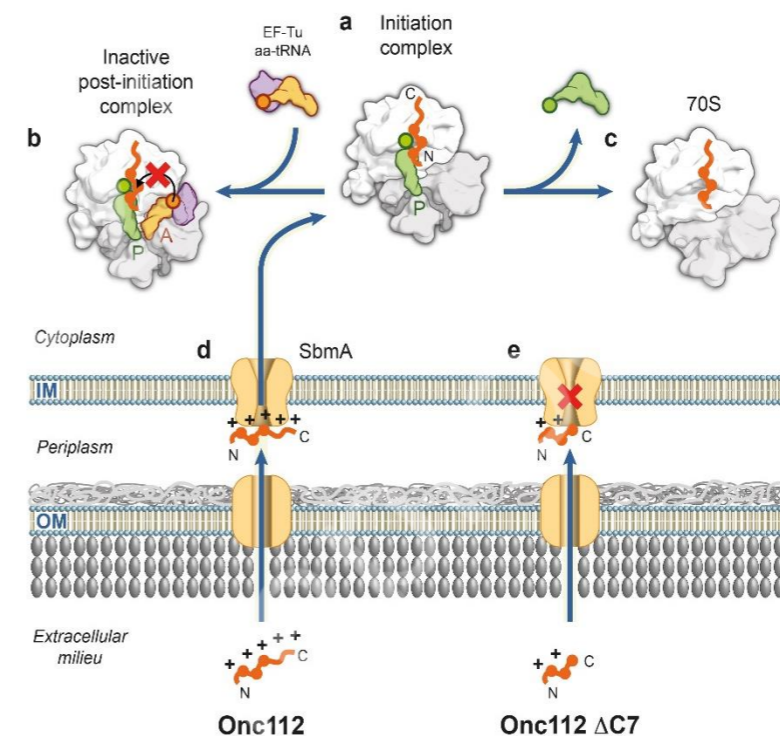
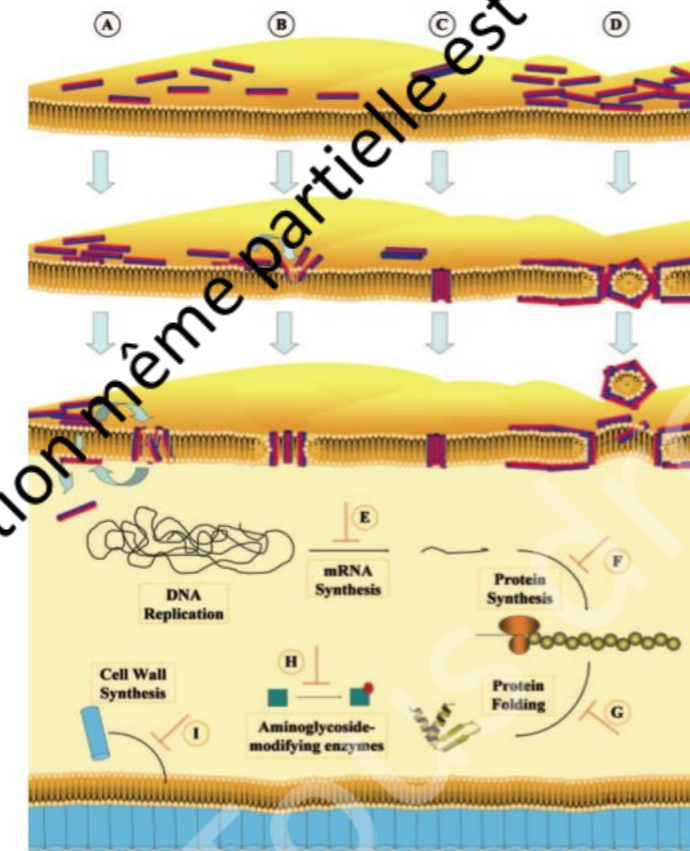
Matthieu G. Gagnon^{1,2,3,†}, Raktim N. Roy^{2,3,†}, Ivan B. Lomakin¹, Tanja Florin⁴, Alexander S. Mankin⁴ and Thomas A. Steitz^{1,2,3,*}

Published online 20 January 2016

Nucleic Acids Research, 2016, Vol. 44, No. 5 2429-2438
doi: 10.1093/nar/gkv1545

Structure of the mammalian antimicrobial peptide Bac7(1-16) bound within the exit tunnel of a bacterial ribosome

A. Carolin Seefeldt^{1,2,3,†}, Michael Graf^{1,†}, Natacha Pérebaskine^{1,2,3}, Fabian Nguyen⁴, Stefan Arenz⁴, Mario Mardirossian⁵, Marco Scopelliti⁶, Daniel N. Wilson^{4,6,*} and C. Axel Innis^{1,2,3,*}

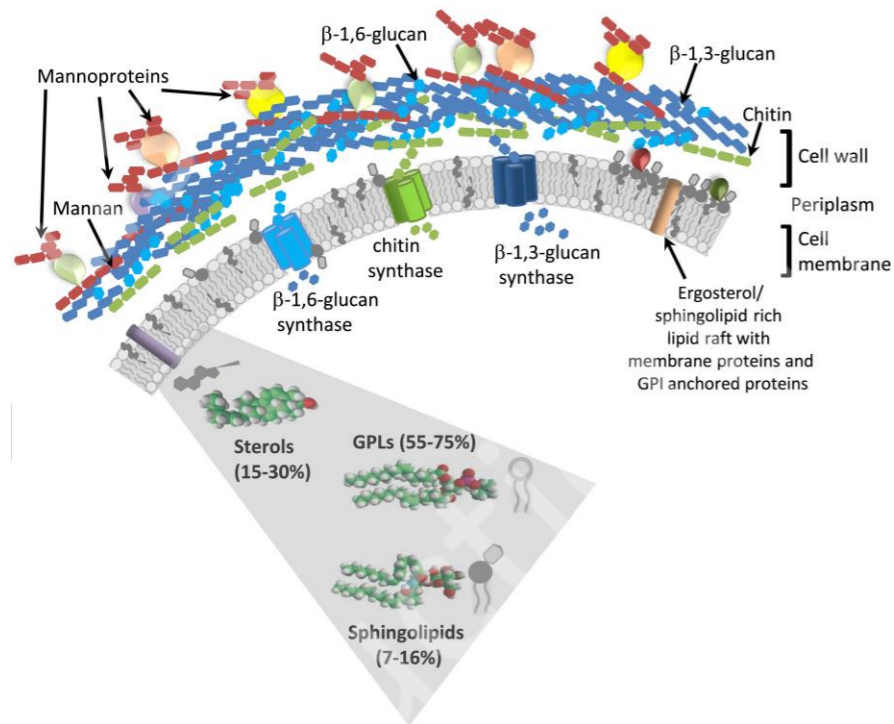


© RICAI 2021

Mécanismes d'action des Défensines de plantes

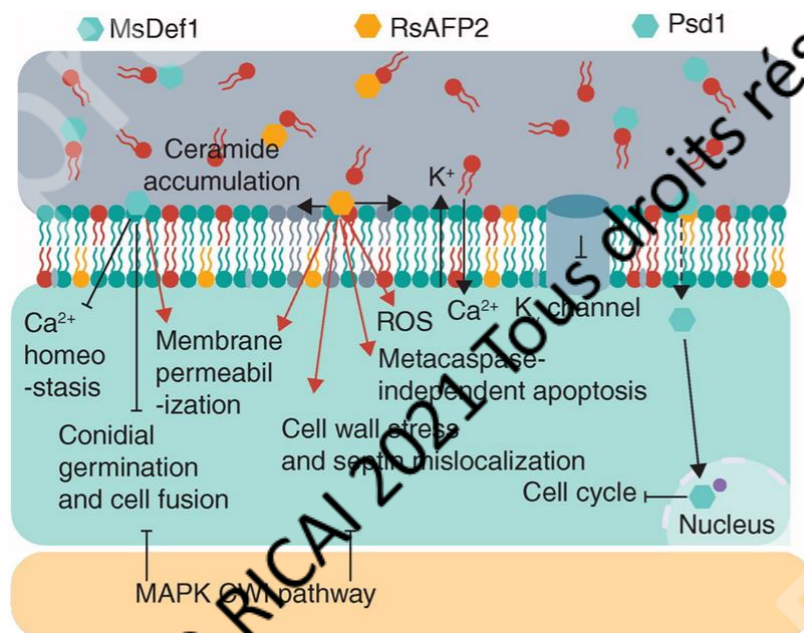
Paroi cellulaire et membrane plasmique des champignons

Adapté de Rautenbach *et al.*, 2016



Défensines interagissant avec des sphingolipides

Adapté de Cools *et al.*, 2017



Interaction principale avec les lipides membranaires. Diversité importante dans les mécanismes d'action :

- Positionnement à l'interface paroi/membrane et déclenchement d'une cascade d'effets (MsDef1, RsAFP2).
 - Internalisation du peptide et interaction avec une cible intracellulaire (Psd1).
- Éléments transposables à l'étude du mécanisme d'action des Défensines d'insectes antifongiques.

© RICAI 2021

Deux exemples de développements de PAMs

MSI78 & ETD151

BioTech	Molécule	Cibles
Genaera Corp. USA	Magainines MSI78	Ulcères du pied chez les diabétiques
EntoMed SA France	Défensines ETD151	Infections fongiques

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

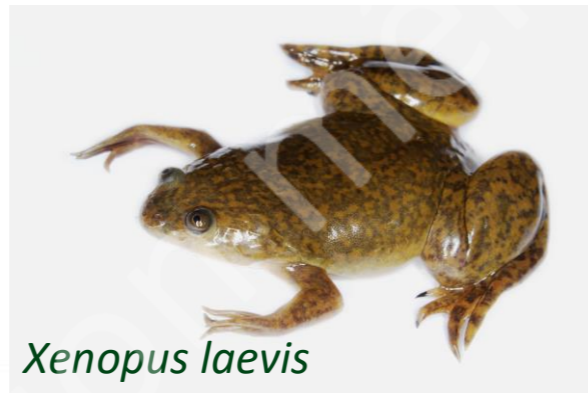
© RICAI 2021

Un exemple historique

Magainin pharmaceuticals – Geniera Corp.

M Zasloff

Gerogetown Univ. Med. Center, USA



Xenopus laevis



Magainines

Acquis
Une chaine linéaire (22 aa)
Faible coût de production
Large spectre sur isolats cliniques (R et MR)
Pas d'acquisition de résistance apparente
Phase III, 1000 patients, efficacité sans toxicité

Bilan

Pexiganan (MSI78), analogue de magainin-2

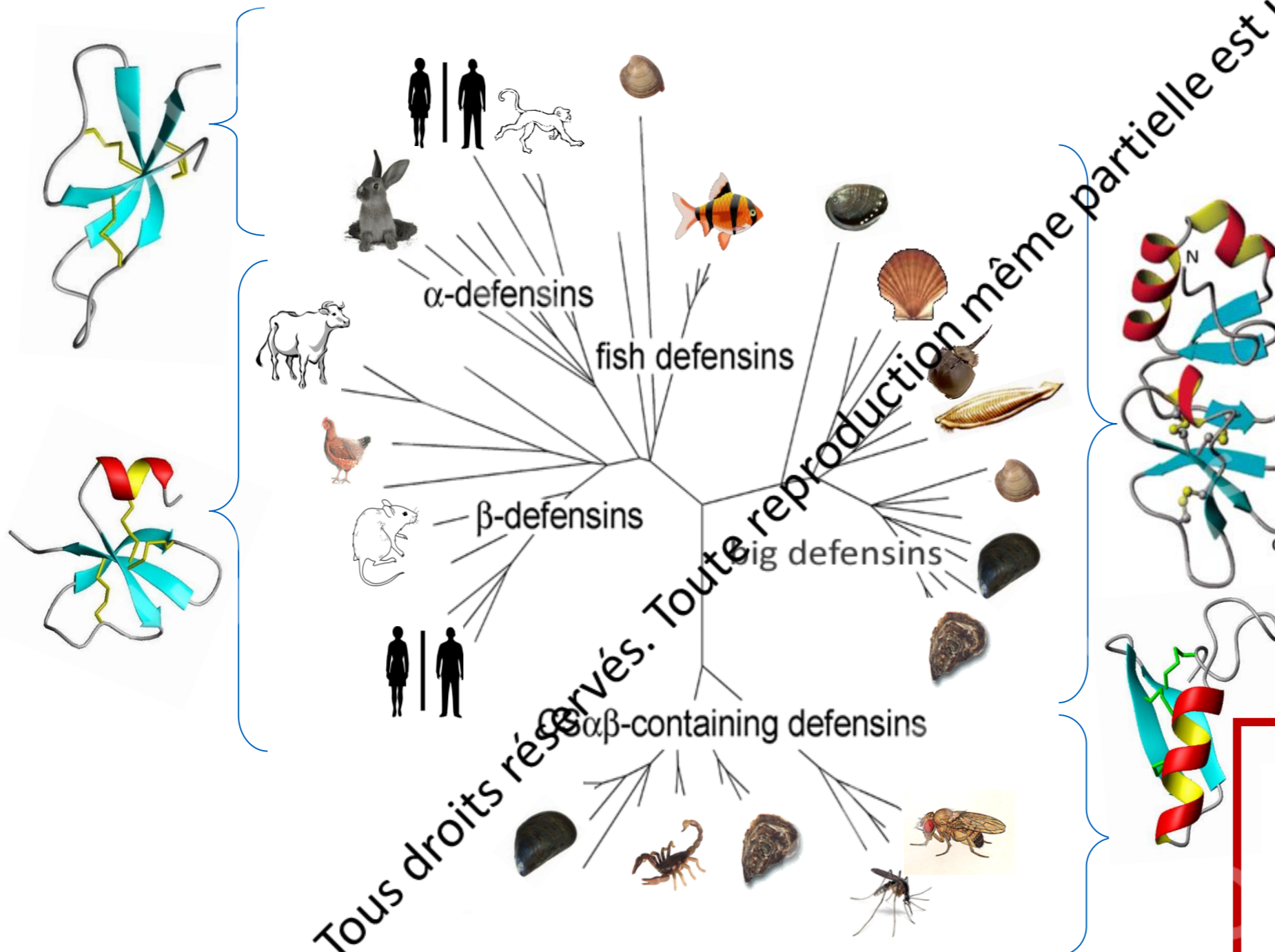
Locilex™ crème : Phase III, effets cliniques positifs sur la cicatrisation, peu de toxicité

Rejet FDA 1999 : "Locilex™ drug did not offer any great advantage over current standard of care"

Réévaluation de dérivés de pexiganan

Vertébrés

Invertébrés



© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Un programme d'optimisation de Défensines antifongiques d'insectes

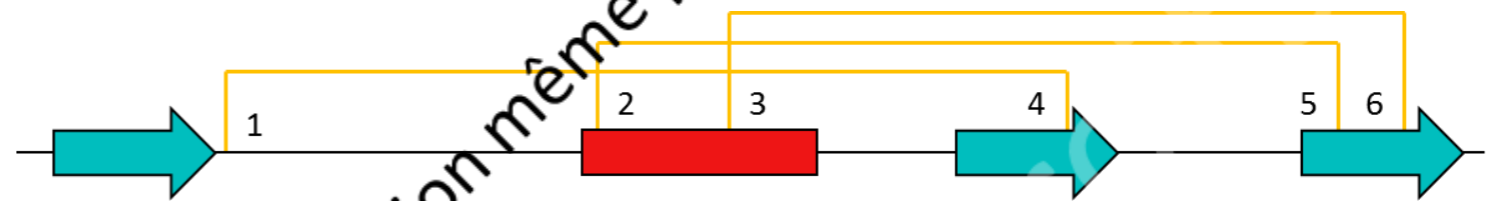
		10	20	30		<i>C. albicans</i>	<i>A. fumigatus</i>
						μM	
Héliomicine	D K L I G S C V W G A V N Y T S D C N G E C K R R G Y K G G H C G S F A N V N C W C E T					12,5	25
ARD1	D K L I G S C V W G A V N Y T S N C N A E C K R R G Y K G G H C G S F A V N C W C E T					6,25	12,5
ETD151	D K L I G S C V W G A V N Y T S N C R A E C K R R G Y K G G H C G S F A N V N C W C E T					3,12	6,25

Heliomicine

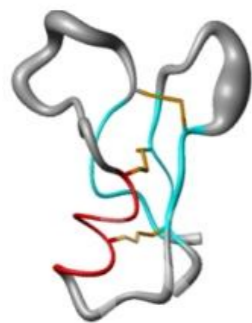
Lamberty et al., 1999

ARD1

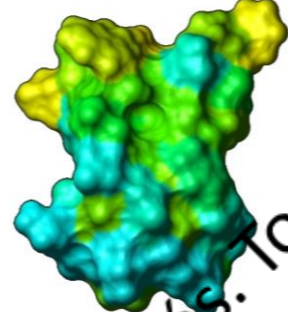
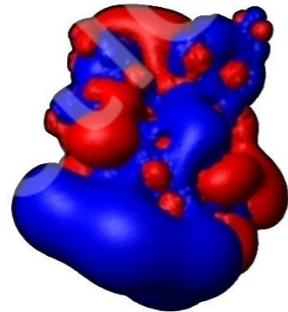
Landon et al., 1999



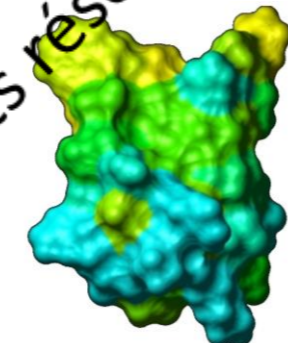
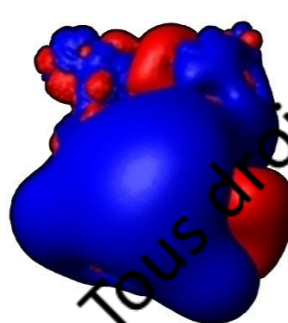
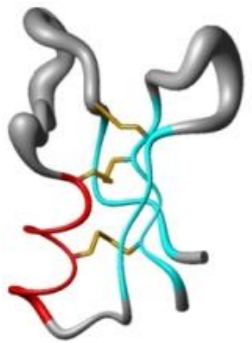
Héliomicine



Landon et al., 2004.



ETD151



Squelette

Potentiel électrostatique

Hydrophobicité

trois mutations dont Asn19Arg renforçant cationicité et activité antifongique
 Candidat pour le développement d'un traitement contre candidose et aspergillose
 1kg de peptide disponible

Potentiel pour une approche agrochimique et le contrôle des maladies fongiques

© RICAI 2021 tous droits réservés.

© RICAI 2021

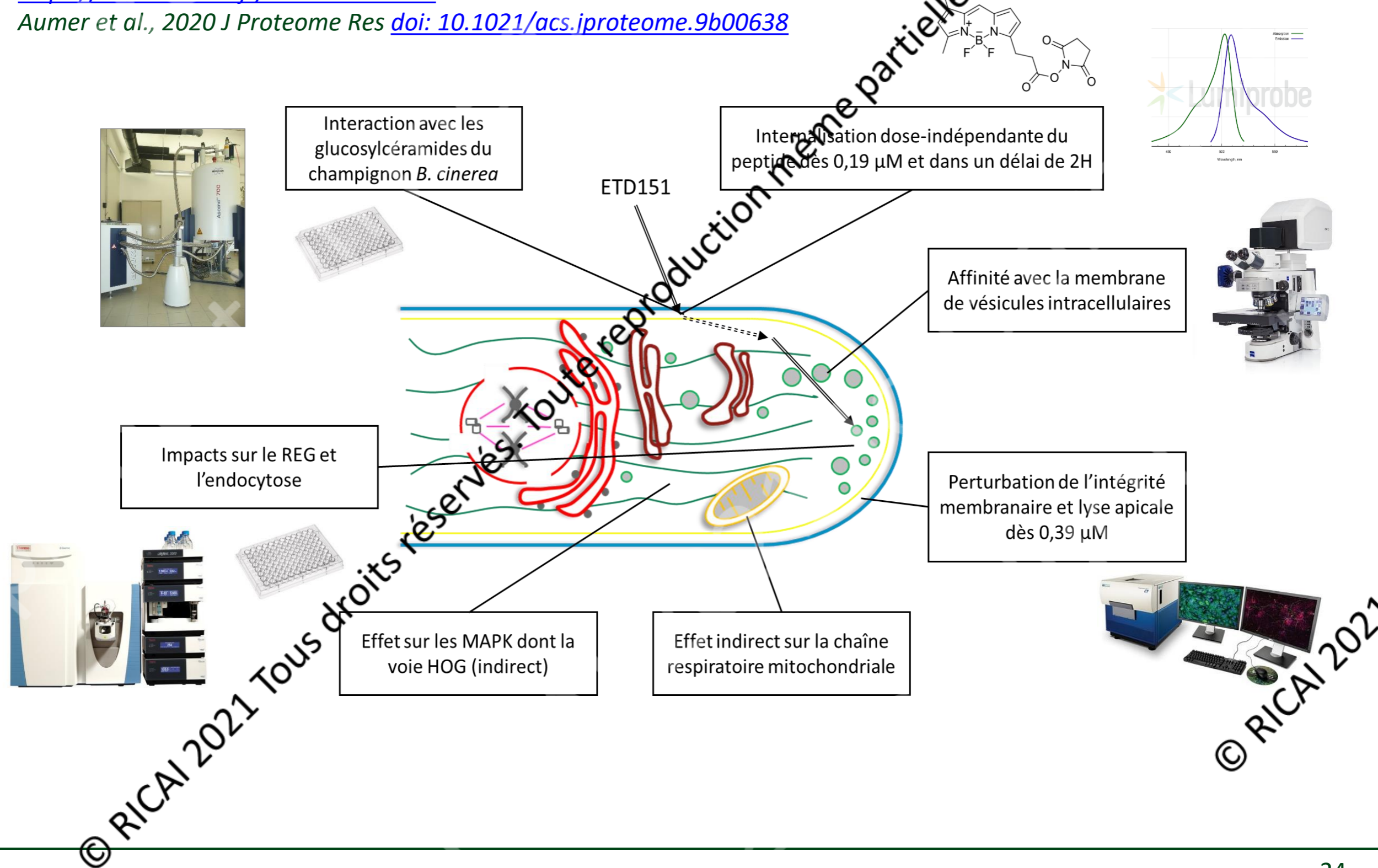
ETD151 et son potentiel antifongique

2018 à ce jour Applications Global One Health

Thèse CIFRE Bayer - IAB - CBM (Orléans) Thomas Aumer

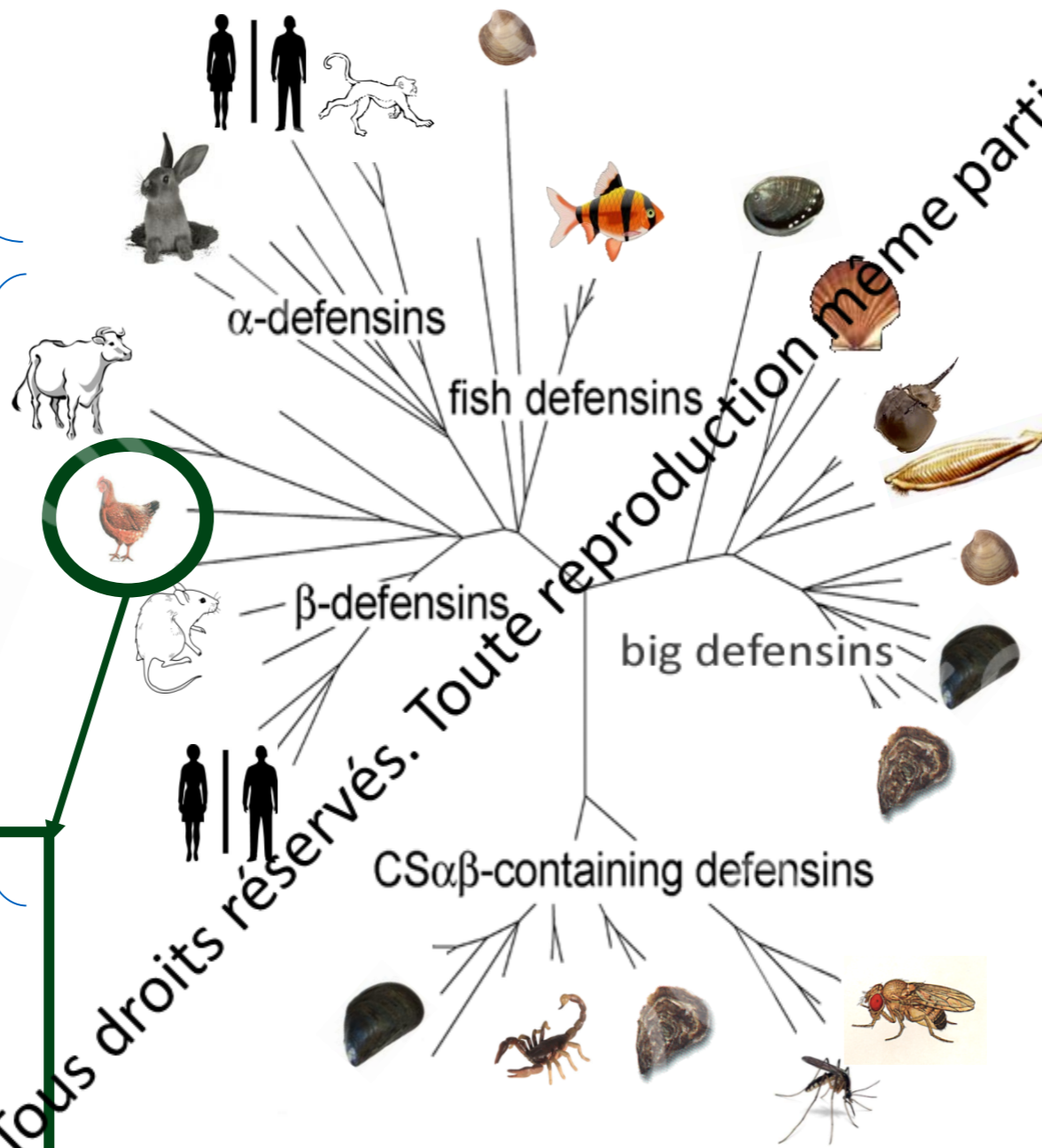
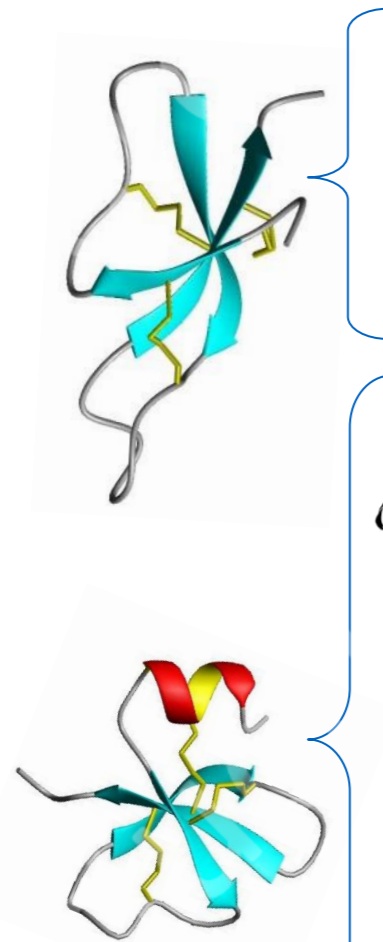
<https://www.theses.fr/2019GREAV038>

Aumer et al., 2020 J Proteome Res [doi: 10.1021/acs.jproteome.9b00638](https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.9b00638)

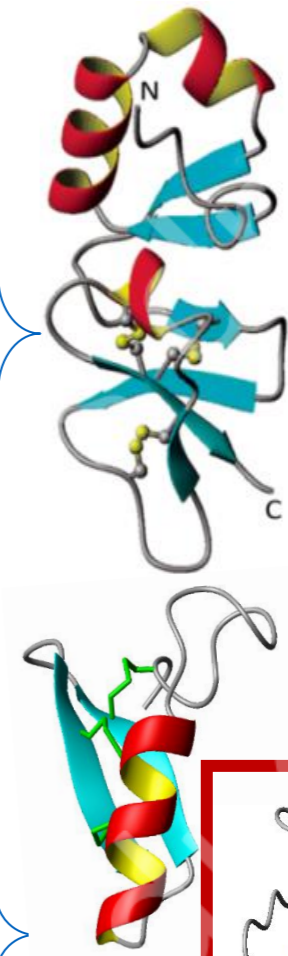


Toute reproduction est interdite.

Vertébrés



Invertébrés



InVivoBiophysics
 BioactivePeptides
 Bioinformatics MoA Proteomics
 Interactions AMPs
 MassSpectrometry
 Pathway Fluidity InnateImmunity
 ecophysiology
 Bioinspiration
 Sequence NMR Permeability
 Spheniscins
 Membrane Co-imaging
 Biodiversity
 Microscopy
 Innovation
 Microorganisms

Sphéniscine (AvBD)

Héliomicine-ARD1-ETD151

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICA 2021

<p>Forces</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bonne efficacité, tolérance, sécurité • Sélectivité, rapidité d'action • Métabolisme prévisible • Multifonctions • Protocoles de synthèse standards • Présence dans l'ensemble du règne du vivant 	<p>Faiblesses</p> <ul style="list-style-type: none"> • Instabilité, sensibles aux protéases • Enclin à l'oxydation et à l'hydrolyse • Possibilité d'agrégation • t1/2 faible, élimination rapide • Disponibilité orale très limitée • Coût de production
<p>Opportunités</p> <ul style="list-style-type: none"> • Découvertes de nouvelles molécules • Optimisation de séquences. Librairies ciblées • Formulation • Conjuguées avec des thérapeutiques • Voies d'administration non parentale 	<p>Menaces</p> <ul style="list-style-type: none"> • Immunogénicité • Brevets qui tombent • Besoin d'accroître la sécurité, l'efficacité • Acquisition de résistance pour certains • Diminuer le coût de production

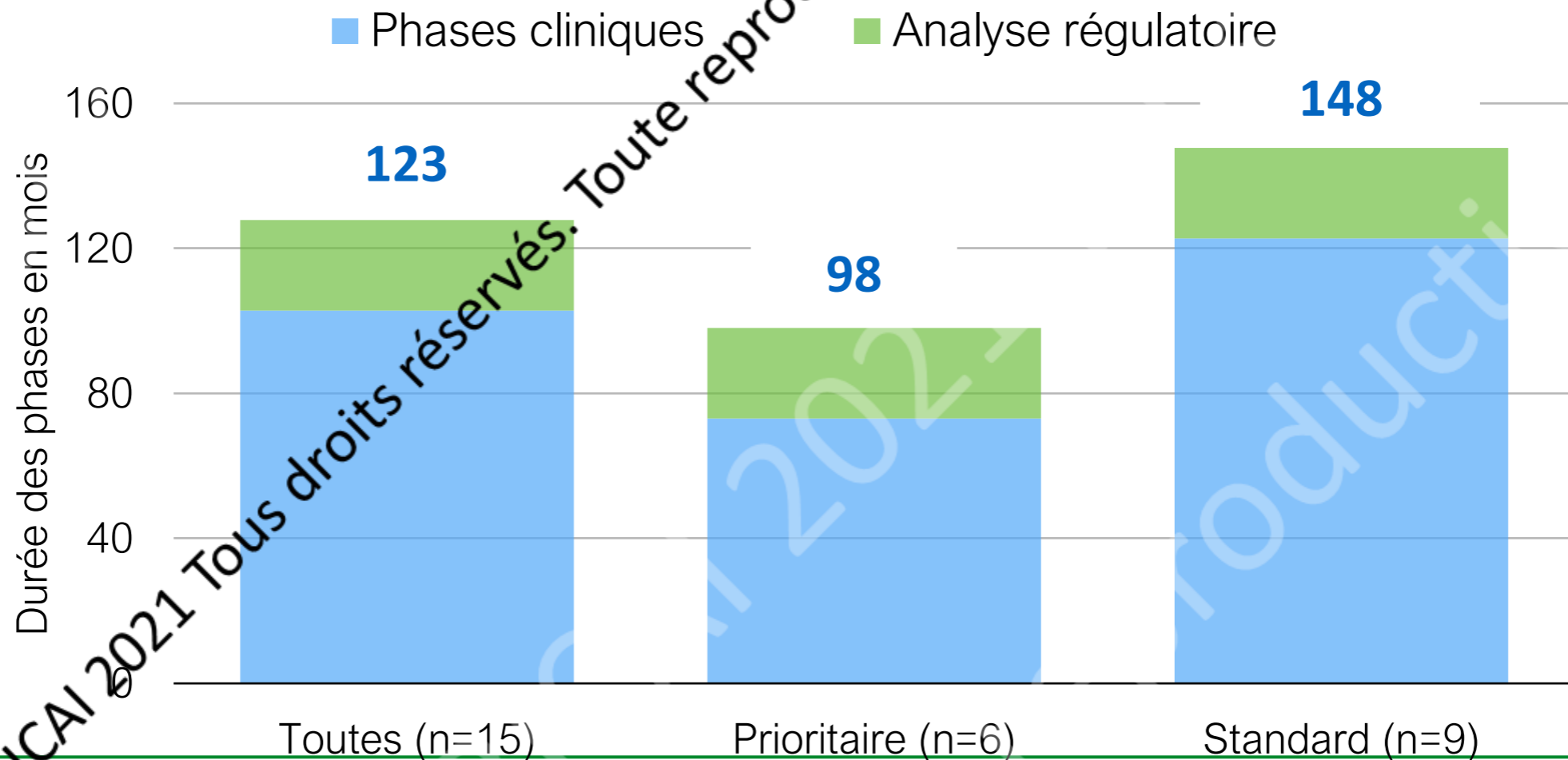
Les peptides thérapeutiques

Explorations & Exploitations

> 500 peptides (<50aa) thérapeutiques
(<http://www.peptidetherapeutics.org/>)



AstraZeneca plc., Bachem Holding, Lonza Inc, Merck & Co., Novartis AG, Novo Nordisk A/S, Sanofi

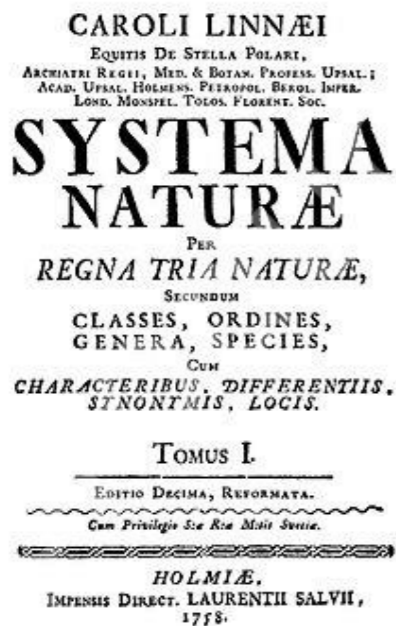


Biodiversité : source d'inspiration

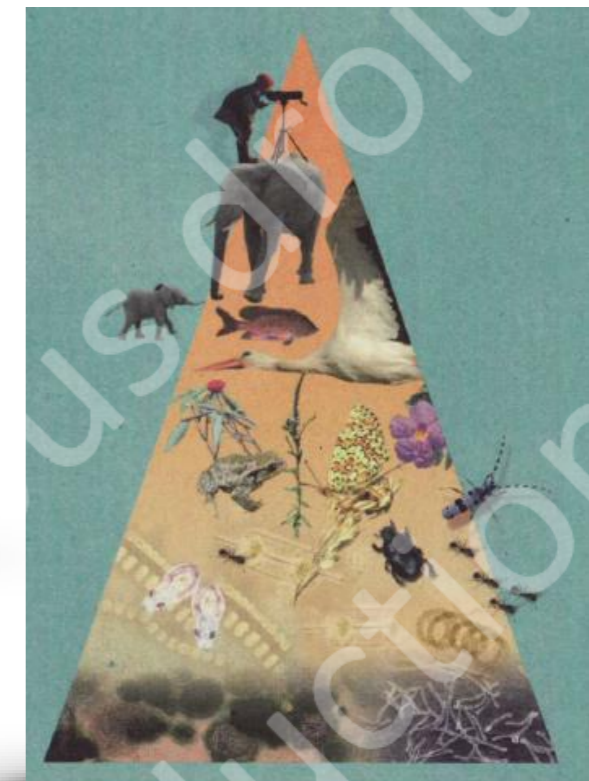


Carl Von Linné (1707 - 1778)
« Le père de la taxonomie »

6 000 plantes
4 400 espèces animales



Estimation > 1,7 million
350 000 plantes
1,3M espèces animales
à découvrir 10-100M



1 mort toutes les 3 secondes en 2050

Pas d'action actuellement signifie pas de traitement pour demain

oute repr



Merci pour votre attention !



- Antibiotics
- Antivirals
- Antifungals
- Antiparasitics

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021