

Développement de peptidomimétiques antimicrobiens et leurs perspectives dans l'industrie pharmaceutique

Stéphanie Pham

▶ **To cite this version:**

Stéphanie Pham. Développement de peptidomimétiques antimicrobiens et leurs perspectives dans l'industrie pharmaceutique. Sciences pharmaceutiques. 2017. hal-01931973

HAL Id: hal-01931973

https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01931973

Submitted on 23 Nov 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2017

FACULTE DE PHARMACIE

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 07/07/2017, sur un sujet dédié à :

Développement de peptidomimétiques antimicrobiens et leurs perspectives dans l'industrie pharmaceutique

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Stéphanie Thi Ngoc Dung PHAM**

née le 23 août 1990 à Sarreguemines (57)

Membres du Jury

Président:			
	Dr Mohamed ZAIOU	Maitre des Conférences	Faculté de Pharmacie, Nancy
Juges :			
	Dr Mihayl VARBANOV	Maitre des Conférences	Faculté de Pharmacie, Nancy
	Dr Marc DEVOCELLE	Professeur	RCSI, Dublin
	Dr Laura SUZZI	Docteur en pharmacie	ALK Abello, Varennes
	Dr Julien-Luc MASSON	Docteur en pharmacie	Nancy

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2016-2017

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Béatrice FAIVRE
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Conseil de la Pédagogie
Président, Brigitte LEININGER-MULLER
Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier
Président, Béatrice DEMORE
Commission Prospective Facultaire
Président, Christophe GANTZER
Vice-Président, Jean-Louis MERLIN
Commission de la Recherche
Président, Raphaël DUVAL

Responsable de la filière Officine	Béatrice FAIVRE
Responsables de la filière Industrie	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable de la filière Hôpital	Béatrice DEMORE
Responsable Pharma Plus ENSIC	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus ENSAIA	Raphaël DUVAL
Responsable Pharma Plus ENSGSI	Igor CLAROT
Responsable de la Communication	Marie-Paule SAUDER
Responsable de la Cellule de Formation Continue et individuelle	Béatrice FAIVRE
Responsable de la Commission d'agrément des maîtres de stage	Béatrice FAIVRE
Responsable ERASMUS	Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON
Jean-Claude BLOCK
Max HENRY
Alain MARSURA ¤
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Pierre LABRUDE
Vincent LOPPINET
Janine SCHWARTZBROD

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Mariette BEAUD
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN

Louis SCHWARTZBROD

Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT

ASSISTANTS HONORAIRES

Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Gabriel TROCKLE
Maria WELLMAN-ROUSSEAU
Colette ZINUTTI

ENSEIGNANTS	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique et Epidémiologie*
PROFESSEURS DES UNIVERSITES		
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Igor CLAROT ¤	*85*	*Chimie analytique*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique, Audioprothèse*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND	*87*	*Eau, Santé, Environnement*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*
MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS		
Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Alexandre HARLE	*82*	*Biologie cellulaire oncologique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*
MAITRES DE CONFÉRENCES		
Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Xavier BELLANGER	*87*	*Parasitologie, Mycologie médicale*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*

Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Anthony GANDIN	*87*	*Mycologie, Botanique*
Caroline GAUCHER	*86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie, Sécurité sanitaire*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Julie LEONHARD	*86/01*	*Droit en Santé*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie environnementale*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Marianne PARENT ¤	*85*	*Pharmacie galénique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Sophie PINEL	*85*	*Informatique en Santé (e-santé)*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Guillaume SAUTREY	*85*	*Chimie analytique*
Rosella SPINA	*86*	*Pharmacognosie*
Sabrina TOUCHET ¤	*86*	*Pharmacochimie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

¤ *En attente de nomination*

**Disciplines du Conseil National des Universités* :*

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

Đ' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

Đ'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

Đe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N"ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

Aux membres du Jury,

Au Président de thèse,

Je remercie Dr. Zaiou, Ph.D et Maitre des Conférences, Faculté de Pharmacie de Nancy, de m''avoir fait l''honneur d''avoir accepté la présidence de cette thèse et pour ses recommandations.

À mes co-directeurs de thèse,

J''aimerais remercier sincèrement Dr. Mihayl Varbanov, Ph.D et Maitre des Conférences, Faculté de Pharmacie de Nancy, pour avoir accepté d''être mon directeur de thèse, pour son soutien constant et ses précieux conseils tout au long de ce travail. Je le remercie pour sa patience et pour son engagement.

Je souhaite également remercier Dr. Marc Devocelle, Ph.D et Professeur associé en chimie, RCSI, Dublin, pour avoir codirigé cette thèse. Je voudrais le remercier de m''avoir fait découvrir le monde de la recherche et de m''avoir accueilli chaleureusement au RCSI. Je le remercie pour m''avoir inspiré ce sujet de thèse.

À mes juges,

Dr Laura Suzzi, Docteur en Pharmacie / Qualité Produit, Varennes.

Dr Julien-Luc Masson, Docteur en Pharmacie

Je suis reconnaissante de leur disponibilité, leur intérêt pour mon travail et pour leur analyse critique.

A ma famille,

Je souhaite remercier du plus profond de mon cœur, mes parents. Aucun mot ne pourrait exprimer ma plus grande reconnaissance. Je leur dédie cette thèse car sans eux je ne serai pas là aujourd'hui. Je les remercie pour leur soutien infini et d'avoir toujours été présents. Je vous aime plus que tout.

Je remercie mes sœurs Sylvie et Émilie, qui ont toujours été présentes pour moi et m'ont toujours soutenu dans tous mes choix. Merci d'être là quand j'en ai eu besoin! Je serais présente pour vous quoi qu'il arrive. Plus particulièrement à Sylvie, pour notre complicité et nos moments partagés, je suis fière de ton parcours aujourd'hui.

À ma petite Léana.

À ma famille au Vietnam, mes grands-parents, mes oncles et tantes, cousins et cousines mais aussi à la famille Vo et Hoffmann.

À mon chéri et sa famille. Merci d'être à mes côtés et de me soutenir.

À mes amis,

À Jérôme dit « p-dog » avec qui j'ai tout partagé dont nos milliers de fou-rires en cours et aussi en dehors.
À Pauline, ma binôme, qui a toujours été un pilier pendant ces années.
À Laura, et Anne Machet, mes toutes premières amies de Pharma et qui le resteront toujours.
À Marulk, Mamoule, Anne, Mariane, Céline
Mais aussi, Clémence, Justine, Maud, Marisa, Aurélie, Engue, Paillette, Bere
À Nadia, Cymba, Lysa, Khalid, Claire

Sans oublier les personnes qui ont croisé ma route comme Mme German, Lucile De Champs et Sharon Kime pour m'avoir soutenu professionnellement, Xavier Prugnard et Marie Staedlin pour leurs précieux conseils pour ce travail ainsi que Shailise et Benedetta, Aleea, Sixtine, et j'en oublie encore…

Table des matières

INTRODUCTION 9

1. LA RÉSISTANCE AUX THÉRAPIES ANTIMICROBIENNES ET SON IMPACT 12

1.1. Impact de la résistance aux antimicrobiens 12
1.1.1. Consommation d''antibiotiques dans le monde 14
1.1.2. Le coût économique de la résistance aux antimicrobiens 16
1.1.3. Etudes conduites pour évaluer la résistance antimicrobienne 17
1.1.4. Systèmes de santé remis en cause 22

1.2. Actions mises en œuvre et perspectives 24
1.2.1. Actions mises en œuvre par les Autorités de santé et gouvernementales 25
1.2.2. Initiatives de l''agence européenne des médicaments 26
1.2.3. Les initiatives de la Food & Drug Administration 26
1.2.4. Action du G7 27
1.2.5. Action de la commission européenne 27

1.3. Autres programmes proposés de lutte contre la résistance aux antimicrobiens ... 29

2. ALTERNATIVES DANS LA THÉRAPIE ANTIMICROBIENNE : LES PEPTIDES ET LES PEPTIDOMIMÉTIQUES 33

2.1. Les peptides antimicrobiens 34
2.1.1. Origine des peptides antimicrobiens 34
2.1.2. Relation Structure- Fonction des peptides antimicrobiens 38
2.1.3. Mécanismes d''action des peptides antimicrobiens 40
2.1.3.1. Attraction 40
2.1.3.2. Interaction membranaire 41
2.1.3.3. La lyse membranaire 44
2.1.4. Émergence de la résistance aux peptides antimicrobiens 45

2.2. Les peptidomimétiques antimicrobiens 47
2.2.1. Généralités sur les peptidomimétiques antimicrobiens 47
2.2.2. Propriétés physico-chimiques des peptidomimétiques antimicrobiens 49
2.2.3. Les peptidomimétiques antimicrobiens dans la recherche et le développement... 51

2.2.3.1. De la molécule au médicament: le screening des peptidomimétiques antimicrobiens candidats 52
2.2.3.2. La production des peptides à grande échelle 53
2.2.3.3. Procédés de développement des peptidomimétiques antimicrobiens 60
2.2.3.3.1. La substitution des acides aminés L-énantiomères naturels avec des analogues non naturels 60
2.2.3.3.2. Addition de chaines aliphatiques 60
2.2.3.3.3. Synthèse de nouveaux vecteurs peptidiques 62
2.2.3.4. Formulation des médicaments – peptidomimétiques 63
2.2.3.5. Le développement clinique 65
2.2.4. Enregistrement des peptides et peptidomimétiques antimicrobiens 68

3. LE MARCHÉ DES PEPTIDES ET PEPTIDOMIMÉTIQUES ANTIMICROBIENS 69

3.1. Propriétés thérapeutiques des peptides et peptidomimétiques: antimicrobienne, anticancéreuse et immunologique 69
3.1.1. Les peptides antibactériens et antifongiques 69
3.1.2. Les peptides antiparasitaires 70
3.1.3. Les peptides anti-cancéreux 71
3.1.4. Les peptides antiviraux 72

3.2. Le marché des peptides en quelques chiffres 73
3.2.1. Le brevet des peptides 75
3.2.2. Portefeuille des peptidomimétiques antimicrobiens 76

4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS 80

4.1. Le potentiel des peptidomimétiques antimicrobiens dans la thérapie antimicrobienne 81

4.2. Une croissance à deux vitesses 82

4.3. Le futur des peptidomimétiques antimicrobiens: ont-ils vraiment une place sur le marché de l'industrie pharmaceutique? 84

Liste des figures

Figure 1: Utilisation excessive des médicaments antimicrobiens associée à la résistance (source adapté d'Albrich *et al*, 2004) 14
Figure 2: Consommation d'antibiotiques en 2013. (Dose définie pour 1000 habitants par jour) 15
Figure 3: Volume de prescriptions d'antibiotiques dans le monde en 2013. 15
Figure 4: Coûts d'hospitalisation pour les patients atteints d'une infection *E. coli* résistantes 17
Figure 5: Comparaison du nombre de décès attribuables à la résistance aux antimicrobiens chaque année par rapport aux autres principales causes de décès. 21
Figure 6 : Exemples de vaccins existants ciblant les bactéries avec une résistance aux antimicrobiens potentiels. 29
Figure 7: Définitions. 33
Figure 8: La comparaison structurale d'un peptide (gauche) et d'un peptidomimétique (droite) 38
Figure 9: Diverses structures de peptides antimicrobiens 39
Figure 10: Exemples de peptides antimicrobiens naturels 39
Figure 11 : La cible membranaire des peptides antimicrobiens des organismes multicellulaires et leurs spécificités. 41
Figure 12: Mécanisme d'action des PAMs : modèle proposé par Shai Matsuzaki Huang (SMH) 42
Figure 13 : Ensemble de modes d'action des peptides antimicrobiens 43
Figure 14: Analyse de l'approche des forces, des aires de développement, des opportunités et des menaces des peptides antimicrobiens naturels dans leurs utilisations thérapeutiques 45
Figure 15: Résultat des applications initiales d'autorisations de mise sur le marché. (2012-2016) Source adaptée du site de l'Agence Européenne des Médicaments..... 52
Figure 16: Screening de peptidomimétiques antimicrobiens 53
Figure 17: Synthèse de peptidomimétiques antimicrobiens en phase solide. 56
Figure 18: Structure de l'acide aminé D- Arginine..... 58
Figure 19: Structure de l'acide aminé D- valine 58
Figure 20: Structures de peptidomimétiques antimicrobiens actuelles avec une puissante activité antimicrobienne. 61
Figure 21: Conformation structurelle des peptidomimétiques antimicrobiens..... 63

Figure 22: Les grandes étapes de la découverte et du développement d'un nouveau médicament. 66
Figure 23: Représentation graphique du nombre de peptides en phase préclinique et clinique en 2016. 67
Figure 24: Les classes de médicaments antirétroviraux et leurs sites d"action. 72
Figure 25: Prévision du marché global des peptides thérapeutiques (2005-2015). 75
Figure 26: Tendance des brevets des peptides thérapeutiques à partir de 1980 jusqu"à 2012. 76
Figure 27: Le "*business model*" cassé des antibiotiques. 84

Liste des tableaux

Tableau 1: Les grandes lignes de la thèse. 11
Tableau 2: Pathogènes prises en compte dans les études RAND Europe et KPMG. 18
Tableau 3: L'OMS nomme 12 bactéries qui constituent la plus grande menace pour la santé humaine. 18
Tableau 4: Plan d'action 2011 de la Commission Européenne contre les menaces croissantes de RAM contenant 12 actions pour la mise en œuvre avec l'UE et les états membres 28
Tableau 5: Ensemble des actions visant à prévenir l'émergence et le transfert des gènes dans la résistance aux antimicrobiens. 32
Tableau 6: Historique de la découverte des peptides antibiotiques antimicrobiens 36
Tableau 7: Caractéristiques des diverses structures de peptides antimicrobiens. 38
Tableau 8: Récapitulatif des différents modes d'action antimicrobiens. 43
Tableau 9: Classification des peptidomimétiques antimicrobiens 47
Tableau 10: Avantages et inconvénients des peptidomimétiques antimicrobiens 64
Tableau 11: Les peptidomimétiques antimicrobiens approuvés sur le marché par fonction et organes cibles 79
Tableau 12: Les peptidomimétiques antimicrobiens approuvés aux États Unis, Europe, et Japon..... 79

Liste des abréviations

A	
AA	Acides Aminés
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ARN	Acide RiboNucléique
ARS	Agence Régionale de Santé
ATP	Adénosine TriPhosphate.
B	
BLSE	β-lactamases à spectre étendu chez Enterobactéries
BMR	Bactéries Multi-Résistantes
C	
C3G	Céphalosporines, 3ème Génération
CDC	Centre de Contrôle et de Prévention des maladies
CLHP	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
D	
DGS	Direction Générale de la Santé
E	
ECG	Electrocardiogramme
EMA	European Medicines Agency
EGFR	Récepteur du Facteur de Croissance Epidermique
F	
FDA	Food and Drug Administration
G	
GAIN	Generating Antibiotics Incentives Now
H	
HER-2	Facteur de croissance épidermique humain liée au récepteur 2
L	
LPS	Lipopolysaccharide

M	
mCPBA	Acide meta-Chloroperoxybenzoique
mPAM	Peptidomimétique antimicrobien
N	
NIH	National Institutes of Health
O	
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONU	Organisation des Nations unies
P	
PAM	Peptide antimicrobien
PIB	Produit Intérieur Brut
PK	Pharmacocinétique
PM-PAM	Polymères Mimétiques des peptides antimicrobiens
R	
RAM	Résistance aux antimicrobiens
RCPG	Récepteur couplé aux protéines G
RCSI	Royal College Surgeons of Ireland
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
R&D	Recherche et Développement
RSA	Relation Structure-Activité
S	
SARM	*Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline
SNC	Système Nerveux Central
SIR	Stage d'initiation à la recherche
SPPS	Solid Phase Peptide Synthesis
SWOT	Strengths (forces), Weaknesses (faiblesses), Opportunities (opportunités), and Threats (menaces)
T	
TB	Tuberculose

U	
UE	Union Européenne
USA	United States of America (Etats-Unis)
V	
VAN	Valeur Actuelle Nette
VHS	Virus de l'Herpès Simplex
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine

Introduction

Depuis la découverte de la pénicilline, le premier antibiotique découvert par Alexander Fleming en 1928, on constate de plus en plus de résistances aux antibiotiques. Ceci engendre l'inefficacité des thérapies connues sur les infections d'origine bactérienne. C'est ce qu'on appelle une impasse dans l'arsenal thérapeutique. (1)

L'explosion des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) est devenue le problème principal de santé publique du 21ème siècle, et plus particulièrement en milieu hospitalier. La résistance bactérienne peut être décrite comme acquise ou naturelle. La résistance naturelle se définit tel que le patrimoine génétique de la bactérie n'est pas sensible à un antibiotique et cette caractéristique est transmise à la descendance. Certaines bactéries pathogènes se sont adaptées à l'environnement et développent une résistance acquise par mutation génétique. Cependant, elle peut être aussi provoquée par un traitement répété avec différentes classes d'antibiotiques découvertes à ce jour.(2)

Afin de surmonter cette résistance aux antibiotiques conventionnels, de nouvelles stratégies et de nouveaux agents anti-infectieux ont été développés. La diversité des PAMs dans les règnes animal et végétal suggère qu'ils ont un rôle fondamental dans l'évolution d'organismes multicellulaires complexes.(3) Les PAMs se sont révélés être de puissants antibiotiques à spectre large, qui démontrent un grand potentiel en tant que nouvel agent thérapeutique. Ce sont des médiateurs de l'immunité innée, qui est le principal mécanisme de défense non spécifique contre une infection et ce, quel que soit le micro-organisme responsable. Ils sont également actifs en éliminant les cellules anti-cancéreuses. (4) (voir section 3.1.3. Les peptides anticancéreux) Malheureusement, les PAMs naturels ou synthétiques sont très chers, et leur développement clinique est encore limité par leur toxicité potentielle, leur biodisponibilité orale limitée et leur manque de stabilité.

Cependant, ces barrières peuvent être surmontées par la modification d'une classe de peptides présentant des propriétés physicochimiques et pharmacologiques modulables : ce sont les peptidomimétiques antimicrobiens (mPAMs), nouvelle classe des PAMs. Depuis longtemps négligés comme médicament potentiel, les progrès de la recherche en chimie organique ont permis de mettre au point de nouveaux acides aminés (AA) facilitant le développement de ces mPAMs et la mise en place de nouvelles stratégies thérapeutiques. Fondamentalement, les peptides naturels constitués de polymères d'AA représentent des médiateurs chimiques essentiels au fonctionnement des processus

vitaux. Le principal bénéfice attendu des PAMs est leur capacité à mimer les peptides endogènes, tout en présentant une diversité structurelle, des meilleures propriétés physico-chimiques et pharmacologiques. Le champ d'application de ces nouveaux AA est très large. Ainsi, certaines entreprises exploitent le potentiel des peptides naturels de taille plus importante que les petites molécules chimiques des médicaments traditionnels mais plus petite que les protéines issues des biotechnologies. (5)

La question soulevée dans cette thèse est d'évaluer la place des mPAMs dans le marché pharmaceutique.

- Dans un premier temps, on peut se demander comment les mPAMs sont employés comme arme de défense contre les microorganismes.

- Dans un second temps, on s'intéressera au développement des mPAMs dans l'industrie pharmaceutique, et aux challenges qu'elle rencontre dans la recherche et le développement (R&D) ainsi qu'au portefeuille actuel des médicaments des mPAMs.

- Enfin, on discutera des solutions potentielles proposées à ce jour pour promouvoir le développement des thérapeutiques antimicrobiennes.

Tableau 1: Les grandes lignes de la thèse.

Partie I	**La résistance aux thérapies antimicrobiennes et son impact** Cette partie décrit : • L „impact de la résistance aux antibiotiques. • Les actions menées actuellement par l'industrie pharmaceutique et les autorités gouvernementales à travers deux études de cas.
Partie II	**Alternatives dans la thérapie antimicrobienne : les peptides et les peptidomimétiques** Cette partie décrit les peptides et peptidomimétiques en général : • Les origines des peptides antimicrobiens afin de comprendre leur intérêt thérapeutiques, leurs caractéristiques physico-chimiques et pharmacologiques. • Les caractéristiques générales des mPAMs avec un cas pratique d'une des techniques de synthèse qui sera brièvement exposé. Cette partie reflète un projet pilot lors de mon Stage d'Initiation à la Recherche (SIR) au sein de l'Université de médecine « Royal Surgeon of Surgeons in Ireland » (Dublin).
Partie III	**Les mPAMs et leur place dans l'industrie pharmaceutique** • Le premier point a pour but de comprendre et d'identifier les défis dont l'industrie pharmaceutique fait face dans la R&D des médicaments anti-infectieux. • Le second s'intéresse au marché des peptides et à sa place dans l'industrie pharmaceutique.
Partie IV	**Conclusions générales et discussion** Cette partie synthétisera les éléments abordés dans les parties précédentes, c'est-à-dire des perspectives et solutions proposées vis-à-vis de la situation dramatique actuelle.

1. La résistance aux thérapies antimicrobiennes et son impact

La résistance aux antimicrobiens (RAM) est devenue une problématique mondiale. La dernière grande nouvelle classe d'antibiotiques a été découverte en 1987 et l'approbation de nouvelles thérapies antimicrobiennes a chuté de huit fois depuis lors. L'investissement dans la R&D des PAMs est devenu moins attrayant pour les industriels en raison d'un retour sur investissement décroissant, par la résistance à de nouvelles thérapies antimicrobiennes et l'augmentation des restrictions sur leur utilisation. Par conséquent, le portefeuille de médicaments antimicrobiens est limité.(6)

C'est pourquoi, je vais aborder tout d'abord l'impact de la résistance bactérienne dans l'industrie pharmaceutique et enfin les actions entreprises par les autorités gouvernementales et de santé au niveau mondial.

1.1. Impact de la résistance aux antimicrobiens

L'augmentation constante des agents microbiens résistants aux traitements notamment dans les pays émergents est devenue une préoccupation de santé publique mondiale. La lutte contre cette menace, en particulier la résistance aux antibiotiques, est une action prioritaire à mener pour les agences de santé et les institutions mondiales. (7) 1 Les mutations de ces gènes peuvent produire de nouvelles capacités ou en modifier certaines. Ces nouveaux traits sont transmis à la descendance lors de la reproduction. Dans le cas des bactéries, ces gènes peuvent également être acquis «horizontalement» entre deux bactéries de la même génération par l'échange d'éléments génétiques. Si un nouveau trait permet à une bactérie de survivre, la reproduction de la lignée descendante de cette bactérie remplace, par sélection naturelle, les bactéries qui n'ont pas hérité de ce trait. (8) Par exemple, l'ampicilline, développée il y a seulement un demi-siècle, est maintenant largement toléré par de nombreuses souches de micro-organismes. Près de 100% des infections nosocomiales à *Klebsiella pneumoniae,* dans les pays en développement, sont maintenant ampicilline-résistantes. (9)

La RAM a non seulement un impact direct sur la santé humaine et animale en raison de la défaillance dans le traitement des maladies infectieuses, mais a également un coût économique lourd. La RAM est un phénomène naturel renforcé pa1r l'accumulation de facteurs, y compris l'utilisation excessive et inappropriée des médicaments antimicrobiens chez les humains et les animaux et les pratiques de contrôle des infections. Ceci conduit

à l'augmentation des coûts de soins de santé, des séjours hospitaliers prolongés, des échecs de traitement et surtout un nombre significatif de décès.

Pourquoi la RAM est-elle une menace sérieuse pour la santé publique?

En termes de chiffres, dans l'Union Européenne (UE), 25 000 patients décèdent chaque année d'infections provoquées par des bactéries multi-résistantes. La consommation mondiale d'antibiotiques en médecine humaine a augmenté de près de 40% entre 2000 et 2010.(10) Aux Etats-Unis, plus de deux millions de personnes par an font l'objet d'infections résistantes aux antibiotiques d'après les données des « Centers for Disease Control and Prevention » (2009-2011).

Les effets néfastes de la RAM se manifestent à travers le monde. Les résistances aux antimicrobiens comptabilisent actuellement au moins 50 000 morts chaque année en Europe et aux États-Unis, et plusieurs centaines de milliers d'autres décèdent dans d'autres régions du monde.

De plus, il y a un problème d'approvisionnement de nouvelles thérapies antimicrobiennes et une accumulation non contrôlées des résistances aux antimicrobiens. En effet, la provision de nouveaux médicaments est insuffisante pour faire face à l'augmentation de la résistance aux antimicrobiens; les médicaments plus anciens sont utilisés plus largement et les microbes évoluent pour leur résister. Dans le même temps, la demande pour ces médicaments est très mal gérée: d'énormes quantités d'antimicrobiens, en particulier des antibiotiques sont administrés à tort à de nombreux patients, tandis que d'autres qui en ont besoin n'y ont pas accès.(11)

1.1.1. Consommation d'antibiotiques dans le monde

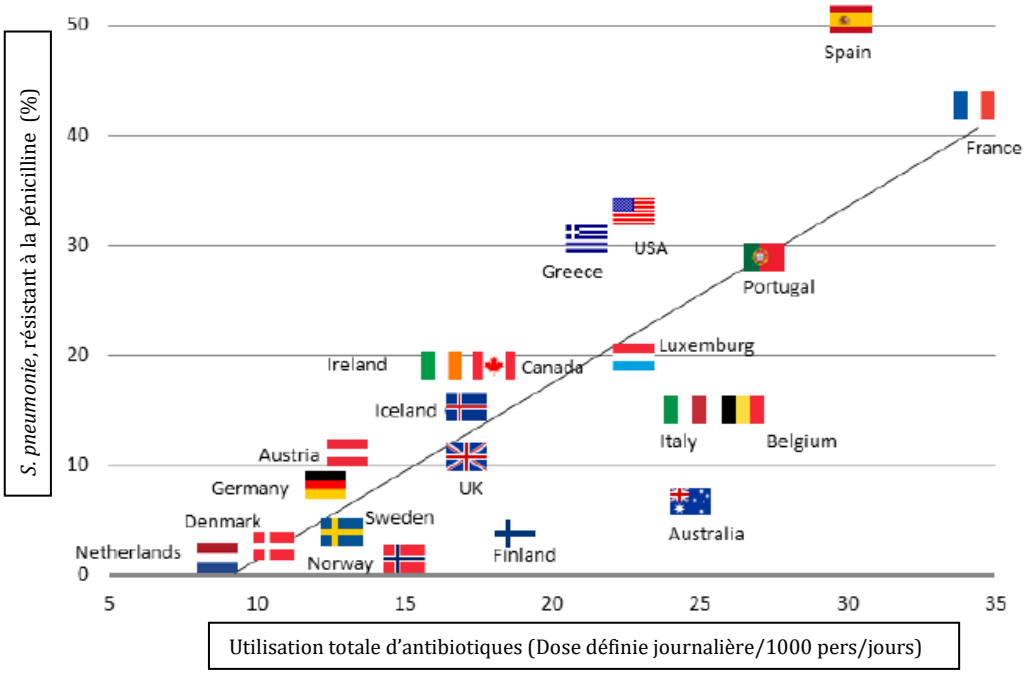


Figure 1: Utilisation excessive des médicaments antimicrobiens associée à la résistance (source adapté d'Albrich *et al*, 2004)

Il existe une grande variabilité de consommation d'antibiotiques dans les pays de l'Organisation de coopération et de développement économiques[1] (OCDE). (Figure 1) La France est le pays le plus grand consommateur d'antibiotiques suivi par l'Espagne et le Portugal. La consommation d'antibiotiques en 2013 est exprimée en dose définie journalière qui est la moyenne de la dose maintenue présumée par jour pour un médicament utilisé dans son indication principale chez l'adulte. (Figure 2 et 3)

[1] L'Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OCDE) comprend 35 pays Membres à travers le monde, de l'Amérique du Nord et du Sud à l'Europe et l'Asie-Pacifique afin de promouvoir les politiques qui amélioreront le bien-être économique et social partout dans le monde.



Figure 2: Consommation d'antibiotiques en 2013. (Dose définie pour 1000 habitants par jour)

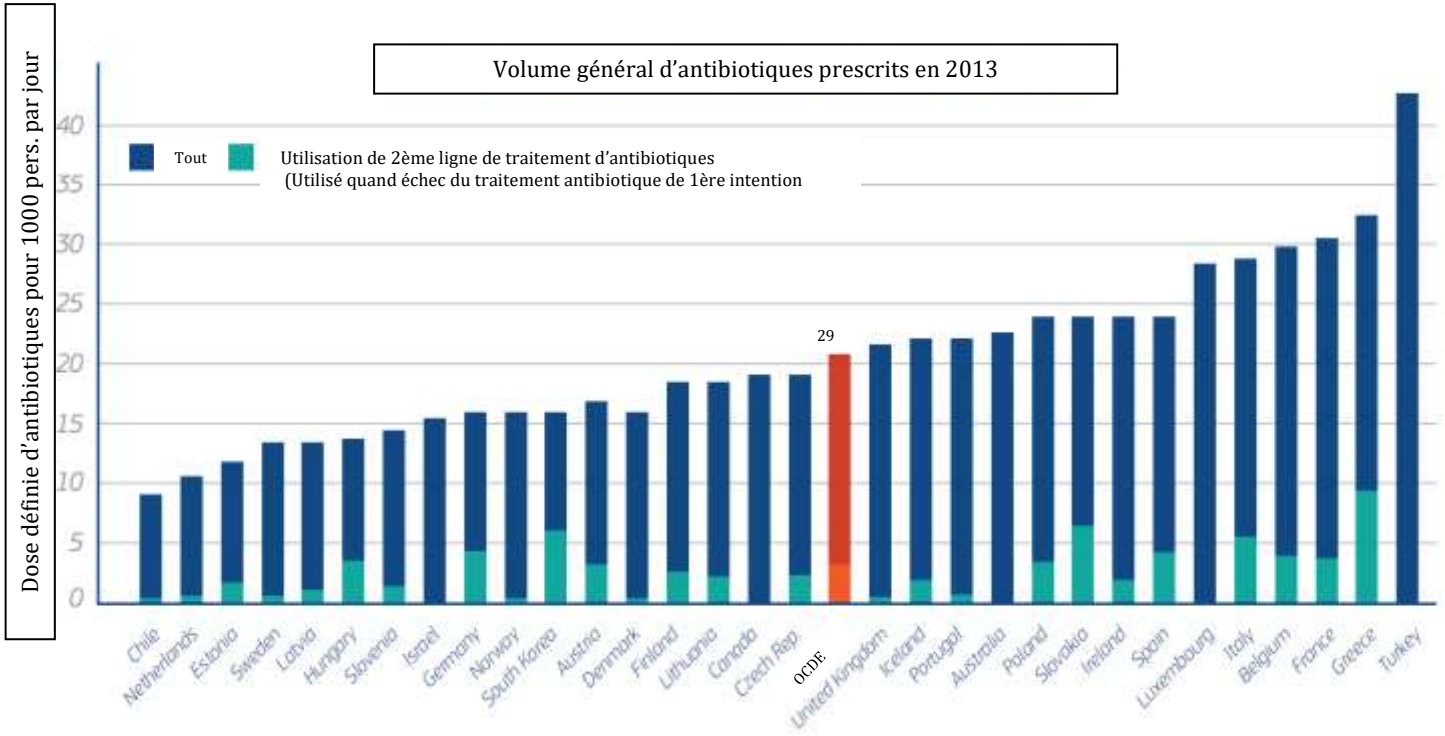


Figure 3: Volume de prescriptions d'antibiotiques dans le monde en 2013.

Les pathogènes résistants se propagent à travers le tourisme mondial, le transfert des patients entre les établissements de santé à l'intérieur et à l'extérieur de l'UE, et par le commerce des aliments et des animaux. Elle représente un défi sociétal économique mondial qui ne peut être abordé par les pays ou les administrations publiques seuls. (12)

En juin 2016, la Commission Européenne a publié les résultats du baromètre Euro (analyse de l'opinion publique) sur la résistance aux antimicrobiens. La principale conclusion de ce baromètre Euro est que la connaissance et les éléments collectés sur la RAM dans l'UE restent faibles.(13)

1.1.2. Le coût économique de la résistance aux antimicrobiens

Le coût économique de la RAM représente :

- 1,5 milliards € par an des coûts de santé supplémentaires et de la perte de la productivité dues à des bactéries multi-résistantes dans l'UE.
- 2,9 milliards USD d'ici 2050 de pertes cumulées dans les pays de l'OCDE.
- 10 000 - 40 000 USD de frais d'hospitalisation supplémentaires par patient dans les pays de l'OCDE.

Tumbarello *et al* ont mise en évidence les différents facteurs engendrant des dépenses de santé suite à une infection à *Escherichia coli* résistante aux antibiotiques tels que les *β*-lactamases à spectre étendu chez Enterobactéries (BLSE).
Plus de la moitié des dépenses supplémentaires est destinée à couvrir les coûts associés aux soins médicaux. Par exemple, les services de soutien associés à l'hospitalisation des patients correspondent à 13% du coût alors que les tests de diagnostic supplémentaires (test de laboratoires et imagerie) correspondent à 12%. La pharmacie représente moins de 2% des couts additionnels. D'autres services principalement pour couvrir les coûts additionnels sont estimés à environ 20%. En conclusion, pour un patient atteint d'une infection bactérienne à *E. coli* résistante aux **BLSE**, le cout d'hospitalisation supplémentaire représente 6000 USD par rapport à un patient atteint d'une infection à *E. coli* non-résistante aux **BLSE** (14) (Figure 4)

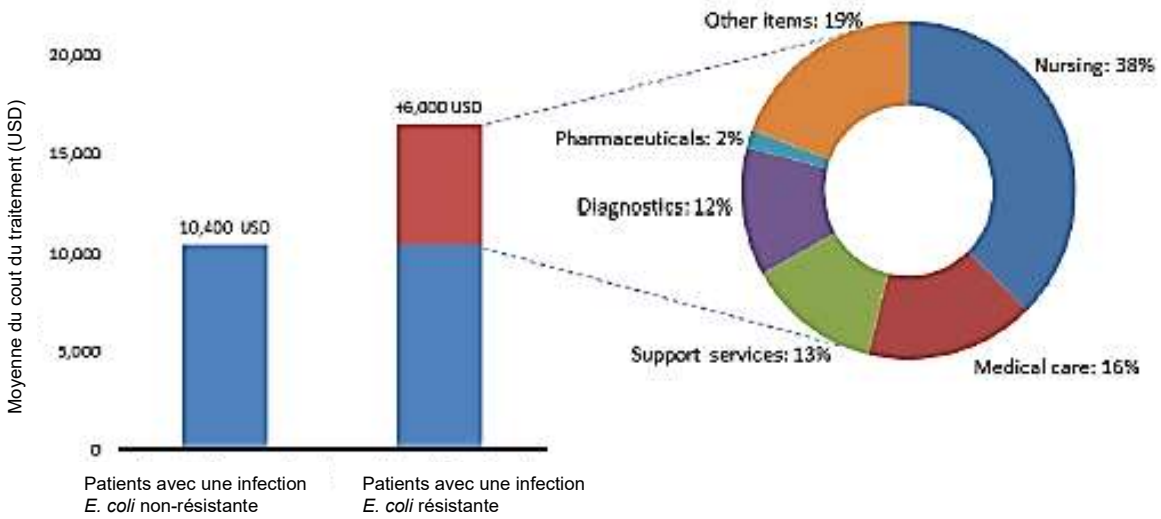


Figure 4: Coûts d'hospitalisation pour les patients atteints d'une infection *E. coli* résistantes

A la demande du premier ministre anglais, deux études ont été kejété publié pour évaluer l'"impact de la résistance antimicrobienne au niveau mondial et démontrer les conséquences économiques si aucune action n"est menée contre la RAM. (10)

1.1.3. Etudes conduites pour évaluer la résistance antimicrobienne

Deux équipes de recherche multidisciplinaire, RAND Europe et KPMG, ont conduit une évaluation sur l'impact futur de la RAM jusqu"en 2050 dans 156 pays. Les deux équipes de recherche ont estimé qu"une augmentation de la résistance affecterait la population active en termes de mortalité (rapport entre le nombre de malades par an et la population totale moyenne sur une période donné dans un territoire donné) et morbidité (nombre de malades par an rapporté à une population), et son impact sur la production économique globale.

Ces études comprenaient à la fois des infections nosocomiales et communautaires, compte tenu des variabilités dans les pays développés et les pays en voie de développement. Dans le tableau 2 sont décrits les 3 pathogènes pris en compte dans ces études avec une résistance à des antibiotiques spécifiques. En plus, les maladies bien connues et répandues suivantes ont également été étudiées. Cette sélection était basée sur la disponibilité des des taux d'infections actuels et de la RAM.

Tableau 2: Pathogènes prises en compte dans les études RAND Europe et KPMG.

Les bactéries qui montrent déjà un profil différent de résistance	**Les pathogènes avec de sérieux problèmes de santé publique**
Klebsiella pneumonie (C3G résistant)	Virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (1/2)
Escherichia coli (C3G résistant)	*Mycobacterium tuberculosis* Tuberculose (TB)
Staphylococcus aureus (SARM résistant)	*Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax* Paludisme (appelé aussi Malaria)

Les bactéries, *Klebsiella pneumonie*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus,* ont été sélectionnées à partir d'un plus grand groupe de bactéries que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a mis en évidence comme étant une des plus grandes préoccupations de santé publique.(15) (Tableau 3)

Tableau 3: L'OMS nomme 12 bactéries qui constituent la plus grande menace pour la santé humaine.

Priorité	**Bactéries**
Critique	*Acinetobacter baumannii*, résistant aux carbapenemes *Pseudomonas aeruginosa*, résistant aux carbapenemes *Enterobacteriaceae*, résistant aux carbapenemes, BLSE
Elevée	*Enterococcus faecium*, résistant à la vancomycine *Staphylococcus aureus*, résistant à la méthicilline et à la vancomycine *Helicobacter pylori*, résistant à la clarithromycine *Campylobacter* spp., résistant aux fluoroquinolones *Salmonellae*, résistant aux fluoroquinolones *Neisseria gonorrhoeae*, résistant à la cephalosporine et aux fluoroquinolones
Moyenne	*Streptococcus pneumoniae*, penicilline non susceptible *Haemophilus influenzae*, résistant à l'ampicilline *Shigella* spp., résistant aux fluoroquinolones

Cependant, ces études n'estiment qu'une partie de l'impact de la RAM pour deux raisons principales :

- Tout d'abord, en raison du manque de données pour cette recherche initiale, les études ne portaient que sur un sous-ensemble de bactéries résistantes à des antibiotiques spécifiques. Les deux études ont été entravées par le manque de

données fiables, en particulier en ce qui concerne les infections bactériennes. En conséquence, elles sous-estiment probablement le coût réel de la RAM.

- Deuxièmement, malgré la variabilité des systèmes de santé et des systèmes politiques et économiques de chaque pays, les résultats ne tiennent compte que de son impact sur le PIB mondial.

Méthodologie RAND Europe

L'équipe de recherche RAND Europe a développé un modèle théorique en utilisant un ensemble d'équations caractérisant les interactions économiques des entreprises, du "*business*" et des consommateurs. Ce modèle divise le monde en cinq régions géographiques pour tenir compte des différences de systèmes de soins de santé à travers le monde et les pratiques de prescription des antibiotiques. Ce modèle a été utilisé pour explorer les différents scénarios d'ici 2050, et pour voir quels seraient les effets de la RAM sur l'économie mondiale. (16)

L'étude s'est concentrée sur deux facteurs:
1. Augmentation de la mortalité - car les décès attribuables à la RAM réduisent définitivement la taille de la population en âge de travailler.
2. Augmentation de la morbidité - car les périodes de maladie prolongées réduisent temporairement la taille de la main-d'œuvre mondiale et peuvent, dans des cas graves, entraîner des réductions permanentes de l'efficacité du travail (productivité).

- Scenario

Le scénario RAND Europe a modélisé ce qui se passerait si le taux de croissance des pathogènes résistants aux antibiotiques augmentait de 100% après 15 ans et si le nombre d'infections était maintenu constant. La mortalité a été modélisée en fonction des estimations des niveaux de résistance en 1950, période à laquelle aucun traitement antipaludéen n'était utilisé.

- Mortalité et morbidité provoquées par les différents agents pathogènes

RAND Europe a utilisé des données historiques issues pour évaluer la gravité de la mortalité et de la morbidité sans traitement adéquat. Cette approche fournit une estimation de la mortalité et la morbidité exprimée en temps de travail perdu pour cause d'arrêt maladie.

- Taux d'incidence des infections

Grâce aux données, RAND a calculé la probabilité de contracter une infection nosocomiale aujourd'hui. Ils ont utilisé les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS)[2] pour calculer le nombre moyen de séjours hospitaliers dans divers pays pour obtenir une estimation du nombre d'infections nosocomiales dans chaque région.

- Conclusions de l'étude

L'étude de RAND Europe a démontré que le fait de retarder le développement d'une résistance largement répandue de 10 ans permettrait d'économiser entre 60 et 100 milliards USD de la production économique. En outre, il est attendu que le PIB mondial soit inférieur de 0,5% d'ici 2020 et inférieur de 1,4% d'ici 2030 avec une estimation de plus de 100 millions de personnes qui décèderont.

Méthodologie KPMG

- Scenario

Le scénario KPMG se penche sur ce qui se passerait si la résistance aux antibiotiques augmentait de 40% par rapport à aujourd'hui et si le nombre d'infections doublaient. Ce qui conduirait à une augmentation de la durée d'infection et à une augmentation du taux de transmission. Pour le paludisme, KPMG regroupe les pays en fonction de leur taux de résistance aux antibiotiques en sept zones géographiques et suppose que dans les régions sensibles, tous les pays avec une faible incidence verraient leur taux d'infections augmenter. Pour le calcul de la mortalité et de la morbidité, KPMG suppose que le traitement de première ligne échouerait.

- Mortalité et morbidité provoquées par les différents agents pathogènes

Les chercheurs de l'équipe KPMG ont utilisé les données actuelles des taux de souches résistantes aux antibiotiques pour les patients atteints d'infections résistantes comme *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), les souches d'*E. coli* et *K. pneumoniae* résistants à la troisième génération des céphalosporines (C3G). Pour la tuberculose et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), ils ont utilisé les taux de résistance publiés dans la base de données de l'OMS. (Rapport de l'OMS sur la résistance virale pour le VIH 2016-2021 publié en avril 2016)

[2] L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est l'autorité directrice dans le domaine de la santé des travaux ayant un caractère international au sein du système des Nations Unies.

- Taux d'incidence des infections

KPMG applique le taux d'hospitalisation européen pour les infections nosocomiales. Les taux d'infection communautaire ne sont pas disponibles. KPMG a utilisé des chiffres sur la base de l'Europe qui sont en moyenne inférieurs au monde, cette analyse est susceptible de sous-estimer les vrais taux d'infections.

- Conclusions de l'étude :

KPMG a examiné ce qui se passerait si les taux d'infection doublaient. Les résultats ont montré que l'augmentation des taux d'infections seule pourrait induire 150 millions de décès prématurés et une réduction du PIB mondial de 55 milliards USD d'ici 2050.

Résultats des deux études RAND Europe et KPMG :

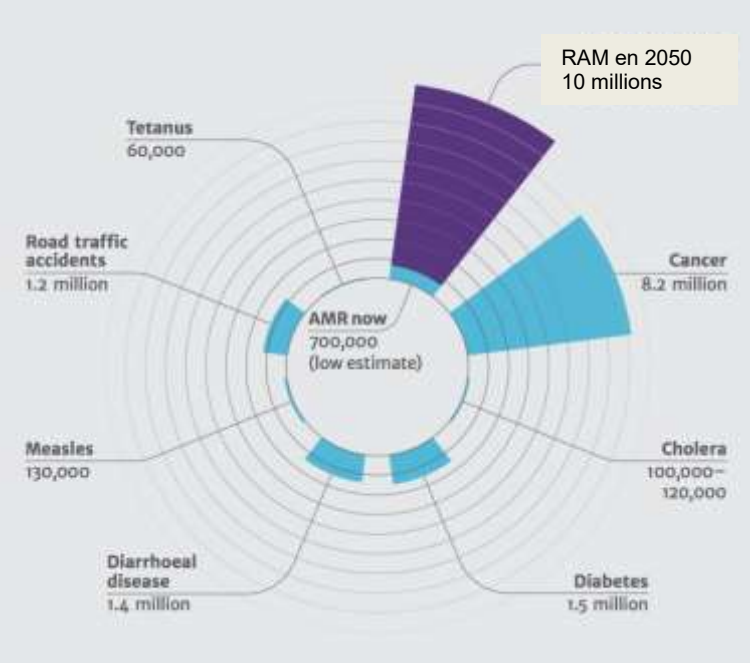


Figure 5: Comparaison du nombre de décès attribuables à la résistance aux antimicrobiens chaque année par rapport aux autres principales causes de décès.

Les résultats des études menées par RAND Europe et KPMG ont montré que si le taux de résistance actuel des pathogènes augmentait de 40%, le nombre de décès attribuable à la RAM par an s'élèverait à 10 millions entre 2015 et 2050. Seulement 0.7 million de ces décès surviendrait en Amérique du Nord ou en Europe avec un large nombre de décès en Afrique et en Asie. (Figure 5).

Leurs résultats prévoient que dans le cas d'une résistance laissée sans contrôle, la production mondiale diminuerait entre 2% et 3,5%, phénomène qui coûterait jusqu'à 100 milliards USD au niveau mondial. (16)
Les deux études RAND Europe et KPMG montrent également un impact économique différent pour chacune des infections résistantes considérées. *E. coli*, le paludisme et la tuberculose sont les principales variables des résultats des études. La résistance au paludisme conduit au plus grand nombre de décès, tandis que *E. coli* est la plus grande cause de décroissance du PIB de moitié de l'impact économique mondiale d'après les résultats de RAND Europe.

Les deux équipes RAND Europe ont connu des problèmes importants avec la collecte des données en raison de l'absence de sources d'informations cohérentes sur le nombre d'infections bactériennes résistantes aux antibiotiques à l'échelle mondiale. Les effets de la résistance au paludisme ont été plus difficiles à prévoir que pour les autres pathogènes, en raison des interactions plus complexes entre la résistance aux médicaments antipaludéens, les taux d'incidence et de transmission du pathogène.

Cela démontre la nécessité urgente d'améliorer la surveillance de la marée montante des infections résistantes aux médicaments. Ceci est aggravé par le fait que la variation régionale est beaucoup plus grande notamment dans certains pays à risque, notamment l'Inde, le Nigeria et l'Indonésie (paludisme), et la Russie (TB). Pour les pays de l'OCDE, la perte cumulée de la production économique en 2050 représentera entre 20 et 35 milliards de dollars.

1.1.4. Systèmes de santé remis en cause

Une des plus grandes inquiétudes au sujet de la RAM est que les systèmes de santé dépendent fortement des antibiotiques ce qui pourrait les remettre en question.

Dans le cas d'interventions médicales avec gestes chirurgicaux invasifs, les patients reçoivent des antibiotiques à titre prophylactique pour réduire le risque d'infections bactériennes. Il en est de même dans le cas de chimiothérapie et de port de prothèse. Les traitements modernes contre le cancer diminuent souvent les défenses du système immunitaire des patients, ce qui les rend plus susceptibles aux infections. Par conséquent, sans antibiotiques efficaces pour prévenir ou traiter l'infection, la chimiothérapie deviendrait une proposition beaucoup plus risquée. Quatre domaines d'intervention médicale qui sont

devenus entièrement routiniers dans de nombreuses régions du monde mais qui dépendent de la disponibilité d'antibiotiques efficaces ont été examinés dans la revue sur la résistance antimicrobienne (10): les césariennes représentent environ 2% au PIB mondial, les substituts d'articulations ajoutent environ 0,65%, les médicaments contre le cancer plus de 0,75% et les transplantations d'organes ajoutent environ 0,1%. Ces interventions contribuent à près de 4% du PIB du monde, d'une valeur au moins 120 milliards USD entre aujourd'hui et 2050.

De plus, la surconsommation et la mauvaise utilisation des antimicrobiens sont facilitées dans de nombreux pays par leur accessibilité sans ordonnance. Dans de nombreux autres pays, les dispensions d'antibiotiques ne sont pas réglementées et sont disponibles gratuitement sans ordonnance. Ce manque de réglementation entraîne une accessibilité facilitée aux antibiotiques, une utilisation excessive ou inappropriée et peu coûteuse. La capacité d'acheter ces produits en ligne les a également rendus accessibles dans les pays où les antibiotiques sont réglementés. Les antibiotiques incorrectement prescrits contribuent également à l'augmentation de bactéries résistantes. Des études menés par Bergmans *et al* (17) et Kollef *et al* (18) ont montré que l'indication du traitement, le choix de l'agent ou la durée de la thérapie antibiotique est incorrecte dans 30% à 50% des cas. Même si les cas de mauvaises pratiques de prescription varient considérablement entre les pays, ces questions sont aggravées par de grandes quantités de produits contrefaits et de qualité inférieure imprégnant les marchés pharmaceutiques dans certaines régions. (19)

Le développement de nouveaux antibiotiques par l'industrie pharmaceutique, une stratégie qui a été efficace pour lutter contre les bactéries résistantes dans le passé, s'est essentiellement ralenti en raison des obstacles économiques et réglementaires. Parmi les 18 plus grands laboratoires pharmaceutiques qui produisent les médicaments antimicrobiens, 15 ont abandonné l'antibiotique. (20) Les fusions entre les entreprises pharmaceutiques ont également considérablement réduit le nombre et la diversité des équipes de recherche. La recherche d'antibiotiques menée dans le milieu universitaire a été réduite en raison des réductions de financement dues à la crise économique.(21) Le développement d'antibiotiques n'est plus considéré comme un investissement économiquement judicieux pour l'industrie pharmaceutique. Étant donné que les antibiotiques sont utilisés pendant des périodes relativement courtes et sont souvent curatifs, ils ne sont pas aussi rentables que les médicaments qui traitent les maladies chroniques, comme le diabète, les troubles psychiatriques, l'asthme ou le reflux gastro-œsophagien. Une analyse coût-bénéfice par le Bureau de l'Économie de la santé à Londres a calculé que la valeur actuelle nette (VAN) d'un nouvel antibiotique n'est que d'environ 50 millions de dollars, comparativement à

environ 1 milliard de dollars pour un médicament utilisé pour traiter une maladie neuromusculaire.(21)

Un autre facteur qui freine le développement économique des antibiotiques est le coût relativement faible des antibiotiques. Les antibiotiques plus récents sont généralement évalués à un maximum variant entre 1000 $ et 3000 $ par traitement par rapport à la chimiothérapie anticancéreuse qui coûte des dizaines de milliers de dollars. En outre, les microbiologistes et les spécialistes des maladies infectieuses ont recommandé une utilisation d'antibiotiques restreinte. Par conséquent, une fois qu'un nouvel antibiotique est commercialisé, les médecins - plutôt que de le prescrire immédiatement - gardent ce nouvel agent en réserve pour les pires cas et continuent à prescrire des agents plus anciens qui ont montré une efficacité comparable. Cette pratique conduit à une utilisation réduite de nouveaux antibiotiques et à un retour sur investissement diminué.

En raison de ces facteurs, de nombreuses grandes entreprises pharmaceutiques craignent un manque potentiel de retour sur investissements[3] nécessaires pour relancer la recherche et le développement d'un nouvel antibiotique. Bien que l'impact économique soit immense, il ne fait aucun doute que les avantages pour la société seront plus grands que l'investissement. Il peut être résolu si des mesures sont prises collectivement.

1.2. Actions mises en œuvre et perspectives

Pourquoi les entreprises devraient investir dans un produit dont l'utilisation est activement limitée et avec un faible retour sur investissement ? En effet, des solutions de crise pourraient être envisagées et sont encore en discussion.

Les questions soulevées sont les suivantes : comment pouvons-nous améliorer le mode d'utilisation des médicaments antimicrobiens pour réduire la hausse de la résistance ? Comment pouvons-nous stimuler le développement de nouveaux médicaments antimicrobiens ?

Dans cette partie sera décrite la nécessité d'une action internationale cohérente avec pour la mise en place d'une réglementation des médicaments.

[3] Le retour sur investissement permet de comparer des investissements en prenant en compte l'argent investi et l'argent gagné (ou perdu). Il permet d'orienter ses choix en matière d'investissements pour choisir le plus rentable.

Les actions menées dans la lutte contre la résistance aux antimicrobiens se sont concentrées sur les résistances aux antibiotiques. A ce jour, les antibiotiques sont des médicaments matures sur le marché et représentent la seule thérapie antimicrobienne établie pour lutter contre les infections bactériennes.

C'est pourquoi les actions mondiales menées par les Autorités de santé et gouvernementales sont principalement des plans d'actions d'alerte sur les antibiotiques car les alternatives antimicrobiennes aujourd'hui sont encore limitées sur le marché (voir partie 3 „Le marché des peptides et peptidomimétiques antimicrobiens") et qu'il y a un besoin urgent de surmonter les infections liées aux bactéries multiresistantes.

1.2.1. Actions mises en œuvre par les Autorités de santé et gouvernementales

Les biotechnologies représentent une opportunité pour le développement de produits innovants. Une considération primordiale dans la régulation des Autorités de Santé et gouvernementales est de veiller à ce que l'innovation ne soit pas freinée mais aussi que le public soit protégé contre les produits potentiellement dangereux ou inefficaces.

Le rythme intensif des découvertes de nouvelles technologies ou de médicaments innovantes a créé des difficultés importantes pour l'Agence de Santé aux États-Unis, la Food and Drug Administration (FDA). En effet, pour commercialise un produit ou médicament, il requiert l'approbation rapide pour la mise sur le marché par les régulateurs. En effet, tout retard réglementaire important dans l'introduction de nouveaux produits innovants pourrait entraîner une obsolescence de ces produits avant même qu'ils atteignent le marché des consommateurs. En outre, la propagation rapide de nombreuses maladies, telles que le SIDA, a exercé une énorme pression sur la FDA pour accélérer l'approbation des médicaments anti-VIH.

Une étude a comparé les exigences et les procédures réglementaires pour obtenir l'approbation et la commercialisation des produits de la biotechnologie par la Commission Européenne (CE) et la FDA. Les produits de la biotechnologie sont approuvés plus rapidement dans la CE que les États-Unis. Les clauses d'exclusivité de marché pour les produits issus de la biotechnologie vont de 6 à 10 ans de la CE par rapport à 7 ans pour les produits traitant des maladies orphelines aux États-Unis. (104)

1.2.2. Initiatives de l'agence européenne des médicaments

La lutte contre la résistance des bactéries aux antimicrobiens, en particulier la résistance aux antibiotiques, est une priorité pour l'Agence européenne des médicaments (« *European Medecines Agency* » ou EMA qui évalue le contenu scientifique d'un dossier d'autorisation sur le marché d'un médicament). Un pilier central de la stratégie de l'EMA pour lutter contre la résistance aux antimicrobiens est de stimuler le développement de nouveaux antibiotiques qui ne seront pas susceptibles à la RAM. En janvier 2012, l'agence a mis à jour ses lignes directrices pour les entreprises qui développent des antibiotiques sur la façon de réaliser des études afin de tester les avantages et les risques de ces médicaments. En Novembre 2013, l'Agence a collaboré avec la Commission Européenne (CE) , institution qui approuve les médicaments sur le marché européen, pour discuter des options réglementaires dans l'approbation de nouveaux antibiotiques et les mesures qui pourraient être prises pour accroître l'utilisation appropriée des antibiotiques actuels.

L'EMA soutient également l'exploration de nouvelles options thérapeutiques pour les infections causées par les bactéries multirésistantes. (22)

En médecine humaine, l'EMA se concentre sur la promotion de l'utilisation prudente des traitements antimicrobiens, en soutenant le développement de nouveaux antibiotiques et en encourageant de nouvelles options thérapeutiques comme les PAMs.(23)

1.2.3. Les initiatives de la Food & Drug Administration

Selon le communiqué de Margaret A. Hamburg, M.D., commissionnaire de la U.S. FDA, le Centre de Contrôle et de Prévention des maladies (CDC) a évalué que chaque année au moins 2 millions de patients sont atteints d'infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques et dont 23 000 décèdent. Pour répondre au besoin d'antibiotiques efficaces, la FDA et l'Institut National de Santé[4] ou "National Institutes of Health" (NIH) ont travaillé conjointement sur deux points : un programme qui faciliterait la conduite des essais cliniques en établissant les principaux obstacles techniques et financiers qui se posent devant ceux-ci; et les approches novatrices pour apporter de nouveaux produits sur le marché. (24)

A l'heure actuelle, la FDA a mis en œuvre la loi « *Generating Antibiotics Incentives Now*» (GAIN), pour promouvoir le développement de médicaments antibactériens et antifongiques. Trois médicaments désignés ont été approuvés peu après sa mise en application en 2014: dalbavancine, antibiotique glycopeptide en mai 2014, tedizolid phosphate, antibiotique de la

[4] Agence gouvernementale des Etats-Unis responsable pour la recherche biomédicale et de la santé publique.

classe des oxazolidinones en juin 2014 et oritavancine, antibiotique glycopeptide, en août 2014. Cette initiative est prometteuse pour les industriels qui veulent investir dans different les peptides thérapeutiques.

1.2.4. Action du G7

Les pays du G7 (Canada, France, Allemagne, Italie, Japon, la Grande Bretagne et les Etats-Unis), avec la CE, se sont profondément engagés dans la lutte contre la RAM. Au niveau national, tous les pays du G7 ont élaboré des politiques spécifiques au renforcement des systèmes de surveillance et de suivi pour augmenter la détection précoce des thérapies antimicrobiennes et la surveillance de leur utilisation. Au niveau mondial, seulement 25% des pays ont mis en œuvre une politique nationale pour lutter contre la RAM et moins de 40% des pays ont mis en place des programmes de contrôle et de prévention des infections. (25)

1.2.5. Action de la commission européenne

Au fil des années, la CE a approuvé des initiatives phares dans la lutte contre la résistance aux antimicrobiens. Elle a adopté un plan d"action en 2011 (Tableau 4) :

Tableau 4: Plan d'action 2011 de la Commission Européenne contre les menaces croissantes de RAM contenant 12 actions pour la mise en œuvre avec l'UE et les états membres (20)

A. Utilisation appropriée des antimicrobiens	
Action n ° 1	Renforcer la promotion de l'utilisation appropriée des antimicrobiens en médecine humaine dans tous les États membres
Action n ° 2	Renforcer le cadre réglementaire sur les médicaments vétérinaires et des aliments médicamenteux pour les animaux.
Action n ° 3	Introduire des recommandations pour une utilisation prudente en médecine vétérinaire, y compris les rapports de suivi des infections microbiennes.
B. Prévenir des infections et leur expansion	
Action n ° 4	Renforcer la prévention et le contrôle des infections dans les établissements de soins de santé.
Action n ° 5	Adoption d'une proposition de loi sur la santé animale dans l'UE.
C. Développer de nouveaux antimicrobiens ou des alternatives pour un traitement efficace	
Action n ° 6	Promouvoir, dans une approche par étapes, les efforts de recherche et de développement sans précédent de collaboration pour apporter de nouveaux antibiotiques pour les patients.
Action n ° 7	Promouvoir les efforts visant à analyser la nécessité de nouveaux antibiotiques en médecine vétérinaire.
D. Collaborer avec des partenaires internationaux pour contenir les risques de propagation de la RAM dans le cadre du commerce	
Action n ° 8	Mettre en place et / ou renforcer les engagements multilatéraux et bilatéraux pour la prévention et le contrôle de la RAM dans tous les secteurs.
E. Suivi et surveillance	
Action n ° 9	Renforcer les systèmes de surveillance de la RAM et de la consommation d'antimicrobiens en médecine humaine.
Action n ° 10	Renforcer les systèmes de surveillance de la RAM et la consommation d'antimicrobiens en médecine animale.
F. Recherche et Innovation supplémentaires	
Action n ° 11	Renforcer les efforts de recherche et d'innovation.
G. Communication, éducation et formation	
Action n ° 12	Communication, éducation et formation: enquête et recherche comparative sur l'efficacité

1.3. Autres programmes proposés de lutte contre la résistance aux antimicrobiens

Différents programmes ont montré leur efficacité pour la rationalisation de la consommation d'antimicrobiens :

- **Les programmes de « Stewardship »** : campagne mondiale de sensibilisation du et pour le personnel de santé sur le problème de la résistance aux médicaments. La priorité serait d'engager des experts de l'industrie, et des organisations non-gouvernementales afin de soutenir une campagne mondiale urgente sur la RAM.

- **Les programmes de vaccination** pour promouvoir l'utilisation des vaccins et des alternatives. Les vaccins peuvent prévenir les infections et par conséquent abaisser la demande de traitements médicamenteux, ce qui réduit l'utilisation d'antimicrobiens et ainsi ralenti la croissance de la RAM. (Figure 6)

		Maladies	Pathogènes
Vaccins existants	existing vaccines	Cholera	*V. cholerae*
		Diphtheria	*C. diptheria*
		Pneumococcal disease	*S. pneumoniae*
		Meningitis	*N. meningitidis*
		Meninigitis, pneumonia, epiglottis	*H. influenzae*
		Tetanus	*C. tetani*
		Meningitis, bacteremia/sepsis, middle ear infections	*S. pneumoniae*
		Typhoid fever	*S. typhi*
		Whooping cough (pertussis)	*B. pertussis*
Vaccins non existants	no existing vaccines	MRSA	*S. aureus*
		Clostridium difficile	*C. difficile*
		Urinary tract infections (UTTs), gastoenteritis	*E. coli*
		Klebsiella pneumoniae	*K. pneumoniae*

Source: Adapted from Vaccines Europe (Anon n.d.)

Figure 6 : Exemples de vaccins existants ciblant les bactéries avec une résistance aux antimicrobiens potentiels. (24)

- **La détection précoce des nouvelles bactéries multirésistantes émergentes** en incitant à mieux promouvoir l'investissement pour les nouveaux médicaments et l'établissement d'un fond mondial pour l'innovation au stade précoce. En effet, les investissements privés et publics misant sur la lutte contre la RAM sont actuellement insuffisants dans la recherche et développement (R&D). Une des propositions serait la mise en place d'un système de récompenses d'environ un milliard d'USD par médicament pour des traitements efficaces. Les traitements doivent être fondés sur

des médicaments nouveaux qui agissent contre des pathogènes résistants, dans les zones où le besoin est le plus urgent. Enfin, une réglementation harmonisée et des réseaux d'essais cliniques peuvent jouer un rôle important dans la réduction des coûts de développement. Ces discussions vont être amenées aux chefs d'Etats à l'Organisation des Nations Unies (ONU) en septembre 2017. (111)

- **Promouvoir de nouveaux tests diagnostiques rapides** chez l'homme et les animaux, afin de réduire l'utilisation inutile d'antimicrobiens. Pour ce faire, un changement dans le diagnostic est indispensable car les tests actuels sont longs et coûteux. Par exemple, le peptide antimicrobien M33, développé dans le traitement des infections pulmonaires, est un élément essentiel du projet PNEUMONP, visant pour la fin 2017 la commercialisation d'un nouveau kit de diagnostic précoce pour les infections pulmonaires par bactéries à Gram négatif. (26)

- **Amélioration de la surveillance mondiale de la résistance aux médicaments et de la consommation d'antimicrobiens** chez l'homme et les animaux. Avec la surveillance de l'OMS, les gouvernements du monde doivent s'allier et appuyer sur ces efforts de coopération internationale (coalition contre la RAM) pour recueillir des données sur la consommation d'antimicrobiens, les niveaux de résistance, et les raisons biologiques sous-jacents pour la résistance.

Pour le cas de la France, sous l'égide du Ministère des Affaires Sociales et de la Santé, des mesures ont été prises au niveau gouvernemental dans le Plan national d'alerte sur les antibiotiques (2011-2016) afin de réduire la consommation d'antibiotiques de 25%, afin de s'aligner avec les autres pays au niveau de l'UE et ceci en mettant l'accent sur la réduction des prescriptions d'antibiotiques. (Figure 4) Le plan actuel consiste à établir un réseau dédié à la bonne utilisation des antibiotiques par des actions au niveau régional menées par les Agences Régionales de Santé (ARS) : en utilisant la certification des outils pour améliorer la qualité et la sécurité des soins, ainsi que l'évaluation des bonnes pratiques professionnelles. La France envisage de contrôler la propagation de la résistance en renforçant les mécanismes de surveillance entre les laboratoires de diagnostic, les équipes cliniques et les spécialistes de l'hygiène. Tous ces acteurs seraient coordonnés au niveau régional et national (direction générale de la santé ou DGS).

Le tableau 5 résume les actions mondiales visant à prévenir l'émergence et le transfert des gènes dans la résistance aux antimicrobiens.

Pour conclure, en plus des progrès en génétique, en génomique et en informatique, il sera possible de diagnostiquer, détecter et signaler les changements qui peuvent potentiellement faire apparaitre de nouveaux types de résistance dans le monde entier. Ces mêmes avancées technologiques serviront à fournir des outils de diagnostic rapide qui amélioreront la façon dont nous utilisons les antibiotiques, les antipaludéens, et les médicaments contre le VIH et la tuberculose mais aussi à découvrir de nouvelles alternatives thérapeutiques comme les PAMs.

Tableau 5: Ensemble des actions visant à prévenir l'émergence et le transfert des gènes dans la résistance aux antimicrobiens. (25)

	Prévention de l'émergence				Prévention de la transmission		
	Rationalisation des prescriptions	**Immunisation**	**Traitements alternatifs**	**Détection précoce**	**Réduire l'infection**	**Améliorer l'hygiène**	**Réduire la susceptibilité**
Objectifs	La conservation de précieuses ressources antimicrobiennes avec des indications cliniques claires	Prévenir les infections et améliorer l'immunité entendue (vaccins existants et nouveaux)	Très varié (par exemple, probiotiques pour la recolonisation de bactéries saines)	Amélioration de la prise d'informations. Du diagnostic (test POC) à la surveillance	Contenir les infections	Décontamination (pratiques de nettoyage) et barrières préventives	De stimuler le système immunitaire (suppléments / nourriture), à promouvoir la santé (exercice)
Exemples d'intervention	- Taxes/prix - Régulation de prescriptions - Les interventions comportementales - Les campagnes éducatives - Les prescriptions retardées	L'adoption de programmes de vaccination existants (à l'école)	Probiotiques (les yaourts Lactobacillus et bifidobacterium) jus de canneberge comme prophylaxie	Des essais améliorés d'essais (par exemple, test moléculaire rapide de TB), améliorée Améliorer les infrastructures et les nouveaux dispositifs,	Isolation des patients (dans les hôpitaux) décolonisation	Améliorer les pratiques de nettoyage, précaution (masques, gants, …)	Probiotiques, campagnes de promotion de la santé
Groupe cible	Les professionnels de santé Communautés de patients Pharmas Communauté de R&D	Les enfants en communauté (reconnaissant le rôle des parents)	Varié : du patient a la communauté	Communauté médicale: médecins et hôpitaux ainsi que les agences exécutives pour la surveillance	Patients	Communauté médicale, patients, public	Communauté, patients, écoles
Potentiel impact	Consensus sur les recommandations, propriétés des patients et des communautés	Développer des vaccins contre les principales infections résistantes (SARM, *C.difficile*) Assurer la couverture de la population	Renforcement des bases de données probantes	Consensus sur le financement des métriques, analyse approfondie de la rentabilité, protection des données des patients	Adresser des aspects psychologique et éthique de l'isolation de patients	Efforts soutenus, assurant un engagement à long terme	Atteignant des cibles, impact collectif
Opportunités	1. Consensus sur la mise en œuvre (rôle clé de la communauté médicale dans ce domaine), lignes directrices, législation (nécessité de favoriser le dialogue) 2. Engagement à planifier (financement, révision) 3. Assurer les effets à long terme, 4. Leadership						

2. Alternatives dans la thérapie antimicrobienne : les peptides et les peptidomimétiques

Les PAMs sont en général de petits peptides cationiques amphiphiles[5], qui jouent un rôle important dans la défense contre les infections bactériennes, virales, parasitaires, fongiques par la perturbation de leurs membranes. Ils sont considérés comme de potentiels futurs antibiotiques, grâce à un ensemble remarquable de propriétés avantageuses. Cependant, les PAMs ont quelques inconvénients intrinsèques comme par exemple une instabilité biologique liée a la dégradation enzymatique, une mauvaise absorption et une métabolisation rapide. Par conséquent, les peptides sont des cibles thérapeutiques très pauvres, et la plupart des recherches mettent l'accent sur les non-peptides, une nouvelle classe de PAMs appelée les peptidomimétiques antimicrobiens ou "mPAMs ".

Par définition, un mPAM est un composé synthétisé chimiquement comportant des acides aminés non naturels ou des entités non peptidiques, destiné à mimer l'activité biologique d'un peptide naturel et à en améliorer les propriétés pharmacologiques. (27) Ils peuvent ainsi imiter le mécanisme bactéricide des PAMs, tout en étant stable à la dégradation enzymatique et présentant une activité puissante contre les bactéries multi-résistantes (BMR). (Tableau 7)

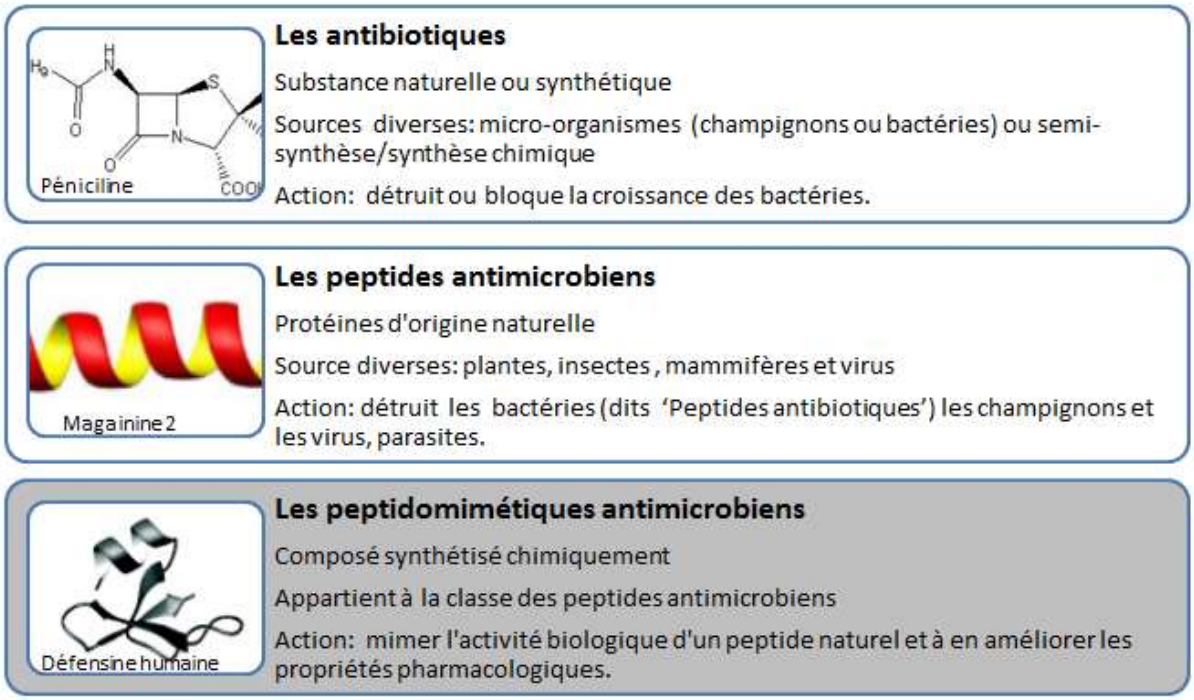


Figure 7: Définitions.

[5] Avec deux domaines hydrophobe et hydrophile qui leur permet de se répartir dans la bicouche lipidique de la membrane bactérienne

2.1. Les peptides antimicrobiens

Les peptides sont une source intéressante qui, jusqu'à récemment, a été relativement inexplorée. Les peptides se trouvent dans le corps comme les hormones, les neurotransmetteurs ou leurs récepteurs, et les régulateurs des voies cellulaires clés.(3)
La découverte de l'omniprésence de PAMs a été motivée par l'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques. (28)

Les PAMs peuvent être définis comme des peptides à immunité innée, qui non seulement éliminent rapidement les pathogènes, mais initient également des réponses immunitaires supplémentaires pour stimuler d'avantage le système immunitaire. (29)

Le champs des PAMs se développe rapidement en réponse à la demande de nouveaux agents antimicrobiens pour lutter contre les agents pathogènes résistants aux médicaments tels que les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Il y a aussi un désir de mieux comprendre les fonctions des PAMs dans l'immunité innée et leur relation avec l'immunité adaptative et d'autres systèmes biologiques. (30)

2.1.1. Origine des peptides antimicrobiens

Les êtres humains et les autres êtres vivants, sont constamment exposés au risque d'infections microbiennes. La protection contre ces infections est fournie par le système immunitaire adaptatif. Les plantes et les insectes ne possèdent pas de système immunitaire adaptatif mais, restent également libres d'infections pendant une majeure partie du temps. Par exemple, les purothionines, présents dans l'endosperme du blé et d'autres graminées, sont des polypeptides avec des propriétés antimicrobiennes. (31)

Des études ont établi que les PAMs existent dans pratiquement tous les organismes multicellulaires et il est reconnu que ces peptides jouent un rôle important dans le système immunitaire des mammifères, y compris des êtres-humains normalement exposés à des micro-organismes. Cependant, comme la recherche sur l'expression des PAMs a évolué, il est devenu clair que la production de ces peptides peut être soit constitutive, soit induite par l'inflammation ou des blessures. (32)

A partir des années 1990, la recherche sur les PAMs s'est intensifiée. (Tableau 6) A l'heure actuelle, plus de 5000 PAMs d'origines différentes ont été identifiés et isolés à partir de

diverses cellules et de tissus d'animaux, d'insectes, de plantes et de bactéries.(33)(34)(35) Il existe une base de données sur les peptides antimicrobiens[6] qui contient plus de 2 800 peptides antimicrobiens. Des exemples bien connus de PAMs sont les familles des cathélicidines et défensines (qui se trouve dans de nombreux insectes, plantes et animaux, y compris les humains), des thionines (isolés à partir de plantes), des cécropines (trouvés dans l'hémolymphe de la teigne de soie cecropia au début des années 1980) et des magainines (sécrétées par la peau de grenouille).(3)

[6] APD base de données : http://aps.unmc.edu/AP/main.php

Tableau 6: Historique de la découverte des peptides antibiotiques antimicrobiens . (33)

Début 1920	
	Découverte du lysozyme possédant la capacité de détruire la paroi cellulaire des bactéries. (36)
1928	
	Historiquement, les premiers peptides ont été découverts par Alexander Flemming qui a aussi découvert la pénicilline, composant sécrété par le champignon *Penicillium*.(1) La pénicilline est un di-peptide mimétique.
1939	
	Les PAMs ont été reconnus dans des cellules procaryotes, lorsque des substances antimicrobiennes, nommés gramicidines, ont été isolées à partir de *Bacillus brevis*, et ont présenté une activité à la fois *in vitro* et *in vivo* contre une large gamme de bactéries à GRAM-positif. Les gramicidines ont ensuite été utilisées pour traiter les plaies infectées sur la peau de cochons d„Inde, représentant une thérapeutique potentielle pour une utilisation clinique. Ils ont été les premiers PAMs à être fabriqués et commercialisés comme antibiotiques.
1940	
	Avec Howard Florey et Ernst Chain, Fleming a apporté l'utilisation thérapeutique de la pénicilline à maturité.
1943	
	Avec l'avènement de la pénicilline et de la streptomycine, a commencé l'"« âge d'or des antibiotiques » qui a conduit à l'intérêt croissant des antibiotiques.
1945	
	Prix Nobel 1945 de la médecine pour E. Duchesne qui a synthétisé la pénicilline à plus grande échelle lors de la Seconde Guerre Mondiale. (37)
Début 1960	
	Avec la montée des pathogènes microbiens multi-résistants, un intérêt montant pour les molécules de défense de l'hôte est observé.

Chez les plantes, les PAMs jouent un rôle important et fondamental dans la défense contre les bactéries et les champignons. Jusqu'à présent, seuls les peptides ayant une structure globulaire de feuillet β ont été identifiés chez les plantes, les deux groupes majeurs et les mieux étudiés étant les thionines et les défensines. (38) Les concentrations physiologiques de thionines sont actives contre les bactéries et les champignons *in vitro*, et les études utilisant des plantes transgéniques ont montré que l'expression hétérologue des thionines peut conférer une protection antibactérienne.

Si les invertébrés n'ont pas le système immunitaire adaptatif trouvé chez les vertébrés, ils dépendent uniquement de leur système immunitaire inné pour contrer les agents

pathogènes. Des études ont été conduites sur des espèces d'invertébrés telles que la mouche, *Drosophila melanogaster*, qui est devenu un système modèle pour l'étude de l'immunité innée et a conduit à la découverte de stratégies du système immunitaire. (39)

Les PAMs ont été isolés chez les vertébrés, y compris les poissons, les amphibiens et les mammifères. Même en présence d'une réponse immunitaire adaptative, ces peptides jouent un rôle important dans la défense de l'hôte. (39)

Ce sont des peptides de petite taille comprenant 12 à 45 acides aminés. Ils se caractérisent généralement par une charge cationique (résidus lysine et/ou arginine) et par des propriétés physicochimiques de type amphiphile. Typiquement, les conformations adoptées par ces peptides sont des peptides à hélice α (par exemple les cathélicidines), ou des peptides à plusieurs brins ß stabilisés par des ponts disulfures (par exemple les défensines ou les protégrines), ou enfin une combinaison des deux structures.

Les cathelicidines sont un groupe important et diversifié de PAMs vertébrés. Ils sont caractérisés par un segment N-terminal bien conservé (le domaine cathéline) qui est clivé pour générer le peptide mature et actif contenu dans l'extrémité C-terminal. Par conséquent, la plupart des cathelicidines sont stockées sous forme d'un précurseur inactif, principalement dans les granules de cellules immunitaires circulantes. Ils sont exprimés au niveau des muqueuses de la bouche, du poumon et du tractus génito-urinaire,…

Un deuxième groupe important de PAMs de mammifères est le groupe des défensines. Comme pour les cathelicidines, les défensines de vertébrés sont synthétisées sous forme de prépeptides qui nécessitent un traitement protéolytique pour accéder à leurs formes peptidiques actives. En fonction de l'espèce, on trouve des α et β-défensines dans les granules de neutrophiles, de macrophages, de cellules NK, contenues dans les cellules intestinales de Paneth, les tissus épithéliaux, la peau, et au niveau de certaines muqueuses telles que la sphère respiratoire, le tractus urinogénital et de nombreux fluides corporels. L'expression des défensines peut être constitutive (c'est à dire qu'il est exprimé quelque soient les conditions de croissance de la bactérie) par exemple la β-déférine-1 humaine (hBD-1) est présente dans la plupart des tissus, ou inductible, comme pour le hBD-2, dont l'expression dans les monocytes est régulée à la hausse suite à une exposition à des bactéries ou au lipopolysaccharide (LPS), composant essentiel de la couche externe de la membrane des bactéries Gram négatif. (40)

2.1.2. Relation Structure- Fonction des peptides antimicrobiens

Dans cette section, je vais présenter et mettre en évidence les classes de PAMs traditionnels et mettre l"accent sur la relation structure-fonction et les caractéristiques générales des PAMs.

Structure des peptides antimicrobiens

Les peptides sont composés de chaines d'acides aminés liées par une liaison peptidique entre l'extrémité – carboxy terminale d'un acide aminé et l'extrémité amino-terminale de l'autre. (Figure 7) (41)



Figure 8: La comparaison structurale d'un peptide (gauche) et d'un peptidomimétique (droite)

La diversité des séquences de peptides est vaste. Tous les peptides d'acides aminés D-énantiomères[7], par rapport à leurs homologues L-énantiomères d'acides aminés ont une plus longue demi-vie de circulation ainsi qu„une résistance à la protéolyse enzymatique[8]. (3)

Généralement les PAMs sont classés en quatre grandes familles en fonction de leurs conformations secondaires en hélices, en feuillets ß, des structures mixtes (α- ou ß-structures) ou étendues. (Tableau 7 et Figures 9 et 10) (43)

Tableau 7: Caractéristiques des diverses structures de peptides antimicrobiens. (43)

Structure	Caractéristiques
Peptide α-hélicoïdale	Manque de cystéine
Peptide β-brin	Présence de 2 ou plusieurs liaisons disulfures
Peptide β-épingle à cheveux ou en boucle	Présence d'une liaison disulfure [9]unique et / ou la cyclisation de la chaîne peptidique
Peptide étendu	Riche en proline, l'arginine, la phénylalanine, la glycine, le tryptophane

[7] Ce sont des molécules chirales qui se superposent les unes sur les autres. (42)

[8] Action de décomposition des protéines ou peptides en acides aminés par l'action des enzymes.(42)

[9] Liaison covalente entre deux atomes de soufre(42)

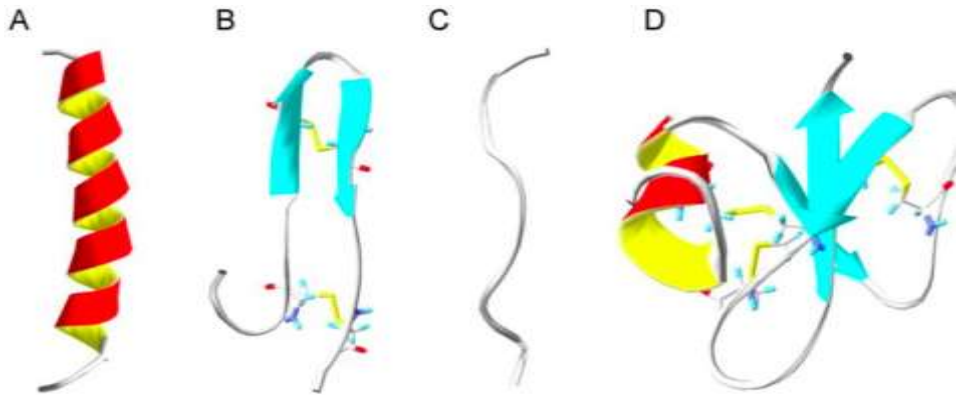


Figure 9: Diverses structures de peptides antimicrobiens (44)

A : Peptide α-hélicoïdale ; B: Peptide β-brin ; Peptide β-épingle à cheveux ou en boucle, D : Peptide étendu.

Noms	Sequences d'acides aminés	Origines
α-defensin (HNP-2)	$C_1YC_2RIPAC_3IAGERRYGTC_2IYQGRLWAFC_3C_1$	Human
β-defensin (BD2)	$GIGDPVTC_1LKSGAIC_2HPVFC_3PRRYKQIGTC_2GLPGTKC_1C_3KKP$	Human
LL-37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKIVQRIKDFLRNLVPRTES	Human
Protegrin	$RGGRLC_1YC_2RRRFC_2VC_1VGR$	Pig
Indolicidin	$ILPWKWPWWPWRR\text{-}NH_2$	Cattle
Magainin 2	GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS	African clawed frog
Cecropine A	$KWKLFKKIEKVGQNIRDGIIKAGPAVAVVGQATQIAK\text{-}NH_2$	*Hyalophora cecropia*
Mellitin	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ	Honey bee
Magainin II	GIGKFLHSAKKFGKAFVGEIMNS	African clawed frog
Polyphemusin	$RRWC_1FRVC_2YRGFC_2YRKC_1R$	Horseshoe crab
Gramicidin S	$cyclo\text{-}(Val\text{-}Orn\text{-}Leu\text{-}D\text{-}Phe\text{-}Pro)_2$	*Bacillus brevis*
Nisin A [b]	$I\text{-}DHB\text{-}A_1I\text{-}DHA\text{-}LA_1\text{-}ABA_2\text{-}PGA_2K\text{-}ABA_3\text{-}GALMGA_3NMK\text{-}ABA_4\text{-}A\text{-}ABA_5\text{-}A_4HA_5SIHV\text{-}DHA\text{-}K$	*Lactococcus lactis*

Figure 10: Exemples de peptides antimicrobiens naturels (44)

Les caractéristiques générale des PAMs

Les PAMs présentent des propriétés suivantes :

- Ils sont relativement courts ~ <100 résidus d'acides aminés (32)(45)
- Ils sont chargés positivement (arginine, lysine, histidine,…)
- Ils sont amphiphiles (46); (29)
- Ils présentent une diversité de structure modulaire en fonction de leurs propriétés structurelles
- Ils s'associent à des membranes, caractéristique spécifique des PAMs (44)
- Ils présentent une activité antimicrobienne en dépit de la différence de structure et une myriade de séquences intégrant à la fois les AA naturels et non naturels (27)

Cependant, ces petites molécules ne sont également pas sans inconvénients. Parmis ces limitations dans leur application, ils existent des toxicités potentielles telles que l'immunogénicité[10] et des coûts de production élevés. Elles sont souvent produites par criblage de banques de composés naturels. Cela pose une grande contrainte de temps sur le processus, car il n'y a aucune garantie que l'on va tomber sur un composé qui peut déclencher la réponse biologique souhaitée. (47)

2.1.3. Mécanismes d'action des peptides antimicrobiens

Les PAMs ont des mécanismes d'action divers et variés. Les peptides interfèrent fréquemment avec la membrane cytoplasmique mais également avec l'ADN, la synthèse et le repliement des protéines et la synthèse de la paroi cellulaire. En effet, le spectre d'action des PAMs est large présentant une activité antimicrobienne. (48)(49)

Les PAMs peuvent agir en inhibant les protéines, la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et de l'acide ribonucléique (ARN), ou en interagissant avec certaines cibles intracellulaires. Les PAMs découverts à la fin des années '90 sont cationiques. Cependant, le concept de PAM a été modifié avec la découverte des PAMs négativement chargés. Par exemple, le maximin-H5 de la peau de grenouille et la dermicidine sécrétées par les tissus de la glande sudoripare humaine sont des peptides anioniques.

Généralement, un PAM n'est efficace que contre une classe de microorganismes (par exemple, des bactéries ou des champignons). Cependant, il existe des exceptions et certains PAMs sont connus pour avoir différents modes d'action contre différents types de microorganismes. Par exemple, l'indolicidine peut tuer les bactéries, les champignons et les virus (e.g. VIH). Il présente des activités antifongiques en causant des dommages à la membrane cellulaire. Cependant, il tue aussi *E. coli* en pénétrant dans les cellules et en inhibant la synthèse de l'ADN. Enfin, il montre des activités anti-VIH en inhibant l'intégrase du virus. (35)

2.1.3.1. Attraction

Le premier contact entre le peptide et l'organisme cible est électrostatique, comme la plupart des surfaces cytoplasmiques bactériennes sont anioniques ou hydrophobes. Au contraire, la membrane des plantes et des animaux est composée principalement de lipides sans charge nette.(3) Les membranes bactériennes possèdent une grande fraction de lipides chargés

[10] Un épitope capable d'induire une réponse immunitaire (42)

négativement et maintiennent des gradients de potentiel électrique élevé (potentiel transmembranaire), attirant ainsi des composés chargés positivement, ce sont les PAMs cationiques.(44) Un résultat de l'interaction électrostatique des peptides sur les surfaces bactériennes chargées négativement est la déstabilisation et la libération des cations bivalents natives de la membrane. Ce déplacement entraîne la rupture de la barrière de la membrane externe des bactéries à Gram négatif et positif. (3)

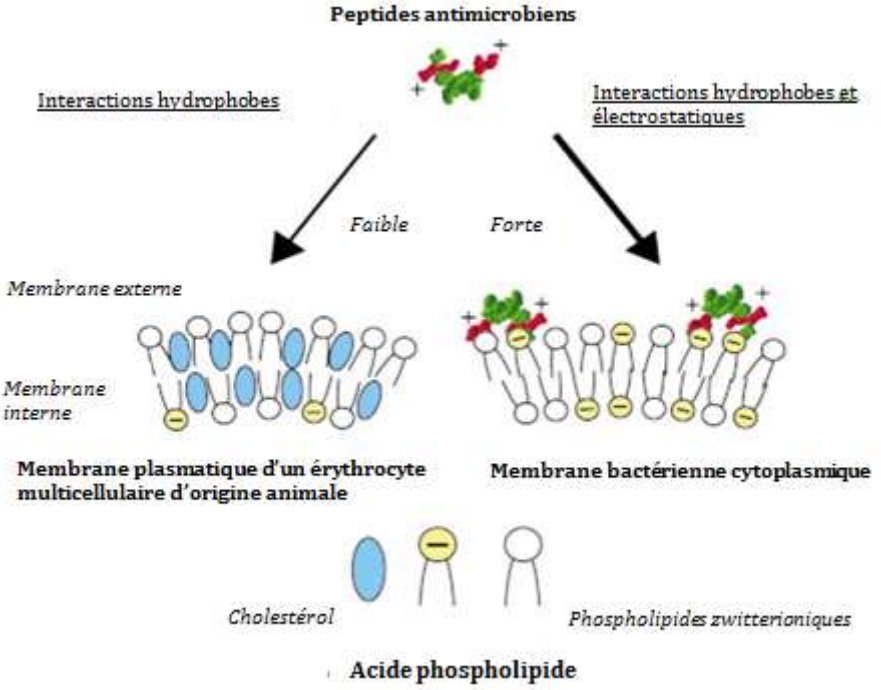


Figure 11 : La cible membranaire des peptides antimicrobiens des organismes multicellulaires et leurs spécificités.(3)

2.1.3.2. Interaction membranaire

Leur nature amphiphile est censée leur permettre d'interagir :

- Directement à la surface de la bactérie avec avec les structures chargées négativement et des chaînes d'acides gras hydrophobes présents sur les bicouches membranaires d"organismes microbiennes. Il existe trois modèles de perméabilisation membranaire pour former des pores par «tonneau», « pores toroïdales » ou «tapis» ce qui entraîne une déstabilisation de la membrane. (Figure 11) (43)
- Par une action intracellulaire provoquant la mort de la bactérie.

Un modèle qui explique l'activité de la plupart des PAMs est le modèle Shai Matsuzaki Huang (SMH). (Figure 12).

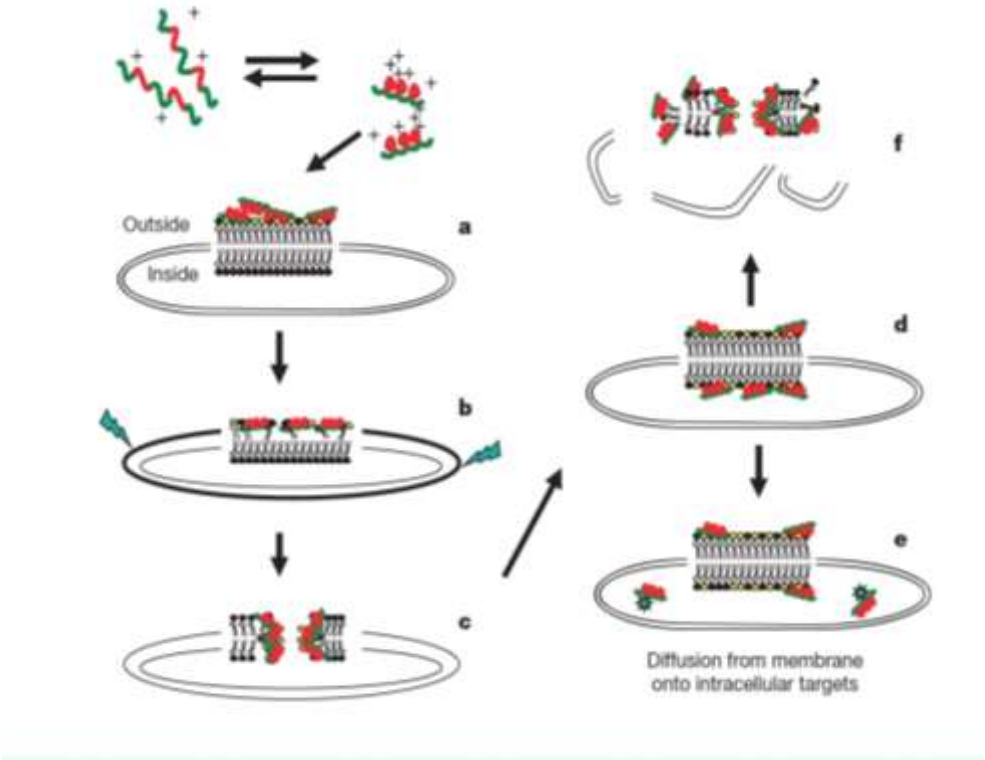


Figure 12: Mécanisme d'action des PAMs : modèle proposé par Shai Matsuzaki Huang (SMH)(50)

Un peptide hélicoïdal alpha est représenté en a. Structure en tapis de la couche externe avec des peptides. b. Intégration du peptide dans la membrane et amincissement de la couche externe. La surface du feuillet externe se dilate par rapport à la couche interne, ce qui entraîne une déformation dans la bicouche. c. Phase de transition et formation de «trous r». Les pores transitoires se forment à ce stade. d. Transport des lipides et des peptides dans la couche interne. e. Diffusion de peptides sur des cibles intracellulaires f. Rétrécissement de la membrane en fragments et perturbation physique de la membrane de la cellule cible. Les lipides à tête jaune sont acides ou chargés négativement. Les lipides avec des groupements à tête noirs n'ont pas de charge nette.

Un récapitulatif des mécanismes d"actions (interaction peptide/membrane) est présenté dans la figure 13 et tableau 8

.

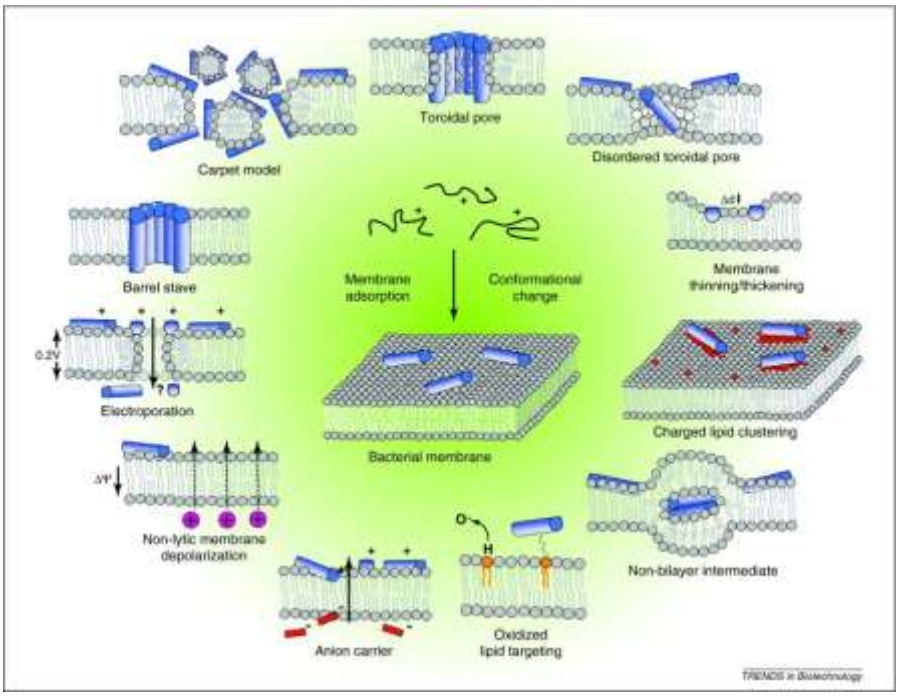


Figure 13 : Ensemble de modes d'action des peptides antimicrobiens (48)

Tableau 8: Récapitulatif des différents modes d'action antimicrobiens. (43)

Modèle d'activité antimicrobienne	Exemples
Mécanismes formant des pores transmembranaires	
modèle des pores torroidaux	maginine-2, protegrin-1, mellitine, LL-37, MSI-78
modèle en tapis	dermaseptine S, cécropine, mellitine, ovispirin, caerine 1.1
modèle en douves de tonneau	alamethicine
Mécanismes à cibles intracellulaires	
altération de la membrane plasmique	PR-39, PR-26, indolicidine, micromicine 25
inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	mersacidine
inhibition de la synthèse des protéines	pleurocidine, dermaseptine, PR-39, HNP-1 et -2, indolicidine
inhibition de la synthèse des acides nucléiques	pleurocidine, dermaseptine, PR-39, HNP-1 et -2, indolicidine
inhibition de l'activité enzymatique	histatine, pyrrhocoricine, drosocine, apidaecine
floculation des composants intracellulaires	peptides anioniques

2.1.3.3. La lyse membranaire

En général, l'activité antimicrobienne de ces peptides est déterminée par la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui est la plus faible concentration de peptide qui inhibe la croissance bactérienne.

Lors de la liaison membranaire, les PAMs contribuent à des alternances possibles de structure de la membrane telles que la formation des pores, des courbures modifiées, etc. Il en résulte une perturbation générale de la membrane grâce à l'abaissement du gradient de protons (perte du potentiel de membrane) qui au final empêche la production d'ATP cellulaire [11] et le métabolisme, conduisant à la mort cellulaire. (51) Comme cela est le cas avec de nombreux autres PAMs, la perméabilisation membranaire est une étape cruciale dans l'activité microbicide observée pour les défensines. (39) Beaucoup d'hypothèses ont été présentées, incluant entre autres la création de pores qui engendre une lyse cellulaire, la dépolarisation fatale de la membrane bactérienne normalement stimulée, l'activation de processus mortels comme l'induction d'hydrolases qui dégradent la cellule; la perturbation des lipides dans la couche membranaire… Cependant, dans de nombreux cas, le mécanisme exact de mise à mort est inconnu.(52)

Cependant d'autres modèles ont été proposés et résumés sur la figure 12 représente un récapitulatif des nombreux modes d'action des peptides antimicrobiens.

Dans la figure 14, j'ai décrit le potentiel des PAMs dans une analyse SWOT, «strengths» (forces), «weaknesses» (faiblesses), «opportunities» (opportunités), «threats» (menaces).

[11] Adénosine Triphosphate issue de la phosphorylation oxydative dans les mitochondries (42)



Figure 14: Analyse de l'approche des forces, des aires de développement, des opportunités et des menaces des peptides antimicrobiens naturels dans leurs utilisations thérapeutiques(53)

2.1.4. Émergence de la résistance aux peptides antimicrobiens

La majorité des peptides agissent sur la membrane microbienne, et non sur des cibles intracellulaires spécifiques, avec un mécanisme moins favorable au développement d'une résistance en comparaison aux traitements connus. (3) Cependant, pour résister à l'action des PAMs, les bactéries ont évolué selon diverses stratégies :

- Une diminution de la charge globale négative a été rapportée comme un mécanisme de résistance aux PAMs. (54)
- La dégradation protéolytique. Les bactéries Gram positif résistent aussi à l''action des PAMs par leur dégradation enzymatique par les protéases extracellulaires.(55)
- La modification de surface de la structure membranaire,
- L''efflux actif
- La régulation négative de l'expression au niveau de la cellule hôte des peptides antimicrobiens. (56)

En résumé, les bactéries comme tous les organismes vivants, tendent à contourner la pression sélective au travers de différents modes de résistance. L'évolution chimique des PAMs a prouvé qu'ïls étaient capables de contrer certains des mécanismes de résistance à travers diverses modifications structurelles et de maintenir ainsi les PAMs comme alternatives antimicrobiennes potentielles aux antibiotiques classiques. La recherche contemporaine utilise maintenant une approche plus sophistiquée dans le développement des PAMs comme approche thérapeutique.

Il existe différentes types de PAMS :

- Les **PAMs mimétiques ou peptidomimétiques** sont des molécules synthétiques, non peptidiques, qui imitent les propriétés et les activités des PAMs d'origine naturelle.
- Les **PAMs hybrides** sont constituées des régions actives de deux à trois peptides naturels pour combiner les avantages potentiels de chaque fragment individuel.
- Les **PAMs congénères** sont des composés chimiques étroitement apparentés à un autre dans la composition, exerçant des effets similaires ou antagonistes.
- Les **cyclotides** sont constitués d'ïun squelette cyclique tête-à-queue, contenant environ 30 résidus d'acides aminés avec trois liaisons disulfures conservées.

Ils ont tous émergé avec des propriétés améliorées telles qu'ïune activité antimicrobienne sélective, ou des capacités uniques qui leur permettent de se lier à des surfaces « ciblées ». (35) Je ne me concentrerai que sur les peptidomimétiques antimicrobiens (mPAMs) dans la partie 2.2. Ce choix s'ïexplique par le fait que j'ïai traité ce sujet lors de mon stage de recherche durant mon cursus pharmaceutique.

2.2. Les peptidomimétiques antimicrobiens

En raison de leur importance dans de nombreuses fonctions biologiques, les peptides bioactifs sont des points de départ intéressants dans la découverte de médicaments et peuvent être utilisés comme des outils de recherche précieux pour la compréhension des mécanismes biologiques de diverses pathologies. Cependant, en raison de leur structure peptidique, ils présentent des inconvénients inhérents. Dans une tentative de surmonter les problèmes associés aux peptides, des molécules biodisponibles qui imitent l'action de peptides ont été fabriqués, ce sont les mPAMs. La conjugaison aux polymères et la conversion des peptides en mPAMs sont parmi les principales technologies qui ont été mises en œuvre avec succès pour améliorer les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques des peptides et des protéines.

2.2.1. Généralités sur les peptidomimétiques antimicrobiens

Par définition, un mPAM est une petite chaîne protéique analogue obtenue par modification structurelle utilisant les AA non naturels et conçue pour imiter un peptide. Un mPAM est capable d'imiter les propriétés structurales et/ou une activité biologique d'un peptide. (57) Afin de conserver l'activité et la sélectivité des PAMs, tout en améliorant la biodisponibilité, la stabilité métabolique, l'immunogénicité et le coût de production, les chercheurs ont remis en question les structures peptidiques avec diverses modifications.(58) Contrairement aux peptides naturels, les mPAMs ont été observés comme étant plus stables et aussi actifs que les peptides parents. La recherche actuelle porte sur de nouvelles méthodes pour générer des mPAMs, qui ont été appliquées avec succès à ce jour grâce à la compréhension de la relation structure-activité des PAMs.(59)

Il existe quatre classes de peptidomimétiques résumées dans le tableau 9 : (60)

Tableau 9: Classification des peptidomimétiques antimicrobiens

Type I	"peptide mimant le squelette"	*"Design"* sur la base du substrat Ex : pseudopeptides
Type II	" mimétiques fonctionnels"	"*Modeling*" moléculaire, HTS Ex : RCPG[12] antagonistes
Type III	" mimétiques topographiques"	"*Design*" sur la base de la structure Ex : inhibiteurs non-peptidique de protéase
Type IV	" non-peptide" ou "peptidomimétiques"	Remplacement d'un groupe associé à une liaison Ex : inhibiteurs des dérivés issus de la Pipéridine

[12] RCPG : récepteur couplé aux protéines G.

La compréhension des relations entre la teneur en AA et l'activité des PAMs permet le développement de nouveaux candidats alternatifs aux antibiotiques en tant que mPAMs antimicrobiens. (61)

- Les **mimétiques type I** : caractérisés par des changements de squelette, comme l'incorporation d'isostères[13] obligatoires avec un groupement –amide ($-NH_2$).

- Les **mimétiques de type II** ou les **mimétiques fonctionnels** : petites molécules non peptidiques qui se lient à un récepteur de peptide. Elles induisent la même réponse biologique que le ligand peptidique natif sans aucune ressemblance structurelle évidente. Par exemple, il existe un peptidomimétique opioïde dérivé de la morphine, qui a été le premier exemple des mimétiques fonctionnels. (62)

- Les **mimétiques de type III** ou **mimétiques topographiques** : représentés par des peptidomimétiques ayant une structure avec un noyau non peptidique, laquelle se positionne des AA essentiels pour interagir avec le récepteur d'une manière étroitement lié au peptide natif.

- Les **mimétiques de type IV** ou **mimétiques non peptidiques** : ces structures pourraient partager des caractéristiques fonctionnelles et structurelles de mimétiques type I, mais ils se lient à une forme d'enzyme qui n'interagissent pas avec des mimétiques de type I par exemple des inhibiteurs basés sur la pipéridine.(63)

Il existe une autre classe de mimétiques basée sur des polymères appelés polymères mimétiques des PAMs (PM-PAM). Cette nouvelle classe de PM-PAM est prometteuse car ils présentent des caractéristiques avantageuses en plus de celles des PAMs.
Plusieurs séries de PM-PAM à base de poly-(méthacrylate), de nylon-3 et de poly-(norbornène) ont été synthétisés. Les structures les plus optimisées des PM-PAM ont une sélectivité élevée pour les bactéries et les cellules de mammifères, qui est du même ordre de grandeur de celle des PAMs. Combinés à leur stabilité améliorée suite à la dégradation enzymatique, à leur biodisponibilité et à leur faible tendance à engendrer une résistance bactérienne, ces polymères sont d'excellents candidats aux applications médicales. (64)

[13] Ce sont des composés chimiquement différents mais comportant des substituants ou des groupes chimiques suffisamment voisins physiquement et chimiquement pour qu'ils produisent des effets biologiques similaires. (42)

Certaines hypothèses relatives aux mécanismes ont été proposées à ce jour par lesquels les PM-PAM tuent les bactéries. Parmis ces conclusions, on note :

- Un squelette rigide de polymères qui dirige les groupes hydrophobes d'un côté de la molécule, et les groupes hydrophiles du côté opposé, n'est pas requis pour obtenir simultanément des activités antimicrobiennes élevées et des activités hémolytiques faibles. L'hypothèse est que les PM-PAM peuvent se réorganiser en une conformation amphiphile lorsqu'ils sont en contact avec des biomembranes.
- Une charge positive est nécessaire pour maintenir une activité antibactérienne. L'interaction du PM-PAM et de la membrane par interaction électrostatique semble déclencher la fixation du PM-PAM à la membrane bactérienne. Les groupes amines primaires rendent le PM-PAM plus actifs que les amines secondaires ou tertiaires, car ils sont habituellement protonés en conditions physiologiques.
- Une hydrophobicité suffisante est nécessaire pour l'insertion du PM-PAM à travers la membrane lipidique des bactéries, provoquant ainsi la perméabilisation de la membrane. L'ajout de groupements hydrophobes additionnels augmente l'activité antimicrobienne du PM-PAM, mais trop d'hydrophobicité provoque une insolubilité ou agrégation du PM-PAM dans des milieux aqueux.
- La plupart des PM-PAM sont des antimicrobiens plus actifs en perturbant les membranes bactériennes (attraction/fixation du PM-PAM à la membrane) plutôt que de former des pores discrets bien définis (interaction PM-PAM/ membrane)

Cependant, il existe également des preuves d'autres mécanismes. Par exemple, certains PM-PAM sont capables de provoquer une perméabilité externe de la membrane dans *E. coli*, sans aucun dommage interne à la membrane.(64)

2.2.2. Propriétés physico-chimiques des peptidomimétiques antimicrobiens

Les activités biologiques précliniques sont évaluées par des essais *in vitro* et *in vivo* qui déterminent les effets du produit en relation avec son activité clinique. Les paramètres pharmacologiques sont particulièrement difficiles à déterminer dans des peptidomimétiques.

Certains facteurs peuvent être modulés et impactés les activités des mPAMs. En voici une liste non exhaustive :

- La **longueur**: elle est importante pour son activité car il faut au moins 7-8 acides aminés pour former des structures amphiphiles avec des faces hydrophobes et

hydrophiles sur les côtés opposés d'une molécule peptidique. Outre les effets de la longueur sur sa structure et son mode d'action, la longueur d'un PAM peut également affecter sa cytotoxicité. Par exemple, la mélitine raccourcie de 15 résidus à son C-terminal a montré 300 fois moins de toxicité pour les érythrocytes de rat par rapport à sa forme originale. Les résultats montrent que la longueur du PAM doit être prise en compte lors de la conception de nouveaux peptides synthétiques à faible toxicité. (35)

- La **durée de vie** : l'inconvénient majeur des peptides reste leur courte durée de vie. L'amidation (modification des parties C-terminales de la molécule) ou l'acylation (modification des parties N-terminales) sont deux techniques qui permettent d'augmenter la durée de vie des PAMs. D'autres solutions existent : l'incorporation d'acides aminés -D ou d'autres acides aminés non naturels.(65)

- La **solubilité** : elle dépend de la séquence d'acides aminés sachant qu'au moins 20% de résidus chargés sont nécessaires pour faciliter la solubilisation. Si les PAMs forment un agrégat, ils perdent leur capacité à interagir avec la membrane cellulaire. Par exemple, un PAM synthétique hybride composé de cécropine et de mélitine a tendance à former des dimères. Perdre la capacité de dimérisation l'incorporation du mPAM dans les membranes microbiennes. La substitution d'un résidu lysine sur la face non polaire du mPAM empêche sa dimérisation et conduit à une activité hémolytique réduite.(35)

- **Charge nette :** la charge nette des mPAMs est la somme de toutes les charges de groupes ionisables du mPAM, qui varie de négatif à positif et qui est le facteur principal pour l'interaction initiale avec les membranes cellulaires chargées négativement. Comme les mPAMs sont composés d'AA hydrophobes et sont généralement chargés positivement, les séquences de mPAMs peuvent être constituées de résidus alternés à charge positive et à des charges négatives. Ces séquences simples de mPAMs peuvent guider la conception de mPAMs. (29)

- **Hydrophobicité** : l'hydrophobie peut influencer l'activité et la sélectivité de mPAMs. Près de 50% des acides aminés dans la séquence primaire des PAMs naturels sont des résidus hydrophobes. Dans la plupart des cas, l'augmentation de l'hydrophobicité du côté chargé positivement du PAM peut augmenter son activité antimicrobienne. Par conséquent, lors de la conception de nouveaux peptides synthétiques, l'hydrophobicité doit être choisie dans une fenêtre optimale. Par exemple, le magainine est un PAM qui n'est efficace que contre les bactéries Gram

négatives. Cependant, certains analogues synthétiques de ce peptide avec une hydrophobicité plus élevée peuvent également tuer certaines bactéries Gram-positives et des cellules eucaryotes.(35)

- **Amphiphilie :** l'amphiphilie est une autre propriété importante des mPAMs pour assurer leur activité et leur interaction avec les membranes microbiennes. Fernandes Vidal *et al.* ont montré que l'amphiphilie des mPAMs est plus importante que leur hydrophobicité en termes d'interactions avec les membranes microbiennes. (67) Étant donné que l'amphiphilie des PAMs est requise dans l'interface membranaire, la structure amphiphile doit être prioritaire lors de la conception de mPAMs synthétiques.

2.2.3. Les peptidomimétiques antimicrobiens dans la recherche et le développement

La recherche et le développement (R&D) des médicaments ont été longtemps dominés par les petites molécules comme par exemple l'acide acétylsalicylique (ASA), l'ingrédient actif de l'aspirine avec un poids moléculaire d'environ 180 g/mol. Cependant, aujourd'hui il est très difficile avec le développement accru de médicaments à large molécule ainsi que des molécules biologiques issus des biotechnologies. Les PAMs et des mPAMs, des protéines à faible poids moléculaire, suivent le même modèle de recherche clinique que les petites molécules. En plus de leur petite taille et de leur composition chimique, ils peuvent pénétrer facilement les membranes cellulaires des cellules hôtes et être produits à grande échelle pour un coût économique avantageux. (66)

Ces dernières décennies ont connu un essor dans l'avancée technologique comme la chromatographie liquide à haute performance (CHLP), la spectrométrie de masse, les méthodes de culture cellulaire, la synthèse de protéines synthétiques, l'imagerie, le protocole de screening à haut rendement….(66)

Le marché pharmaceutique est en pleine expansion notamment dans le domaine de l'infectiologie. En Europe, selon les données de l'Agence Européenne des Médicaments, 81 médicaments à usage humain ont été recommandés pour une approbation en 2016 dont 17% médicaments antiinfectieux (14/81) toujours moins que les médicaments anticancéreux (21% soit 17/81) alors qu'en 2015, c'était seulement 11% de médicaments antiinfectieux qui étaient approuvés (10/93) après les médicaments anticancéreux, 28% (soit 26/93) suivi des médicaments psychiatriques, 15% (soit 14/93). (68)(69) (Figure 15)

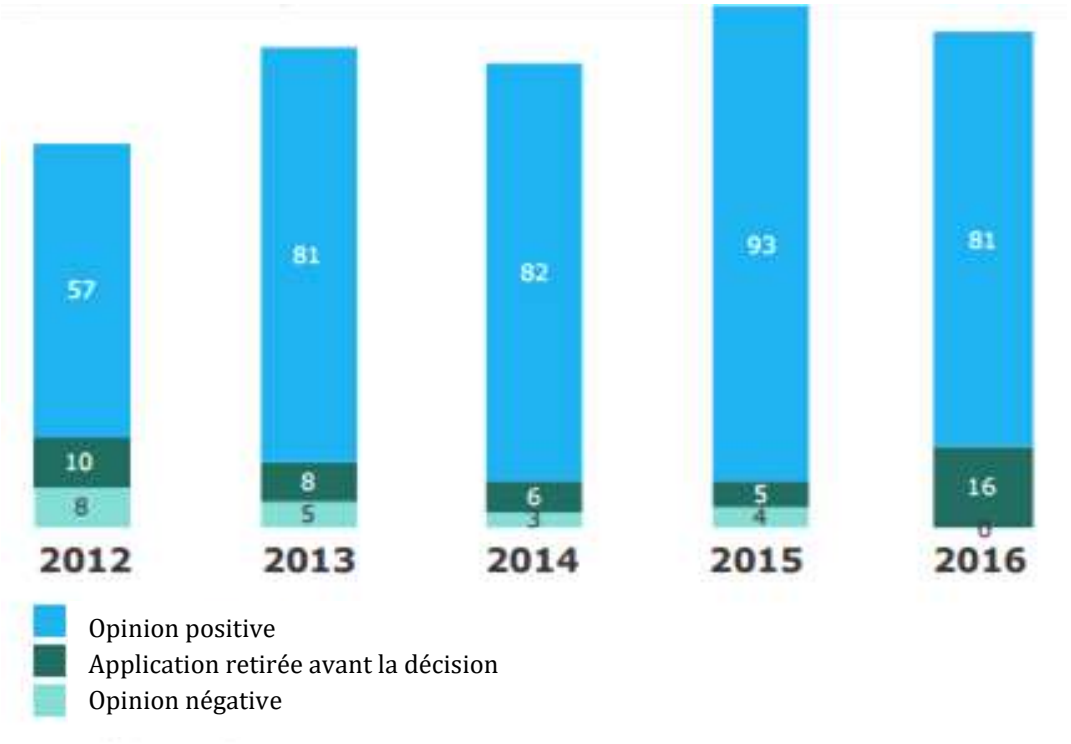


Figure 15: Résultat des applications initiales d'autorisations de mise sur le marché. (2012-2016) Source adaptée du site de l'Agence Européenne des Médicaments (69)

L'évolution dans le développement de médicaments antiinfectieux est croissante et c'est aussi dans ce contexte que les mPAMs ont suscité un intérêt majeur dans des usages diagnostique et thérapeutique. (69)

2.2.3.1. De la molécule au médicament: le screening des peptidomimétiques antimicrobiens candidats

Bien que les peptides jouent un rôle essentiel dans les processus biologiques, ils avaient une utilité relativement limitée en tant qu'agents thérapeutiques en raison soit d'une sélectivité de récepteurs cibles, soit d'une mauvaise biodisponibilité, soit de propriétés d'absorption défavorables. Pour ces raisons, la conception de ligands de haute affinité pour les peptidomimétiques continue d'être une tâche extrêmement importante.

L'identification du peptidomimétique à haute affinité nécessite généralement la synthèse et l'évaluation de nombreux dérivés incorporant différentes chaînes latérales ou orientations de chaînes latérales, afin de déterminer la conformation bioactive de la plupart des peptides. (Figure 16) Environ 10 000 molécules criblées sont chimiquement et pharmacologiquement testées. L'identification de peptidomimétiques à haute affinité peut être accélérée par l'utilisation d'une banque de données de peptidomimétiques. (70)

Pour atteindre cet objectif à long terme, les étapes spécifiques suivantes doivent être réalisées.

(1) Une synthèse en phase solide générale et à haut rendement doit être développée pour synthétiser des peptidomimétiques.
(2) Une structure chimique et une activité biologique corrélées sur les cibles des récepteurs spécifiques.
(3) L'activité des peptidomimétiques à se lier comme ligands à haute affinité sur les cibles des récepteurs spécifiques.

De nouvelles approches de mPAMs ont été développées récemment, aidées par les nouveaux développements de screening en haute résolution, de la chimie combinatoire et des conceptions de programmes informatiques *de novo*.(71)

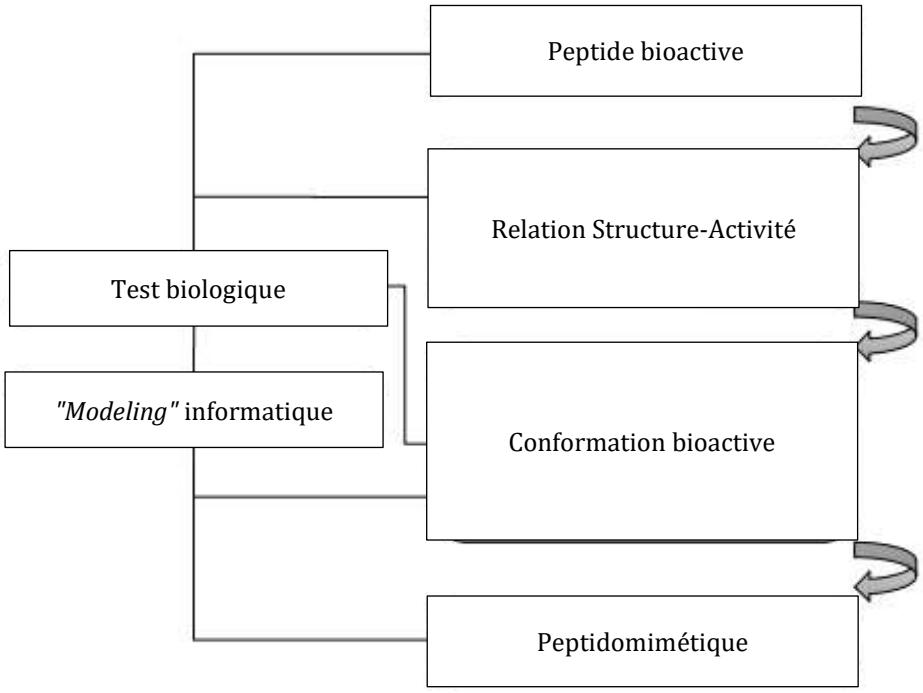


Figure 16: Screening de peptidomimétiques antimicrobiens (72)

2.2.3.2. La production des peptides à grande échelle

Une fois que le peptide d'intérêt a été sélectionné, il a besoin d'être produit à grande échelle avec une qualité requise selon les bonnes pratiques de fabrication. De nouvelles technologies sont utilisés tenant en compte leur taille et de leur structure chimique telle que la synthèse chimique, la biologie moléculaire, les systèmes d'expression cellulaire, des plantes ou d'animaux transgéniques.(73)

Traditionnellement, la production biologique de composants naturels est réalisée en utilisant des souches bactériennes ou fongiques qui subissent une série de mutations et un screening pour la production. Des procédés pour synthétiser les peptides sont divisés en deux classes: soit en solution, soit en phase solide appelée synthèse peptidique en phase solide ou méthode SPPS. La méthode SPPS a été conçue et élaborée par R.B. Merrifield au début de l'année 1959 et décrite dans la figure 17. (58)

La synthèse en solution : elle permet la fabrication à grande échelle. Cependant, cette méthode nécessite l'optimisation des conditions réactionnelles et la purification pour les différents intermédiaires**.**

Le concept de SPPS : dans cette approche plus accessible, le peptide est fixé par son extrémité carboxylique C-terminale protégeant l'acide sur un support de copolymère solide par l'intermédiaire d'un lieur labile[14]. Le peptide ne sera éliminé que par l'excès d'acide lors du lavage. Par la suite, le peptide ancré est prolongé par une série de cycles de dé-protection / couplage, qui sont nécessaires pour obtenir des hauts rendements. Les réactions se terminent par l'utilisation de réactifs solubles en excès, éliminés par simple filtration et lavage sans pertes. Une fois que le peptide est produit, il est nécessaire de libérer les résidus protégés et de séparer le peptide brut du support solide. Ces deux opérations peuvent être effectuées simultanément ou successivement. Enfin, le peptide synthétique doit subir l'étape de purification et de caractérisation de la structure désirée.(74)(58) Cette méthode peut être appliquée à la synthèse de peptides et de certains peptidomimétiques (par exemple type I).

Chacune de ces méthodes, la synthèse en solution ou la méthode SPPS, implique différentes chaînes latérales, différents groupes protecteurs, des méthodes de clivage ainsi que des résines de déprotection qui en découlent. La purification des peptides et l'évaluation de leur qualité sont effectuées par CLHP. Les spectres de masse et la résonnance magnétique nucléaire (RMN) mono- et bidimensionnelle sont les méthodes d'analyse standard pour évaluer l'identité du peptide.(75)

Les principaux défis de la chimie médicinale sont de concevoir des molécules caractérisées par une durée d'action suffisante, spécifique du récepteur, et avec une formulation stable et appropriée. Beaucoup de ces questions ne sont pas sans rappeler le cheminement des

[14]Caractérise un composé ou une liaison peu stable. (5)

anticorps monoclonaux[15], d'une synthèse biologique complexe avant de devenir un succès commercial. Bien que les médicaments peptides soient un concept qui implique encore des défis considérables, le développement de peptides comme outils à des fins de diagnostic et de thérapeutiques offre une énorme promesse de lutte contre la résistance microbienne. (76)

[15]Anticorps ne reconnaissant qu'un type d'épitope sur un antigène donné. Ils sont produits par un clone particulier de lymphocytes B. (42)

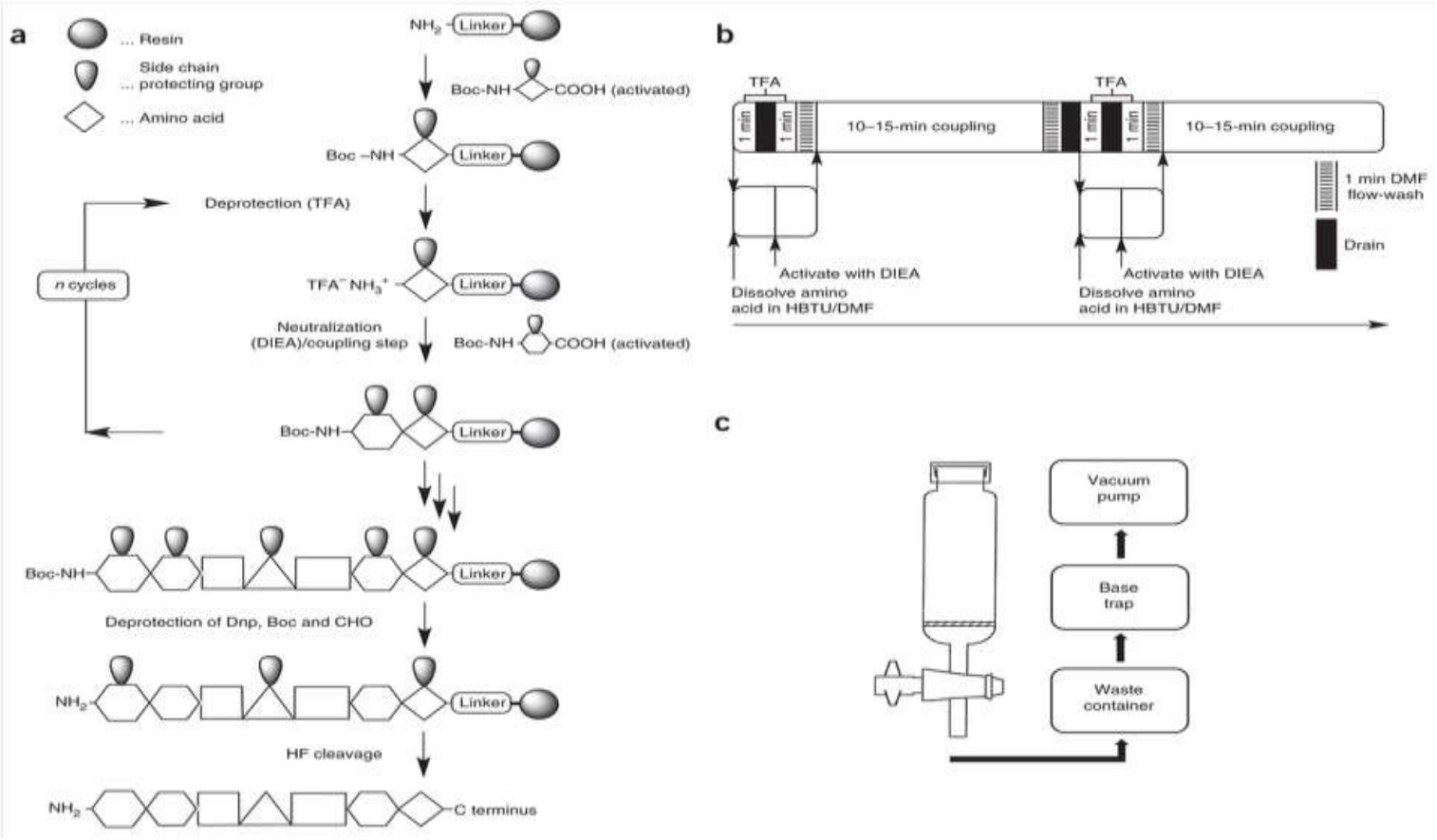


Figure 17: Synthèse de peptidomimétiques antimicrobiens en phase solide.

(A)L'assemblage commence habituellement par un lieur (par exemple la 4-méthylbenzhydrylamine (MBHA) ou PAM) qui est lié de manière covalente au support solide auquel l'acide aminé C-terminal est couplé, ce qui a pour résultat la formation d'une liaison peptidique. Le groupe Boc-protecteur N-terminal est ensuite éliminé par traitement au TFA et l'acide aminé suivant est introduit. L'activation de l'acide aminé (par exemple avec HBTU / DIEA dans du DMF) est effectuée immédiatement avant son addition. Un excès de DIEA est utilisé pour neutraliser l'espèce d'α-ammonium protonée résultant de l'étape de déprotection de TFA in situ pendant l'étape de couplage. Ce cycle est répété jusqu'à ce que la séquence cible soit terminée. Les groupes protecteurs de chaîne latérale sont éliminés et le peptide est clivé du support solide en utilisant HF.
(B) Cycle de déprotection-couplage: La déprotection de Boc est effectuée par addition de 2 x 1 min de TFA, suivie d'un lavage à l'écoulement de DMF de 30 à 1 min. En attendant, l'acide aminé protégé suivant est activé. Après addition de l'acide aminé activé et 10-15 minutes de temps de couplage, le cycle est répété et l'acide aminé suivant est introduit.
***C) Installation de synthèse peptidique (SPPS).* (77)**

Cas pratique : Synthèse et caractérisation de mPAMs : exemple de la technique de PEGylation (Royal College Surgeons of Ireland)

Dans cette partie, je vais mettre en pratique la synthèse de mPAMs reflétant un projet pilote lors de mon Stage d'Initiation à la Recherche (SIR) au sein de l'Université Royal Surgeon of Surgeons in Ireland (Dublin). J'ai eu la chance de joindre l „équipe de Dr Marc Devocelle, mon maitre de stage qui m'a accueilli pendant trois mois pour démarrer ce projet. N'ayant que peu de connaissance en chimie organique, j'ai entamé mon stage avec beaucoup de lecture de publications pour comprendre le milieu des PAMs à l'origine des mPAMs. Je vais ainsi vous décrire mon expérience.

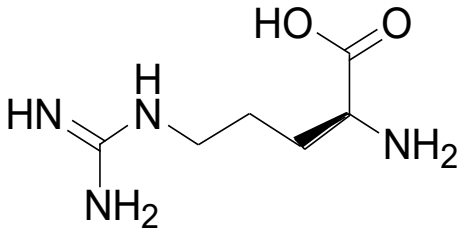
Mon projet était divisé en deux parties :

- La synthèse d'un peptidomimétique antimicrobien constitué d'une séquence d'arginine et de valine $(Arg\text{-}Val)_5$ basée sur le polymère de polyéthylène glycol (PEG) linéaire de faible poids moléculaire composé de monomères d'éthylène glycol.
- Le test de susceptibilité antimicrobienne pour évaluer l'activité antibactérienne du peptidomimétique $(Arg\text{-}Val)_5$ contre une souche de laboratoire de *Staphylococcus aureus* (SH1000) et en comparaison à son peptide parent synthétisé chimiquement (sur la base d'une chaine structurale de peptide naturel).

La première étape est donc de synthétiser des polymères antimicrobiens à base de PEG consistant en un copolymère d'analogues d'arginine et de valine. (78) La PEGylation consiste en la fixation d'un fragment de PEG au peptide médicament, souvent utilisée pour améliorer l'efficacité *in vivo* de ces médicaments. Comme il est biodégradable et non toxique, le PEG réduit l'immunogénicité et l'antigénicité[16] du mPAM, affichant une demi-vie prolongée ainsi qu'une protection renforcée contre la dégradation protéolytique. La PEGylation améliore la solubilité du mPAM, la stabilité du médicament ainsi que les propriétés pharmacocinétique et pharmacodynamique. (79) L'arginine est un AA avec une chaîne latérale chargée positivement et la valine guanidine-fonctionnelle est un AA hydrophobe, par conséquent, le mimétique de composition $(Arg\text{-}Val)_5$ peut répondre les propriétés essentielles d'un peptide antimicrobien. Pour obtenir le peptidomimétique, la séquence du peptide $(Arg\text{-}Val)_5$ représente la référence de l'activité antimicrobienne. L'objectif est de comparer l'effet antimicrobien du peptidomimétique par rapport à ce peptide parent, afin de déterminer si la conversion peptidomimétique est réussie.

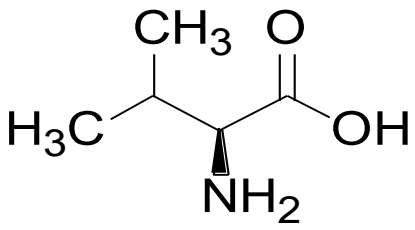
[16] Un épitope d'antigène est reconnu soit par un anticorps ou soit par un récepteur de lymphocyte T ou B (42)

Le peptidomimétique est formé par une réaction de copolymérisation conduisant à une chaîne linéaire avec un squelette PEG, tandis que la synthèse du peptide est réalisée par synthèse peptidique en phase solide soit sur un synthétiseur peptidique, soit par synthèse peptidique manuelle. Dans les figures 18 et 19, les structures chimiques de D-Arginine et D-Valine sont représentées.



D-Arginine

Figure 18: Structure de l'acide aminé D- Arginine



D-Valine

Figure 19: Structure de l'acide aminé D- valine

Lorsque deux ou plusieurs monomères différents se réunissent pour former des polymères, le produit est appelé copolymère et son procédé s'appelle la copolymérisation. Cette réaction de copolymérisation, pour générer le monomère analogue de la valine s''est avérée difficile, malgré l'utilisation d'une résine PS-carbonate, un polystyrène échangeur d'anions. En effet, les impuretés étaient toujours présentes et le composé final était insoluble dans l''eau. Cette mauvaise solubilité dans l'eau était inattendue, en raison de la teneur en arginine du peptide. Sans solubilité suffisante, il était impossible d'enregistrer une RMN de ce peptide et de le purifier par HPLC. Avec ce type de problème de synthèse, les solutions envisageables consistent en un changement des conditions d'expérimentation ou de l''utilisation d'autres procédés comme par exemple l''utilisation du peroxyde d'hydrogène (H_20_2), comme oxydant terminal.

Comme le peptide n'est pas soluble dans des solvants compatibles, une optimisation de la séquence peptidique était nécessaire. De même que la synthèse du dérivé époxyde s'avérait difficile, on cherchait un époxyde commercial qui pourrait avoir des propriétés similaires au peptide parent. L'époxyhexane a été identifié comme un monomère qui pourrait conférer l'hydrophobicité requise dans un peptidomimétique d'un peptide antimicrobien et il a été confirmé qu'il pourrait être polymérisé facilement. Le nouvel époxyde est similaire au dérivé d'AA disponible dans le commerce, la norleucine, avec une chaîne alkyle linéaire. Ceci fournirait une séquence peptidique à comparer avec le copolymère. Malheureusement, le peptide $(Nle\text{-}Arg)_5$ n'était pas soluble dans l'eau non plus. Les peptides contenant une forte proportion d'acides aminés hydrophobes sont capables de former des liaisons hydrogène intermoléculaires (c'est-à-dire une réticulation), formant ainsi des gels dans des solutions aqueuses.

Le peptide $(Nle\text{-}Lys)_5$ préparé par un scientifique du laboratoire a été utilisé pour comparer son activité à celle du peptidomimétique, nommé poly-(glycidyl-butane-co-glycidyl-amine).

Pour résumer les résultats de la synthese du mPAM, poly-(glycidyl-butane-co-glycidyl-amine), le PAM original est plus actif contre *Staphylococcus aureus* que le peptidomimétique testé. Cependant, le peptide testé sur la base de l'arginine n"est pas le peptide parent du mPAM, sur la base d'un analogue de lysine. L'effet de la charge positive affichée par l'arginine, et sa contribution à l'activité antimicrobienne est significativement différente de l'effet généré par la charge positive de la lysine et il est bien connu que les peptides à base de lysine sont moins chargés positivement que ceux à base d"arginine.

L'amine primaire de la lysine interagit moins électrostatiquement avec des phospholipides zwitterioniques[17] que le groupe -guanidino de l'arginine, ce qui suggère que la substitution de l"arginine avec la lysine augmenterait la sélectivité contre les phospholipides des membranes bactériennes chargés négativement, ce phénomène amène le peptide à être moins lytique envers les érythrocytes. L"ensemble de ces résultats suggèrent que l'activité de PAM est déterminée par une combinaison subtile de facteurs tels que la séquence, l'hydrophobie et la position du résidu cationique.(80)

[17] Molécule dont les extrémités sont chargées positivement et négativement, l'ensemble étant électriquement neutres. (42)

2.2.3.3. Procédés de développement des peptidomimétiques antimicrobiens

L'objectif principal de tous les chercheurs dans le domaine des PAMs est d'élaborer de nouvelles stratégies dans le développement de structures peptidiques pharmacologiquement pertinentes. (81) Pour relever ce défi et aider à la découverte de peptides *de novo*, différentes bioinformations ont été employées. L'idée générale est de combiner la séquence chimique et la structure des PAMs et de les mettre en corrélation avec leurs activités biologiques respectives. Plusieurs procédés ont été développés pour potentialiser l'utilisation clinique du PAM. (59)

Différentes stratégies pour modifier et améliorer les propriétés antimicrobiennes des PAMs seront décrites dans les paragraphes suivants mais cette liste n'est pas exhaustive. (58)

2.2.3.3.1. La substitution des acides aminés L-énantiomères naturels avec des analogues non naturels

Une des stratégies de modification très couramment utilisée pour améliorer les PAMs traditionnels est de changer les L-énantiomères de la molécule en D- énantiomères. Les AA D-énantiomères sont très rares dans la nature et ainsi leur l'incorporation dans le peptide modifie la chaîne latérale et les propriétés du squelette peptidique.(82)

L'un des premiers exemples d'un agent peptidomimétique est le D-magainine, mais ce peptide n'a pas montré d'amélioration significative de l'activité antimicrobienne par rapport à son homologue L-énantiomère. Cependant, le D-magainine a démontré une haute résistance à la protéolyse et une absence d'activité hémolytique, deux propriétés qui sont considérées comme utiles pour des applications thérapeutiques des peptidomimétique qui seront détaillées dans la partie propriétés thérapeutiques antimicrobienne, anticancéreuse et immunologique. (83)

2.2.3.3.2. Addition de chaines aliphatiques

Les mPAMs sont conçus soit à partir de la modification d'un peptide naturel, soit en développant des systèmes similaires qui imitent les peptides.(84) L'addition d'une chaîne aliphatique[18] à l'extrémité N-terminale d'un peptide antimicrobien actif peut être une stratégie pour améliorer les propriétés antimicrobiennes des peptides. Le schéma ci-dessous (Figure 18) illustre les différentes compositions de squelette d'une variété de peptides et des structures des peptidomimétiques qui possèdent des propriétés antibactériennes.

[18]Molécule dépourvue du caractère aromatique.(42)

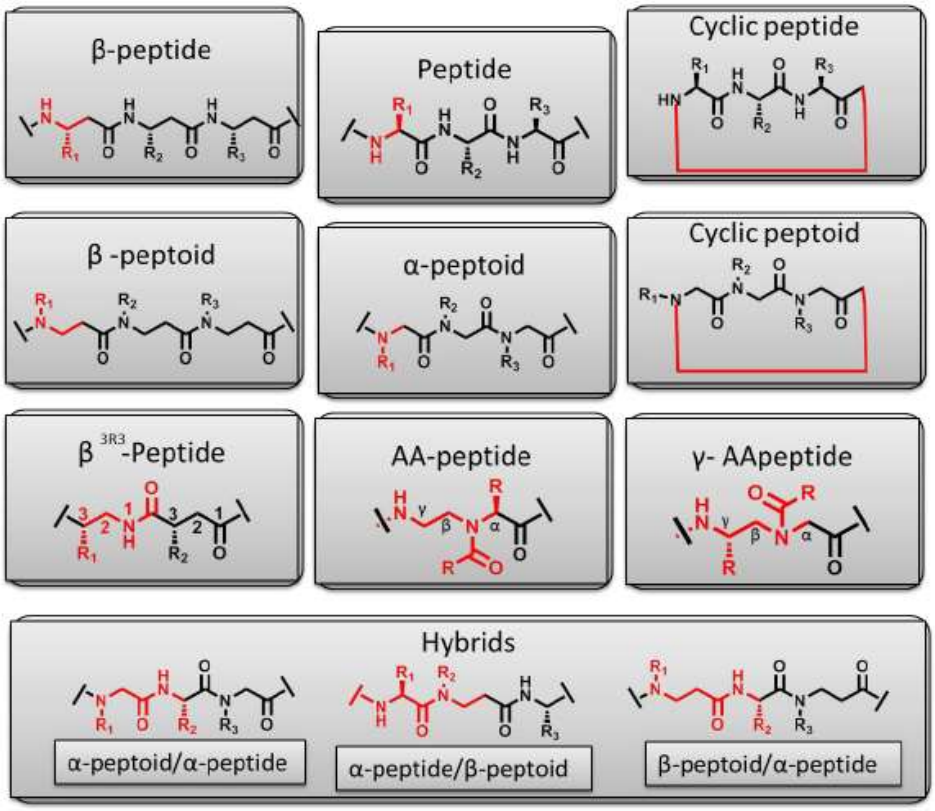


Figure 20: Structures de peptidomimétiques antimicrobiens actuelles avec une puissante activité antimicrobienne.

Parmi ces structures présentées sur la figure 20, voici un descriptif des modifications structurales qui ont été apportées à leur mPAMs respectifs :

a) Les **peptoïdes** sont des polymères de glycines N-substituées. Ils comprennent une nouvelle classe de composés non naturels qui imitent les structures peptidiques en déplaçant la chaîne latérale de l'α-carbone à l'azote. (58)

b) Les **ß-peptidomimétiques** : la modification réalisée pour les ß- peptidomimétiques implique un changement dans le squelette des structures peptidiques naturelles, sans modifier la composition chimique de la chaîne latérale, à savoir, l'addition d'un, deux ou trois atomes de carbone dans la chaîne peptidique. Les ß - peptidomimétiques n''ont qu''un extra carbone; ceux avec des atomes de carbone supplémentaires sont des gammas, delta peptidomimétiques.

c) Les **peptoides cycliques**: par rapport aux peptoïdes linéaires à forte activité antimicrobienne, les homologues cycliques (6-10 résidus) présentent des caractéristiques suivante : 1) une activité antimicrobienne supérieure, 2) une résistance aux protéases et 3) absence de lyse significative des érythrocytes humains. (85)

d) Les **hybrides** : une autre approche intéressante dans la synthèse de mPAMs est la fusion des structures de peptides naturels et les mimétiques qui se traduisent par des structures hybrides. Par exemple, en remplaçant des résidus d'arginine / leucine dans *apidaecin Ib* avec des résidus peptoïdes, le problème de la résistance sans effets cytotoxiques significatifs a été contourné.(86)

e) **Les AA-peptides** ont un large spectre d'activité antimicrobienne. Cette classe d'antimicrobiens a été développée par Cai *et al.* sur la base du squelette chirale d'acides nucléiques. Il peut imiter le mécanisme d'action des mPAMs et arrêter efficacement la croissance de bactéries Gram-positives et Gram-négatives multi-résistantes. (87)

2.2.3.3.3. Synthèse de nouveaux vecteurs peptidiques

Les vecteurs peptidiques riches en arginine sont issus d'une méthode développée récemment. Il s'agit de la conjugaison[19] du peptide tels que la cargaison est mis en œuvre pour livrer l'information dans les cellules.(49) Les peptides pénétrants les cellules sont de peptides de petite taille qui peuvent faciliter l'absorption des médicaments macromoléculaires, tels que des protéines ou des acides nucléiques, dans des cellules de mammifères. La pénétration cytosolique de ces peptides pourrait être bénéfique pour contourner l'endocytose conventionnelle afin d'éviter leur dégradation par les lysosomes. Il a été démontré que l'oligoarginine est un vecteur efficace comme peptide pénétrant les cellules humaines en traversant les membranes cellulaires. (88)

Les nano-transporteurs sont aussi une innovation prometteuse pour augmenter la pharmaco distribution (ex: nanoparticules, liposomes et micelle). Ils permettent de protéger la substance active des agressions externes (peptidases). (89)

Pour résumer, une description de certaines de ces structures est présentée ci-dessous (Figure 21).

[19]Il concerne le transfert d'un fragment d'ADN d'un ou plusieurs gènes, entre une bactérie donatrice et une bactérie réceptrice. (42)

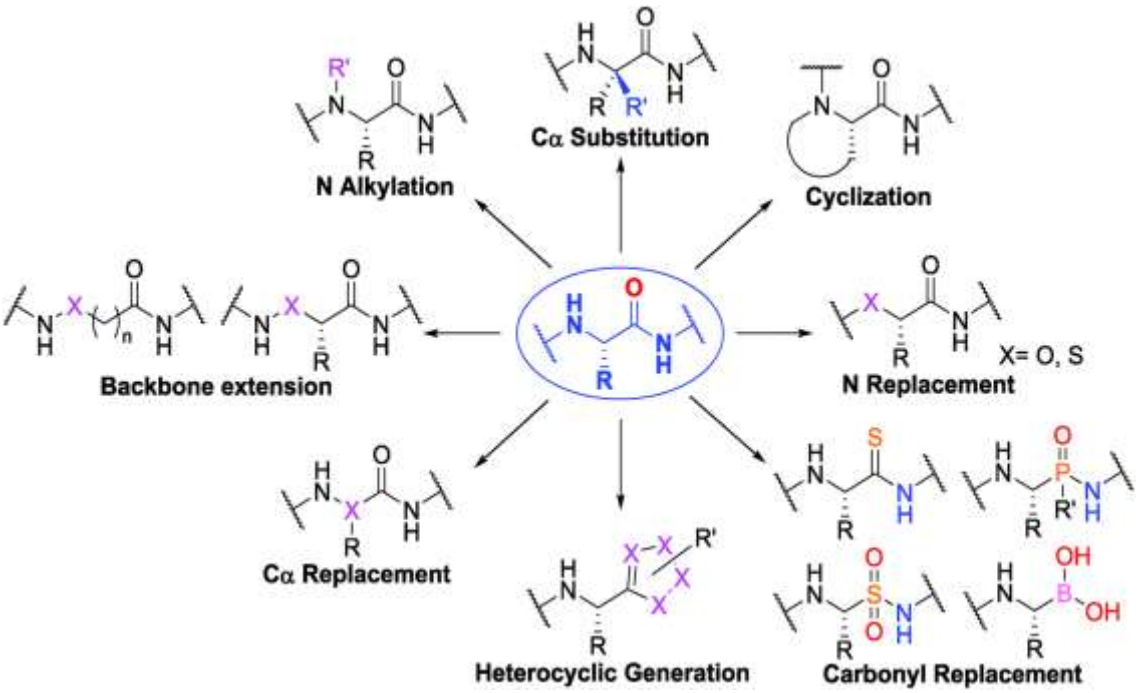


Figure 21: Conformation structurelle des peptidomimétiques antimicrobiens (90)

(De droite à gauche : Substitution Cα ; Cyclisation; Remplacement –N terminal ; Remplacement du Carbonyle; Génération d'un hétérocycle; Remplacement Cα; Extension du squelette; Alkylation –N terminal)

2.2.3.4. Formulation des médicaments – peptidomimétiques

Une des limitations associées aux peptidomimétiques s'explique par le passage peu favorable du médicament à travers le tractus gastro-intestinal qui découle de leurs propriétés physico-chimiques (la grande taille et la nature polaire des peptides qui limitent leur pénétration dans les membranes). Les peptides ont une capacité limitée à traverser les barrières physiologiques et sont confrontés à la clairance rénale et hépatique. Une fois dans la circulation systémique, les peptides ont une demi-vie courte qui est due à la dégradation rapide par les protéases. De ce fait, la nature chimique des peptides impose une voie d'administration directe par injection intraveineuse avec des doses répétées qui résulte en un inconfort pour le patient. (91) Ainsi, il reste la question du mode d'administration alternatif des peptides au patient devient important. Les voies d'administration subcutanée et intramusculaire sont des alternatives qui ont été développées. De plus, de nouvelles formulations sont apparues notamment le spray nasal, la délivrance pulmonaire, sublinguale oral ou les patchs transdermiques. (92) L'administration par voie orale est limitée, car les peptides sont dégradés par les enzymes de la sphère gastro-intestinale. (93)

Pour illustrer les formulations pharmaceutiques variées des peptides, le groupe pharmaceutique **Ipsen** français travaille depuis longtemps sur les peptides représentant plus

d'un tiers de son activité de recherche. La première formulation de microsphères peptidiques injectables a été commercialisée par le groupe. Ce peptide est diffusé en quantité constante dans l'organisme au cours de la journée, et cela pendant trois mois. Un autre exemple de peptide développé par un autre laboratoire pharmaceutique **Debiopharm,** est lui aussi encapsulé dans une matrice polymère biodégradable qui permet de le libérer sous une forme active de un à six mois. (65)

Pour optimiser ces formulations par un effet thérapeutique prolongé, le peptide peut être modifié par la technique de PEGylation comme il a été expliqué dans le passage 2.2.3.2. Cas pratique). Il a été démontré que les peptides traversent difficilement la membrane des cellules. Pour surmonter ce problème, une des solutions consiste à relier le peptide à des transporteurs constitués de petites séquences d'acides aminés capables de traverser cette membrane. (94)(95) Outre les systèmes de délivrance alternatifs, diverses formulations ont été conçues dans le passé, essayant de traiter les limitations physico-chimiques mentionnées ci-dessus, pour aider à développer des médicament-peptides prometteurs dans le développement pharmaceutique. (88)

Pour conclure sur les avantages et les inconvénients des mPAMs, le tableau 10 fournit un récapitulatif avec les éléments clés (liste des éléments non exhaustive)

Tableau 10: Avantages et inconvénients des peptidomimétiques antimicrobiens (97)

Inconvénients	Avantages
1. Stabilité limitée suite à la protéolyse par peptidases dans le tractus gastro-intestinal et dans le sérum (temps de demi-viede l'ordre de quelques minutes)	1. Les isostères, les peptides rétro-inverso, les peptides cycliques et non-mPAMs réduisent tous la vitesse de dégradation par les peptidases et les autres enzymes
2. Les mauvaises propriétés de transport de l'intestin vers le sang et à travers les membranes cellulaires en raison d'un poids moléculaire élevé et le manque de systèmes de transport spécifiques	2. Ajout de résidus et / ou remplacement des liaisons amides résultants de meilleures propriétés de transport à travers les membranes cellulaires hydrophobes.
3. L'élimination rapide par le foie et/ou des reins	3. Structures conformationnelles restreintes qui peuvent minimiser la liaison aux récepteurs non-cibles et améliorer l'activité au niveau du récepteur désiré
4. Formulation galénique peu confortable pour le patient	

2.2.3.5. Le développement clinique

Les essais cliniques se déroulent en quatre phases (96):

- L''essai de phase I correspond à des essais sur des volontaires sains pour juger de la sécurité d'emploi du médicament.
- L''essai de phase II correspond à des essais sur des petits groupes de patients malades pour analyser l'activité du futur médicament en termes d'effets dose-réponse.
- L''essai de phase III correspond à des essais multicentriques qui permettent de confirmer l'efficacité du médicament par rapport aux traitements existants ou à un placebo.
- L''essai de phase IV correspond à des essais effectués après l''approbation et la mise sur la mise sur le marché, réalisés dans des conditions proches de la médecine de ville.

La figure 22 rappelle les étapes de développement d''un médicament depuis les phases d''essais précliniques à la phase IV correspondant aux activités post-autorisation de mise sur le marché.

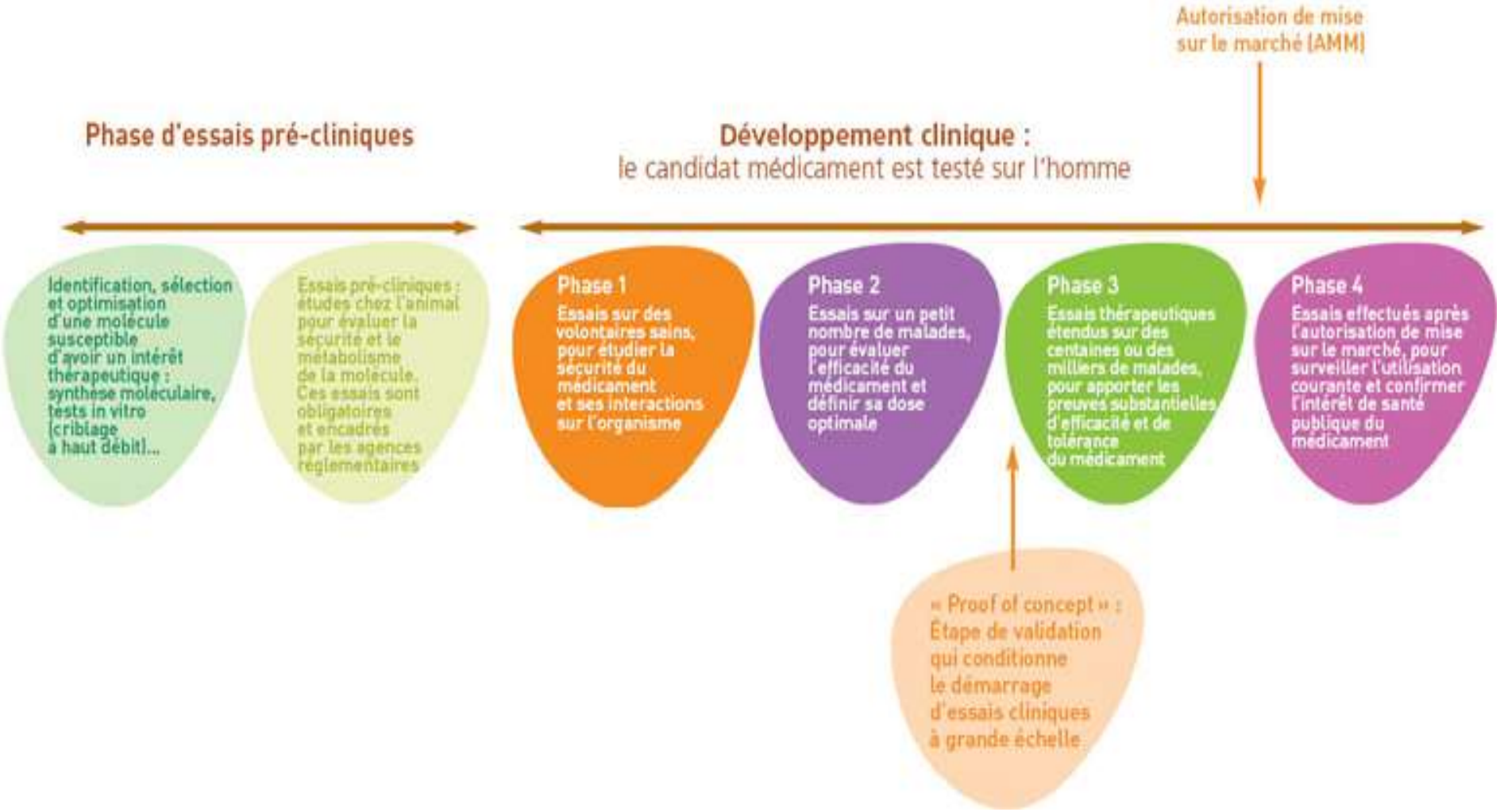


Figure 22: Les grandes étapes de la découverte et du développement d'un nouveau médicament.

Le développement thérapeutique des peptides est en pleine croissance. En 2011, entre 500 et 600 peptides étaient en phase préclinique. (97) En 2012, 6 peptides étaient en cours d'"évaluation de son efficacité et la sécurité d'"emploi respectivement en Europe et aux USA. Ceci représente un record pour les nouvelles entités biologiques en une année. Le taux d'"approbation réglementaire s'"éleva à 20% pour les peptides contre 10% pour les petites molécules chimiques.

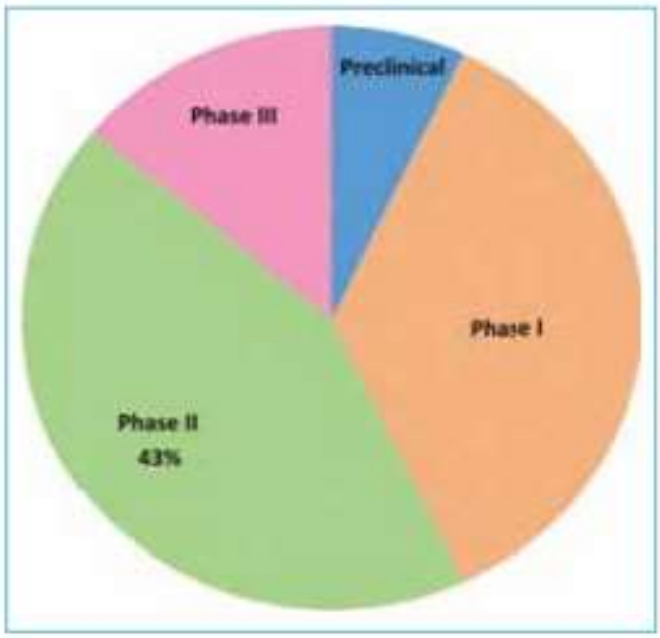


Figure 23: Représentation graphique du nombre de peptides en phase préclinique et clinique en 2016. (98)

D'"après la figure 23, près de 43% du nombre de peptides dans les essais cliniques sont en phase II et une majorité de ceux-ci sont relatifs à des troubles cardiovasculaire et métabolique. A partir de février 2016, 393 peptides thérapeutiques étaient dans différentes phases d'essai, avec 98 peptides en phase II. Les candidats à base d'inhibiteurs de GLP-1 sont les plus étudiés dans les essais cliniques de phase III. Le succès de ces candidats est annoncé dans le diabète de types 1 et 2. De plus, près de 50% des essais de thérapies peptidiques sont sponsorisés par des universités et des hôpitaux, alors que 42% des essais par l'industrie pharmaceutique, ce qui signifie que l'"industrie tend à investir de plus en plus dans les peptides et les dérivés de peptides antimicrobiens.(98)

Les principales entreprises opérant dans le marché du peptide thérapeutique sont **Eli Lilly, AstraZeneca, Merck & Co. Inc., Ipsen S.A, Novo Nordisk, Teva Pharmaceutical Industries Ltd, CordenPharma International, PolyPeptide Group,** et **Bachem Holding AG.**

2.2.4. Enregistrement des peptides et peptidomimétiques antimicrobiens

Certains peptides sont considérés comme des produits médicinaux conventionnels chimiques et dans d'autres cas des entités biologiques.

Aux Etats-Unis, la FDA considère les peptides comme médicaments conventionnels non comme des produits biologiques en regard de leur composition et structure chimique plutôt que de leur production. Selon la FDA, la taille maximale de peptides synthétiques est de 100 acides aminés. Cependant, certains peptides répondent à la définition de produits biologiques comme le cas des vaccins peptidiques. L'Agence Européenne des Médicaments (EMA) ne fournit pas une telle distinction qui est basée sur la taille. Par définition, les peptides sont considérés comme des entités biologiques s'ils sont soit extraits de leurs sources naturelles ou issues d'un produit recombinant. (99) Les peptides synthétisés chimiquement sont considérés comme des petites entités chimiques conventionnelles. Néanmoins, Un peptide peut être vu comme une innovation thérapeutique significative comme par exemple, le cas d'Exenatide éligible dans le cadre d'une procédure centralisée [20] pour obtenir l'autorisation de mise sur le marché en Europe.

En 1999, après avoir complété une étude de phase III, la FDA décide de s'opposer à l'approbation de l'acétate du pexiganan. (100) La raison était que l'essai clinique n'a pas démontré une efficacité clinique par rapport aux antibiotiques utilisés dans l'indication sous investigation. (66) Une dizaine d'années plus tard, La FDA a lancé une initiative « *Antibacterial Drug Development Task Force* », en septembre 2012, dans le but d'augmenter l'efficacité du développement des antibiotiques incluant le protocole des essais cliniques ainsi que les critères cliniques pour évaluer les PAMs. Une application suite à cette action a été appliquée dans le développement du surotomycine (**Cubist pharmaceuticals**) qui est un lipopeptide comparable à la vancomycine. Il est en phase III et est actif contre les infections à *Clostridium difficile*. Il a été désigné " *qualified infectious disease product*" en tant que "*generating antibiotic incentives now*" (GAIN) ce qui signifie qu'il bénéficie d'une révision prioritaire du dossier et de 5 ans d'exclusivité. (101)

[20] Une procédure centralisée lorsque l'AMM est accordée par la Commission européenne après avis de l'Agence européenne du médicament et est valable dans tous les états membres (obligatoire pour les médicaments orphelins, les produits issus des biotechnologies, les nouvelles substances actives indiquées dans le diabète, le cancer, le SIDA, les maladies neurodégénératives, autoimmunes…(42)

3. Le marché des peptides et peptidomimétiques antimicrobiens

Aujourd'hui, le marché des peptides est croissant. Le nombre de médicaments peptidiques en développement et commercialisés est en constante augmentation. Les peptides médicament bien établis aujourd'hui traitent des pathologies variées comme le cancer, les troubles metaboliques et les maladies cardiovasculaires. Les peptides – peptidomimétiques médicaments traitant les maladies infectieuses deviennent intéressant au vue de leurs propriétés larges comme agent antimicrobien.

2.3. 3.1. Propriétés thérapeutiques des peptides et peptidomimétiques: antimicrobienne, anticancéreuse et immunologique

Les peptides et les peptidomimétiques est une activité biologique significative (102):

- Ils peuvent agir comme des hormones et des molécules de signalisation pour le système nerveux central et le système immunitaire.
- Ils peuvent affecter un large éventail d'activités métaboliques, dont la digestion, la reproduction et la sensibilité à la douleur.
- Ce qui nous intéresse, c'est leur activité antimicrobienne.

De nouveaux traitements antimicrobiens pourraient également être utilisés conjointement avec des médicaments existants dans le cadre d'une «thérapie combinatoire» pour créer un effet additif ou synergique. (103) (104) (105)

3.1.1. Les peptides antibactériens et antifongiques

Les peptides antibactériens sont les PAMs les plus étudiés à ce jour. Leurs activités peuvent être à spectre étroit ou à large spectre qui sont capables de cibler des bactéries. (44) Dans certains cas, certains PAMs ont montré qu'ils pouvaient tuer des bactéries résistantes aux antibiotiques. La nisine, produite par *Lactococcus lactis*, a été couramment utilisé pendant près de 50 ans comme conservateur d'aliments sans développement significatif de résistance. (35) Il est également extrêmement puissant, affichant une activité contre une variété de bactéries Gram positif aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) faible de l'ordre du nanomolaire. Par exemple, la nisine (un PAM) et la vancomycine (un antibiotique) peuvent bloquer la synthèse de la paroi cellulaire. Cependant, une souche de SARM était résistante à la vancomycine, alors qu'elle était encore sensible à la nisine. (106). Un autre exemple est le mersacidine, un peptide tétracyclique produit par *Bacillus spp* qui présente une activité bactéricide contre le SARM comparable à celui de la vancomycine, mais sans

développement de résistance croisée (135). Il est de plus en plus reconnu qu'en plus de l'activité microbiocide directe, les petits peptides cationiques exercent des fonctions immunomodulatrices et peuvent être impliqués dans le contrôle de l'inflammation. (107) Les PAMs sont également capable de traiter les infections bactériennes pulmonaires associées à la muscoviscidose[21]. Benincasa *et al* ont rapporté que les PAMs tels que la β-défensine humaine (hBD-3) et la cathélicidine humaine (LL-37) avaient un effet sur la protection antibactérienne du tractus respiratoire contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae.* (108)

Comme les peptides antibactériens, les peptides antifongiques peuvent tuer les champignons en ciblant soit la paroi cellulaire, soit les composants intracellulaires. Cependant, la membrane bactérienne et la paroi cellulaire des champignons ont des contenus différents. Par exemple, la chitine est l'un des principaux composants des parois cellulaires fongiques et certains des peptides antifongiques sont capables de se lier à la chitine. Les peptides antifongiques tuent les cellules cibles en perturbant l'intégrité des membranes fongiques ou en formant directement des pores pour augmenter la perméabilisation de la membrane plasmique.(35)

3.1.2. Les peptides antiparasitaires

Ils représentent un petit groupe des PAMs, dont fait partie la magainine. Elle a été l'un des premiers peptides de défense de l'hôte a montré une activité antiprotozoaire, entraînant un gonflement et un éventuel éclatement de *Paramecium Caudatum*. (109) Plus tard, un peptide synthétique a été développé pour le traitement de la leishmaniose causée par le parasite *Leishmania.* Cette maladie est une cause importante de morbidité et de mortalité chez l'homme.(110) Un autre exemple de peptide antiparasitaire est la cathelicidine, qui est capable de tuer *Caernohabditis elegans* en formant des pores dans la membrane cellulaire. Des études ont indiqué que l''effet de ce dernier peptide se traduit par une perturbation de la membrane cellulaire suite à la formation de pores ou par l'interaction directe avec les bicouches lipidiques.(111)

L'affinité des PAMs pour des membranes microbiennes a encouragé leur utilisation thérapeutique dans les hôpitaux contre les infections bactériennes et fongiques sur des sondes. La colonisation et la croissance microbienne sur les surfaces de matières polymères synthétiques est un problème qui complique l'utilisation de dispositifs médicaux tels que des cathéters intraveineux. Une solution a été suggérée par la démonstration que le peptide

[21]Augmentation de la formation d'un tissu fibreux conjonctif par surproduction locale.(42)

magainine, lié de façon covalente à des billes de polymères insolubles, conserve une activité antimicrobienne. (44)

3.1.3. Les peptides anti-cancéreux

En plus, de leur activité antimicrobienne, les peptides produits par la majorité des organismes vivants sont également capables d'éliminer une grande variété de cellules cancéreuses.(112) Ils présentent de nombreux avantages par rapport aux agents chimio-thérapeutiques cytotoxiques classiques. En raison de leur mode d'action, dans lequel les PAMs ciblent les membranes, les PAMs pourraient être utilisées comme agents cancérogènes alternatifs.(113) Les membranes lipidiques sont la cible principale de la plupart des PAMs. Les PAMs peuvent induire la mort des cellules cancéreuses à travers deux mécanismes généraux: l'apoptose ou la nécrose. Une voie de mort nécrotique pourrait être le résultat des PAMs ciblant des molécules chargées négativement au niveau de la membrane cellulaire des cellules cancéreuses, conduisant à une lyse cellulaire. La voie de l'apoptose pourrait être la conséquence d'une perturbation de la membrane mitochondriale. La perméabilisation de la membrane médiée par le PAM peut se produire à travers divers mécanismes de perturbation de la membrane, tels que des modèles de "tapis" ou la formation de pores "toroïdaux".(3) Les PAMs sont souvent efficaces contre les cellules cancéreuses multi-résistantes.

Leur large spectre d'activité leur permet d'être efficaces contre les différents types de cancer. Ils ont généralement peu d'effets secondaires car ils ne présentent pas les mêmes effets nuisibles sur les cellules normales comme ils le font sur les cellules cancéreuses. A titre d'exemple, la magainine 2 était très efficace pour inhiber la prolifération des lignées cellulaires de cancer de la vessie. Des études supplémentaires ont démontré que l'effet anticancéreux des magainines était sélectif. La famille des cecropines a une efficacité sélective et cytotoxique en ciblant les membranes des cellules lipidiques et en formant des canaux perméables aux ions dans le cancer de la vessie. (113)

3.1.4. Les peptides antiviraux

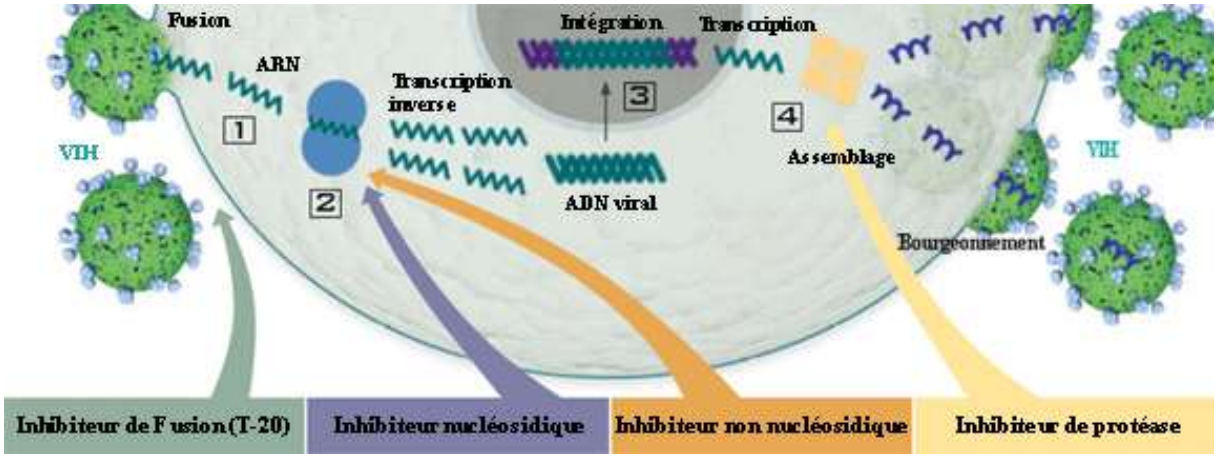


Figure 24: Les classes de médicaments antirétroviraux et leurs sites d'action.(114)

Les représentants des quatre classes structurelles des PAMs ont montré leur capacité à inhiber l'infection virale. Dans la figure 24 sont représentés les différents sites d'actions des médicaments antirétroviraux. Les virus sont principalement des virus à ARN et à ADN enveloppés, à l'exception de l'adénovirus qui est non enveloppé, du calicivirus félin et de l'échovirus 6. L'activité antivirale des PAMs semble souvent être liée au processus d'adsorption et d'entrée virale dans les cellules ou résulte d'un effet direct sur l'enveloppe virale. (44) Les peptides α-hélicoïdaux tels que les cécropines et la cathelicidine LL-37 ont la capacité d'engendrer une inactivation du virus de l'herpès simplex (VHS) minimale ou nulle tandis que les magainines α-hélicoïdales ont montré une activité anti-VHS puissante. À l'inverse, les peptides en feuillets β tels que les défensines ont montré une activité élevée vis-à-vis du VHS. Dans la recherche de nouvelles pro-drogues contre le VHS, une série d'analogues de l'aciclovir avec un cycle thiazole contenant des acides aminés (glycine, alanine, valine, leucine) a été étudiée par Georgi *et al.*(115). La stabilité chimique de certains des composés contenant des résidus différents a été étudiée à pH 1 et pH 7,4 et à une température de 37°C. Quelques-uns des promédicaments se sont révélés instables, en particulier dans des conditions acides, et ont subi une hydrolyse rapide. A pH 7,4, la stabilité du peptidomimétique Valthiazole-acyclovir était remarquable. A ce pH, le mPAM Val-thiazole-acyclovir a montré une stabilité supérieure à celle du valaciclovir qui est le premier promédicament efficace d'acyclovir.

La protéase du VIH joue un rôle crucial dans le cycle viral permettant la maturation des polyprotéines issues des gènes Gag et Gag-Pol virales en protéines structurales et fonctionnelles essentielles à la maturation du virus. L'inhibition de la protéase du VIH-1 conduit à la production de particules virales non infectieuses. Ceci explique le fait que la protéase est importante pour le traitement antiviral chez les patients séropositifs au VIH-1. Parmi les nombreuses stratégies de lutte contre le SIDA, le traitement de trithérapie antirétroviral hautement actif avec des inhibiteurs de la protéase du VIH-1 en association avec les inhibiteurs de la transcriptase inverse et l'inhibiteur de fusion continue d'être le traitement de première ligne pour le contrôle de l'infection à VIH-1.

Cependant, l'émergence rapide de souches de VIH-1 résistantes aux médicaments et l'apparition d'une résistance croisée limitent fortement les options de traitement à long terme. Ainsi, de nombreux efforts ont été faits dans la conception et la synthèse de nouveaux inhibiteurs de la protéase avec une activité à large spectre contre des variants de VIH-1 multi-résistants, une alternative qui parait prometteuse est le développement de petites molécules peptidiques inhibitrices de la protéase du VIH-1 développées par Yoshiaki Kiso *et al* contenant un acide carboxylique libre conjugué à un inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse. Ces résultats semblent prometteurs dans le développement de médicament anti VIH. (116)

3.2. Le marché des peptides en quelques chiffres

En 2012, le marché global des peptides (incluant la classe des peptidomimétiques) semblait être dominé par les trois peptides : la Goséréline / Zoladex (oligopeptides synthétiques) et Leuprolide (deux agonistes de la libération de gonadotrophine, respectivement utilisés dans le traitement du cancer du sein et de la prostate) et Octreotide (un mimétique de la somatostatine utilisé contre diverses tumeurs). (Figure 16) Malgré des promesses intéressantes, ces nouveaux composés ont montré un succès limité. Par exemple, à la fin de la phase III des essais cliniques, MSI-78 (acétate pexiganan, Magainine), un traitement topique pour les ulcères du pied diabétique et MX-226 ou IPC-226 pour la prévention d'ïnfection de cathéter, n"ont pas atteint l'approbation car ils ne présentaient pas une efficacité supérieure au traitement conventionnel. Malgré un accord unanime sur la performance des PAMs dans les essais de phase II, la plupart des PAMs échouent en phase III.(80) Dans le cas du Pexiganan, un analogue synthétique à large spectre du peptide magainine de la grenouille africaine, *Hymenochirus boettgeri*, a été développé pour le traitement des ulcères du pied diabétique. Dans un essai de phase III, les résultats conduisent à un échec initial sur l'impétigo, en partie dû à 75% de rémission spontanée de la

maladie. Dans les essais d'efficacité associé aux ulcères du pied diabétique, Pexiganan a entraîné une élimination du pathogène ou une amélioration significative chez plus de 90% des patients, avec un bon profil de toxicité. En dépit de ces résultats encourageants, Pexiganan s'est vu refuser son approbation pour utilisation en 1999 sur la base d''un manque de preuve suffisante d'efficacité. La FDA demandait un essai contrôlé par rapport à un placebo afin d'établir que le Pexiganan et les thérapies orales telles que l'ofloxacine conféraient des avantages de guérison supplémentaires par rapport aux soins des plaies seules.

Depuis quelques années, le développement des peptides dans le monde pharmaceutique mondial augmente. Aujourd''hui, les peptides apparaissent comme des produits matures s''adressant à un besoin médical sur un modèle de médicine personnalisée.

- En 2014, le marché de la thérapeutique peptidique était évalué à 16 milliards USD et les revenus devraient augmenter. Ceci est attribué aux progrès dans le domaine des peptides synthétiques et à l'investissement croissant de laboratoires biopharmaceutiques. (117)
- En 2015, le marché mondial de la thérapie peptidique a été évalué à 17,5 milliards USD.

La part du marché des produits thérapeutiques peptidiques continue de croître à un rythme exponentiel et devrait encore augmenter. (97) Il devrait augmenter à un taux de croissance annuel de 10,3% de 2015 à 2025 avec un total de 47 milliards USD de recettes d'ici 2025.(98) (Figure 25)



Figure 25: Prévision du marché global des peptides thérapeutiques (2005-2015). (98)

Les principales indications qui stimulent la demande de thérapies peptidiques sont les cancers, les troubles métaboliques et les maladies du système nerveux central. En 2015, ces trois indications représentaient plus de 80% des parts de revenus du marché mondial de la thérapie peptidique.

Parmi les différentes indications, le cancer représente la part de revenu la plus élevée du marché global des peptides thérapeutiques. Ce secteur a représenté 5,4 milliards de dollars de chiffre d'affaires de Lupron en 2014 (traitement de la prostate). Velcade représente 2,3 milliards de dollars en chiffre d'affaires en 2014. Il devrait rester le médicament le plus prescrit contre le cancer pendant la période 2015-2025.
En plus du cancer, les médicaments peptidiques sont aussi bien établis sur le marché des peptides dans les maladies du système nerveux central et métabolique. D"autres sont moins bien matures sur le marché comme : les troubles cardiovasculaires; les troubles hématologiques; les problèmes gastro-intestinaux; les maladies de peau, les troubles respiratoires;…

3.2.1. Le brevet des peptides

En effet, on remarque un nouveau souffle dans le développement de peptides avec une évolution croissante des brevets d"application des peptides thérapeutiques. (94) (118) Approximativement, 320 brevets déposés dans le domaine des peptides ont été déposés entre 1980 et nos jours. Cette augmentation reflète un dynamisme dans le développement du marché des peptides. Si on considère que quinze ans sont nécessaires après le dépôt de

brevet pour obtenir un nouveau médicament et il existe un pic de brevets entre 2000 et 2005, on peut éventuellement prédire qu'un nombre important de peptides médicaments atteindra le marché entre 2015-2020. (66)

La protection de brevet est de 20 ans. Lorsque le brevet arrive à expiration, le médicament tend à perdre une partie significative de ses ventes basées sur la compétitivité des prix avec les génériques. On peut anticiper que les médicaments – peptides pourraient vraisemblablement générer des revenus après 2020. (Figure 26)

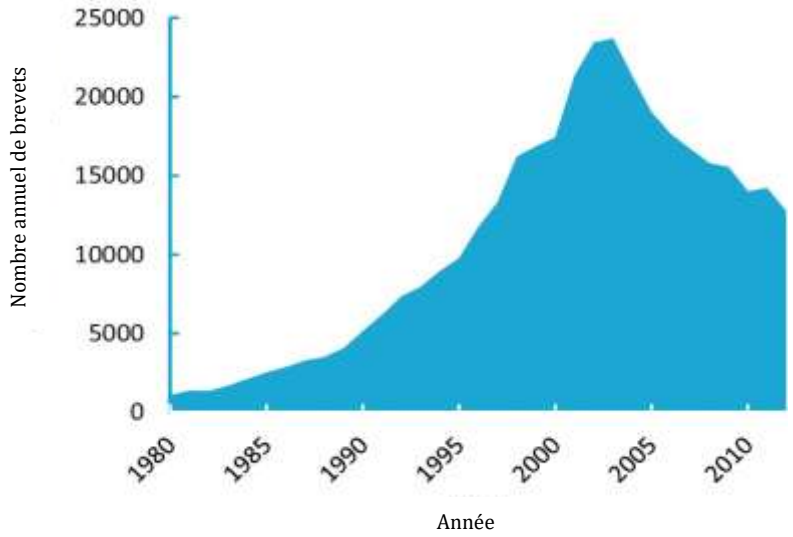


Figure 26: Tendance des brevets des peptides thérapeutiques à partir de 1980 jusqu'à 2012.

3.2.2. Portefeuille des peptidomimétiques antimicrobiens

Les peptides sont d'excellents candidats pour la R&D en tant que nouveaux agents thérapeutiques. L'application thérapeutique potentielle des PAMs ne se limite pas aux infections et peut être étendu à des états inflammatoires et à d'autres tels que le psoriasis, les troubles respiratoires, les maladies pulmonaires inflammatoires, les maladies inflammatoires de l'intestin, la polyarthrite rhumatoïde et l'athérosclérose. (119)
À ce jour, les PAMs ont été développés et sont entrés dans des essais cliniques. Il existe également quelques centaines de peptides qui se trouvent actuellement dans le stade de développement préclinique. (120) Les peptides prometteurs sont en fin de développement clinique et approuvés. La moitié est indiquée en oncologie, d„autres pour traiter des maladies métabolique ou cardiovasculaire et des maladies infectieuses. Ci-dessous, je vais citer quelques exemples de mPAMs approuvés et commercialisés. (98)(121) (Tableau 11)

- **Saralasin**

Saralasin est un analogue de l'angiotensine II et un agoniste partiel du récepteur de l'angiotensine II, et est utilisé pour traiter l'hypertension. Saralasin contient des substitutions à la séquence de l'angiotensine II, incluant la sarcosine en position 1, la valine en position 5 et l'alanine en position 8. La substitution avec des acides aminés non naturels comme la sarcosine renforce la résistance à la dégradation par l'aminopeptidase, ce qui améliore la bioactivité du composé.

- **Icatibant**

Icatibant est un mPAM où la résistance à la dégradation est soutenue par l'incorporation d'acides aminés non naturels, dont l'hydroxy-proline, la l-2-thiénylalanine. Le médicament est un antagoniste compétitif des récepteurs de la bradykinine 2, utilisé pour traiter les crises aiguës d'angio-œdème héréditaire chez les patients présentant une déficience en inhibiteur d'esterase C1.

- **L'éptifibatide**

L'éptifibatide est un peptide synthétique dérivé du venin de serpent à sonnettes, *Crotalus tigris*. Le composé contient six acides aminés, dont un acide aminé non naturel situé à l'extrémité C-terminale. La structure est un peptide cyclique. L'éptifibatide est un antiplaquettaire qui agit comme un inhibiteur de la glycoprotéine IIb / IIIa qui se trouve sur la surface des plaquettes et qui leur permet de s"agréger pour former des caillots sanguins.

- **Linaclotide**

Linaclotide est un peptide cyclique comprenant 14 acides aminés, avec trois liaisons disulfures. Linaclotide est un agoniste de la guanylate cyclase C qui régule entre autres le transport d'électrolytes et d'eau dans les épithéliums intestinaux et rénaux. Le médicament a été approuvé par la FDA en août 2012 pour le traitement de la constipation idiopathique chronique administer par voie orale.

- **Pramlintide**

Pramlintide est un polypeptide cyclique à 37 acides aminés. Le composé est un amylinomimétique, un analogue fonctionnel de l"amyline naturelle, hormone pancréatique, qui est libéré dans la circulation sanguine après le repas de la même façon que l'insuline. Pramlintide est utilisé par voie injectable pour traiter le diabète de types 1 et 2.

- **Ziconotide**

Ziconotide est un polypeptide cyclique de 25 acides aminés avec trois ponts disulfures. Il est dérivé de *Conus magus* (l'escargot cône). Le composé est un agent analgésique utilisé pour traiter les douleurs chroniques. Ziconotide inhibe la libération de neurotransmetteurs chimiques associées à la douleur, y compris le glutamate, la calcitonine Peptide et substance P présents dans le cerveau et la moelle épinière.

- **Cenderitide**

Le Cenderitide est un peptide isolé du venin du mamba vert, *Dendroaspis angusticeps. Le* Cenderitide est le seul double agoniste du récepteur peptidique natriurétique qui cible le récepteur particulaire de guanylyl cyclase B (pGC-B) et pGC-A et qui peut agir sur des processus pathologiques multiples, comme par exemple celui de l'insuffisance cardiaque. Le Cenderitide a été conçu pour conserver les propriétés anti-fibrotiques du peptide natriurétique du type C (CNP) / pGC-B avec des actions d'excrétion rénales facilitées.

En conclusion, dans l'industrie pharmaceutique actuelle, les peptides sont considérés comme ayant une valeur ajoutée, représentant une solution potentielle à un traitement plus efficace, en particulier dans le traitement des cancers et des troubles métaboliques. D'ores et déjà, des composés matures apparaissent, répondant aux besoins médicaux non satisfaits et ceci dans un large panel d'indications. En outre, les peptides promettent de combiner les coûts de production plus bas que les médicaments conventionnels (chimie moléculaire de petite taille, de poids moléculaire < 900 daltons avec une taille de l'ordre du nanomolaire) avec la spécificité élevée des entités biologiques de grande taille. (121)

Tableau 11: Les peptidomimétiques antimicrobiens approuvés sur le marché par fonction et organes cibles

Organes cibles (indiqué par numéro)	Peptidomimétiques	Fonctions
1	Pramlintide	Analog of amylin to treat T1DM and T2DM
2	Saralasin	Angiotensin II receptor agonist to reduce hypertension
3	Icatibant	Bradykinin 2 receptor antagonist to treat acute attacks of hereditary angioedema
4	Ziconotide	Blocks *N*-type voltage-gated calcium channels to treat chronic pain
5	Cyclosporine	Interferes with T cell activity to induce immunosuppression
6	Eptifibatide	Inhibits glycoprotein IIb/IIIa inhibitor to prevent blood clots
7	Vasopressin/ desmopressin/ terlipressin	Regulates plasma osmolality, cardiovascular, and brain functions
8	Linaclotide	Agonist that mimics guanylin and uroguanylin to treat chronic idiopathic constipation and constipation-predominant irritable bowel syndrome
9	Carbetocin	Agonist of peripheral oxytocin receptors to treat postpartum hemorrhage and bleeding
10	Daptomycin	Binds to Gram-positive bacterial membranes to inhibit growth
11	Afamelanotide	Analog of α-MSH to treat erythropoietic protoporphyria

Tableau 12: Les peptidomimétiques antimicrobiens approuvés aux États Unis, Europe, et Japon. (121)

INNs	Noms	Longueur	Séquences	Laboratoires	Indications	Demi-vie
Daptomycin	Cubicin	13 aa	*N*-Decanoyl-Trp-Asp-Asp-threonylglycyl-ornithyl-Asp-D-alanyl-aspartylglycyl-D-seryl-threo-3-methyl-glutamyl-3-anthraniloyl-alanine[egr]1-lactone	Cubist Pharmaceuticals	Antibiotic used to treat systemic and life-threatening infections caused by Gram-positive organisms	8–9 hours
Afamelanotide	Scenesse	13 aa	Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-D-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH_2	Clinuvel Pharmaceuticals	Erythropoietic porphyries (EMEA and FDA orphan drug status, Phase 3)	100 min
Eptifibatide	Integrilin	7 aa	c[Mpa-homoArg-Gly-Asp-Trp-Pro-Cys]-NH_2	Millennium Pharms, GSK, Schering-Plough	Acute coronary syndrome, unstable angina undergoing PCI	2.5 hours
Cyclosporine	Neoral, Gengraf, Sandimmune, Arpimune Me, Graftin, Imusporin, Panimun Bioral	11 aa	(3S,6S,9S,12R,15S,18S,21S,24S,30S,33S)-30-Ethyl-33-[(1R,2R,4E)-1-hydroxy-2-methyl-4-hexen-1-yl]-6,9,18,24-tetraisobutyl-3,21-diisopropyl-1,4,7,10,12,15,19,25,28-nonamethyl-1,4,7,10,13,16,19,22,25,28,31-undecaazacyclotritriacontane-2,5,8,11,14,17,20,23,26,29,32-undecone	RGP life sciences, Ranbaxy laboratories, Cipla limited, Ecolity, Allergan, Novartis	Transplant (kidney, liver, and heart) rejection, rheumatoid arthritis, severe psoriasis	5–18 hours
Linaclotide	Linzess and Constella	16 aa	Cys-Cys-Glu-Tyr-Cys-Cys-Asp-Pro-Ala-Cys-Threonylglycyl-Cys-Tyr cyclo(1-6),(2-10),(5-13)-tris(disulfide)	Ironwood Pharmaceuticals	Irritable bowel syndrome (IBS)	1.5 hours
Pramlintide	Symlin	37 aa	Cyclo H-Lys-c[Cys-Asn-Thr-Ala-Thr-Cys]-Ala-Thr-Gln-Arg-Leu-Ala-Asn-Phe-Leu-Val-His-Ser-Ser-Asn-Asn-Phe-Gly-Pro-Ile-Leu-Pro-Pro-Thr-Asn-Val-Gly-Ser-Asn-Thr-Tyr]-NH_2	Amylin Pharmaceuticals	T1DM, T2DM	48 min
Ziconotide	Prialt	25 aa	[Cys1-Cys16, Cys8-Cys20, Cys15-Cys25]-tricyclo H-[Cys^1-Lys-Gly-Lys-Gly-Ala-Lys-Cys^8-Ser-Arg-Leu-Met-Tyr-Asp-Cys^{15}-Cys^{16}-Thr-Gly-Ser-Cys^{20}-Arg-Ser-Gly-Lys-Cys^{25}]-NH_2, acetate	Elan Pharms	Severe chronic pain	2.9–6.5 hours
Desmopressin acetate	DDAVP, Defirin, Desmopressin Acetate, Minirin, Minirinmelt, Octim, Stimate	9 aa	c[Mpa-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys]-Pro-D-Arg-Gly-NH_2, monoacetate trihydrate	Apotex, Bausch & Lomb Pharms, Barr Labs, Behring, Ferring Pharms, Hospira, Pharmaceutique Noroit, Sanofi-Aventis, Teva	Central diabetes insipidus, nocturnal enuresis, nocturia, and stoppage of bleeding or hemorrhage in patients with hemophilia A	158 min
Terlipressin acetate	Glypressin	12 aa	H-Gly-Gly-Gly-c[Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys]-Pro-Lys-Gly-NH_2, acetate	Ferring Pharmaceuticals	Bleeding esophageal varices	50 min, 6 hours effective
Icatibant acetate	Firazyr	10 aa	H-D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH, acetate	Jerini AG	Hereditary angioedema	1–2 hours
Carbetocin acetate	Duratocin, Lonactene, Pabal	8 aa	c[Tyr(Me)-Ile-Gln-Asn-Cys($(CH_2)_3CO_2$-)]-Pro-Leu-Gly-NH_2, acetate	Ferring Pharms	Prevention of uterine atony, control of postpartum bleeding or hemorrhage	85–100 min

4. Discussion et conclusions

Mon objectif tout au long de ce travail a été de décrire une nouvelle classe de médicaments qui a le potentiel pour devenir une alternative thérapeutique face à la RAM. La problématique autour de la place des mPAMs s'articule entre la connaissance grandissante des PAMs et la modulation structurale de ces peptides afin d'optimiser leurs propriétés physico-chimiques et leur activité antimicrobienne. L'autre point de vue était de comprendre les défis dans la R&D par les industriels.

J'ai entrepris cette thèse grâce à mon Stage d'Initiation à la Recherche (SIR) à Dublin. Cette expérience entrait dans le cadre de mes études de pharmacie où j'ai eu la chance de rejoindre l'équipe du Dr. Marc Devocelle pour initier un projet: la synthèse de mPAMs $(Arg\text{-}Val)_5$ à partir d'un peptide parent et la détermination de son activité antimicrobienne. Ces trois mois de stage m'ont permis de découvrir un autre aspect de mes études de pharmacie par un mélange de chimie organique, de chimie analytique et de microbiologie. Cette expérience m'a permis de découvrir l'environnement des peptides antimicrobiens et de comprendre les challenges dans le développement de nouveaux traitements antimicrobiens mais aussi les nouvelles perspectives de recherche.

Ayant parcouru ensuite la filière industrie, j'ai pu découvrir les défis auxquelles font face les laboratoires pharmaceutiques pour développer des thérapies antimicrobiennes. De par le déclin de médicaments innovants, la limite du "*business model*" des laboratoires pharmaceutiques dans le domaine des antimicrobiens et les contraintes réglementaires, j'ai pu soulever ma problématique et mettre en lumière la place limitée des mPAMs dans le marché de l'industrie pharmaceutique.

Tout au long de ce travail, j'ai tenté d'expliquer plusieurs points importants pour répondre à la problématique:

- L'aspect scientifique : de la synthèse chimique, à la caractérisation de la relation structure-activité et les propriétés physico-chimiques.
- L'aspect clinique : les mécanismes d'action, les maladies ciblées et les essais cliniques en cours.
- L'aspect réglementaire : les réglementations des antimicrobiens aux USA et en Europe, les initiatives mises en œuvre au niveau mondial pour la lutte contre la résistance aux antibiotiques.

Dans cette partie discussion, je vais mettre en relief les grandes lignes de discussion sur ce sujet au vue des différentes parties abordées précédemment:

- Le champs large d'action des mPAMs comme thérapie antimicrobienne (bactéries, virus, champignons, …).
- Une croissance à deux vitesses : l'importance croissante de la résistance aux antibiotiques et les défis auxquels font face les industries pharmaceutiques pour développer de nouvelles thérapies antimicrobiennes.
- Des initiatives mondiales pour développer de nouveaux traitements antimicrobiens (par exemple "*Stewardship*") et l'optimisation des mPAMs.

4.1. Le potentiel des peptidomimétiques antimicrobiens dans la thérapie antimicrobienne

Parmi les recherches en cours, figurent les nouveaux polyéthylène glycols (PEG) linéaires pour la conjugaison de peptides et des mPAMs à base de polymères.(88)

- Des squelettes de PEG modifiés ayant des capacités de charge élevés ont été synthétisés. Les candidats produits peuvent être utilisés comme véhicules de délivrance de médicaments ciblés à base de peptides, comme les nanomédicaments ou les médicaments polymères.

- Des peptides biologiquement actifs ont été soumis à une conversion en mPAMs. Les candidats générés par cette approche peuvent reproduire ou surpasser l'activité biologique de leurs peptides parents, tout en n'ayant aucune toxicité. Les performances de certains de ces candidats sont proches de celles des réactifs commerciaux de référence.

Les mPAMs sont des molécules qui ont la capacité d'interagir avec la cible biologique et de provoquer le même effet biologique que leurs peptides naturels respectifs. Ces composés non-peptidiques peuvent également posséder des propriétés pharmacocinétiques améliorées (PK), telles qu'une meilleure absorption, une meilleure stabilité métabolique et une meilleure biodisponibilité. Ce sont des facteurs important à prendre en considération pour un développement clinique.

Dans le travail présenté ici, des stratégies générales ont été citées pour le développement de mPAMs par la conception, à partir d'un peptide bioactif. Cependant, lors de mon SIR, les

résultats de ce projet ont permis d'avoir des idées/conceptions préliminaires en termes de structures de mPAMs et a ouvert la possibilité de modéliser la structure du peptide avec d'autres acides aminés tels que la norleucine. La recherche conduite au „Royal College of Surgeons in Ireland" (RCSI, Faculté de médecine), sur ce projet a permis d'obtenir des résultats prometteurs.Cette recherche a permis d'établir avec succès la faisabilité de nouveaux mimétiques de copolymères antimicrobiens à base de PEG. Ces études ont également validé l'utilisation d'autres AA tels que la norleucine comme un motif hydrophobe dans les PAMs, et par conséquent ont guidé la génération de mPAMs futurs vers l'utilisation de copolymères à base d'analogues de norleucine. Une des applications futures des mPAMs serait l'administration locale utilisée en particulier contre la colonisation microbienne de *Staphylococcus aureus* présents sur les surfaces des matériaux polymères tels que des cathéters qui constitue un problème clinique important associé aux infections nosocomiales. (3)

Aujourd'hui, il existe de plus en plus de publications disponibles dans la recherche appliquée des mPAMs pour diverses applications thérapeutiques. Ceci démontre en partie que la recherche s'intensifie et mène à des stratégies thérapeutiques antimicrobiennes prometteuses.

4.2. Une croissance à deux vitesses

Dans un premier temps, j'ai voulu évaluer les conséquences de l'impact grandissant de la croissance des multi-résistances.

Aujourd'hui, la résistance aux antimicrobiens pose un problème quant à la diminution de l'efficacité du traitement jusqu'à devenir totalement inefficace. La RAM est un phénomène naturel renforcé par l'accumulation de facteurs, y compris l'utilisation excessive et inappropriée des médicaments antimicrobiens ou par un traitement répété de différentes classes d'antibiotiques découvertes à ce jour. La libéralisation du commerce et le nombre croissant de voyageurs contribuent à l'augmentation du risque de propagation des infections existantes. Dans le même temps, le développement du portefeuille des antibiotiques a progressivement décliné.

L'objectif principal de tous les chercheurs dans ce domaine est de contribuer au développement de nouvelles stratégies de PAMs pharmacologiquement pertinentes. Un des défis est de construire et de développer des modèles robustes de prédiction des activités biologiques des peptides. L'idée générale est de combiner la séquence chimique et la

structure des PAMs, de les décrire avec des paramètres physico-chimiques et de les corréler avec leurs activités biologiques respectives en utilisant des modèles mathématiques. En outre, la présence d'obstacles économiques et réglementaires ont entravé le développement des mPAMs, comme antimicrobiens, de la recherche à la clinique.

Le « *business model* » est remis en cause car le retour sur investissement est peu intéressant en plus d'avoir réinjecté des fonds dans la recherche. Le « *business model* » est obsolète et peu viable pour les laboratoires. En effet, les laboratoires pharmaceutiques investissent dans des maladies qui génèrent plus de profit. Il faudrait envisager de révolutionner le modèle économique, comme il a été fait pour le SIDA ou les maladies rares, ce qui stimulerait les laboratoires pharmaceutiques pour investir dans une molécule révolutionnaire.

A ce jour, seulement une vingtaine de nouveaux antibiotiques ont été lancés depuis les années 2000, mais très peu de résultats encourageants ont été constatés. Une nouvelle initiative européenne majeure pour lutter contre la menace mondiale croissante de la résistance aux antibiotiques a débuté en octobre 2014 avec le lancement de DRIVE-AB (conduite du réinvestissement en R&D des antibiotiques), où un ensemble de médecins, académiciens et industriels jouent un rôle essentiel dans la définition de nouveaux « *business model* ». (Figure 27)

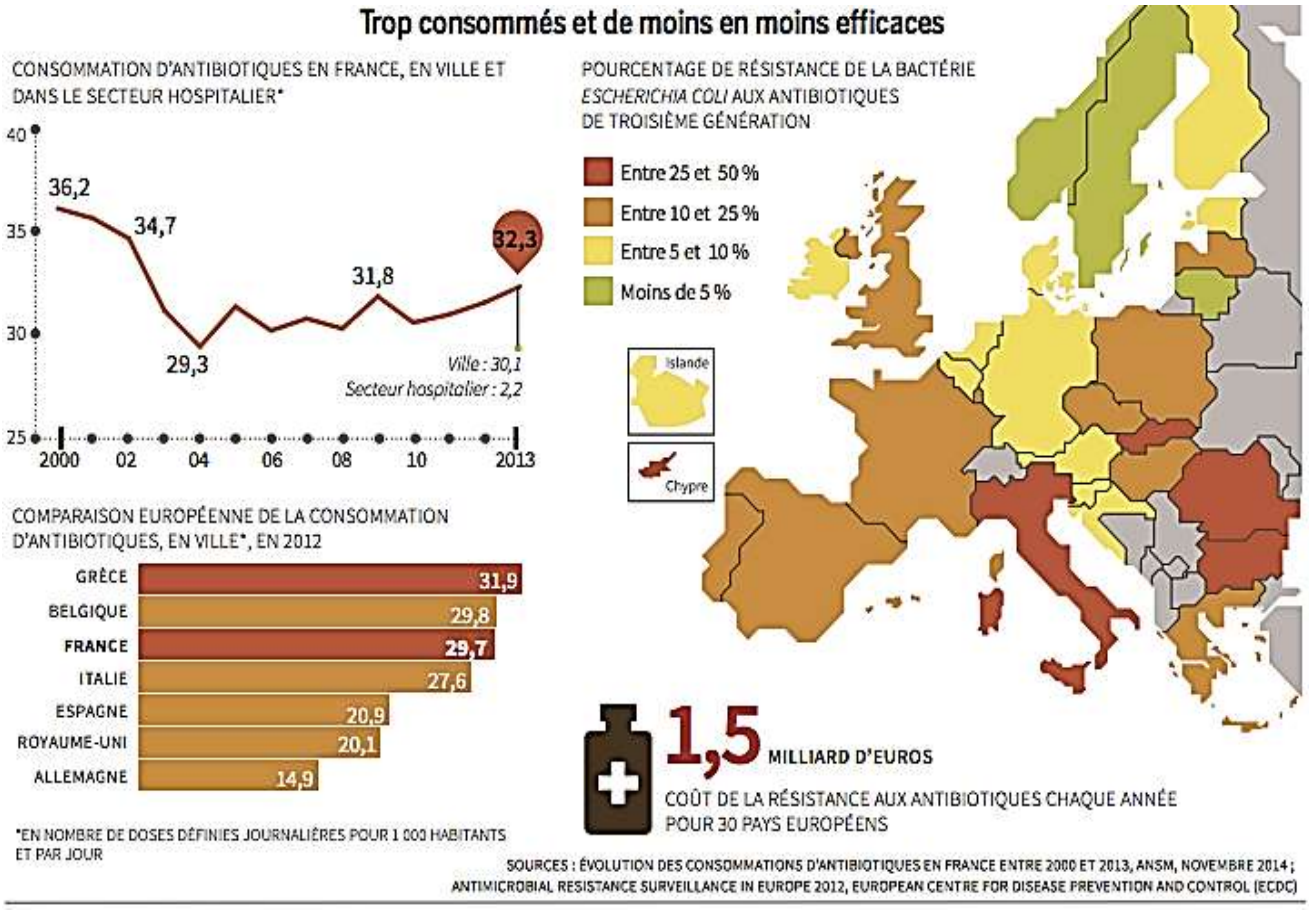


Figure 27: Le "*business model*" cassé des antibiotiques.

4.3. Le futur des peptidomimétiques antimicrobiens: ont-ils vraiment une place sur le marché de l'industrie pharmaceutique?

Les PAMs et de mPAMs sont des alternatives interessantes des antibiotiques et contre la RAM. Ces différentes classes de composés comprennent les oligoacyllysines, les céragénines, les peptoïdes, les oligomères de phénylène-éthynylène etc. L'idée principale derrière la conception de ces mimétiques est de construire des molécules uniques qui pourraient maintenir le caractère amphiphile des PAMs d'origine naturelle tout en contournant les inconvénients majeurs qui ont empêché les antimicrobiens à base de peptide d'avoir un succès significatif dans la pratique.

Les mPAMs ont une place encore limitée à ce jour dans le marché de l'industrie pharmaceutique. Toutefois, la recherche bat son plein et de nombreuses études cliniques sont en cours afin de prouver l'efficacité et la sécurité du médicament pour une maladie ou infection donnée. Le fort potentiel des mPAMs réside dans l'activité biologique très large qui cible les bactéries multi-résistantes, les virus, les champignons. Des études sont actuellement en cours contre les résistances au VSH-1, contre le VIH-1 ou encore le virus de l'hépatite C (VHC).

De mon point de vue, il est prioritaire de revoir le « *business model* » des antimicrobiens afin de favoriser les laboratoires à investir dans le portefeuille des antimicrobiens. Des discussions sur les modèles d'investissement des industries sont discutées, par exemple, le système des « récompenses » pour stimuler le marché au vu des échecs et du manque de financement dédiés aux antimicrobiens et aux thérapeutiques alternatives.

Ainsi, des solutions en termes de financement pour la recherche de nouveaux traitements antimicrobiens et diagnostiques sont proposées et lancées. Les gouvernements anglais et chinois ont déjà accepté d'investir 72 millions USD à un nouveau fonds mondial de l'innovation. Jim O'Neil, un économiste anglais propose d'envisager un petit prélèvement sur le secteur pharmaceutique, comme l'une des options pour augmenter le financement de l'entrée sur le marché de nouveaux antibiotiques. Le prélèvement sera basé sur le principe du «*pay or play*», où les entreprises qui investissent dans la R&D contre la RAM peuvent déduire leurs investissements de la charge due par tous les acteurs de l'industrie. (10) Depuis février 2015, la mise en place d'une surveillance des infections résistantes aux médicaments dans les pays à revenu faible et moyen, permet de suivre la résistance, en particulier dans les pays émergents. Ce travail est incroyablement important dans la lutte contre la résistance aux antimicrobiens et il doit aller de pair avec un système de santé mieux préparé aux épidémies. Une autre solution proposée serait de «réserver ces nouveaux médicaments à un nombre limité de patients». D'autres modèles sont discutés et pencheraient sur «un engagement des gouvernements à acheter une quantité donnée d'antibiotiques et de les préserver et de les stocker si besoin est. Ceci offrirait une garantie de chiffre d'affaires aux laboratoires, indépendamment du volume de prescription». (122)
De plus, des programmes de développement de nouvelles thérapies antimicrobiennes ont permis à des laboratoires pharmaceutiques de réinvestir dans les thérapies antimicrobiennes. En 2013, **Roche**, laboratoire suisse qui avait arrêté tout investissement dans les années 1990, a relancé son portefeuille de produits dans les antibiotiques avec plusieurs acquisitions. En plus d'avoir réinjecter des millions dans un antibiotique développé par un autre laboratoire **Polyphor** pour lutter contre une bactérie de la famille des Pseudomonas, il a aussi conclu des partenariats avec d'autres start-ups pour la R&D de nouvelles thérapies antimicrobiennes.

Des actions au niveau national et international ont été prises afin de promouvoir le développement et la recherche dans le domaine des antimicrobiens. Tout d'abord, les pays du G7 bénéficieraient de l'élaboration et de la mise en œuvre d'une action économique globale dans les économies partenaires afin d'adopter une approche de santé globale. Aussi, des efforts visent à promouvoir les essais cliniques harmonisés à l'échelle mondiale pour

soutenir et faciliter le développement des antimicrobiens, des diagnostics et de promouvoir la coopération réglementaire sur les médicaments.

Aussi, à l'échelle nationale, tous les pays doivent mettre en place des méthodes pour le choix judicieux des traitements médicamenteux. Une amélioration se situe au niveau de l'aspect diagnostique de la prescription de médicaments souvent ignorée dans de nombreux pays. Il est important que la bactérie soit identifiée et qu'un antibiogramme soit réalisé avant de prescrire un traitement par antibiotique. Dans le même temps, les interventions éducatives au niveau des patients jouent un rôle essentiel. Plus important encore, le contrôle de la propagation d'organismes résistants en utilisant des mesures de quarantaine appropriées aura un effet additif énorme sur la prévention de la dissémination des microorganismes résistants. La politique de «*recherche et destruction*» impliquant le pré-dépistage, l'isolement, la mise en quarantaine et le dépistage des membres du personnel de santé à l'hôpital s'est avéré efficace dans de nombreux pays.

Conclusion finale

L'omniprésence de la résistance bactérienne aux antibiotiques conventionnels est devenue une préoccupation mondiale. Cependant, la recherche impliquant des PAMs et leurs analogues synthétiques a permis de lancer une classe potentielle de nouveaux antibactériens pour le traitement d'un éventail de maladies causées par des bactéries pathogènes, comme les Staphylocoques mais aussi des virus. Les peptides et mPAMs antimicrobiens ont plusieurs avantages uniques par rapport aux antibiotiques traditionnels, tels que l'émergence lente d'une résistance bactérienne à ces agents et leur capacité à moduler la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection. Ce travail démontre qu'il y a un potentiel prometteur des mPAMs mais qu'il reste un long chemin à parcourir avant de révolutionner le monde des antimicrobiens dans un futur proche.

Bibliographie

1. GACHELIN G. FLEMING : Découverte de la pénicilline [Internet]. [consulté le 2017 Jun 7] EU Universalis.fr. 2017. Disponible sur: universalis.fr/encyclopedie/fleming-decouverte-de-la-penicilline/

2. ALANIS A. Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? Arch Med Res. 2005 Dec;36(6):697–705.

3. ZASLOFF M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature. 2002;415:389–95.

4. KAMYSZ W, NADOLSKI P, KEDZIA A, CIRIONI O, BARCHIESI F, GIACOMETTI A, et al. In vitro activity of synthetic antimicrobial peptides against Candida. Pol J Microbiol. 55:303–7.

5. Des acides aminés synthétiques pour de nouveaux peptides [Internet]. Institut de chimie CNRS. 2015. Disponible sur: http://www.cnrs.fr/inc/communication/direct_labos/bihel.htm

6. HOFFMANN S, OUTTERSON K. What will it take to address the global threat of antibiotic resistance? J Law Med Ethics Boston Univ Sch. 2015;

7. SMITH RD, COAST J. Antimicrobial resistance: a global response. Bull World Health Organ. 2002 Jan;80(2):126–33.

8. WOODFORD N, ELLINGTON M. The emergence of antibiotic resistance by mutation. Clin Microbiol Infect. 2007 Jan;13(1):5–18.

9. LAXMINARAYAN R, DUSE A, ZAIDI A. Antibiotic resistance-the need for global solutions. Lancet Infect Dis. 2013 Dec;13(12):1057–1098.

10. O'NEIL J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: final report and recommendations. The review on microbial resistance; 2016.

11. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Antimicrobial resistance : Global Report on Surveillance. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data; 2014.

12. MARSTON H, DIXON DM, KNISELY J. Antimicrobial Resistance. JAMA. 2016 Sep 20;316(11):1193–204.

13. EUROPEAN COMMISSION. Special Eurobarometer Antimicrobial resistance. 2016.

14. TUMBARELLO M, SPANU T, DI BIDINO R, MARCHETTI M, RUGGERI M, TRECARICHI E, et al. Costs of bloodstream infections caused by Escherichia coli and influence of extended-spectrum-beta-lactamase production and inadequate initial antibiotic therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Oct;54(10):4085–91.

15. WORLD HEALTH ORGANIZATION . WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. [Internet]. [consulté le 2017 Jun 7]. Disponible sur: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/

16. TAYLOR J, HAFNER M, YERUSHALMI E, SMITH R, BELLASIO J, VARDAVAS R, et al. Estimating the economic costs of antimicrobial resistance: Model and Results. RAND Corporation; 2014.

17. BERGMANS D, BONTEN M, GAILLARD C, VAN TIEL F, VAM DER GEEST S, DE LEEUW P, et al. Indications for antibiotic use in ICU patients: a one-year prospective surveillance. Antimicrob Agents Chemother. 1997;39:527–35.

18. KOLLEF M, FRASER V. Antibiotic resistance in the intensive care unit. Ann Intern Med. 2001;134:298–314.

19. LUYT C, BRECHOT N, TROUILLET J, CHASTRE J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. Crit Care. 2014;18(5):480.

20. BARTLETT J, GILBERT D, SPELLBERG B. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. Clininical Infect Dis. 2013;56(10):1445–50.

21. LEE VENTOLA L. The Antibiotic Resistance Crisis. Part 1: Causes and Threats. Pharm Ther. 2015;40(4):277–83.

22. Report on the event “Best use of medicines legislation to bring new antibiotics to patients and combat the resistance problem.”

23. Antimicrobial resistance in human medicine [Internet]. European medecines agency. 2016. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/regulation/general/general_content_001689.jsp&mid=WC0b01ac058002d4e9

24. HAMBURG MA. FDA"s Take on the Executive Order and National Strategy to Combat Antibiotic-Resistant Bacteria. [Internet]. [consulté le 2016 Dec 17]US Food and Drug Admnistration. 2014. Disponible sur: http://blogs.fda.gov/fdavoice/index.php/2014/09/fdas-take-on-the-executive-order-and-national-strategy-to-combat-antibiotic-resistant-bacteria/

25. CECCHINI M, LANGER J, SLAWOMIRSKI L. Antimicrobial resistance in countries G7 Countries and beyond: Economic Issues, Policies and Options for Action. OECD; 2015.

26. Un nouvel espoir de traitement des pneumonies graves. [Internet]. [consulté le 2016 Dec 16]Commission Européenne. 2016. Disponible sur: http://cordis.europa.eu/news/rcn/125622_fr.html

27. Définition: Peptidomimétique. Le dictionnaire de l"Académie nationale de Pharmacie. 2015.

28. ROTEM S, MOR A. Antimicrobial peptide mimics for improved therapeutic properties. Biochim Biophys Acta. 2009 Aug;1788(8):1582–92.

29. ANDRES E, DIMARCQ J. Cationic antimicrobial peptides: from innate immunity study to drug development. Update. Médecine Mal Infect. 2007 Apr;37(4):194–9.

30. DIAMOND G, BECKLOFF N, WEINBERG A, O"ISICH K. The roles of antimicrobial peptides in innate host defense. Curr Pharm Des. 2009;15(21):2377–92.

31. LI Y, XIANG Q, ZHANG Q, HUANG Y, SU Z. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. Peptides. 2012 Oct;37(2):207–15.

32. DIAMOND G, BECKLOFF N, WEINBERG A, O"ISICH K. The Roles of Antimicrobial Peptides in Innate Host Defense. Curr Pharm Des. 2009;15(21):2377–92.

33. WANG G, LI X, WANG Z. APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. Nucleic Acids Res. 2009;37(1):933–7.

34. ZHAO X, WU H, LU H, LI G, HUANG Q. LAMP: A Database Linking Antimicrobial Peptides. PLoS ONE. 2013 Jun;8(6).

35. BAHAR AA, REN D. Antimicrobial Peptides. Pharmaceuticals. 6(12):1543–75.

36. MANWARING WH. Fleming"s "Lysozyme." Calif West Med. 1942 Jan;56(1):5.

37. MANRING MM, HAWK A, CALHOUN JH, ANDERSEN RC. Treatment of War Wounds: A Historical Review. Clin Orthop Relat Res. 2009 Aug;467(8):2168–91.

38. GARCIA-OLMEDO F, MOLINA A, ALAMILLO JM, RODRIGUEZ-PALENZUELA P. Plant defense peptides. Biopolymers. 1998;47:479–91.

39. GANZ T, LEHRER RI. Defensins. Pharmacol Ther. 1994 Aug;6(4):584–9.

40. FANG XM, SHU Q, CHEN QX, BOOK M, SAHL HG, HOEFT A, et al. Differential expression of alpha- and beta-defensins in human peripheral blood. Eur J Clin Invest. 2003;33:82–7.

41. HOFFMANN J, KAFATOS F, JANEWAY C, EZEKOWITZ R. Phylogenetic perspectives in innate immunity. Science. 1999 May 21;284(55418):1313–8.

42. KIRKIACHARIAN S. Dictionnaire des Sciences pharmaceutiques et biologiques de l"Académie nationale de Pharmacie. [Internet] [consulté le 2016 Dec 16] Disponible sur: http://dictionnaire.acadpharm.org/

43. BROGDEN K. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat Rev Microbiol. 2005 Mar;3(3):238–50.

44. JENSSEN H, HAMILL P, HANCOCK REW. Peptide Antimicrobial Agents. Clin Microbiol Rev. 2006 Jul;19(3):491–511.

45. LAI Y, GALLO RL. Antimicrobial peptides : Discovery, design and novel therapeutic strategies. Trends Immunol. 2009;30(3):131–41.

46. POWERS JP, HANCOCK RE. The relationship between peptide structure and antibacterial activity. Peptides. 24(11):1681–91.

47. NESTOR JJ. The medicinal chemistry of peptides. Curr Med Chem. 2009;16(33):4399–418.

48. NGUYEN LT, HANEY EF, VOGEL HJ. The expanding scope of antimicrobial peptide structures and their modes of action. Trends Biotechnol. 2011 Sep;29(9):464–72.

49. YEAMAN MR, YOUNT NY. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. Pharmacol Rev. 55(1):27–55.

50. SHAI Y. Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. Biopolymers. 2002;66(4):236–48.

51. SHAI Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. Biochim Biophys Acta. 1999 Dec 15;1462(1–2):55–70.

52. MATSUZAKI K. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes. Biochim Biophys Acta. 1999 Dec 15;1462(1–2):1–10.

53. FOSGERAU K, HOFFMANN T. Peptide therapeutics, current status and future directions. Elsevier. 2015 Jan;20(1):122–8.

54. MOJSOSKA N, JENSSEN H. Peptides and Peptidomimetics for antimicrobial drug design. Pharmaceuticals. 2015 Jul 13;8(3):366–415.

55. GRUENHEID S, LE MOUAH H. Resistance to antimicrobial peptides in Gram-negative bacteria. FEMS Microb Lett. 2012 May;330(2):81–9.

56. NAWROCKI K, CRISPELL EK, MCBRIDE SM. Antimicrobial Peptide Resistance Mechanisms of Gram-Positive Bacteria. Antibiotics. 2014 Dec;3(4):461–92.

57. VAGNER J, QU H, HRUBY VJ. Peptidomimetics, a synthetic tool of drug discovery. Curr Opin Chem Biol. 2008 Jun;12(3):192–296.

58. RUZZA P. Peptides and peptidomimetics in Medicinal Chemistry [Internet]. [consulté le 2016 Dec 16]. 2012. (Medicinal Chemistry and Drug Design). Disponible sur : www.intechopen.com

59. GUARNA A, TRABOCCHI A. Peptidomimetics in Organic and Medicinal Chemistry. Wiley. 2014. 308 p.

60. MORADI S, SOLTANI S, ANSARI AM, SARDARI S. Peptidomimetics and their Applications in Antifungal Drug Design. Anti-Infect Agents Med Chem. 8(4):327–44.

61. BROGDEN NK, BROGDEN KA. Will new generations of modified antimicrobial peptides improve their potential as pharmaceuticals? Int J Antimicrob Agents. 2011 Sep;38(3):21.

62. GIRI AK, HRUBY VJ. Investigational peptide and peptidomimetic μ and δ opioid receptor agonists in the relief of pain. Expert Opin Investig Drugs. 2014;23(2).

63. ESTIARTE MA, RICH DH. Peptidomimetics for drug design. 6th ed. Vol. 1. John Wiley and Sons, Inc; 2003. 663-685 p.

64. DORNER F, LIENKAMP K. Polymer-Based Synthetic Mimics of Antimicrobial Peptides (SMAMPs) – A New Class of Nature-Inspired Antimicrobial Agents with Low Bacterial Resistance Formation Potential. Macromol Chem Phys. 10:2014.

65. PEZET A. Pari gagné pour les peptides. Usine Nouv [Internet]. [consulté le 2016 Aout 1]2009 Aug;3157. Disponible sur: http://www.usinenouvelle.com/article/pari-gagne-pour-les-peptides.N116349

66. UHLIG T, KYPRIANOUA T, MARTINELLIA FG, OPPICIA CA, HEILIGERSA D, HILLSA D, et al. The emergence of peptides in the pharmaceutical business: From exploration to exploitation. EuPA Open Proteomics. 2014 Sep;4:58–69.

67. FERNANDEZ-VIDAL M, JAYASINGHE S, LADOKHIN A, WHITE SH. Folding amphipathic helices into membranes: amphiphilicity trumps hydrophobicity. J Mol Med Berl. 2007;370(3):549–470.

68. EMA. 2015 EMA Annual Report. [Internet]. [consulté le 2016 Dec 16] 2015. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Annual_report/2016/05/WC500206482.pdf

69. EMA. 2016 EMA Annual report. [Internet]. [consulté le 2017 Avril 17]2017. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Annual_report/2017/05/WC500227334.pdf

70. HOUGHTEN R. Generation and use of synthetic peptide combinatorial libraries for basic research and drug discovery. Nature. 1991;354(6348):84–6.

71. BABINE R, BENDER S. Molecular recognition of protein-ligand complexes: applications to drug design. Chem Rev. 1997 May 8;97(5):1359–472.

72. PETERSON G. Recent advances in the design and synthesis of peptidomimetics [Internet]. [consulté le 2016 Jan 16]Evans Group Literature Seminar; 2001 Apr 13. Disponible sur: evans.rc.fas.harvard.edu/pdf/smnr_2000-2001_Peterson_Gretchen.pdf

73. ANDERSSON L, BLOMBERG L, FLEGEL M, LEPSA L, NILSSON B, VERLANDER M. Large-scale synthesis of peptides. Biopolymers. 2000;55(3):227–50.

74. GOKHALE AS, SATYANARAYANAJOIS S. Peptides ad peptidomimetics as immunodulators. Immunotherapy. 2014;6(6):755–74.

75. COIN I, BEYERMANN M, BIENER M. Solid-phase peptide synthesis: from standard procedures to the synthesis of difficult of difficult sequences. Nat Protoc. 2007 13;2(12):3247–56.

76. NOISIER A. Synthesis of Novel Amino Acids and Peptidmimetics as Tools for Drug Discovery. University of Auckland; 2013.

77. MUTTENTHALER M, ALBERICIO F, DAWSON PE. Methods, setup and safe handling for anhydrous hydrogen fluoride cleavage in Boc solid-phase peptide synthesis. Nat Protoc. 2015;10:1067–83.

78. LI W, ZHAN P, DE CLERCQ E, LOU H, LIU X. Current drug research on PEGylation with small molecular agents. Prog Polym Sci. 2013 Mar;38(3–4):421–44.

79. HARRIS JM, CHESS RB. Effect of pegylation on pharmaceuticals. Nat Rev Drug Discov. 2003 Mar;2:214–21.

80. GIULIANI A, PIRRI G, NICOLETTO S. Antimicrobial peptides: an overview of a promising class of therapeutics. Cent Eur J Biol. 2007 Mar;2(1):1–33.

81. LOHAN S, BISHT GS. Recent approaches in design of peptidomimetics for antimicrobal drug discovery research. Mini-Rev Med Chem. 13(7):1073–88.

82. GRAUER A, KONIG B. Peptidomimetics - a versatile route to biologically active compounds. Eur J Org Chem. 2009 Oct;30(30):5099–111.

83. BESALLE R, KAPITKOVSKY A, GOREA A, SHALIT I, FRIDKIN M. Chirality, antimicrobial activity and proteolytic resistance. FEBS Lett. 1990 Dec 11;274(1–2):151–5.

84. MCCLOSKEY AP, GILMORE BF, LAVERTY G. Evolution of Antimicrobial Peptides to Self-Assembled Peptides for Biomaterial Applications. Pathogens. 2014 Dec;3(4):791–821.

85. HUANG M, SHIN S, BENSON M, TORRES V, KIRSHENBAUM K. A comparison of linear and cyclic peptoid oligomers as potent antimicrobial agents. ChemMedChem. 2012 Feb 1;7(1):114–22.

86. GOBBO M, BENINCASA M, BERTOLONI G, BIONDI B, DOSSELLI R, PAPINI E, et al. Substitution of the arginine/leucine residues in apidaecin ib with peptoid residues: Effect on antimicrobial activity, cellular uptake, and proteolytic degradation. J Med Chem. 2009;52(16):5197–206.

87. YUAN P, DI L, ZHANG X. Efficacy of oral etoposide in pretreated metastatic breast cancer: A multicenter phase 2 study. Medicine (Baltimore). 2015 Jun;94(25):1.

88. MAITANI Y, HATTORI Y. Oligoarginine-PEG-lipid particles for gene delivery. Expert Opin Drug Deliv. 2009 Jun 10;6(10):1065–77.

89. KIPARISSIDES C, KAMMONA O. Nanotechnology advances in controlled drug delivery systems. Phys Status Sol C – Curr Top Solid State Phys. 2008;5(12):3828–33.

90. AVAN I, HALL CD, KATRITZKY AR. Peptidomimetics via modifications of amino acids and peptide bonds. Chem Soc Rev. 2014 May 21;43(10):3575–94.

91. PAULETTI GM. Peptidomimetics designed for oral absorption. In: Advanced in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics. Elsevier. A. Abell; 1999. p. 89–123.

92. ANTOSOVA Z, MACKOVA M, KRAL V, MACEK T. Therapeutic application of peptides and proteins: parenteral forever? Trends Biotechnol. 2009;27(11):628–35.

93. PAYNE RW, MANNING MC. Peptide formulation: challenges and strategies Payne. Innov Pharm Technol. :04.2009.

94. VERONESE FM. Peptide and protein PEGylation: a review of problems and solutions. Biomaterials. 2001;22:405–17.

95. BAOSHENG L. Peptide PEGylation: The Next Generation. Pharm Technol. 2011 Jan 5;11(3).

96. Découvrir de nouveaux médicaments. De la molécule aux tests finaux, tous les détails de sa conception... [Internet]. [consulté le 2017 Fevrier 16] 2017. Disponible sur: http://fr.gsk.com/fr-fr/recherche/d%C3%A9couvrir-de-nouveaux-m%C3%A9dicaments/

97. LAX R. The future of peptide development in the pharmaceutical industry. PharManufacturing Int Pept Rev. 2013;10–5.

98. GHOSH S. Peptide therapeutics market: forecast and analysis 2015-2025. Oligos Pept - Chim Oggi - Chem Today. 2016;34(2).

99. COMMISSION DIRECTIVE 2003/63/EC of 25 June 2003 amending Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use. H. a. Consumers. Commission Directive;

100. Assessment report for Bydureon [Internet]. [consulté le 2016 Dec 16]European Medicines Agency; 2011. Disponible sur: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/human/002020/WC500108239.pdf

101. FOX JL. Antimicrobial peptides stage a comeback. Nat Biotechnol. 2013;31(5):379–82.

102. MENDEZ-SAMPERIO P. Peptidomimetics as a new generation of antimicrobial agents: current progress. Infect Drug Resist. 2014(7):229–37.

103. WANG G. Human Antimicrobial Peptides and Proteins. Pharmaceuticals. 042014;7(5):545–94.

104. KHARB R, RANA M, SHARMA PC, YAR MS. Therapeutic importance of peptidomimetics in medicinal chemistry. J Chem Pharm Res. 2011;3(6):173–86.

105. TEW G, SCOTT R, KLEIN M, DEGRADO W. De novo design of antimicrobial polymers, foldamers, and small molecules: from discovery to practical applications. Acc Chem Res. 2010;43(1):30–9.

106. BRUMFITT W, SALTON MR, HAMILTON-MILLER JM. Nisin, alone and combined with peptidoglycan-modulating antibiotics: Activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus and vancomycin-resistant enterococci. J Antimicrob Chemother. 2002;50:731–734.

107. YANG D, BIRAGYN A, KWAK LW, OPPENHEIM J. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. Trends Immunol. 2002;23:291–6.

108. MICHEL AS. A la decouverte des peptides antimicrobiens. [Internet]. [consulté le 2016 Dec 16] Universite Henri Poincare - Nancy 1; 2010. Disponible sur: http://docnum.univ-lorraine.fr/public/SCDPHA_T_2010_MICHEL_ANNE-SOPHIE.pdf

109. ZASLOFF M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from Xenopus skin: Isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. Proc Natl Acad Sci U S A. 1987;84:5449–5453.

110. ALBEROLA J, RODRIGUEZ A, FRANCINO O, ROURA L, ANDREU D. Safety and efficacy of antimicrobial peptides against naturally acquired leishmaniasis. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:641–643.

111. PARK Y, JANG SH, LEE DG, HAHM KS. Antinematodal effect of antimicrobial peptide, pmap-23, isolated from porcine myeloid against Caenorhabditis elegans. . J Pept Sci. 10:304–311.

112. GASPAR D, VEIGA S, CASTANHO M. From antimicrobial to anticancer peptides. A review. Front Microbiol. 2013 Jan 10;4(294):1–16.

113. BOOHAKER RJ, LEE MW, VISHNUBHOTLA P, PEREZ JM, KHALED AR. The Use of Therapeutic Peptides to Target and to Kill Cancer Cells. Curr Med Chem. 2012;19(22):3794–3804.

114. TARDIF M. Le virus de l'ïmmunodéficience humaine. [Internet]. [consulté le 2016 Dec 16] Universite LAVAL; 2005. Disponible sur : http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/22933/ch02.html

115. GEORGI H, IVANKA S. Chemical Stability of New Acyclovir Analogues with Peptidomimetics. Sci Pharm. 2010 Mar;79(2):259–64.

116. KISO Y, MATSUMOTO H, YAMAGUCHI S, KIMURA T. Design of small peptidomimetic HIV-1 protease inhibitors and prodrug forms. Lett Pept Sci. 1999;6(5):275–81.

117. Peptide Therapeutics Market: Advancements in the field of Synthetic Peptides and emergence of prominent biopharmaceutical companies are fuelling the growth: Global Industry Analysis and Opportunity Assessment, 2015 - 2025. Future Mark Insights. 2016 Mar 14;172.

118. CRAIK DJ, FAIRLIE DP, LIRAS S, PRICE D. The future of peptide-based drugs. Chem Biol Drug Des. 2013;81(1):136–47.

119. ZAIOU M. Multifunctional antimicrobial peptides: therapeutic targets in several human diseases. J Mol Med Berl. 2007 Apr;85(4):317–29.

120. GIULIANI A, RINALDI AC. Beyond natural antimicrobial peptides : multimeric peptides and other peptidomimetic approaches. Cell Mol Life Sci. 2011 Jul;68(13):2255–66.

121. QVIT N, RUBIN SJS, URBAN TJ, MOCHLY-ROSEN D, GROSS ER. Peptidomimetic therapeutics: scientific approaches and opportunities. Drug Discov Today. 2016 Nov;0(0):1–9.

122. HECKETSWEILER C. Le business model cassé des antibiotiques. Le monde. 2004 Nov 18;

FACULTE DE PHARMACIE UNIVERSITE DE LORRAINE

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 07.07.2017

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : Stephanie, Thi Ngoc Dung, PHAN

Sujet :

DEVELOPPEMENT DE PEPTIDOMIMETIQUES ANTIMICROBIENS ET LEURS PERSPECTIVES DANS L'INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE

Jury :

Président : Dr MOHAMED ZAIOU, Professeur
Directeur : Dr. MIHAYL VARBANOV, Maître de Conférences
Co-Directeur : MARC DEVOCELLE, Professeur
Juges : Dr JULIEN-LUC MASSON, Pharmacien
Dr. LAURA SUZZI, Pharmacien

Vu,
Nancy, le 06/06/2017

Le Président du Jury — Directeur de Thèse

M. ZAIOU — M. M. Varbanov / Marc Devocelle

Vu et approuvé,
Nancy, le 9.06.2017

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Francine PAULUS

Vu,
Nancy, le 3.07.2017

Le Président de l'Université de Lorraine,

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 9897

N° d'identification :

TITRE

Développement de peptidomimétiques antimicrobiens et leurs perspectives dans l'industrie pharmaceutique

Thèse soutenue le 07/07/2017

Par Stéphanie PHAM

RESUME :

Le problème de l'émergence de la résistance bactérienne aux antibiotiques actuels continue de croître. Les autorités gouvernementales et les agences de santé ont mis en place des programmes d"action mondiale. Une des actions étant de promouvoir le développement de nouveaux médicaments. Il y a eu un intérêt considérable pour le développement des peptides antimicrobiens et des peptidomimétiques comme nouvelles approches thérapeutiques pour traiter les infections. Les thérapies à base de peptides antimicrobiens sont des candidats attrayants comme traitements alternatifs aux antibiotiques, car ils offrent plusieurs avantages par rapport aux classes de médicaments actuellement utilisées. Tout d'abord, ils représentent un moyen naturel de lutter contre les pathogènes par une activité microbicide rapide. En outre, ils présentent des activités antimicrobiennes à large spectre (activité antibactérienne, antivirale ou antifongique), exploite des caractéristiques structurelles fondamentales et, dans de nombreux cas, ils peuvent avoir de multiples cibles dans les cellules. La probabilité d'émergence de résistance est considérablement réduite. Une connaissance de la relation structure-activité du peptide ainsi que son mécanisme d'action permettent la conception de variantes de peptides antimicrobiens et de ces dérivés avec des activités microbicides améliorées. À ce jour, plusieurs peptidomimétiques antimicrobiens ont été développés, se trouvant actuellement au stade de développement préclinique et d"autres dans des essais cliniques. Les peptidomimétiques au stade les plus avancés sont actuellement sur le marché pharmaceutique. De toute évidence, la nécessité de nouveaux traitements pour les bactéries multi-résistantes est une préoccupation mondiale.

MOTS CLES : peptidomimétiques, peptides antimicrobiens, résistance aux antimicrobiens

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dr Mihayl VARBANOV Dr Marc DEVOCELLE		**Expérimentale** ☐ **Bibliographique** ☒ **Thème** ☒

Thèmes		
	1 – Sciences fondamentales	**2 – Hygiène/Environnement**
	3 – Médicament	**4 – Alimentation – Nutrition**
	5 - Biologie	**6 – Pratique professionnelle**