

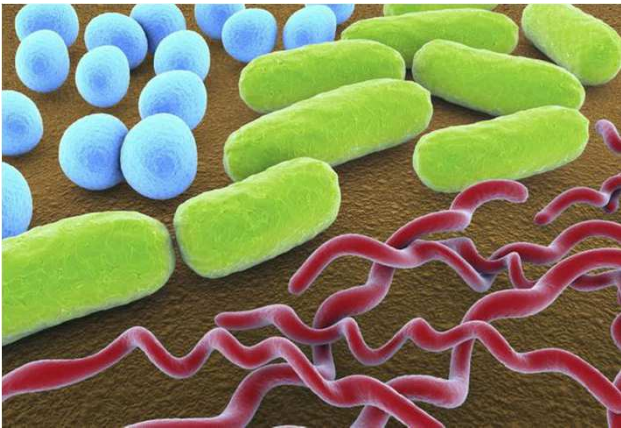


ÚOCHB <sup>AV</sup>  
CR  
IOCB PRAGUE



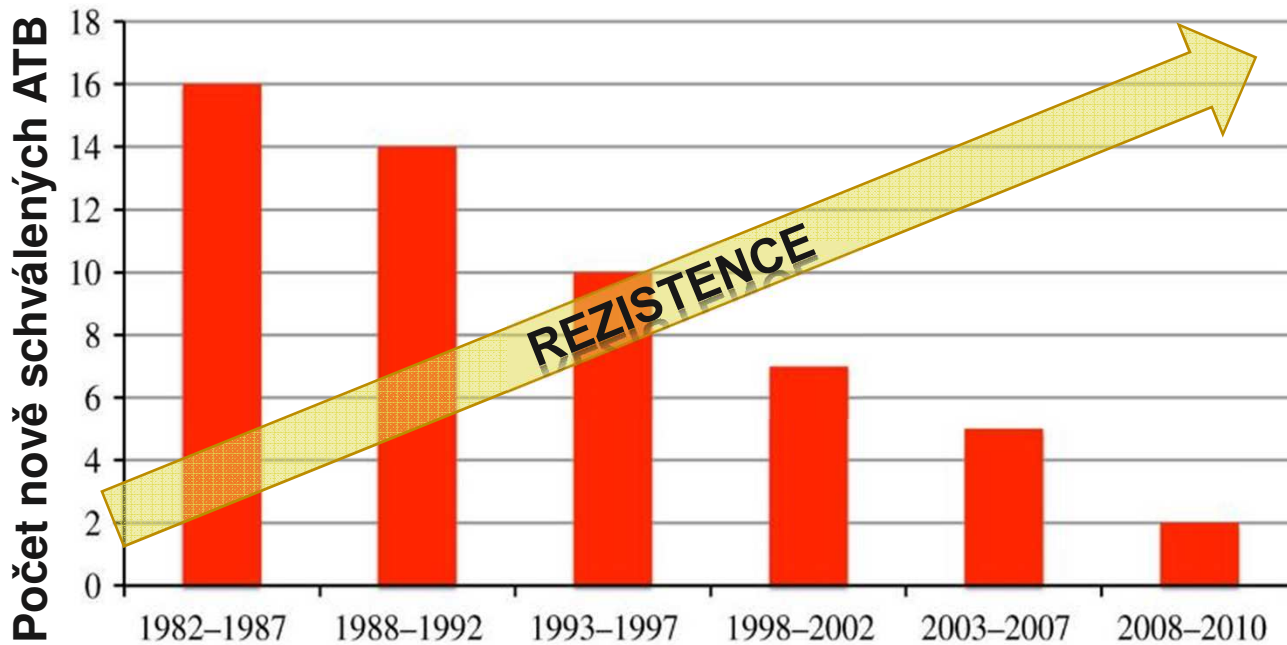
# Lipofosfonoxiny

## – nové antibakteriální látky



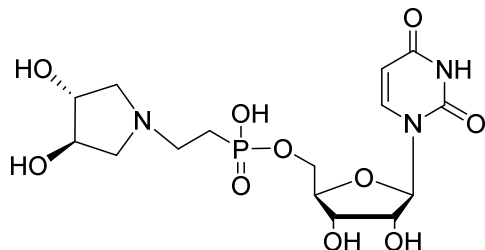
MEZIOBOROVÉ PŘÍSTUPY V HOJENÍ RAN  
28. – 29. listopadu 2019  
Lednice, hotel Galant

**Dominik Rejman | 28.11.2019**



# Příběh lipofosfonoxinů

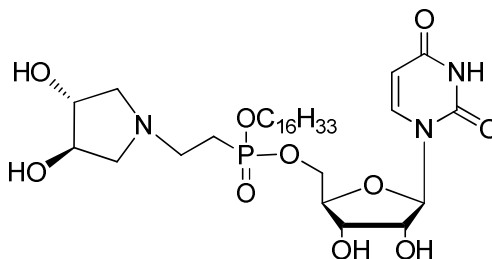
## I. Fosfonoxin



**Aktivita proti *Giardia lamblia*  
(MIC= 0.48  $\mu$ M)**

*Bioorg. Med. Chem. Letters* **2007**, 17, 2811–2816.

## II. Lipofosfonoxiny 1. generace



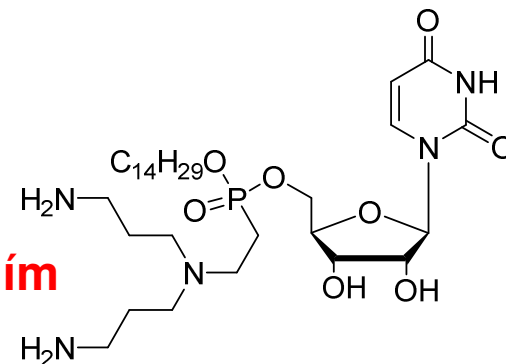
**Aktivita proti G+ bakteriím**

*J. Med. Chem.* **2011**, 54(22),7884-98.  
*Plos One.* **2015**;10(12):e0145918.

## III. Lipofosfonoxiny 2. generace

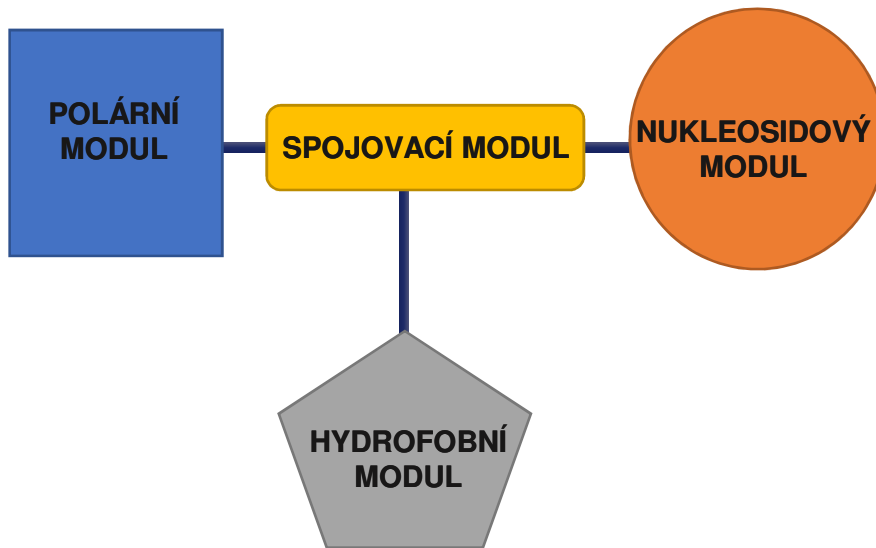
**Aktivita proti G+ and G- bakteriím**

*J. Med. Chem.* **2017**, (14), 6098–6118.

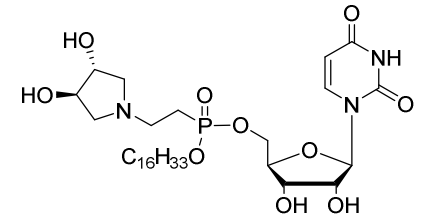


# LIPOFOSFONOXINY

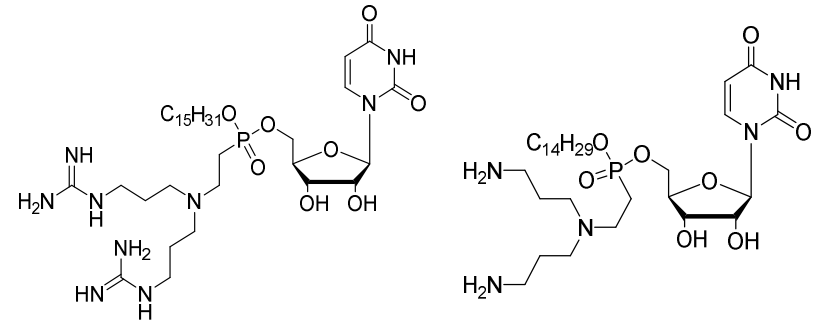
**LPPO** ⇒ Buněčná membrána



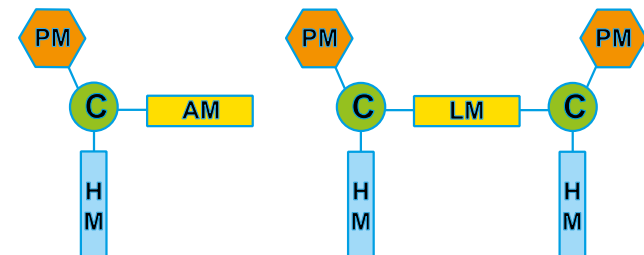
**Modulární struktura**



**LPPO 1. generace**



**LPPO 2. generace**



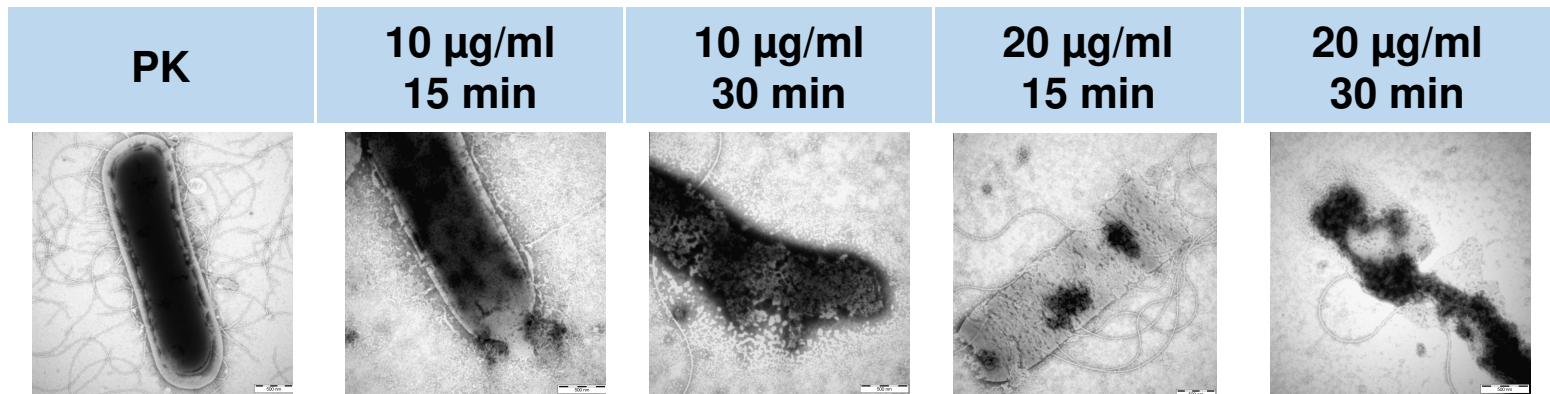
**LPPO 3. a 4. generace**

# LPPO 1. gen.

## ATB aktivita

IC <sub>50</sub> (mg/L)	LPPO	MIC (mg/L)						
		<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> CCM4224	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 8700/B	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA4591	<i>Staphylococcus aureus</i> CCM4223	<i>Enterococcus faecium</i> VanA 419/ana
56	DR-5026	3.1	3.1	3.1	3.1	6.3	6.3	3.1
78	DR-5667	3.1	1.6	6.3	3.1	6.3	25	6.3

TEM  
*B. Subtilis*  
 +  
 DR-5026

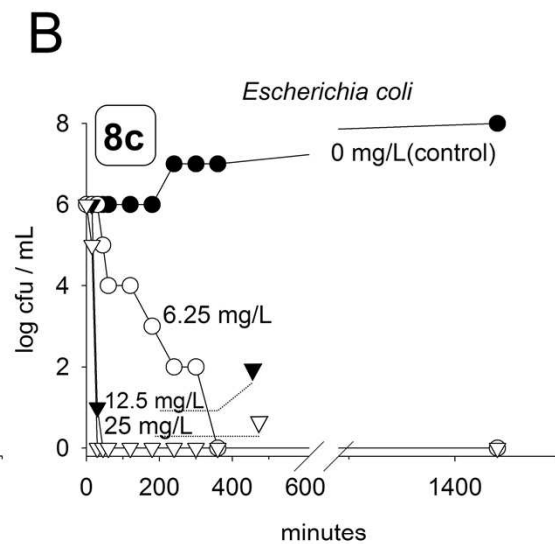
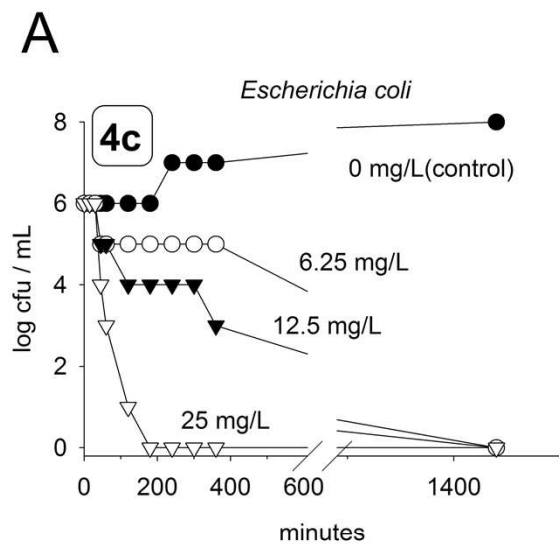


# LPP0 2. gen. – ATB aktivita

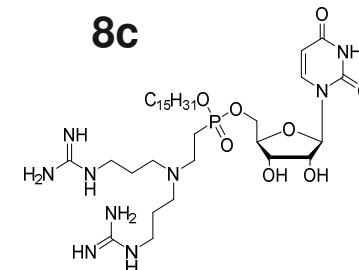
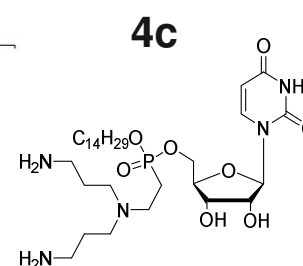
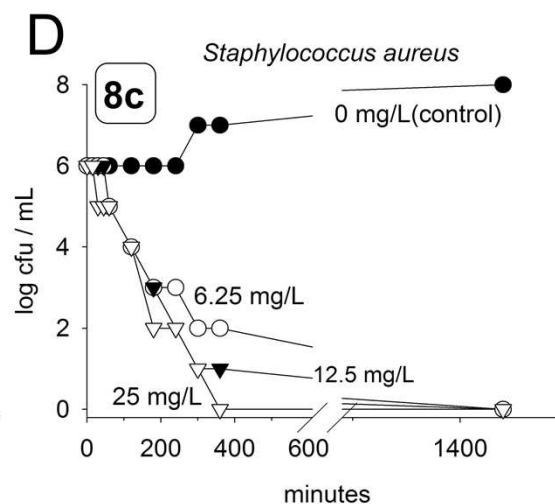
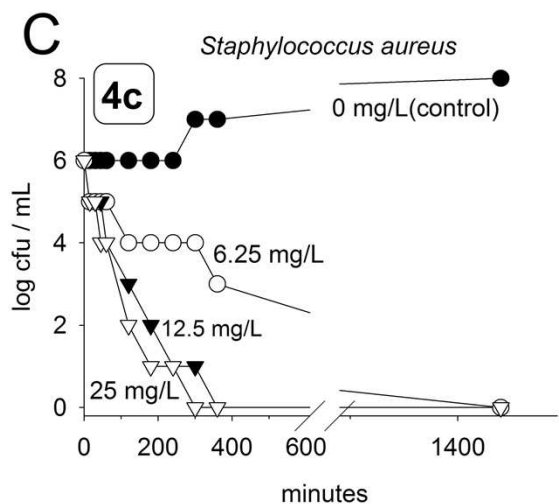
MIC [mg/L]

DR6155	0.78	<i>B. subtilis</i>
DR6180	0.39	<i>Streptococcus agalactiae</i>
DR6155	3.13	<i>Streptococcus agalactiae</i>
DR6180	1.56	<i>Streptococcus agalactiae</i>
DR6155	0.78	<i>Escherichia coli</i> 16702
DR6180	0.78	<i>Escherichia coli</i> 16702
DR6155	1.56	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 16575
DR6180	1.56	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 16575
DR6155	6.25	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA 4591
DR6180	3.13	<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA 4591
DR6155	1.56	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> 16568
DR6180	1.56	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> 16568
DR6155	1.56	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 8700/B
DR6180	1.56	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 8700/B
DR6155	3.13	<i>Salmonella Enteritidis</i> S2-25
DR6180	1.56	<i>Salmonella Enteritidis</i> S2-25

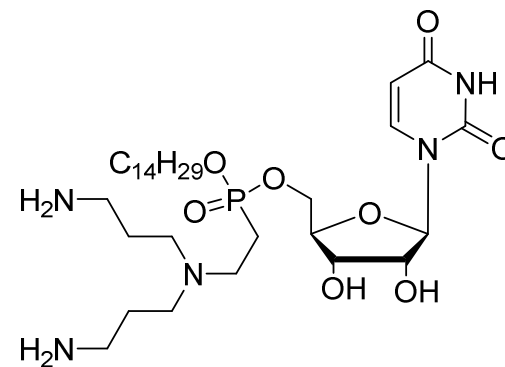
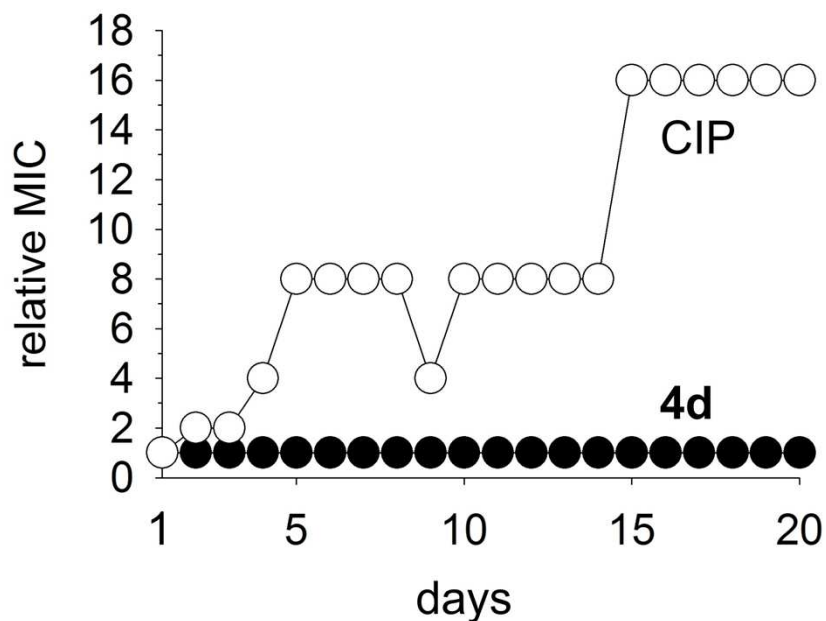
# LPPO 2. gen. – Time Kill kinetiky



**MIC = MBC: BAKTERICIDNÍ**



## LPPO 2. gen. – Selekcje rezistence

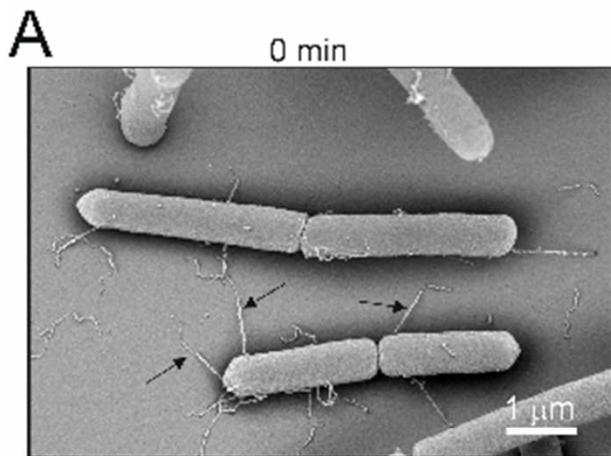


For **LPPO 4d**, **no resistance was observed** for *P. aeruginosa* in 20 days while more than one order of magnitude increase of MIC for **ciprofloxacin** was observed (0.25 to 4 mg/L).

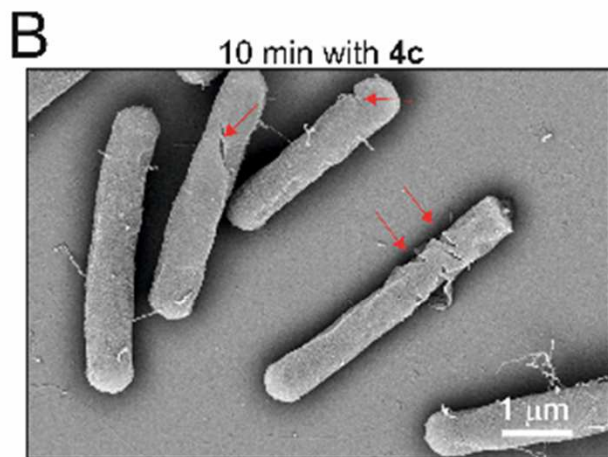


# LPPO 2. gen. – SEM

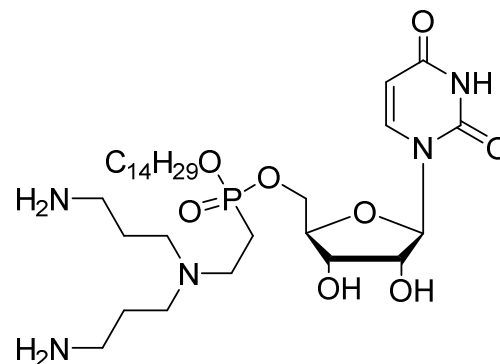
SEM of *B. subtilis* cells + LPPO 2. gen



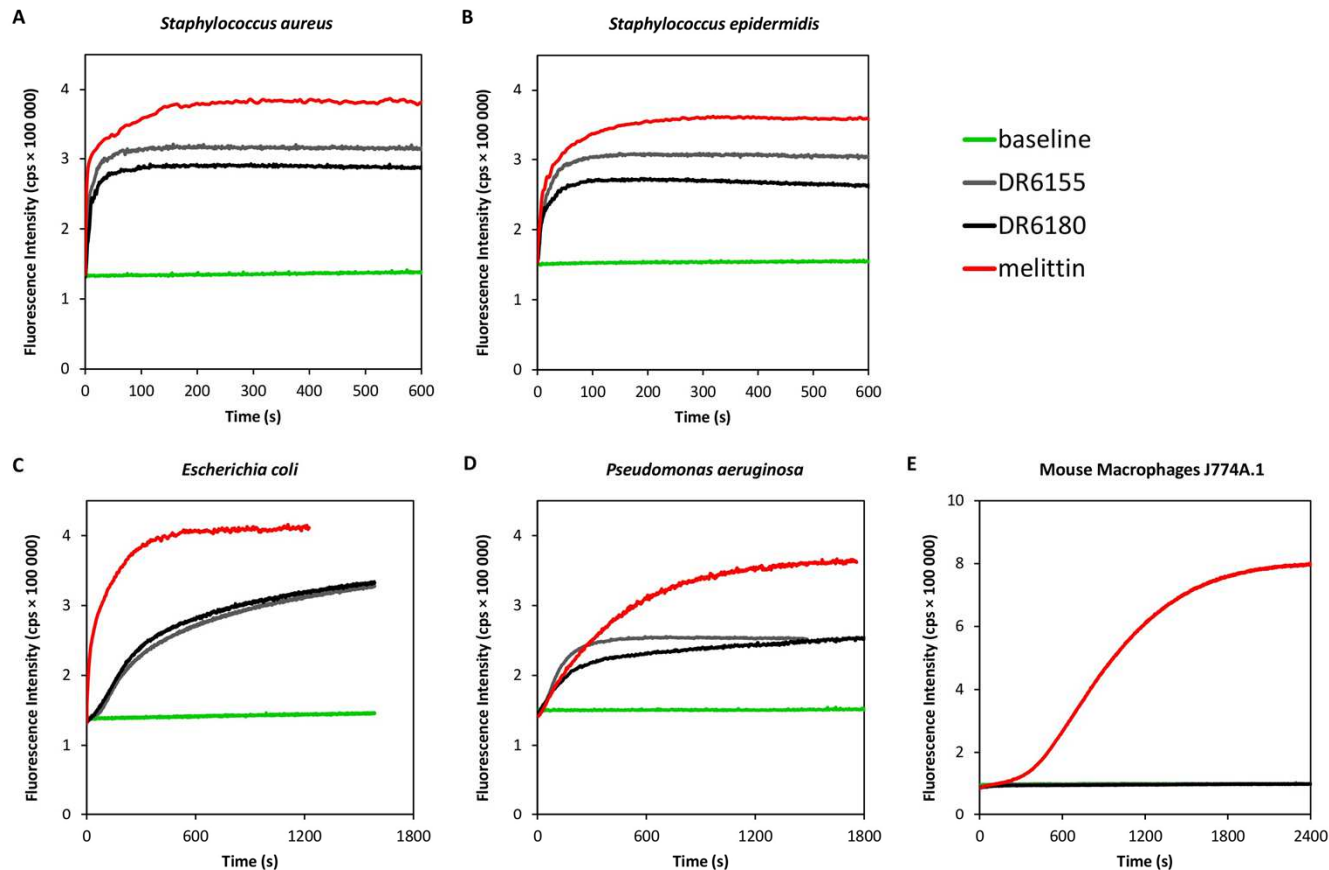
**A) Samotné buňky**



**B) Po 10-min inkubaci s LPPO (10 mg/L)**



# LPPO 2. gen. Permeabilizace bakteriální buněčné membrány



**Permeabilizace bakteriální buněčné membrány** indukovaná **lipofosfonoxiny**, zvýšení intenzity fluorescence Propidiumjodidu. **Melittin** byl použit jako pozitivní kontrola. (LPPO 5 mg/L, **melittin** 5  $\mu$ M)

---

# LPPO 2. gen.

---

**Stabilita:** LPPO II jsou **stabilní** při pH 0,18; 5,5 a 8,8

**In vivo toxicita:** **Netoxické** při **perorálním podání** u myší do maximální dávky **2000 mg/kg**.

**Kožní dráždivost:** **nebyly pozorovány žádné známky dráždivosti** ve standardním OECD testu (králičí model).

Dále byla testována **oční dráždivost**, nejprve *in vitro* a poté i *in vivo* (králičí model). V obou případech **nebyla dráždivost pozorována**.



---

# LPPO 2. gen. – aplikace

---

## ORTOPEDICS-LPPO AZV GRANT 2017-2020

<b>Project:</b>	<b>Lipophosphonoxins in the prevention and treatment of musculoskeletal infections: a potential role of new antimicrobial compounds</b>
<b>Applicant:</b>	Dominik Rejman (IOCB)
<b>Co-applicants:</b>	Prof. MUDr. <b>Jiří Gallo</b> , PhD (Palacký University Olomouc) Mgr. <b>Libor Krásný</b> , PhD (Institute of Microbiology of the ASCR)

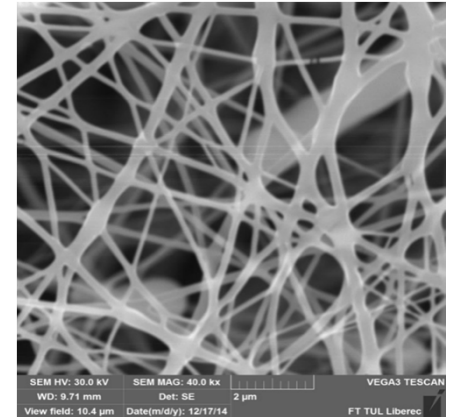
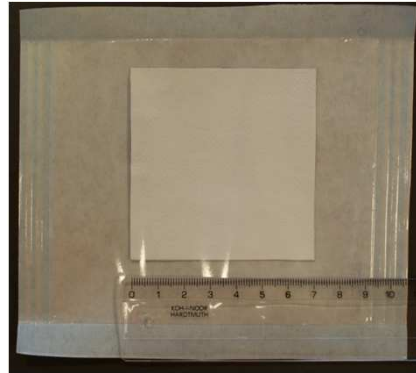
**Vývoj lokálních nosičů impregnovaných LPPO jako antibakteriální složkou pro použití v ortopedii**

---

# LPPO 2. gen. – aplikace

## NANO-LPPO

### ANTIBAKTERIÁLNÍ KRYTÍ



NANOTARDIS



#	LPPO	<i>S. Aureus</i>	Rána
1	0%	+	INFEKCE +++
2	0%	+	INFEKCE +++
3	0%	+	INFEKCE +++
4	0%	+	INFEKCE +++
5	0%	+	INFEKCE +++
6	0%	+	INFEKCE +++
7	2%	+	INFEKCE ++
8	2%	+	INFEKCE ++
9	2%	+	INFEKCE +++
10	2%	+	INFEKCE +++
11	2%	+	INFEKCE ++
12	2%	+	INFEKCE ++

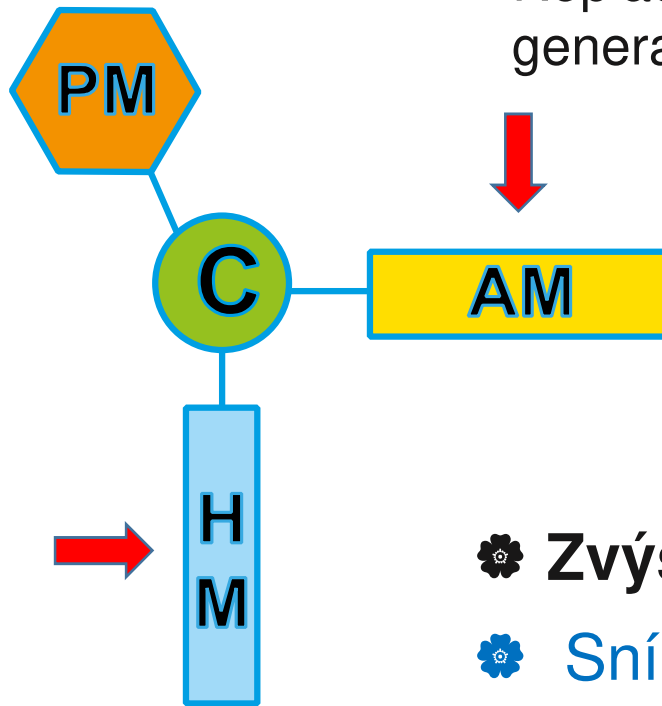
#	LPPO	<i>S. Aureus</i>	Rána
13	5%	-	ZAHOJENÁ
14	5%	-	ZAHOJENÁ
15	5%	-	ZAHOJENÁ
16	5%	-	INFEKCE +
17	5%	-	ZAHOJENÁ
18	5%	+	INFEKCE +++
19	10%	-	ZAHOJENÁ
20	10%	-	INFEKCE +
21	10%	-	ZAHOJENÁ
22	10%	-	ZAHOJENÁ
23	10%	-	ZAHOJENÁ
24	10%	-	ZAHOJENÁ

---

# LPPO 3. gen.

---

Replacement of nucleoside module with  
general „adaptor modue“



⚙️ **Zvýšená ATB aktivita**

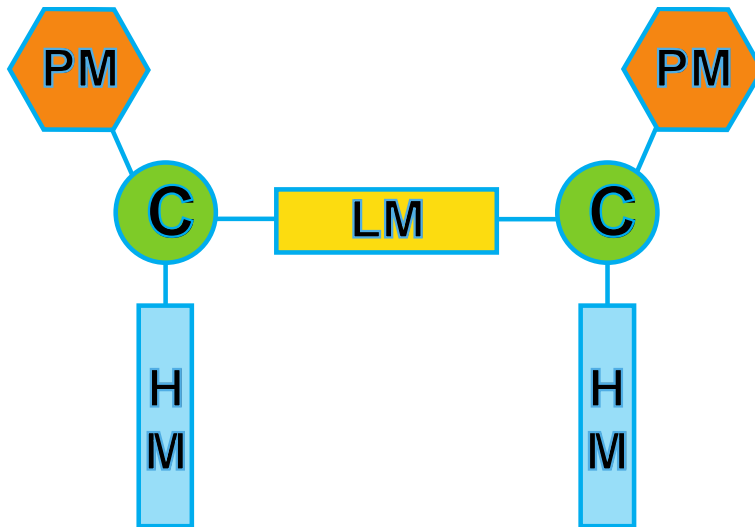
⚙️ Snížená selektivita (lower  $HC_{50}$ )

---

## 4. GEN. LPPO

---

# LEGO - LPPO



**CÍL:** vyvinout metodu racionálního návrhu antibakteriálních látek působících na úrovni buněčné membrány

---





ÚOCHB AV  
CR  
IOCB PRAGUE

# Děkuji za pozornost

**Dominik Rejman**

28.11.2019

—

T A

Č R

Technology  
Agency  
of the Czech Republic



GRANTOVÁ AGENTURA ČESKÉ REPUBLIKY



AGENTURA PRO ZDRAVOTNICKÝ VÝZKUM ČESKÉ REPUBLIKY



## Poděkování

Viktor Mojr, Duy Din Do Pham, Magdaléna Petrová, Radek Pohl, Libor Krásný, Tomáš Látal, Milan Kolář, Oto Nyč, Natalia Panova, Gabriela Seydlová, Petr Bartůněk, Romana Hadravová, Renata Večeřová, Kateřina Bogdanová, Adéla Galandáková, Jiří Gallo, Jana Keney, Robert Zajíček, Alena Vlková, Peter Gál, Alexandr Nemeč, Ivy Gross, Hubert Šuca, Jan Bayram, David Lukáš, Petr Mikeš, Věra Jenčová....