



- (72) CREST, MARCEL, FR
(72) GOLA, MAURICE, FR
(72) BERAUD, EVELYNE, FR
(72) VAN RIETSCHOTEN, JURPHAAS, FR
(71) CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, FR
(51) Int.Cl.⁶ C07K 14/435, A61K 38/17
(30) 1997/10/06 (97/12421) FR
(54) **UTILISATION DES BLOQUEURS DES CANAUX POTASSIUM
NEURONAUX ET LYMPHOCYTAIRES DANS LE
TRAITEMENT DES MALADIES NEUROLOGIQUES
D'ORIGINE IMMUNITAIRE**
(54) **USE OF NEURONAL AND LYMPHOCYTIC POTASSIUM
CANAL INHIBITORS FOR TREATING NEUROLOGICAL
DISEASES OF IMMUNE ORIGIN**

(57) La présente invention concerne l'utilisation de bloqueurs des canaux potassium neuronaux et lymphocytaires pour la préparation de médicaments destinés au traitement de maladies neurologiques à composante immunitaire chez l'homme ou l'animal dans lesquelles se produit un blocage de la conduction nerveuse. L'invention a également pour objet de nouvelles compositions pharmaceutiques, ainsi que de nouveaux bloqueurs des canaux potassium, et leurs utilisations dans le cadre du traitement des pathologies susmentionnées.

(57) The invention concerns the use of neuronal and lymphocytic potassium canal inhibitors for preparing medicines for treating neurological diseases with immune component in human beings or animals which block nervous conduction. The invention also concerns novel pharmaceutical compositions, and novel potassium canal inhibitors, and their use for treating said pathologies.

PCTORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07K 14/435, A61K 38/17	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/18123 (43) Date de publication internationale: 15 avril 1999 (15.04.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/02136 (22) Date de dépôt international: 6 octobre 1998 (06.10.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/12421 6 octobre 1997 (06.10.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): CREST, Marcel [FR/FR]; 11, rue Crémone, F-13006 Marseille (FR). GOLA, Maurice [FR/FR]; 17, Les Jardins d'Eoures, F-13400 Aubagne (FR). BERAUD, Evelyne [FR/FR]; Traverse Galinière, Les Solans, F-13400 Aubagne (FR). VAN RIETSCHOTEN, Jurphaas [FR/FR]; Val de la Torse A2, 48, avenue des Ecoles Militaires, F-13100 Aix en Provence (FR). (74) Mandataires: DEMACHY, Charles etc.; Grosset-Fournier & Demachy, 20, rue de Maubeuge, F-75009 Paris (FR).		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
(54) Title: USE OF NEURONAL AND LYMPHOCYTIC POTASSIUM CANAL INHIBITORS FOR TREATING NEUROLOGICAL DISEASES OF IMMUNE ORIGIN (54) Titre: UTILISATION DES BLOQUEURS DES CANAUX POTASSIUM NEURONAUX ET LYMPHOCYTAIRES DANS LE TRAITEMENT DES MALADIES NEUROLOGIQUES D'ORIGINE IMMUNITAIRE (57) Abstract The invention concerns the use of neuronal and lymphocytic potassium canal inhibitors for preparing medicines for treating neurological diseases with immune component in human beings or animals which block nervous conduction. The invention also concerns novel pharmaceutical compositions, and novel potassium canal inhibitors, and their use for treating said pathologies. (57) Abrégé La présente invention concerne l'utilisation de bloqueurs des canaux potassium neuronaux et lymphocytaires pour la préparation de médicaments destinés au traitement de maladies neurologiques à composante immunitaire chez l'homme ou l'animal dans lesquelles se produit un blocage de la conduction nerveuse. L'invention a également pour objet de nouvelles compositions pharmaceutiques, ainsi que de nouveaux bloqueurs des canaux potassium, et leurs utilisations dans le cadre du traitement des pathologies susmentionnées.		

UTILISATION DES BLOQUEURS DES CANAUX POTASSIUM NEURONAUX ET LYMPHOCYTAIRES DANS LE TRAITEMENT DES MALADIES NEUROLOGIQUES D'ORIGINE IMMUNITAIRE

5

La présente invention concerne l'utilisation d'inhibiteurs (ou bloqueurs) des canaux potassium comme agents thérapeutiques des maladies neurologiques à composante immunitaire dans lesquelles se produit un blocage de la conduction nerveuse, et en particulier la sclérose en plaque (SEP).

10

La sclérose en plaque (SEP) est la plus fréquente des maladies humaines démyélinisantes du système nerveux avec une prévalence moyenne de 5 à 300/100 000 habitants. Elle atteint l'adulte jeune et 1,5 à 2 fois plus souvent les femmes. La répartition géographique de la SEP n'est pas uniforme puisque sa prévalence augmente avec la latitude, selon trois zones de risque faible, moyen et fort. Le pic de prévalence se situe dans les régions comprises entre 45° et 60° de latitude nord, donc en particulier en Europe du Nord.

15

20

L'évolution de la maladie se fait en poussées, avec apparition de lésions neuronales pouvant altérer des fonctions motrices et sensitives, la vision, l'équilibre et le contrôle des sphincters. Dans 50 à 60% des cas, une phase progressive de plus en plus invalidante s'installe au bout d'une dizaine d'années mais ces formes progressives apparaissent aussi d'emblée dans 15% des cas.

25

La prévalence relativement élevée de cette maladie, associée à son caractère progressif pénible et invalidant, expliquent les efforts de la communauté scientifique pour améliorer la vie des patients. Ainsi entre 1993 et 1996, 2400 références relatives à la SEP ont été publiées par des journaux spécialisés.

Les données cliniques et anatomo-pathologiques de la SEP sont les suivantes.

30

35

La SEP est due à une destruction progressive des gaines de myéline des axones du système nerveux central, sans dégénérescence axonale, accompagnée d'une cicatrice gliale, l'ensemble formant la plaque de sclérose. La myéline lésée n'est pas ou peu reconstituée par les cellules gliales (oligodendrocytes), ce qui accentue l'évolution de la maladie. L'examen histopathologique révèle l'existence d'infiltrats inflammatoires dans la substance blanche et la dissémination des lésions rend compte du polymorphisme des symptômes. Ces inflammations s'accompagnent de troubles de la conduction nerveuse, les blocs de conduction, qui sont à l'origine de la perte des fonctions nerveuses.

Lors des phases actives de la maladie, on observe dans le liquide céphalo-rachidien : la présence d'un nombre anormal de lymphocytes T et à un degré moindre, de lymphocytes B, une élévation de la concentration des immunoglobulines (IgG) dirigées contre différents antigènes viraux, et surtout dans certains cas des anticorps dirigés contre les oligodendrocytes et contre la protéine basique myélinique. Aucun agent infectieux n'a pu être, à ce jour, formellement et systématiquement impliqué.

Les lésions sont formées par des infiltrations de monocytes, de lymphocytes B et T (majoritaires) et par des plaques de démyélinisation. Les lymphocytes T expriment majoritairement des récepteurs pour l'interleukine 2 et des molécules HLA, témoins d'une prolifération cellulaire. Les cellules résidentes, astrocytes, cellules microgliales et les cellules endothéliales des capillaires, expriment aussi les molécules HLA de classe II, ce qui témoigne d'une réaction inflammatoire dans le cerveau.

L'inflammation est particulièrement nocive dans le système nerveux central, en générant des compressions, des lésions de démyélinisation, des perturbations de l'influx nerveux. L'une des conséquences aggravantes de la démyélinisation est l'apparition de blocs de conduction dus au dérèglement de l'activité des canaux ioniques responsables de l'influx nerveux dans les axones.

Les thérapies actuelles de la SEP dérivent de traitements appliqués à diverses formes d'encéphalomyélites allergiques expérimentales (EAE) qui sont devenues le modèle essentiel de la SEP, et de médicaments anti-inflammatoires, immunosuppresseurs ou immunomodulateurs utilisés dans les cancers, les transplantations d'organes et d'autres processus inflammatoires. Elles sont basées sur l'hypothèse que la SEP est une maladie autoimmune dirigée contre la myéline du SNC. De ce fait, ces thérapies impliquent des traitements, avec l'interféron ou des corticostéroïdes par exemple, qui interfèrent en priorité avec le système immunitaire pour limiter ou prévenir les processus inflammatoires dans le SNC (Revue par Jacobs et coll., 1994). Les traitements symptomatiques visant à rétablir ou améliorer les fonctions neurologiques déficientes sont peu développés et peu efficaces. A l'exception des aminopyridines, ces traitements ne prennent pas en considération le rôle des canaux potassium dans les blocs de conduction des nerfs démyélinisés, causes majeures des insuffisances sensorielles et motrices.

Des effets cliniques bénéfiques de bloqueurs des canaux potassium et en particulier des aminopyridines (4-AP et 3,4-DAP) dans la sclérose en plaque ont été décrits dès 1983 (voir pour revues: Noseworthy, 1993; Polman et Hartung, 1995). L'utilisation des aminopyridines est justifiée par leur capacité à bloquer

les canaux potassium neuronaux et ainsi à faciliter la conduction axonale. De fait, les essais cliniques ont montré que la 4-AP et surtout la 3,4-DAP améliorent significativement les symptômes chez certains patients.

5 Cependant, les aminopyridines sont peu sélectives et touchent un grand nombre de canaux potassium dépendants du potentiel et entre autres, ceux présents dans les terminaisons synaptiques (Sherrat, Bostock et Sears, 1980). Il s'agit des canaux Kv de type Kv1.1, Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5 mais aussi des canaux d'une autre famille génétique, les canaux Kv3.1 et Kv3.4. Le blocage de ces canaux facilite la libération de neuromédiateurs excitateurs et
10 induit de nombreux effets annexes périphériques et centraux (Bever, 1994). L'administration soutenue de 4-AP à des patients atteints de SEP a des effets bénéfiques, mais également des effets neurologiques sérieux avec induction de décharges épileptiformes locales ou généralisées (Polman et coll., 1994). Par ailleurs, l'efficacité des aminopyridines sur les canaux Kv des lymphocytes T est
15 relativement faible ($IC_{50} = 200 \mu M$). Ceci explique que la 4-AP (ainsi que la quinidine) se soient révélées incapables d'induire des changements notables dans l'évolution de l'EAE chez le rat Lewis (Uitdehaag et coll., 1994).

Les thérapies à base d'aminopyridines ont pour but de traiter les symptômes neurologiques. Aux concentrations utilisées et du fait de la durée des
20 traitements, elles induisent des effets secondaires dus à leur manque de spécificité.

Par ailleurs, la margatoxine, molécule issue du venin de scorpion, est décrite en tant qu'immunosuppresseur susceptible de pouvoir être utilisée dans le cadre du traitement de maladies autoimmunes, ou de la prévention du rejet de
25 greffes (Brevet US 5,494,895). Cet effet immunosuppresseur de la margatoxine résulterait de son action de blocage des canaux Kv1.3 des lymphocytes. Cependant, aucun effet de blocage des canaux Kv neuronaux n'est décrit ni suggéré dans ce brevet US.

La présente invention a pour but de fournir des composés agissant sur un nombre limité de canaux Kv neuronaux, tout en assurant une grande efficacité
30 sur les pathologies neurologiques dans lesquelles le système immunitaire est impliqué et se produit un blocage de la conduction nerveuse, sans pour autant engendrer les effets secondaires observés dans le cadre des essais thérapeutiques des composés de l'art antérieur.

35 La présente invention a également pour but de fournir de nouvelles compositions pharmaceutiques susceptibles d'être utilisées dans le cadre du traitement des pathologies neurologiques à composante immunitaire associées à un blocage de la conduction nerveuse, notamment de la SEP.

La présente invention a pour objet l'utilisation de composés inhibiteurs des canaux potassium neuronaux Kv1.1, Kv1.2, et des canaux potassium lymphocytaires Kv1.3, pour la préparation de médicaments destinés au traitement de maladies neurologiques à composante immunitaire chez l'homme ou l'animal, dans lesquelles se produit un blocage de la conduction nerveuse.

Les composés utilisés dans le cadre de la présente invention, sont davantage caractérisés en ce qu'ils possèdent un effet inhibiteur des canaux potassium neuronaux Kv1.1 et Kv1.2 dépendants du potentiel, situés dans les noeuds de Ranvier (lesdits canaux neuronaux étant notamment décrits dans les articles suivants : McNamara et coll., 1996 ; Wang et coll., 1994), et un effet inhibiteur des canaux potassium dépendants du potentiel Kv1.3 que l'on trouve dans les lymphocytes (lesdits canaux lymphocytaires étant notamment décrits dans Chandy et Gutman, 1994; Grissmer et coll., 1994).

Par canaux potassium dépendants du potentiel, dans ce qui précède et ce qui suit, on entend des protéines membranaires sélectivement perméables aux ions potassium et dont la perméabilité à cet ion dépend du potentiel de la cellule. Le flux d'ions potassium à travers le canal constitue un courant potassium. Les caractéristiques de la relation entre le courant potassium et le potentiel de la cellule ont été décrites par Stühmer et coll. (1989) pour les courants Kv1.1, Kv1.2 et Kv1.3. La séquence de la sous-unité protéique principale (sous-unité α) constitutive des canaux potassium Kv1.1, Kv1.2 et Kv1.3 est également décrite dans cet article. La classification des canaux potassium dépendants du potentiel est par ailleurs explicitée dans la revue de synthèse de Chandy et Gutman (1994).

Par inhibiteurs (ou bloqueurs) des canaux potassium dépendants du potentiel, dans ce qui précède et ce qui suit, on entend toute molécule capable de limiter le courant potassium à travers un canal potassium par une action directe sur le canal. Dans le cas particulier de la kaliotoxine, et des autres composés peptidiques (ou pseudopeptidiques) décrits ci-après, le blocage s'effectue par obturation de la partie externe du canal. La mesure du blocage des canaux potassium par les composés de l'invention peut être effectuée par la méthode du potentiel imposé telle que celle décrite dans l'article Crest et al., 1992, susmentionné.

Parmi les pathologies neurologiques, notamment à composante immunitaire, susceptibles d'être traitées dans le cadre de la présente invention, on peut citer :

- les pathologies neurologiques centrales inflammatoires à localisation cérébrale et médullaire, notamment la sclérose en plaque et maladies

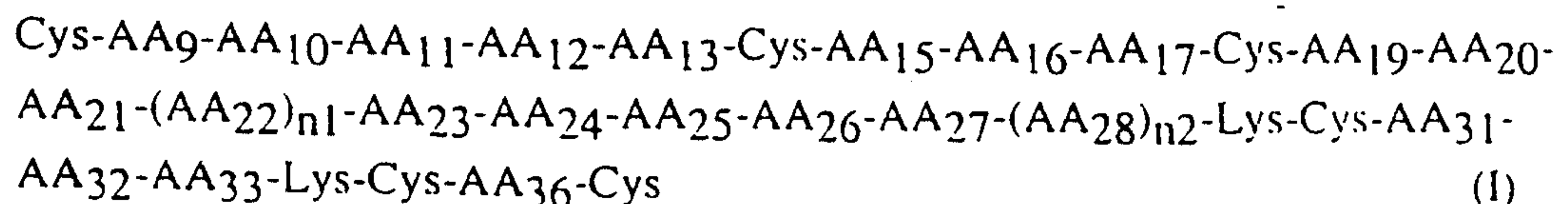
apparentées (Balo, Devic, encéphalite aiguë disséminée et hémorragiques, neuropathies optiques isolées);

- les pathologies périphériques inflammatoires ou apparentées, notamment:
 - . les polyradiculonévrites aiguës et chroniques,
 - . les neuropathies liées à des atteintes infectieuses et à des collagénoses,
- les pathologies neurologiques dégénératives, notamment la sclérose latérale amyotrophique, les neuropathies avec bloc de conduction,
- les pathologies tumorales, primitives ou secondaires, associées à un dérèglement du système immunitaire.

L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée des composés décrits ci-dessus dans le cadre du traitement des autres atteintes centrales cérébrales et médullaires, notamment les pathologies d'origine métabolique, les pathologies vasculaires ischémiques artérielles, veineuses et hémorragiques, les pathologies traumatiques, ainsi que les complications centrales des maladies de système, notamment circulatoire, tels que Beheet, Sarcoïdose, et autres vascularites.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation de composés peptidiques tels que décrits ci-dessus, inhibant les canaux potassium neuronaux, Kv1.1, Kv1.2, et les canaux lymphocytaires Kv1.3, lesdits composés étant issus de venins de scorpion ou d'anémones de mer, pour la préparation de médicaments destinés au traitement des maladies neurologiques à composante mentionnées ci-dessus, à l'exclusion de l'utilisation de la margatoxine dans le cadre du traitement de maladies neurologiques à composante immunitaire, telle que la SEP.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de composés peptidiques issus de venins de scorpion, ou de composés dérivés de ces derniers, ces composés ou dérivés comprenant la séquence en acides aminés répondant à la formule générale suivante (I) suivante :

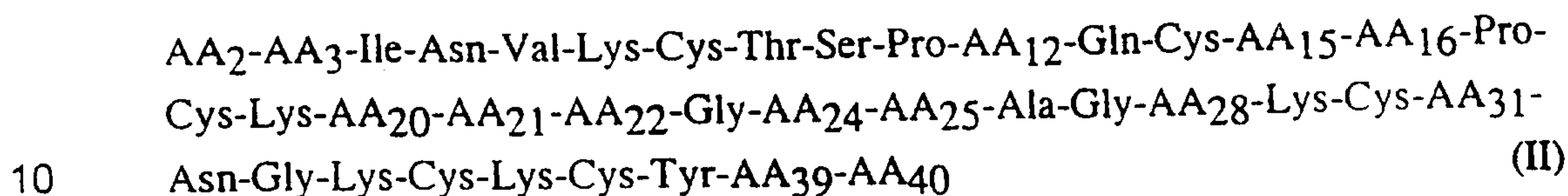


dans laquelle :

- n1, et n2, indépendamment l'un de l'autre, représentent zéro ou 1,

- AA₉ à AA₁₃, AA₁₅ à AA₁₇, AA₁₉ à AA₂₈, AA₃₁ à AA₃₃, et AA₃₆, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque, naturel ou non.

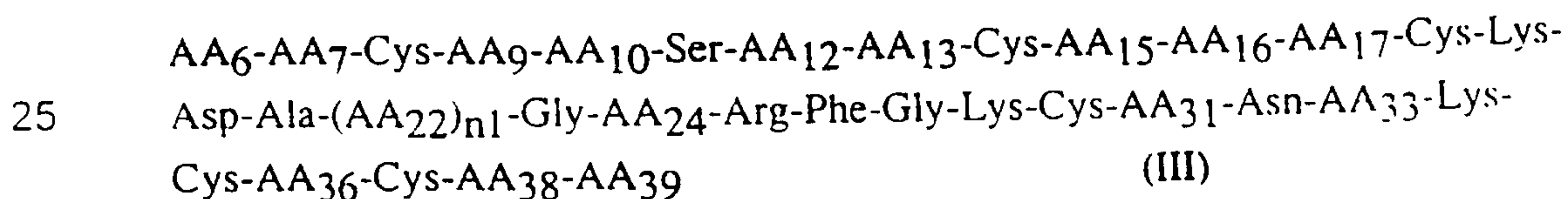
L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de composés comprenant la séquence en acides aminés de formule (I) dans laquelle $n_1 = n_2 = 1$, et représentés par la formule (II) suivante:



dans laquelle AA₂, AA₃, AA₁₂, AA₁₅, AA₁₆, AA₂₀ à AA₂₂, AA₂₄, AA₂₅, AA₂₈, AA₃₁, AA₃₉, et AA₄₀, indépendamment les uns des autres représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation, à titre de composé de formule (II), la noxiustoxine (telle qu'issue du venin de scorpion dénommé *Centruroides noxius*) correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 1.

L'invention a également pour objet l'utilisation susmentionnée de composés, comprenant la séquence en acides aminés de formule (I), dans laquelle $n_2 = 0$, lesdits composés comprenant la séquence représentée par la formule (III) suivante:



dans laquelle :

- AA₆, AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₂, AA₁₃, AA₁₅, AA₁₆, AA₁₇, AA₂₂, AA₂₄, AA₃₁, AA₃₃, AA₃₆, AA₃₈ et AA₃₉, indépendamment les uns des autres représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

- n_1 représente zéro ou 1.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée, à titre de composés comprenant la séquence représentée par la formule (III) définie ci-dessus, de la kaliotoxine (KTX), ou des dérivés peptidiques ou pseudopeptidiques de la KTX.

La kaliotoxine est un peptide de 38 acides aminés, dont la séquence en acides aminés est la suivante :

GVEINVKCSGSPQCLKPCKDAGMRFGKCMNRKCHCTPK

(correspondant encore à la séquence SEQ ID NO 2 représentée ci-après).

Cette séquence a été pour la première fois publiée en 1992 dans l'article, Crest et al, 1992, J. of Biological Chemistry, vol. 267, p1640-1647.

5 Par dérivés peptidiques ou pseudopeptidiques de la KTX, on entend les composés dérivant de la KTX par addition ou suppression d'un ou plusieurs acides aminés, ou par remplacement d'un ou plusieurs acides aminés par des acides aminés naturels ou non, lesdits dérivés de la kaliotoxine possédant la propriété de cette dernière d'inhiber les canaux potassium neuronaux Kv1.1 et Kv1.2, ainsi que les canaux potassium lymphocytaires Kv1.3 susmentionnés.

10 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de dérivés de la KTX définis ci-dessus, et répondant à la formule (IV) suivante:

15 $[(\text{Gly})_{na}-\text{Val-AA}_3-\text{Ile-AA}_5]_{nb}-\text{Val-AA}_7-\text{Cys-AA}_9-\text{AA}_{10}-\text{Ser-AA}_{12}-\text{AA}_{13}-\text{Cys-AA}_{15}-\text{AA}_{16}-\text{AA}_{17}-\text{Cys-Lys-Asp-Ala-(AA}_{22})_{n1}-\text{Gly-AA}_{24}-\text{Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-AA}_{31}-\text{Asn-AA}_{33}-\text{Lys-Cys-AA}_{36}-\text{Cys-Thr-Pro-Lys}$ (IV)

dans laquelle :

20 - na, nb, et n1, indépendamment les uns des autres, représentent 0 ou 1,
- AA₃, AA₅, AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₂, AA₁₃, AA₁₅, AA₁₆, AA₁₇, AA₂₂, AA₂₄, AA₃₁, AA₃₃, et AA₃₆, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de composés de formule (IV) définie ci-dessus dans laquelle n1 = 0, et :

25 - nb = 1, notamment les composés peptidiques suivants :
- la kaliotoxine 2 correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 3, et pour laquelle na = 0, nb = 1,
- la kaliotoxine 3 correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 4, dans laquelle, à la différence de KTX, AA₂ représente une glycine, AA₅ représente une proline, AA₇ représente une sérine, AA₉ représente une lysine, AA₁₀ représente une histidine, AA₁₂ représente une glycine, et AA₁₆ représente une isoleucine, et pour laquelle na = 0, nb = 1
30 - l'agitoxine 2 correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 5, et pour laquelle na = nb = 1,
- ou nb = 0, notamment la KTX(6-37) représentée par SEQ ID NO 6, et pour laquelle na = nb = 0.

35 L'invention a également pour objet l'utilisation susmentionnée de dérivés de la KTX comprenant la formule (III) susmentionnée, et plus particulièrement

répondant à la formule (IV) définie ci-dessus, dans lesquelles n_1 représente 0 ou 1, et :

- l'un au moins de AA_{12} ou de AA_{17} représente l'acide aminobutyrique (Abu),

5 - et/ou, l'un au moins de AA_{24} ou de AA_{31} représente un résidu norleucine.

A ce titre, l'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée des dérivés de la KTX de formule (IV) définie ci-dessus, dans laquelle $n_1 = 0$ ou 1, et :

10 - AA_{12} représente l'acide aminobutyrique (Abu) ou la lysine, et/ou

- AA_{17} représente l'acide aminobutyrique (Abu) ou la valine, et/ou

- AA_{24} et AA_{31} représentent, indépendamment l'un de l'autre, la méthionine ou la norleucine.

15 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de dérivés de la KTX de formule (IV) définie ci-dessus, dans laquelle n_1 représente 0 ou 1, et :

- l'un au moins de AA_{12} ou de AA_{17} représente l'acide aminobutyrique (Abu), notamment les composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, $n_a = n_b = 1$, et AA_{12} et AA_{17} représentent Abu, tel que le dérivé de KTX désigné (P12/Abu, P17/Abu)KTX représenté par SEQ ID NO 7,

20 - et/ou l'un au moins de AA_{24} ou de AA_{31} représente un résidu norleucine, notamment :

25 . les composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, $n_a = n_b = 0$, AA_{12} et AA_{17} représentent Abu, et AA_{24} et AA_{31} représentent un résidu norleucine, tel que le dérivé de KTX désigné Kaline ledit dérivé étant représenté par SEQ ID NO 8 ,

. ou les dérivés de la KTX de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 1$, $n_a = n_b = 1$, et répondant à la formule (V) suivante :

30 $AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-AA_7-Cys-AA_9-AA_{10}-Ser-Abu-Gln-Cys-AA_{15}-Lys-Abu-Cys-Lys-Asp-Ala-Gly-Nle-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-Nle-Asn-AA_{33}-Lys-Cys-AA_{36}-Cys-AA_{38}-AA_{39}-AA_{40}$ (V)

35 dans laquelle AA_1 à AA_7 , AA_9 , AA_{10} , AA_{15} , AA_{33} , AA_{36} , et AA_{38} à AA_{40} , indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

L'invention a également plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de dérivés de la KTX comprenant la formule (III) susmentionnée.

et plus particulièrement répondant à la formule (IV) définie ci-dessus, dans lesquelles $n_1 = 1$, notamment ceux pour lesquels $n_a = n_b = 1$, tels que :

5 - le dérivé de KTX à hélice α modifiée représenté par la séquence SEQ ID NO 9, dans laquelle, à la différence de KTX, AA₁₂ représente une lysine, AA₁₃ représente un acide glutamique, AA₁₅ représente un tryptophane, AA₁₆ représente une sérine, AA₁₇ représente une valine, et AA₂₂ représente une tyrosine,

10 - le dérivé de KTX désigné (P12/K, P17/V, F22)KTX correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 10, dans laquelle, à la différence de KTX, AA₁₂ représente une lysine, AA₁₇ représente une valine, et AA₂₂ représente une phénylalanine.

15 L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée de composés peptidiques issus d'anémones de mer, ou de dérivés peptidiques ou pseudopeptidiques de ces composés (à savoir de composés dérivant de ces derniers par addition ou suppression d'un ou plusieurs acides aminés, ou par remplacement d'un ou plusieurs acides aminés par des acides aminés naturels ou non), lesdits dérivés possédant la propriété des composés issus d'anémones de mer d'inhiber les canaux potassium neuronaux Kv1.1 et Kv1.2, ainsi que les canaux potassium lymphocytaires Kv1.3 susmentionnés, ces composés ou
20 dérivés comprenant la séquence en acides aminés répondant à la formule générale suivante (VI) suivante :

25 (AA₁)_{n1}-(AA₂)_{n2}-Cys-AA₄-Asp-AA₆-AA₇-AA₈-AA₉-AA₁₀-AA₁₁-Cys-(AA₁₃)_{n3}-AA₁₄-(AA₁₅)_{n4}-AA₁₆-(AA₁₇)_{n5}-AA₁₈-(AA₁₉)_{n6}-AA₂₀-Cys-AA₂₂-(AA₂₃)_{n7}-Ser-AA₂₅-Lys-Tyr-AA₂₈-(AA₂₉)_{n8}-AA₃₀-Cys-AA₃₂-Lys-Thr-Cys-AA₃₆-AA₃₇-Cys (VI)

dans laquelle :

30 - n_1 à n_8 , indépendamment les uns des autres, représentent zéro ou 1,
- AA₂, AA₂, AA₄, AA₆ à AA₁₁, AA₂₂, AA₂₃, AA₂₅, AA₂₈ à AA₃₀, AA₃₂, AA₃₆ et AA₃₇, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée des composés peptidiques de formule (VI) suivants :

35 - la BgK correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 11 (telle qu'issue de l'anémone de mer désignée *Bunodosoma granulifera*),
- la ShK correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 12 (telle qu'issue de l'anémone de mer désignée *Stichodactyla helianthus*).

- la kaliseptine correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 13 (telle qu'issue de l'anémone de mer désignée *Anemonia sulcata*).

L'invention a également pour objet toute composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend un ou plusieurs composés peptidiques tels que définis ci-dessus, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

Avantageusement, les compositions pharmaceutiques de l'invention se présentent sous une forme administrable par voies intraveineuse, intramusculaire, anale ou sous-cutanée, notamment à raison d'environ 0.05 à environ 1 mg/kg, ou d'environ 0.5 mg/kg à environ 1 mg/kg, à raison de 1 à 3 prises par jour.

Des compositions pharmaceutiques préférées sont celles contenant la kaliotoxine ou ses dérivés, notamment la kaliotoxine 3, dans le cadre du traitement de la SEP.

D'autres compositions pharmaceutiques préférées sont celles contenant le composé (P12/Abu, P17/Abu) KTX, dans le cadre du traitement de la SEP.

L'invention concerne également les dérivés de la KTX, tels que définis ci-dessus, et répondant à la formule (IV) suivante:

20 [(Gly)_{na}-Val-AA₃-Ile-AA₅]_{nb}-Val-AA₇-Cys-AA₉-AA₁₀-Ser-AA₁₂-AA₁₃-Cys-AA₁₅-AA₁₆-AA₁₇-Cys-Lys-Asp-Ala-(AA₂₂)_{n1}-Gly-AA₂₄-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-AA₃₁-Asn-AA₃₃-Lys-Cys-AA₃₆-Cys-Thr-Pro-Lys (IV)

dans laquelle :

- 25 - na, nb, et n1, indépendamment les uns des autres, représentent 0 ou 1.
 - AA₃, AA₅, AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₂, AA₁₃, AA₁₅, AA₁₆, AA₁₇, AA₂₂, AA₂₄, AA₃₁, AA₃₃, et AA₃₆, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non,
 sous réserve que lorsque n1 = 0, alors :
 30 - nb = 0,
 - ou AA₂ représente une glycine, AA₅ représente une proline, AA₇ représente une sérine, AA₉ représente une lysine, AA₁₀ représente une histidine, AA₁₂ représente une glycine, et AA₁₆ représente une isoleucine.
 - et/ou l'un au moins de AA₁₂ ou de AA₁₇ représente l'acide aminobutyrique (Abu).
 35 - et/ou, l'un au moins de AA₂₄ ou de AA₃₁ représente un résidu norleucine.

L'invention a plus particulièrement pour objet les dérivés de la KTX de formule (IV), tels que définis ci-dessus, dans laquelle $n_1 = 0$, et :

- $n_a = 0$, $n_b = 1$, AA₂ représente une glycine, AA₅ représente une proline, AA₇ représente une sérine, AA₉ représente une lysine, AA₁₀ représente une histidine, AA₁₂ représente une glycine, et AA₁₆ représente une isoleucine, notamment la kaliotoxine 3 correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 4, ou

- $n_b = 0$, notamment la KTX(6-37) représentée par SEQ ID NO 6.

L'invention concerne plus particulièrement les dérivés de la KTX de formule (IV), tels que définis ci-dessus, dans laquelle $n_1 = 0$ ou 1, et :

- l'un au moins de AA₁₂ ou de AA₁₇ représente l'acide aminobutyrique (Abu), notamment les composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, $n_a = n_b = 1$, et AA₁₂ et AA₁₇ représentent l'acide aminobutyrique (Abu), tel que le dérivé (P12/Abu, P17/Abu)KTX représenté par SEQ ID NO 7,

- et/ou, l'un au moins de AA₂₄ ou de AA₃₁ représente un résidu norleucine, notamment :

. les composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, $n_a = n_b = 0$, AA₁₂ et AA₁₇ représentent l'acide aminobutyrique (Abu), AA₂₄ et AA₃₁ représentent un résidu norleucine, tel que la Kaline représentée par SEQ ID NO 8, ou

. les dérivés de la KTX de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 1$, $n_a = n_b = 1$, et répondant à la formule (V) suivante :

AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-AA₇-Cys-AA₉-AA₁₀-Ser-Abu-Gln-Cys-AA₁₅-
Lys-Abu-Cys-Lys-Asp-Ala-Gly-Nle-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-Nle-Asn-AA₃₃-Lys-
Cys-AA₃₆-Cys-AA₃₈-AA₃₉-AA₄₀ (V)

dans laquelle AA₁ à AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₅, AA₃₃, AA₃₆, et AA₃₈ à AA₄₀, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

L'invention a plus particulièrement pour objet les dérivés de la KTX de formule (IV), tels que définis ci-dessus, dans laquelle $n_1 = 1$, notamment les composés suivants pour lesquels $n_a = n_b = 1$, tels que :

- le dérivé de KTX à hélice α modifiée représenté par la séquence SEQ ID NO 9, dans laquelle, à la différence de KTX, AA₁₂ représente une lysine, AA₁₃ représente un acide glutamique, AA₁₅ représente un tryptophane, AA₁₆ représente une sérine, AA₁₇ représente une valine, et AA₂₂ représente une tyrosine.

- le dérivé de KTX désigné (P12/K, P17/V, F22)KTX correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 10, dans laquelle, à la différence de KTX, AA₁₂ représente une lysine, AA₁₇ représente une valine, et AA₂₂ représente une phénylalanine.

5 L'invention concerne également tout peptide dérivé de ceux décrits ci-dessus, notamment par substitution, suppression ou addition d'un ou plusieurs acides aminés, ou tout fragment des peptides décrits ci-dessus, lesdits peptides dérivés ou fragments étant capables de bloquer les canaux potassium neuronaux Kv1.1 et Kv1.2, ainsi que les canaux potassium lymphocytaires Kv1.3
10 susmentionnés.

L'invention concerne également les séquences nucléotidiques codant pour les peptides, ou peptides dérivés, ou fragments de ces derniers, décrits ci-dessus, ainsi que leur utilisation dans le cadre de la préparation desdits peptides, peptides dérivés, ou fragments, par transformation de cellules hôtes avec des
15 vecteurs contenant lesdites séquences nucléotidiques, mise en culture des cellules hôtes ainsi transformées, et récupération des peptides, peptides dérivés produits.

L'invention sera davantage illustrée à l'aide des exemples de synthèse des composés de l'invention, et de leurs effets sur un modèle expérimental animal
20 de la SEP.

I - Techniques de synthèse

La kaliotoxine et ses différents analogues ont été synthétisés par la
25 méthode de synthèse en phase solide en utilisant, pour la protection des acides aminés, soit la chimie Boc selon le protocole explicité dans l'article Romi et coll., 1993, J. of Biological Chemistry, vol. 268, p 26302-26309, soit la chimie Fmoc selon le protocole explicité pour des peptides comparables dans l'article Kharrat et coll., 1996, Eur. J. of Biochemistry 42, p 491-498. Les résines
30 utilisées sont à base de polystyrène 1% divinyl-benzène dérivatisé en PAM-résine, paraméthyl-BHA résine, résine HMB, ou résine RINK. Les chaînes protectrices des acides aminés sont : cyclohexyl ou t-butyl pour Asp et Glu, benzyl ou t-butyl pour Ser et Thr, carbobenzoxy, tosyl ou trityl pour His, p-méthylbenzyl, AcM, ou trityl pour Cys, xantyl ou trityl pour Asn et Gln, tosyl
35 ou Pmc pour Arg et 2Cl-CbZ ou Boc pour Lys. L'assemblage des amino-acides a été réalisé sous forme de HOBt-ester ou par couplage avec le réactif HBTU. Le clivage et la déprotection des chaînes latérales des amino-acides ont été réalisés soit en milieu HF, soit en présence de TFA avec différents pièges à

radicaux : p-crésol, éthanedithiol, thioanisole ou phénol. Les peptides ont été placés en réoxydation en présence d'un tampon Tris-HCl au contact de l'air. La constitution des ponts disulfures et la restructuration des molécules ont été suivies par HPLC. Les peptides oxydés ont été purifiés par HPLC préparative et caractérisés par : HPLC analytique, analyse d'acides aminés, spectrométrie de masse, et par différents tests biologiques : électrophysiologie, toxicité chez la souris, fixation sur leurs récepteurs.

Les caractéristiques physico-chimiques sont les suivantes : poudre lyophilisée blanche amorphe, de grande solubilité dans l'eau (> 10 mg/ml), conservation à 4°C à l'état lyophilisé et à -20°C en solution dans l'eau. Dégradation rapide en milieux oxydant et réducteur, dégradation rapide en milieu basique et acide extrême (< 1).

II - Etude de l'effet des composés de l'invention sur un modèle animal de SEP

A) Méthodologie

1) Affinité de la kaliotoxine pour les canaux potassium de type Kv

L'affinité de la kaliotoxine (KTX) pour les canaux potassium de type Kv a été déterminée par électrophysiologie (potentiel imposé) après expression d'ARN dans l'ovocyte de xénope (Kushner et coll., 1989).

2) Blocage des canaux Kv lymphocytaires par la KTX

L'activité des canaux potassium est déterminée en enregistrant le courant global d'un lymphocyte à l'aide de la technique de patch-clamp dans la configuration cellule entière.

3) Effets *in vitro* de la kaliotoxine sur la prolifération d'une lignée lymphocytaire T

Des lymphocytes T sont maintenus en culture en alternant des cycles d'activation antigénique et des cycles d'amplification dans du milieu de croissance contenant 10% de "T cell growth factors" (TCGF). L'activation antigénique est réalisée en cultivant 3×10^4 LcT avec 2×10^6 cellules présentatrices de l'antigène, la protéine basique de la myéline (PBM) (10 mg/ml) / 200 ml milieu de stimulation/puits de microplaque. Au bout de 48 hrs, un précurseur radioactif du DNA (H3-Tdr, 1mCi/puits) est ajouté : 18 hrs plus tard, les cellules sont récoltées, lysées et le matériel radioactif incorporé dans l'ADN est compté.

Les bloqueurs sont ajoutés au début de l'activation antigénique, pour la durée totale de la culture. Chaque concentration de bloqueur est testée en quadreplicat. Les résultats sont exprimés en moyenne de cpm des 4 échantillons $\pm$ écart-type.

5

4) Effets de la kaliotoxine sur un modèle animal de SEP, l'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE) induite chez le rat

L'EAE est induite par transfert adoptif de lymphocytes T (LcT) spécifiques de la protéine basique myélinique (PBM). Ces lymphocytes proviennent d'une lignée lymphocytaire T CD4+, Th1, "PAS", issue de rats Lewis ; ils sont

10

activés par la PBM 48h avant d'être injectés aux receveurs syngéniques normaux.

Cinq groupes (A à E) de 5 rates Lewis âgées de 10 semaines, 200 gr (Charles River) reçoivent ce 2 à 5 millions de LcT (lignée T PAS) spécifiques de la protéine basique myélinique PBM par voie intra-péritonéale au

15

jour 0 (J0). Dans les groupes B et C, la KTX (0,8 et 8 μ g /0,1 ml PBS/rat) (PBS, tampon phosphate) est injectée par voie sous cutanée le même jour et quotidiennement jusqu'au 6^e jour (J6). Un groupe contrôle (groupe A) reçoit en

20

lieu et place de KTX, 1ml de PBS. Les rats du groupe D reçoivent 8 μ g de KTX après l'apparition des signes cliniques d'EAE. Les rats du groupe E reçoivent au jour 0 des LcT prétraités par KTX *in vitro* (100 ng/ml) et quotidiennement 8 μ g de KTX jusqu'à J6. Les rats du sixième groupe (F) reçoivent uniquement KTX (8 μ g) de J0 à J6.

25

Une autre expérience a été effectuée en testant KTX à différentes doses : 0.8, 8, 16 et 32 μ g/rat/jour. La dose la plus élevée (32 μ g) a été injectée en 1 ou 2 fois dans 0.1 ou 1 ml de PBS. La voie d'administration a été en sous cutanée ; elle a été comparée à la voie intraveineuse au cours d'une seule expérience. L'observation clinique des animaux a été effectuée 1, 2 ou 4 fois par jour.

30

Les rats sont observés et pesés quotidiennement. Les signes cliniques de l'EAE (identiques à ceux obtenus par induction active) sont notés de 0 à 4, comme suit (d'après Bourdoulous et coll., 1995):

0 = absence de signes neurologiques.

1 = queue flaccide,

35

2 = parésie des membres postérieurs pouvant s'accompagner de tremblements,

3 = paralysie flasque des membres postérieurs pouvant s'accompagner d'incontinence, d'hémorragies oculaires et nasales.

15

4 = état moribond (paralysie des membres supérieurs: troubles respiratoires).

5 L'EAE clinique moyenne est obtenue en totalisant les signes cliniques d'intensité maximale de chaque rat; les rats ne présentant pas de signes sont inclus et notés 0. La perte pondérale tient compte du poids minimal et maximal de chaque rat au cours des 6 jours de traitement.

5) Levée des blocs de conduction par la kaliotoxine

Deux tests ont été retenus :

10 Nerf optique de rat *in vitro*

15 C'est un nerf du système nerveux central, myélinisé par des oligodendrocytes couplés à des astrocytes. Le nerf optique est prélevé chez des rats Lewis et placé dans une chambre perfusée, oxygénée et thermostatée à 36°C. L'enregistrement de l'activité globale des axones est réalisé à l'aide d'une électrode de succion servant de contention à une extrémité du nerf. Une seconde électrode identique, placée à l'autre extrémité, sert à stimuler le nerf (stimulation donnant une réponse maximale : 0.1 ms, 10 à 30 V). Les contrôles effectués, la préparation est mise en présence de lymphocytes réactifs contre la protéine basique de la myéline ($2 \cdot 10^5$ cellules/ ml) maintenus dans un milieu de culture DMEM.

20

Potentiels évoqués

25 La détection dans le SNC des potentiels évoqués par une stimulation appliquée à une patte arrière d'un rat permet d'évaluer l'état fonctionnel des fibres ascendantes du tronc cérébral. La détection se fait au niveau thalamique. Les électrodes métalliques sont implantées à demeure sous contrôle stéréotaxique, deux dans le noyau thalamique ventro-postero-lateral et deux autres sur le scalp. L'animal étant anesthésié au chloral (0.1 g/rat), la stimulation de la patte arrière droite est réalisée à l'aide d'un bracelet ceinturant la jambe et contenant deux conducteurs. La stimulation seuil (2ms, 25 à 60V) est détectée visuellement par une contraction réflexe. Les potentiels évoqués sont obtenus en moyennant une cinquantaine de stimulations répétées toutes les 5s.

30

35 B) Résultats

1) Affinité de la kaliotoxine pour les canaux Kv

Les courbes doses-réponses montrent une sensibilité élevée des canaux Kv1.1 (IC₅₀ = 1.5 nM), Kv1.2 (IC₅₀ = 24 nM) et Kv1.3 (IC₅₀ = 0.1

nM) à la KTX. Le canal Kv3.1 est insensible ($IC_{50} > 1 \mu M$). Par ailleurs, d'autres auteurs ont montré que les canaux neuronaux Kv1.5 et Kv 3.1 sont insensibles à la KTX (Grissmer et coll, 1994).

5 Conclusion : Ce profil d'activité correspond idéalement au plan de charge fixé dans le cadre de la présente invention : affinité élevée pour le canal Kv1.3 lymphocytaire; affinité élevée et sélective pour les canaux Kv axonaux Kv1.1 et Kv1.2, par rapport aux autres canaux neuronaux.

10 Ce profil d'activité est idéal pour combiner un effet immunosuppresseur efficace et un effet neurologique orienté sur la conduction axonale susceptible de permettre d'éviter les effets épileptogènes des aminopyridines.

2) Blocage des canaux Kv lymphocytaires par la kaliotoxine

15 Résultats : Sur les diverses lignées lymphocytaires testées, la sensibilité des canaux Kv endogènes s'exprimant constitutivement ou après activation antigénique est caractérisée par un coefficient de dissociation K_d de 1 à 2 nM.

20 Conclusion : Bien que plus faible, cette sensibilité est en accord avec les données obtenues sur les canaux Kv1.3 exogènes exprimés dans l'ovocyte de xénope.

3) Effets *in vitro* de la kaliotoxine sur la prolifération d'une lignée lymphocytaire T encéphalitogène.

25 Résultats : Ceux d'une expérience type sont présentés dans l'annexe 1. Quatre séries d'expériences indiquent que 10 à 50 nM de KTX inhibe à 60% l'incorporation du précurseur radioactif de l'ADN et donc, la prolifération cellulaire.

30 Conclusion : Ces données confirment le rôle majeur des canaux Kv1.3 dans les phases prolifératives des lymphocytes T et l'efficacité de l'effet immuno-suppresseur de la KTX.

4) Effets de la KTX sur l'EAE induite chez le rat

35 Résultats : L'analyse montre que, du point de vue clinique, le traitement des rats par voie systémique avec la KTX (8 et 0.8 μg) du jour 0 au jour 6 réduit considérablement la sévérité de la maladie et abolit la mortalité. La rémission est totale en moins de 10 jours. Plus significatifs encore sont les résultats du groupe D traité après l'apparition des signes cliniques avec 8 μg de

KTX et seulement pendant 2 jours. Les signes cliniques ne dépassent pas une sévérité moyenne de 1.1 et régressent rapidement.

Conclusion :

Le traitement de rats Lewis par KTX dès le jour du transfert adoptif réduit la sévérité de l'EAE et la perte pondérale. Le traitement par KTX dès l'apparition des signes cliniques, pendant un à trois jours seulement, constitue un traitement efficace de l'EAE (voir Tableau 1).

Les conditions optimales à retenir dans le cadre de ces expériences sont :

- 32 μ g de KTX/rat/jour : dose à laquelle les résultats sont le plus reproductibles,
- injection de KTX dans 1 ml PBS, 1 fois par jour, par voie sous cutanée,
- pesée et examen clinique des animaux une seule fois/jour.

Tableau 1. Traitement de l'EAE adoptive par KTX

	Score Clinique EAE	
	Contrôle PBS	KTX (32 μ g)
expérience 1	3 $\pm$ 1.8 n = 5	1.2 $\pm$ 0.7 n = 5
expérience 2	2.5 $\pm$ 1.0 n = 7	1.1 $\pm$ 0.35 n = 8
expérience 3	3.6 $\pm$ 0.4 n = 7	2.51 $\pm$ 1.5 n = 8
expérience 4	2.3 $\pm$ 1 n = 5	1.6 $\pm$ 1.3 n = 5

L'EAE est induite chez des rats Lewis par injection intrapéritonéale de 2 à 5 millions de lymphocytes T "PAS" activés par la PBM au jour 0.

La KTX est injectée par voie sous cutanée dans du PBS dès l'apparition des signes cliniques, durant 1 à 3 jours. L'EAE clinique moyenne est obtenue en totalisant les signes cliniques d'intensité maximale de chaque rat évalués selon l'échelle de Sommer et al. (Nature Med., 1995, 1: 247).

"n" représente le nombre de rats par groupe. L'analyse statistique est réalisée par le test de Mann et Whitney.

Ces données sont une confirmation, sur un modèle animal reconnu représentatif de la sclérose en plaques, de l'action anti-inflammatoire et immunosuppressive de la kaliotoxine. De plus, la guérison des animaux du

groupe D susmentionné traité tardivement est un argument indirect en faveur d'une action symptomatique de la KTX sur les canaux Kv du SNC. Cette conclusion est confirmée par les deux tests suivants.

- 5 5) Levée des blocs de conduction par la kaliotoxine
Nerf optique de rat *in vitro*

10 Résultats : En accord avec les données de Yarom et coll. (1983), l'incubation d'un nerf optique de rat avec des lymphocytes T pré-activés contre la protéine basique de la myéline entraîne, en 1h30-2h, un bloc quasi-total du potentiel global dérivé par une électrode de succion. Une restauration partielle de l'activité contrôle peut alors être obtenue 2 à 3 heures après avoir enlevé les lymphocytes. Par contre, l'addition de KTX (100 nM) restaure rapidement (15-20 min) la capacité de conduction du nerf même en présence des lymphocytes.

15 Conclusion : Ces expériences valident l'hypothèse que les blocs de conduction dans les fibres centrales démyélinisées peuvent être levés en agissant sur les canaux potassium neuronaux. Elles montrent également que la kaliotoxine, par sa spécificité, exerce cet effet à des concentrations nanomolaires.

Potentiels évoqués

20 Résultats : Sur un animal dont les signes cliniques d'EAE atteignent le niveau 2 (paralysie du train postérieur), les potentiels évoqués par une stimulation électrique de la patte arrière sont retardés et déprimés de 80 à 90% par rapport aux enregistrements contrôle effectués avant l'induction de l'EAE. Une injection sous-cutanée de KTX (10 µg) est suivie d'une récupération progressive de l'amplitude et de la latence des potentiels évoqués. La récupération devient totale en 90 minutes.

25

30 Conclusion : Cette expérience menée *in vivo* montre que les blocs de conduction consécutifs au processus inflammatoire des fibres situées dans la partie lombaire du tronc cérébral sont levés par une injection aiguë de KTX. Les résultats confirment notre hypothèse d'un effet neurologique positif de la KTX. Ils montrent directement que le bloqueur peut passer lentement la barrière hémato-méningée, probablement au niveau des sites d'inflammation. Cette dernière conclusion est d'importance quant à la possibilité de restaurer une conduction axonique satisfaisante apte à rétablir une fonction motrice altérée.

35

Références Bibliographiques

- 5 **Bever CT**, (1994), The current status of studies of aminopyridines in patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* . 36; S118-121.
- Bourdoulous et coll.**, (1995), *Eur. J. Immunol.*, 25, p 1176.
- 10 **Chandy K.G. et Gutman G.** (1994), Voltage-gated K⁺ genes. In *Handbook of Receptors and Channels*, A. North, ed., CRC Press, Boca Raton, FL, p 1.71.
- Grissmer S, Nguyen AN, Aiyar J, Hanson DC, Mather RJ, Gutman GA, Karmilowicz MJ, Auperin DD and Chandy KG**, (1994) Pharmacological
15 characterization of five cloned voltage-gated K⁺ channels, types Kv1.1, 1.2, 1.3, 1.5 and 3.1, stably expressed in mammalian cell lines. *Molec. Pharmacol.* 45; p. 1227.
- Jacobs L, Goodkin DE, Rudick RA and Herndorn R**, (1994) Advances in
20 specific therapy for multiple sclerosis. *Cur. Opin. Neurol.* 7; p. 250.
- Kushner L, Lerma J, Bennet MVL and Zukin RS**, (1989) Using the *xenopus* oocyte system for expression and cloning of neuroreceptors and channels. In, *Methods in Neurosciences* . Vol. 1; p. 3. Academic Press Inc.
- 25 **McNamara N.M.C., Averill S., Wilkin G.P., Dolly J.O., Priestley J.V.**, (1996), Ultrastructural localization of a voltage-gated K channel subunit (Kv1.2) in the rat cerebellum, *Eur. J. of Neurosciences*, 8 p. 688-699.
- 30 **Noseworthy JH** (1993) Clinical trials in multiple sclerosis. *Curr. Opin. Neurosurg.* 6; 209-215.
- Polman CH, Bertelsman FW, van Loenen AC and Koetsier JC**, (1994), 4-aminopyridine in the treatment of patients with multiple sclerosis. Long-term
35 efficacy and safety. *Arch. Neurol.* 51; p. 292.

- Polman CH and Hartung HP, (1995) The treatment of multiple sclerosis: current and future. Curr .Opin. Neurol. 8; p. 200.
- 5 Sherratt RM, Bostock H and Sears TA, (1980) Effects of 4-aminopyridine on normal and demyelinated mammalian nerve fibres. Nature. 283; p. 570.
- 10 Stühmer W., Ruppesberg J.P., Schröter K.H., Sakmann B., Stocker M., Giese K.P., Perschke A., Baumann A., Pongs O., (1989), Molecular basis of functional diversity of voltage-gated potassium channel in mammalian brain, The EMBO Journal, 8 : p. 3235-3244.
- 15 Uitdehaag BM, Polman CH, de Groot CJ and Dijkstra CD, (1994), Effect of K⁺ channel blockers on the clinical course and histological features of experimental allergic encephalomyelitis. Acta. Neurol. Scand. 90; p. 299.
- 20 Wang H., Kunkel D.D., Schwartzkroin P.A., Tempel B.L., (1994), Localization of Kv1.1 and Kv1.2, two K channel protein, to synaptic terminals, somata, and dendrites in the mouse brain, The J. of Neuroscience, 14 : p. 4588-4599.
- 25 Yarom Y, Naparstek Y, Lev-Ram V, Holoshitz J, Ben-Nun A and Cohen IR, (1983) Immunospecific inhibition of nerve conduction by T lymphocytes reactive to basic protein of myelin. Nature. 303; p 246.

WO 99/18123

2

PCT/FR98/02136

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Gly	Val	Glu	Ile	Asn	Val	Lys	Cys	Ser	Gly	Ser	Pro	Gln	Cys	Leu	Lys
1				5					10					15	

Pro	Cys	Lys	Asp	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Met	Asn	Arg	Lys
			20					25					30		

Cys	His	Cys	Thr	Pro	Lys
					35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 37 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS:

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

Val	Arg	Ile	Pro	Val	Ser	Cys	Lys	His	Ser	Gly	Gln	Cys	Leu	Lys	Pro
1				5					10					15	

Cys	Lys	Asp	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Met	Asn	Gly	Lys	Cys
			20					25					30		

Asp	Cys	Thr	Pro	Lys
				35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 37 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS:

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

Val	Gly	Ile	Pro	Val	Ser	Cys	Lys	His	Ser	Gly	Gln	Cys	Ile	Lys	Pro
1				5					10					15	

Cys	Lys	Asp	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Met	Asn	Arg	Lys	Cys
			20					25					30		

WO 99/18123

3

PCT/FR98/02136

Asp Cys Thr Pro Lys
35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 38 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS:
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..114

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

Gly Val Pro Ile Asn Val Ser Cys Thr Gly Ser Pro Gln Cys Ile Lys
1 5 10 15

Pro Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Arg Lys
20 25 30

Cys His Cys Thr Pro Lys
35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 6:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 32 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS:
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

Val Lys Cys Ser Gly Ser Pro Gln Cys Leu Lys Pro Cys Lys Asp Ala
1 5 10 15

Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Arg Lys Cys His Cys Thr Pro
20 25 30

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 38 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS:

WO 99/18123

4

PCT/FR98/02136

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

Gly	Val	Glu	Ile	Asn	Val	Lys	Cys	Ser	Gly	Ser	Abu	Gln	Cys	Leu	Lys
1				5					10					15	

Abu	Cys	Lys	Asp	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Met	Asn	Arg	Lys
			20					25					30		

Cys	His	Cys	Thr	Pro	Lys
			35		

Abu : acide aminobutyrique

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 32 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS:

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

Val	Lys	Cys	Ser	Gly	Ser	Abu	Gln	Cys	Leu	Lys	Abu	Cys	Lys	Asp	Ala
1				5					10					15	

Gly	Nle	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Nle	Asn	Arg	Lys	Cys	His	Cys	Thr	Pro
			20					25					30		

Abu : acide aminobutyrique

Nle : norleucine

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 39 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS:

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

Gly	Val	Glu	Ile	Asn	Val	Lys	Cys	Ser	Gly	Ser	Lys	Glu	Cys	Trp	Ser
1				5					10					15	

Val	Cys	Lys	Asp	Ala	Tyr	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Met	Asn	Arg
			20					25					30		

WO 99/18123

5

PCT/FR98/02136

Lys Cys His Cys Thr Pro Lys
35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 39 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS:
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

Gly Val Glu Ile Asn Val Lys Cys Ser Gly Ser Lys Gln Cys Leu Lys
1 5 10 15

Val Cys Lys Asp Ala Phe Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Arg
20 25 30

Lys Cys His Cys Thr Pro Lys
35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 37 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS:
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

Val Cys Arg Asp Trp Phe Lys Glu Thr Ala Cys Arg His Ala Lys Ser
1 5 10 15

Leu Gly Asn Cys Arg Thr Ser Gln Lys Tyr Arg Ala Asn Cys Ala Lys
20 25 30

Thr Cys Glu Leu Cys
35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 35 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS:
- (D) CONFIGURATION: linéaire

WO 99/18123

6

PCT/FR98/02136

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

Arg	Ser	Cys	Ile	Asp	Thr	Ile	Pro	Lys	Ser	Arg	Cys	Thr	Ala	Phe	Gln
1				5					10					15	

Cys	Lys	His	Ser	Met	Lys	Tyr	Arg	Leu	Ser	Phe	Cys	Arg	Lys	Thr	Cys
			20					25					30		

Gly	Thr	Cys
		35

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 36 acides aminés

(B) TYPE: acide aminé

(C) NOMBRE DE BRINS:

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

Ala	Cys	Lys	Asp	Asn	Phe	Ala	Ala	Ala	Thr	Cys	Lys	His	Thr	Lys	Glu
1				5					10					15	

Asn	Lys	Asn	Cys	Gly	Ser	Gln	Lys	Tyr	Ala	Thr	Asn	Cys	Ala	Lys	Thr
			20					25					30		

Cys	Gly	Leu	Cys
			35

REVENDICATIONS

1. Utilisation de composés inhibiteurs des canaux potassium neuronaux Kv1.1, Kv1.2, et des canaux potassium lymphocytaires Kv1.3, pour la
 5 préparation de médicaments destinés au traitement de maladies neurologiques à
 composante immunitaire chez l'homme ou l'animal, dans lesquelles se produit
 un blocage de la conduction nerveuse..

2. Utilisation selon la revendication 1, pour la préparation de
 10 médicaments destinés au traitement des maladies neurologiques à composante
 immunitaire suivantes :

- les pathologies neurologiques centrales inflammatoires à localisation
 cérébrale et médullaire, notamment la sclérose en plaque et maladies
 apparentées (Balo, Devic, encéphalite aiguë disséminée et hémorragiques,
 15 neuropathies optiques isolées);

- les pathologies périphériques inflammatoires ou apparentées,
 notamment :

. les polyradiculonévrites aiguës et chroniques,
 . les neuropathies liées à des atteintes infectieuses et à des
 20 collagénoses,

- les pathologies neurologiques dégénératives, notamment la sclérose
 latérale amyotrophique, les neuropathies avec bloc de conduction,

- les pathologies tumorales à dérèglement du système immunitaire.

3. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, de composés peptidiques
 25 issus de venins de scorpion, ou de composés dérivés de ces derniers, ces
 composés ou dérivés comprenant la séquence en acides aminés répondant à la
 formule générale suivante (I) suivante :

30 Cys-AA₉-AA₁₀-AA₁₁-AA₁₂-AA₁₃-Cys-AA₁₅-AA₁₆-AA₁₇-Cys-AA₁₉-AA₂₀-
 AA₂₁-(AA₂₂)_{n1}-AA₂₃-AA₂₄-AA₂₅-AA₂₆-AA₂₇-(AA₂₈)_{n2}-Lys-Cys-AA₃₁-
 AA₃₂-AA₃₃-Lys-Cys-AA₃₆-Cys (I)

dans laquelle :

35 - n1, et n2, indépendamment l'un de l'autre, représentent zéro ou 1,
 - AA₉ à AA₁₃, AA₁₅ à AA₁₇, AA₁₉ à AA₂₈, AA₃₁ à AA₃₃, et
 AA₃₆, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé
 quelconque, naturel ou non.

4. Utilisation selon la revendication 3, de composés peptidiques de formule (II) suivante:

5 AA₂-AA₃-Ile-Asn-Val-Lys-Cys-Thr-Ser-Pro-AA₁₂-Gln-Cys-AA₁₅-AA₁₆-Pro-
Cys-Lys-AA₂₀-AA₂₁-AA₂₂-Gly-AA₂₄-AA₂₅-Ala-Gly-AA₂₈-Lys-Cys-AA₃₁-
Asn-Gly-Lys-Cys-Lys-Cys-Tyr-AA₃₉-AA₄₀ (II)

10 dans laquelle AA₂, AA₃, AA₁₂, AA₁₅, AA₁₆, AA₂₀ à AA₂₂, AA₂₄,
AA₂₅, AA₂₈, AA₃₁, AA₃₉, et AA₄₀, indépendamment les uns des autres
représentent un acide aminé quelconque naturel ou non,
tel que la noxiustoxine représentée par SEQ ID NO 1.

15 5. Utilisation selon la revendication 3, de composés peptidiques
comprenant la séquence de formule (III) suivante:

20 AA₆-AA₇-Cys-AA₉-AA₁₀-Ser-AA₁₂-AA₁₃-Cys-AA₁₅-AA₁₆-AA₁₇-Cys-Lys-
Asp-Ala-(AA₂₂)_{n1}-Gly-AA₂₄-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-AA₃₁-Asn-AA₃₃-Lys-
Cys-AA₃₆-Cys-AA₃₈-AA₃₉ (III)

20

dans laquelle :

- AA₆, AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₂, AA₁₃, AA₁₅, AA₁₆, AA₁₇, AA₂₂,
AA₂₄, AA₃₁, AA₃₃, AA₃₆, AA₃₈ et AA₃₉, indépendamment les uns des
autres représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

25 - n₁ représente zéro ou 1.

6. Utilisation selon la revendication 5, de la kaliotoxine représentée par
SEQ ID NO 2, ou de dérivés de la KTX répondant à la formule (IV) suivante:

30 [(Gly)_{na}-Val-AA₃-Ile-AA₅]_{nb}-Val-AA₇-Cys-AA₉-AA₁₀-Ser-AA₁₂-AA₁₃-Cys-
AA₁₅-AA₁₆-AA₁₇-Cys-Lys-Asp-Ala-(AA₂₂)_{n1}-Gly-AA₂₄-Arg-Phe-Gly-Lys-
Cys-AA₃₁-Asn-AA₃₃-Lys-Cys-AA₃₆-Cys-Thr-Pro-Lys (IV)

dans laquelle :

35 - na, nb, et n₁, indépendamment les uns des autres, représentent 0 ou 1.

- AA₃, AA₅, AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₂, AA₁₃, AA₁₅, AA₁₆, AA₁₇,
AA₂₂, AA₂₄, AA₃₁, AA₃₃, et AA₃₆, indépendamment les uns des autres,
représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

7. Utilisation selon la revendication 6, de composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, et :

- $n_b = 1$, tels que les composés peptidiques suivants :

- . la kaliotoxine 2 représentée par SEQ ID NO 3,
- 5 . la kaliotoxine 3 représentée par SEQ ID NO 4,
- . l'agitoxine 2 représentée par SEQ ID NO 5,

- ou $n_b = 0$, tel que la KTX(6-37) représentée par SEQ ID NO 6.

8. Utilisation selon la revendication 6, de dérivés de la KTX de formule (IV), dans laquelle n_1 représente 0 ou 1, et :

- l'un au moins de AA_{12} ou de AA_{17} représente l'acide aminobutyrique (Abu), tel que le dérivé (P12/Abu, P17/Abu)KTX représenté par SEQ ID NO 7, et/ou

15 - l'un au moins de AA_{24} ou de AA_{31} représente un résidu norleucine tel que la Kaline représentée par SEQ ID NO 8, ou les dérivés de la KTX de formule (V) suivante :

20 $AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-AA_7-Cys-AA_9-AA_{10}-Ser-Abu-Gln-Cys-AA_{15}-$
 $Lys-Abu-Cys-Lys-Asp-Ala-Gly-Nle-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-Nle-Asn-AA_{33}-Lys-$
 $Cys-AA_{36}-Cys-AA_{38}-AA_{39}-AA_{40}$ (V)

dans laquelle AA_1 à AA_7 , AA_9 , AA_{10} , AA_{15} , AA_{33} , AA_{36} , et AA_{38} à AA_{40} , indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

25

9. Utilisation selon la revendication 6, de dérivés de la KTX de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 1$, notamment ceux pour lesquels $n_a = n_b = 1$, tels que:

- le dérivé de la KTX à hélice α modifiée représenté par la séquence SEQ ID NO 9,
- 30 - le dérivé (P12/K, P17/V, F22)KTX représenté par SEQ ID NO 10.

10. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, de composés peptidiques issus d'anémones de mer, ou de composés dérivés de ces derniers, ces composés ou dérivés comprenant la séquence en acides aminés répondant à la formule générale suivante (VI) suivante :

35

24

(AA₁)_{n1}-(AA₂)_{n2}-Cys-AA₄-Asp-AA₆-AA₇-AA₈-AA₉-AA₁₀-AA₁₁-Cys-
 (AA₁₃)_{n3}-AA₁₄-(AA₁₅)_{n4}-AA₁₆-(AA₁₇)_{n5}-AA₁₈-(AA₁₉)_{n6}-AA₂₀-Cys-
 AA₂₂-(AA₂₃)_{n7}-Ser-AA₂₅-Lys-Tyr-AA₂₈-(AA₂₉)_{n8}-AA₃₀-Cys-AA₃₂-Lys-
 Thr-Cys-AA₃₆-AA₃₇-Cys (VI)

5

dans laquelle :

- n₁ à n₈, indépendamment les uns des autres, représentent zéro ou 1,
- AA₂, AA₂, AA₄, AA₆ à AA₁₁, AA₂₂, AA₂₃, AA₂₅, AA₂₈ à AA₃₀, AA₃₂, AA₃₆ et AA₃₇, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

10

11. Utilisation selon la revendication 10, des composés peptidiques suivants :

- la BgK correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 11,
- la ShK correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 12,
- la kaliseptine correspondant à la séquence en acides aminés SEQ ID NO 13.

15

12. Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend un ou plusieurs composés peptidiques définis dans l'une des revendications 1 à 13, en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

20

13. Dérivés de la KTX, répondant à la formule (IV) suivante:

25 [(Gly)_{na}-Val-AA₃-Ile-AA₅]_{nb}-Val-AA₇-Cys-AA₉-AA₁₀-Ser-AA₁₂-AA₁₃-Cys-AA₁₅-AA₁₆-AA₁₇-Cys-Lys-Asp-Ala-(AA₂₂)_{n1}-Gly-AA₂₄-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-AA₃₁-Asn-AA₃₃-Lys-Cys-AA₃₆-Cys-Thr-Pro-Lys (IV)

25

dans laquelle :

- na, nb, et n₁, indépendamment les uns des autres, représentent 0 ou 1,
- AA₃, AA₅, AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₂, AA₁₃, AA₁₅, AA₁₆, AA₁₇, AA₂₂, AA₂₄, AA₃₁, AA₃₃, et AA₃₆, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

30

sous réserve que lorsque n₁ = 0, alors :

- nb = 0,
- ou AA₂ représente une glycine, AA₅ représente une proline, AA₇ représente une sérine, AA₉ représente une lysine, AA₁₀ représente une histidine, AA₁₂ représente une glycine, et AA₁₆ représente une isoleucine.

35

25

- et/ou l'un au moins de AA₁₂ ou de AA₁₇ représente l'acide aminobutyrique (Abu),

- et/ou, l'un au moins de AA₂₄ ou de AA₃₁ représente un résidu norleucine.

5

14. Dérivés de la KTX selon la revendication 13, de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, et :

- $n_a = 0$, $n_b = 1$, AA₂ représente une glycine, AA₅ représente une proline, AA₇ représente une sérine, AA₉ représente une lysine, AA₁₀ représente une histidine, AA₁₂ représente une glycine, et AA₁₆ représente une isoleucine, notamment la kaliotoxine 3 représentée par SEQ ID NO 4,

10

- ou $n_b = 0$, notamment la KTX(6-37) représentée par SEQ ID NO 6.

15

15. Dérivés de la KTX selon la revendication 13, de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$ ou 1, et :

- l'un au moins de AA₁₂ ou de AA₁₇ représente l'acide aminobutyrique (Abu), notamment les composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, $n_a = n_b = 1$, AA₁₂ et AA₁₇ représentent l'acide aminobutyrique (Abu), tel que le dérivé (P12/Abu, P17/Abu)KTX représenté par SEQ ID NO 7,

20

- et/ou, l'un au moins de AA₂₄ ou de AA₃₁ représente un résidu norleucine, notamment les composés de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 0$, $n_a = n_b = 0$, AA₁₂ et AA₁₇ représentent l'acide aminobutyrique (Abu), AA₂₄ et AA₃₁ représentent un résidu norleucine, tel que la Kaline représentée par SEQ ID NO 8, ou les dérivés de la KTX de formule (V) suivante :

25

AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-AA₇-Cys-AA₉-AA₁₀-Ser-Abu-Gln-Cys-AA₁₅-Lys-Abu-Cys-Lys-Asp-Ala-Gly-Nle-Arg-Phe-Gly-Lys-Cys-Nle-Asn-AA₃₃-Lys-Cys-AA₃₆-Cys-AA₃₈-AA₃₉-AA₄₀ (V)

30

dans laquelle AA₁ à AA₇, AA₉, AA₁₀, AA₁₅, AA₃₃, AA₃₆, et AA₃₈ à AA₄₀, indépendamment les uns des autres, représentent un acide aminé quelconque naturel ou non.

35

16. dérivés de la KTX selon la revendication 13, de formule (IV) dans laquelle $n_1 = 1$, notamment les composés suivants pour lesquels $n_a = n_b = 1$, tels que :

- le dérivé de KTX à hélice α modifiée représenté par la séquence SEQ ID NO 9,

- le dérivé (P12/K, P17/V, F22)KTX représenté par SEQ ID NO 10.