

(86) Date de dépôt PCT/PCT Filing Date: 2015/07/28
(87) Date publication PCT/PCT Publication Date: 2016/02/04
(45) Date de délivrance/Issue Date: 2021/06/08
(85) Entrée phase nationale/National Entry: 2017/01/24
(86) N° demande PCT/PCT Application No.: FR 2015/000164
(87) N° publication PCT/PCT Publication No.: 2016/016518
(30) Priorité/Priority: 2014/07/30 (FR14 01755)

(51) Cl.Int./Int.Cl. *A61K 31/575* (2006.01),
A61K 31/58 (2006.01), *A61P 27/16* (2006.01)

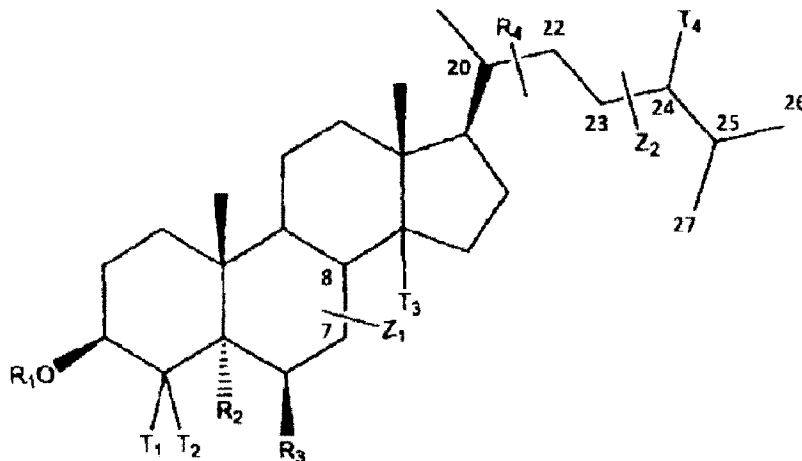
(72) Inventeurs/Inventors:
DE MEDINA, PHILIPPE, FR;
PAILLASSE, MICHAEL, FR;
ULFENDAHL, MATS, SE

(73) Propriétaire/Owner:
DENDROGENIX, BE

(74) Agent: LAVERY, DE BILLY, LLP

(54) Titre : UTILISATION DE DERIVES DE STEROLS POUR LE TRAITEMENT DE LA PERTE AUDITIVE NEUROSENSORIELLE ET COMPOSITION CORRESPONDANTE

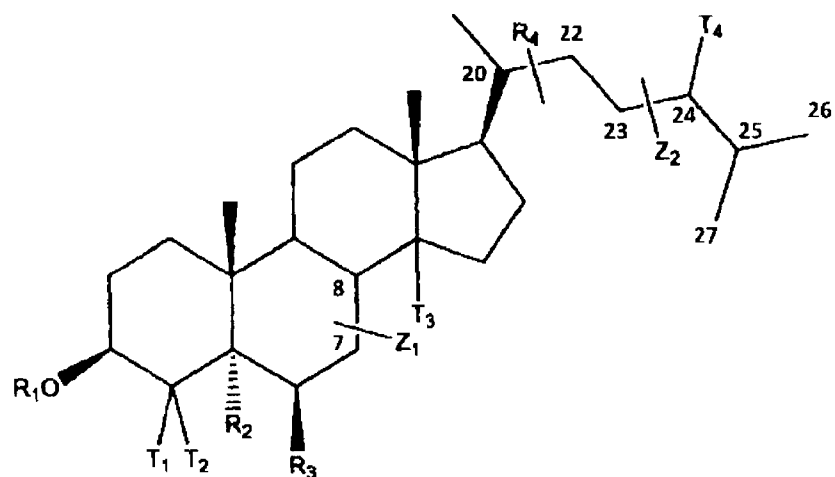
(54) Title: USE OF STEROL DERIVATIVES FOR THE TREATMENT OF SENSORINEURAL HEARING LOSS AND CORRESPONDING COMPOUND



(57) **Abrégé/Abstract:**
(voir formule haut)

L'invention concerne une composition pour prévenir une perte d'audition chez un sujet ou pour restaurer au moins partiellement l'audition d'un sujet ayant une fonction auditive réduite. La composition comporte au moins un composé stérol induisant une différenciation neuronale ; on met en contact cette composition avec au moins une partie de la cochlée.

ABREGE



L'invention concerne une composition pour prévenir une perte d'audition chez un sujet ou pour restaurer au moins partiellement l'audition d'un sujet ayant une fonction auditive réduite. La composition comporte au moins un composé stérol induisant une différenciation neuronale ; on met en contact cette composition avec au moins une partie de la cochlée.

Utilisation de dérivés de stérols pour le traitement de
la perte auditive neurosensorielle et composition
correspondante.

La présente invention concerne la prise en charge de
5 la perte auditive. Plus précisément, la présente invention
concerne l'utilisation d'une molécule de formule I ou un sel
pharmaceutiquement acceptable d'un tel composé ; la composition
selon l'invention est administrée à un sujet pour éviter sa perte
auditive ou restaurer son audition.

10 La perte auditive est une affection commune, qui touche
plus de 360 millions de personnes dans le monde pour
l'Organisation Mondiale de la Santé (2012). La perte auditive
prise en compte par l'Organisation Mondiale de la Santé, est une
perte supérieure à 25 dB. Cette pathologie a d'importantes
15 conséquences néfastes, aussi bien économiques qu'émotionnelles
pour les personnes atteintes et pour la société (de Graaf et
al., Psychosom Med 64, 61-70), (Fellinger et al., Acta Psychiatr
Scand 115,243-5), (Fellinger et al., Soc Psychiatry Psychiatr
Epidemiol 40, 737-42), (Mohr et al., Policy Anal Brief H Ser 2,
20 1-4). De nombreux facteurs, tels que l'âge (50% des humains de
plus de 65 ans, 80% des plus de 75 ans sont touchés), les
traumatismes sonores, physiques ou émotionnels ou encore des
facteurs génétiques peuvent être à l'origine de la dysfonction
ou la perte des cellules ciliées puis la dégénérescence du nerf
25 auditif menant à la perte auditive.

On sait que, dans un organe auditif non lésé, le son
est transmis à des cellules spécialisées du cerveau par la
vibration du tympan, qui transmet l'information mécaniquement à
l'oreille interne. Dans l'oreille interne, on trouve des cellules
30 ciliées (ci-après dites HC), qui transforment lesdits signaux
mécaniques en signaux électriques, lesquels génèrent une
information électrique transmise au cerveau par les neurones
d'un ganglion spiral (ci-après dits SGN). Les cellules ciliées
sont portées par un organe en colimaçon appelé la « cochlée » ;
35 la cochlée comporte deux chambres spiralées disposées côte à

côte et remplies de liquides, périlymphe pour l'une et endolymphe pour l'autre ; entre ces deux chambres sont logées les cellules ciliées.

Une perte auditive neurosensorielle moyenne ou sévère
5 peut être due à au moins trois types de dysfonctionnements.
D'une part, la dysfonction ou la perte partielle des cellules sensorielles HC, d'autre part, la dégénérescence des axones des neurones du ganglion spiral (dites ci-après en abrégé SGN), qui transmettent au cerveau le signal des cellules HC (neuropathie
10 auditive) et enfin, la déstructuration des connexions synaptiques entre les cellules HC et les neurones SGN (synaptopathie auditive). Ces différents mécanismes menant à la perte auditive, sont schématisés sur la figure 1, qui sera détaillée plus loin dans la présente description.

15 En cas de perte des cellules ciliées, le signal peut être transduit par un implant cochléaire, dont les électrodes remplacent les cellules HC ; chez l'homme, dans un tel cas, les SGN dégènèrent, perdant notamment leurs axones pointant vers les cellules HC, mais ils ne meurent pas. La clé du maintien ou
20 de la récupération de l'audition, réside donc dans la repousse axonale, qui permet de reconstituer les connexions entre les SGN et les transducteurs récepteurs du signal sonore, qu'il s'agisse de cellules HC ou d'un implant cochléaire.

Pour la surdité liée à la perte des cellules HC, les
25 implants cochléaires seuls améliorent l'audition, mais leur efficacité est directement impactée par l'intégrité des SGN, dont ils n'empêchent pas la dégénérescence ; ainsi la recroissance axonale permettant de diminuer la distance entre les terminaisons nerveuses et les électrodes, constitue une
30 approche d'intérêt pour améliorer l'efficacité des implants cochléaires (Shibata et al., Hear Res 281, 56-64). Pour toute autre forme, il n'y a pas, à ce jour, de solution palliative ni curative satisfaisante. Les facteurs neurotrophiques, seules molécules ayant montré un effet bénéfique sur la survie
35 neuronale et la recroissance axonale, ne peuvent pas être utilisés pour cause d'effets secondaires tels que la perte de

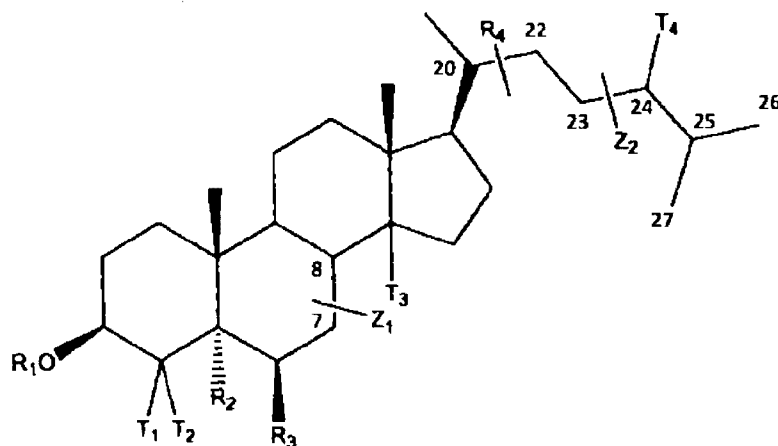
poids (Winkler et al., Ann Neurol 41, 82-93), une migration cellulaire incontrôlée (Williams, Exp Neurol 113, 31-7) et le risque de cancer lié à la prolifération anormale des cellules de Schwann (Eriksdotter Jonhagen et al., Dement Geriatr Cogn Disord 9, 246-57). Malgré des recherches intensives, il n'y a pas, à ce jour, de solution satisfaisante pour résoudre les problèmes susmentionnés et une nouvelle approche est donc nécessaire.

On a déjà décrit des nouveaux dérivés de stérols, composés qui induisent la différenciation neuronale de cellules tumorales embryonnaires pluripotentes, la survie de motoneurones en culture et la prolifération et la différenciation de progéniteurs neuronaux adultes (*Synthesis of New Alkylaminooxysterols with Potent Cell Differentiating Activities: Identification of Leads for the Treatment of Cancer and Neurodegenerative Diseases*, de Medina et al. 2009, J Med Chem 52, 7765-77) et (*the novel steroidal alkaloids dendrogenin A and B promote proliferation of adult neural stem cells*, Khalifa et al. 2014, Biochem Biophys Res Commun 446, 681-6). L'homme du métier ne peut évidemment pas en déduire que ces composés ont un intérêt pour des pathologies, qui, comme indiqué ci-dessus, sont liés à un problème de connexion neuronale et non à un problème de nombre de neurones dans la zone traitée. Ainsi, l'homme du métier ne chercherait sûrement pas à utiliser les dérivés de stérols en cause pour reformer les connexions entre d'une part, les neurones SGN et d'autre part, un émetteur de signal constitué par des cellules ciliées au moins partiellement fonctionnelles ou des électrodes d'implants cochléaires.

Or, on a constaté maintenant, selon l'invention, que si l'on utilise ces composés sur un animal de laboratoire rendu sourd par un stress, on obtient un maintien de la transmission de l'information sonore traduite sous forme d'impulsion électrique (par les électrodes d'un implant cochléaire remplaçant les cellules ciliées), l'information étant transmise au travers des SGN vers le cerveau, et ce, sans augmenter le

nombre de SGN dudit animal.

La présente invention a, en conséquence, pour objet une composition pharmaceutique pour prévenir une perte d'audition chez un sujet ou pour obtenir une restauration thérapeutique au moins partielle de l'audition d'un sujet traité ayant, avant traitement, une fonction auditive réduite, par mise en contact de ladite composition avec au moins une partie de la cochlée de l'oreille ayant une fonction auditive réduite, ladite composition étant caractérisée en ce qu'elle contient, dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable, une dose significativement active d'au moins un composé de formule (I) :



formule dans laquelle :

$R_1 = H$ ou $R-CO$, avec $R = H$, CH_3 ou C_2H_5 ;

15 $R_2 = H$ ou OH ;

$R_3 = -NR_5R_6$, R_5 étant H ou $(CH_2)_3NH_2$ et R_6 étant pris dans le groupe forme par $-(CH_2)_4NH_2$; $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2$;

$-(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$;

$-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$; $-(CH_2)_3NH_2$, $-(CH_2)_2$ -imidazol-4-yl et

20 $-(CH_2)_2$ -indol-3-yl ;

$R_4 = H$ ou OH en position 20,22,24,25,26 ou 27, positionné de façon à obtenir un centre asymétrique de configuration R ou S ;

Z_1 et Z_2 sont les nombres de double liaison (soit 0 soit 1)

25 entre les atomes C7 et C8 ou C22 et C23

respectivement ;

T_1, T_2 et $T_3 = H$ ou CH_3 , indépendamment les uns des autres ;

$T_4=H$, CH_3 , ou C_2H_5 , positionné de façon à obtenir un centre asymétrique de configuration R ou S en position 24 et/ou d'au moins un sel pharmaceutiquement acceptable d'au moins un composé de formule (I).

5 Parmi les compositions ci-dessus définies, on a constaté que les résultats obtenus étaient particulièrement intéressants pour les composés des sous-groupes dans lesquels :

a) le (ou les) composé(s) de formule (I), qu'elle contient, est (sont) défini(s) par $Z_1=0$; $R_1=H$; $R_2=OH$;

10 $R_3 = -NHR_6$ où R_6 est $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$ ou $-(CH_2)_2$ -imidazol-4-yl; $T_1 = T_2 = T_3 = H$;

b) le (ou les) composé(s) de formule (I), qu'elle contient, est (sont) défini(s) par $Z_1=0$ ou 1, $R_1 = H$;

$R_2 = OH$; $R_3 = -NHR_6$ ou R_6 est $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH_2$ ou

15 $-(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$; $T_1 = T_2 = T_3 = H$; $R_4 = H$ ou OH en position 22 ou 27 ;

c) le composé de formule (I), qu'elle contient, est défini par $Z_1=0$; $R_1=acétyl$; $R_2=OH$; $R_4=H$; $R_3=NH-(CH_2)_2$ -imidazol-4-yl et $T_1=T_2=T_3=H$.

20 Selon un premier aspect de l'invention, la restauration provoquée par la composition selon l'invention est une amélioration de l'efficacité d'un implant cochléaire préalablement mis en place chez le sujet traité.

25 Selon un autre aspect de l'invention, la restauration obtenue avec la composition selon l'invention, améliore la fonctionnalité des neurones du ganglion spiral chez le sujet traité, avant que l'on ne pratique, sur ledit sujet, au moins une thérapie destinée à stimuler lesdits neurones ou les cellules ciliées internes et externes.

30 Selon un autre aspect de l'invention, la restauration provoquée par la composition selon l'invention bénéficie à un sujet, qui requiert la mise en place d'un implant cochléaire en raison d'une perte auditive due à un traumatisme ou à une maladie, ladite restauration maintenant la fonctionnalité des
35 neurones du ganglion spiral avant l'implantation dudit implant cochléaire.

Selon un autre aspect de l'invention, la composition selon l'invention est utilisée pour rendre un sujet plus apte à bénéficier ultérieurement d'une thérapie visant à restaurer tout ou partie de l'oreille interne, ladite thérapie étant choisie
5 dans le groupe formé par la transplantation de cellules souches, la régénération de cellules ciliées par transdifférenciation de cellules supportrices, par la transfection génique ou par le blocage génique dans toute partie de l'oreille interne.

Selon un autre aspect de l'invention, la composition
10 selon l'invention est administrée par voie orale, intraveineuse, intratympanique, intracochléaire, sur la fenêtrée ronde ou ovale de la cochlée intracrâniale, nasale ou sur le tympan.

Selon un autre aspect de l'invention, la composition selon l'invention est mise en place dans l'oreille interne par
15 une électrode imprégnée de ou badigeonnée par ladite composition, ou par une électrode comportant une canule chargée avec ladite composition ou aussi par une électrode composée partiellement d'un ou plusieurs composés de formule (I).

Selon un autre aspect de l'invention, la restauration
20 obtenue par la composition selon l'invention bénéficie à un sujet dont le traumatisme a été généré par un niveau ototoxique de bruit, des agents ototoxiques tels que des radiations, des antibiotiques, des anti-inflammatoires, des agents de chimiothérapie, des métaux lourds ou l'âge du sujet.

Selon un autre aspect de l'invention, la composition
25 selon l'invention permet une restauration qui bénéficie à un sujet dont la perte auditive a été générée par une maladie prise dans le groupe formé par une otite, le syndrome de Pendred, de Niemann-Pick, de Smith-Lemli-Optiz, de Stickler, d'Alport, de
30 Charge, de Jervell et Lange-Nielsen, de Norrie, d'Usher, de Waardenburg et de Perrault, une neurofibromatose de type 2 ou un syndrome bronchiootoréal.

La présente invention a également pour objet
l'utilisation d'une composition telle que ci-dessus définie pour
35 maintenir et/ou améliorer la qualité des connexions entre les

SGN, d'une part, et les cellules ciliées ou les électrodes d'un implant cochléaire, d'autre part.

La mise en œuvre de l'invention est illustrée par trois exemples auxquels correspond un dessin comportant cinq
5 figures.

La figure 1 est un schéma relatif aux différentes affections de l'oreille interne conduisant aux pertes auditives neurosensorielles auxquelles peut remédier la présente invention, et aux effets cellulaires y relatifs.

10 Cette figure comporte trois cadres : le cadre de gauche présente la liaison synaptique S d'une cellule HC avec un SGN dans le cas d'un sujet sans affection de l'oreille interne. Le cadre du milieu présente l'état des liaisons SGN/HC dans trois cas de dysfonctionnement A, B, C : dans le
15 dysfonctionnement A, le neurone SGN ne reçoit plus d'information de sa synapse S en raison du non fonctionnement de la cellule HC (mise en pointillés) antérieurement reliée à S ; dans le dysfonctionnement B, le SGN ne reçoit plus d'information de sa synapse car cette dernière n'assure plus son rôle de liaison
20 (colonne de gauche) et le SGN dégénère (colonne de droite) ; dans le dysfonctionnement C, le SGN n'a plus de synapse réceptrice opérationnelle (colonne de gauche) et l'émission en provenance de la cellule HC ne peut donc alimenter le SGN qui, dès lors, dégénère (colonne de droite). Le cadre de droite
25 présente le résultat quand on fait agir les produits DA ou DB sur les éléments concernés par les dysfonctionnements A (perte de HC), B (synaptopathie) et C (neuropathies) et les représentations de la colonne de droite montrent les états après traitement et récupération partielle de l'audition (le rectangle
30 D schématise une stimulation électrique du SGN).

La figure 2 est un graphe montrant la courbe d'évolution dans le temps de la réponse auditive électriquement évoquée du tronc cérébral (eABR) lorsque le traitement avec la composition selon l'invention démarre deux jours après le début
35 de l'induction de l'ototoxicité par la néomycine.

La figure 3 est un graphe montrant la courbe d'évolution dans le temps de la réponse auditive électriquement évoquée du tronc cérébral (eABR) lorsque le traitement avec la composition démarre seize jours après le début de l'induction
 5 de l'ototoxicité par la néomycine.

La figure 4 est un diagramme à barres montrant le nombre de neurones du ganglion spiral dans les expériences relatives aux figures 1 et 2 comparativement à ce que l'on obtient avec une oreille n'ayant pas été exposée à la néomycine
 10 (première barre à gauche sur la figure 4) .

La figure 5 est une série de trois photographies de lamelles de la cochlée prise au niveau du milieu du modiolus illustrant la quantification du nombre de neurones du ganglion spiral rapporté à la figure 4 ainsi que la recroissance axonale
 15 occasionnée par les traitements. Sur chaque photographie, on a indiqué la nature du produit utilisé pour le traitement (AP, DB et GDNF).

Sur les figures, les abréviations suivantes ont été utilisées :

20 AP: périlymphe artificielle (acétate de Ringer)
 DA: 6β -[2-(1H-imidazol-4-yl)-éthylamino]-cholestane-
 3β , 5α -diol
 DB: 6β -[3-(4-aminobutylamino)propylamino]-cholestane-
 3β , 5α -diol
 25 eABR : réponse auditive électriquement évoquée du tronc cérébral
 Neo: Néomycine
 GDNF : facteur neurotrophique issu de la glie SGC : cellule du ganglion spinal

Le tableau 1 résume l'impact des molécules utilisées
 30 dans les exemples 1 à 3 sur la densité des SGN et la réponse auditive électriquement évoquée du tronc cérébral eABR).

Ci-après, les termes "connexion" et « connexion synaptique" font référence à une interaction fonctionnelle entre les neurones du ganglion spiral et les cellules ciliées ou les
 35 électrodes d'un implant cochléaire permettant une stimulation appropriée desdits neurones du ganglion spiral.

Le terme « stress » fait référence à une cause de perte de connexion synaptique fonctionnelle et/ou à la perte des projections des neurones du ganglion spiral. Les études des exemples 1 à 3 ont été réalisées sur des cochons d'Inde (250-500g). Tous les animaux sont équipés d'une électrode platine-iridium insérée dans la cochlée afin de mimer un implant cochléaire. Les expériences ont été menées selon le protocole décrit par Raphael et ses collaborateurs (Shinohara et al., 2002, Proc. Nati. Acad. Sci. USA, 99, 1657-60).

10 Exemple 1 : Effet du traitement précoce avec un dérivé de formule (I) sur l'excitabilité des neurones de ganglion spiral SGN

Les animaux sont anesthésiés (10 mg/kg de xylazine et 40 mg/kg de kétamine en intramusculaire) et l'oreille interne est ouverte par voie post-auriculaire. Une canule préremplie contenant 24 µl de sulfate de néomycine 10% a été connectée à une mini-pompe osmotique (ALZET 2002, DURECT Corp., CA, USA) ayant un débit de 0.5 µl/heure. La canule pénètre dans la cochlée à proximité de la fenêtre ronde afin d'atteindre la *scala tympani*. Après 48 heures, la canule a été remplie soit avec une solution de 6β-[2-(1*H*-imidazol-4-yl)-éthylamino]-cholestane-3β, 5α-diol (1µM), soit avec une solution de 6β-[3-(4-aminobutylamino)propylamino]-cholestane-3β,5α-diol (1µM), soit avec GDNF (1µg/ml), soit avec de la périlymphe artificielle qui sert de contrôle. Après deux semaines, la pompe est retirée et remplacée par une nouvelle pompe identique préremplie de façon similaire. Après deux nouvelles semaines, la pompe est retirée et la canule scellée pour deux semaines supplémentaires. Cette technique est décrite en détail à la page 1658 de la publication Shinohara ci-dessus identifiée.

Les mesures des seuils de réponse auditive électriquement évoquée du tronc cérébral (eABR) sont réalisées à l'aide d'une électrode iridium-platine (Pt-Ir 90%-10%, 250 µm de diamètre) insérée de 1,5mm dans la cochlée (*scala tympani*) via la fenêtre ronde au moment de la mise en place de la pompe, une électrode de retour (Pt-Ir, 125 µm de diamètre), étant

placée contre l'os occipital, sous les muscles de la nuque. La mesure des seuils d'eABR tout au long de l'expérience n'a pas montré de différence significative entre les groupes jusqu'à la deuxième semaine. A partir de là, il y a une diminution
 5 significative des seuils d'eABR entre les groupes traités et le groupe contrôle ($p < 0,05$ à deux semaines et $p < 0,001$ au-delà de la quatrième semaine), comme montré sur la figure 2. A partir de la sixième semaine, aucune eABR ne peut être obtenue chez les animaux du groupe contrôle. Il n'y a pas de stimulation
 10 possible d'eABR sur des animaux placés dans les mêmes conditions que ci-dessus défini, mais non traités par les produits DA ou DB.

Exemple 2 : Effet d'un traitement retardé réalisé avec les dérivés DA ou DB utilisés dans l'exemple 1 sur
 15 l'excitabilité des neurones de ganglion spiral

La procédure utilisée est la même que dans l'exemple 1, à cette différence près que, suite à l'infusion de sulfate de néomycine, les pompes sont remplies de périlymphe artificielle pendant deux semaines. Lors du remplacement, les pompes sont
 20 remplacées par des pompes identiques contenant soit une solution de 6β -[2-(1H-imidazol-4-yl)-éthylamino]-cholestane- $3\beta,5\alpha$ -diol (1 μ M), soit une solution de 6β -[3-(4-aminobutylamino)propylamino]-cholestane- $3\beta,5\alpha$ -diol (1 μ M), soit du GDNF (1 μ g/ml), soit de la périlymphe artificielle, qui sert de contrôle. Ces
 25 pompes sont remplacées après deux semaines par des pompes identiques préremplies avec les mêmes solutions pour deux semaines supplémentaires.

La mesure des seuils de réponse auditive t évoquée du tronc cérébral (eABR) tout au long de l'expérience a montré des
 30 différences significatives entre les groupes traités et le groupe contrôle jusqu'à la quatrième semaine. A partir de la cinquième semaine, il n'y a plus de différence significative entre le groupe traité avec 6β -[2-(1H-imidazol-4-yl)-éthylamino]-cholestane- $3\beta,5\alpha$ -diol et le groupe contrôle, alors
 35 qu'il y a une différence significative entre le groupe traité avec le 6β -[3-(4-aminobutylamino)propylamino]-cholestane-

3 β ,5 α -diol et le groupe contrôle ($p < 0,001$) comme montré sur la figure 3. Il n'y a pas de stimulation possible d'eABR sur des animaux placés dans les mêmes conditions que ci-dessus défini, mais non traités par les produits DA ou DB.

5 Exemple 3 : Quantification de la densité des SGN dans le canal de Rosenthal

Après la mesure finale du seuil d'eABR, les animaux sont profondément anesthésiés, en intrapéritonal, avec du pentobarbital de sodium (25 mg/kg) et perfusés par voie
10 intracardiaque par une solution saline (37°C), ce qui élimine le sang, puis par une solution de glutaraldéhyde froid (2,5% dans du tampon phosphate 0,1M), ce qui fixe les tissus. L'os temporal est retiré puis la *bull*a ouverte pour dévoiler la
15 cochlée et la membrane de la fenêtre ronde afin de pouvoir laver délicatement la cochlée avec la solution de glutaraldéhyde. La cochlée est ensuite décalcifiée dans une solution d'EDTA (0,1M dans du tampon phosphate) pour permettre d'effectuer des coupes.
20 Après décalcification, la cochlée est déshydratée et incluse dans du « plastic JB-4 » (Polyscience Inc, Warrington, PA). La cochlée est sectionnée en lamelles de 4 μ m d'épaisseur. Au milieu du *modiolus*, qui est caractérisé par une lamelle, dans laquelle on peut distinguer six sections du canal de Rosenthal, une lamelle sur trois est conservée pour analyse (ce qui évite de
25 compter plusieurs fois les mêmes neurones du ganglion spiral). Les lamelles sont montées sur lames avec du « Paragon », colorées avec du bleu de toluidine et préparées pour la microscopie. Les six sections du canal de Rosenthal de six lamelles sont analysées pour chaque groupe d'animaux (Sigma Pro Scan) pour
30 dénombrer les neurones du ganglion spiral. Les critères retenus pour un SGN sont un diamètre cellulaire entre 14 et 20 μ m avec un noyau d'un diamètre de 7 à 10 μ m. La densité moyenne de SGN est ainsi calculée et présentée à la figure 4 ; les coupes du canal de Rosenthal sont montrées à la figure 5.

35 Pour l'exemple 1, seul le traitement avec le GDNF induit une différence significative du nombre de SGN

comparativement au groupe contrôle traité avec la périlymphe artificielle ($P < 0,001$). Pour l'exemple 2, on voit qu'aucun traitement retardé n'induit de différence significative comparativement au groupe contrôle.

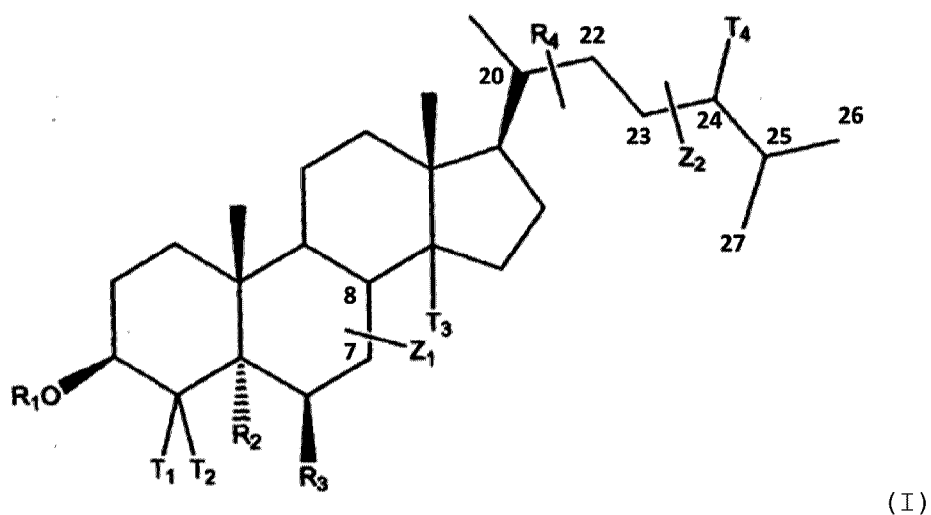
5 L'analyse histologique révèle cependant (voir figure 5), pour les animaux traités par DB, que les axones des SGN apparaissent épais et longs alors qu'ils ne sont pas distinguables pour les animaux traités par l'AP. Ceci explique l'efficacité de la DB car la résistance électrique du neurone
10 est d'autant plus faible que la taille de l'axone est grande (réduisant la distance entre le transducteur du signal et le neurone).

R1	R2	R6	Z1	R4	Protection : 100%-(seuil traité J42 – seuil traité J0)/(seuil contrôle J42 – seuil traité J0)		Densité SGN (/10000 μ m ²)
					Ex 1	Ex 2	
H	OH	-(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	1	H	101 ± 7	79 ± 12	2.6 ± 0.3
H	OH	-(CH ₂) ₂ -imidazol-4-yl	0	H	96 ± 5	16 ± 4	2.6 ± 0.2
Ac	OH	-(CH ₂) ₂ -imidazol-4-yl	0	H	95 ± 6	18 ± 7	2.7 ± 0.4
H	OH	-(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	0	22-OH	101 ± 4	75 ± 13	2.5 ± 0.6
H	OH	-(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	0	27-OH	100 ± 8	74 ± 10	2.4 ± 0.7
H	OH	-(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	0	H	101 ± 6	74 ± 7	2.8 ± 0.4
H	OH	-(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	0	H	102 ± 9	78 ± 8	2.7 ± 0.5

Tableau 1

REVENDEICATIONS

1) Utilisation d'une composition pour traiter l'audition d'un sujet, ladite composition étant destinée à être mise en contact avec au moins une partie de la cochlée de l'oreille d'un sujet, ladite composition étant caractérisée en ce qu'elle contient, dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable, au moins un composé de formule (I) :



formule dans laquelle :

$R_1 = \text{H}$ ou R-CO avec $\text{R} = \text{H}$, CH_3 ou C_2H_5 ;

$R_2 = \text{H}$ ou OH ;

$R_3 = -\text{NR}_5\text{R}_6$, R_5 étant H ou $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$, et

R_6 étant pris dans le groupe formé par $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$,

$-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$;

$-(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$; $-(\text{CH}_2)_2\text{-imidazol-4-yl}$
et

$-(\text{CH}_2)_2\text{-indol-3-yl}$;

$R_4 = H$ ou OH en position 20, 22, 24, 25, 26 ou 27, positionné de façon à créer un centre asymétrique de configuration R ou S;

Z_1 et Z_2 représentent chacun le nombre de double liaison entre les atomes de carbone C7 et C8 et C22 et C23 respectivement (soit 0 soit 1) ;

T_1 , T_2 et $T_3 = H$ ou CH_3 indépendamment les uns des autres;

$T_4 = H$, CH_3 ou C_2H_5 positionné de façon à obtenir un centre asymétrique de configuration R ou S en position 24 ;

et/ou d'au moins un sel pharmaceutiquement acceptable d'au moins un composé de formule (I).

2) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le (ou les) composé (s) de formule (I), qu'elle contient, est (sont) défini (s) par :

$$Z_1=0,$$

$$R_1 = H ;$$

$$R_2 = OH ;$$

$R_3 = NHR_6$ où R_6 est $-(CH_2)_3NH(CH_2)_4NH(CH_2)_3NH_2$ ou $-(CH_2)_2$ -imidazol-4yl, et

$$T_1 = T_2 = T_3 = H.$$

3) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le (ou les) composé(s) de formule (I), qu'elle contient, est (sont) défini (s) par :

$$Z_1 = 0 \text{ ou } 1 ;$$

$$R_1 = H ;$$

$R_2 = \text{OH} ;$

$R_3 = \quad \quad \quad -\text{NHR}_6$ où R_6 est $\quad \quad \quad -(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ ou $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2 ;$

$T_1 = T_2 = T_3 = \text{H} ;$ et

$R_4 = \text{H}$ ou OH en position 22 ou 27.

4) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé de formule (I), est défini par $Z_1=0 ; R_1=\text{acétyl} ; R_2=\text{OH} ; R_4=\text{H} ; R_3=\text{NH}-(\text{CH}_2)_2\text{-imidazol-4-yl}$ et $T_1=T_2=T_3=\text{H}$.

5) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour améliorer la transmission du signal auditif vers le cerveau depuis le transducteur du signal.

6) Utilisation selon la revendication 5, pour améliorer l'efficacité d'un implant cochléaire porté par le sujet.

7) Utilisation selon la revendication 5, pour améliorer la fonctionnalité des neurones du ganglion spiral chez le sujet avant au moins une thérapie destinée à stimuler le nombre et/ou la fonctionnalité desdits neurones ou cellules ciliées internes et externes.

8) Utilisation selon la revendication 5, pour maintenir la fonctionnalité des neurones du ganglion spiral avant l'implantation d'un implant cochléaire chez le sujet en raison d'une perte auditive due à un traumatisme ou une maladie.

9) Utilisation selon la revendication 5, pour augmenter le bénéfice que le sujet tirera ultérieurement d'une thérapie visant à restaurer tout ou partie de son oreille interne, ladite thérapie appartenant au groupe formé par la transplantation de cellules souches, la régénération de cellules ciliées par

transdifférenciation de cellules supportrices, la transfection génique et le blocage génique dans tout ou partie de l'oreille interne.

10) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle ladite composition est destinée à être utilisée par voie orale, intraveineuse, intratympanique, intracochléaire, intracrâniale ou nasale, ou sur la fenêtre ronde ou ovale de la cochlée ou sur le tympan pour mettre en contact la composition avec ladite au moins une partie de la cochlée de l'oreille du sujet.

11) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle une électrode imprégnée de ou badigeonnée avec ladite composition, une électrode comportant une canule chargée avec ladite composition, ou une électrode composée partiellement d'un ou plusieurs composés de ladite composition est destinée à être utilisée pour mettre en place la composition dans l'oreille interne du sujet afin de mettre en contact la composition avec ladite au moins une partie de la cochlée de l'oreille du sujet.

12) Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le sujet est un sujet dont un traumatisme a été généré par un niveau ototoxique de bruit, des agents ototoxiques, des radiations, des antibiotiques, des anti-inflammatoires, des agents de chimiothérapie, des métaux lourds, ou le vieillissement du sujet.

13) Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le sujet est un sujet dont une perte auditive a été générée par une maladie prise dans le groupe formé par une otite, le syndrome de Pendred, de Niemann-Pick, de Smith-Lemli-Opitz, de Stickler, de Charge, de Jervell et Lange-Nielsen, de Norrie, d'Usher, de Waardenburg ou de Perrault, une neurofibromatose de type 2 et un syndrome bronchio-otoréal.

14) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, pour maintenir et/ou améliorer la qualité des connexions entre les SGN, d'une part, et les cellules ciliées ou les électrodes cochléaires, d'autre part.

15) Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, dans laquelle le sujet a une fonction auditive réduite et l'utilisation entraîne une restauration au moins partielle de la fonction auditive du sujet.

1/3

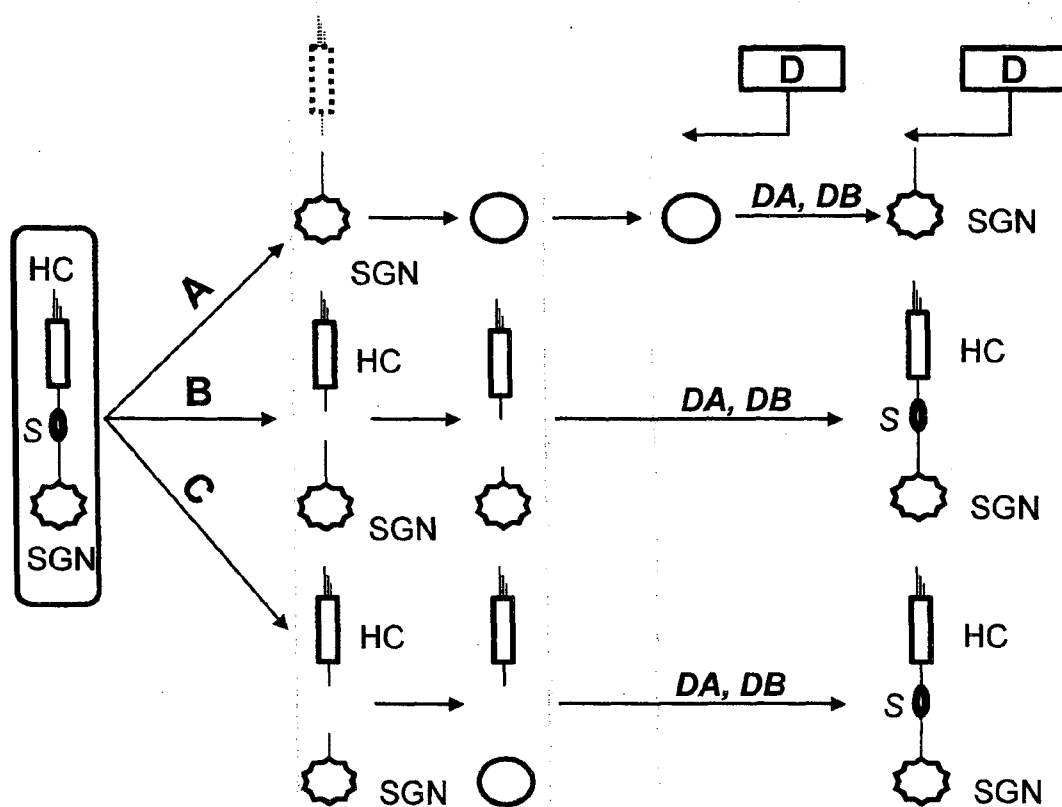


Figure 1

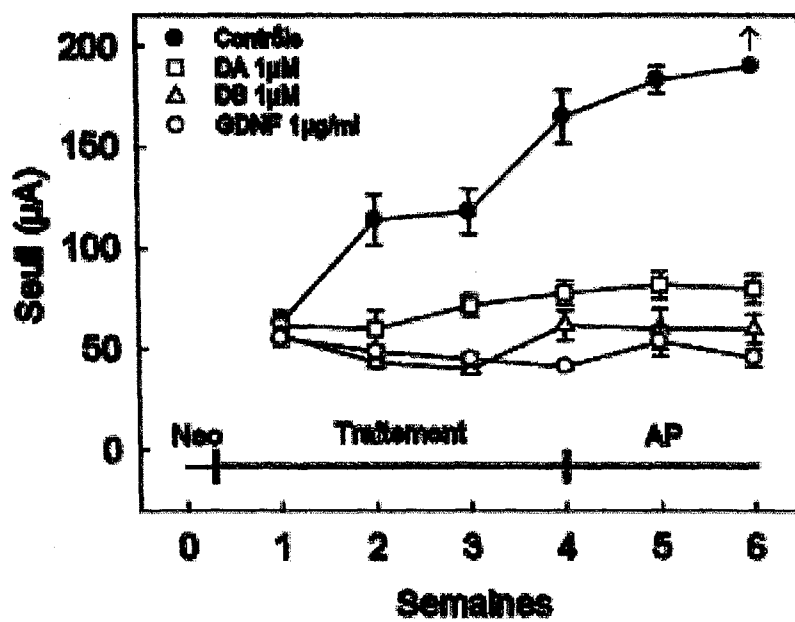


Figure 2

2/3

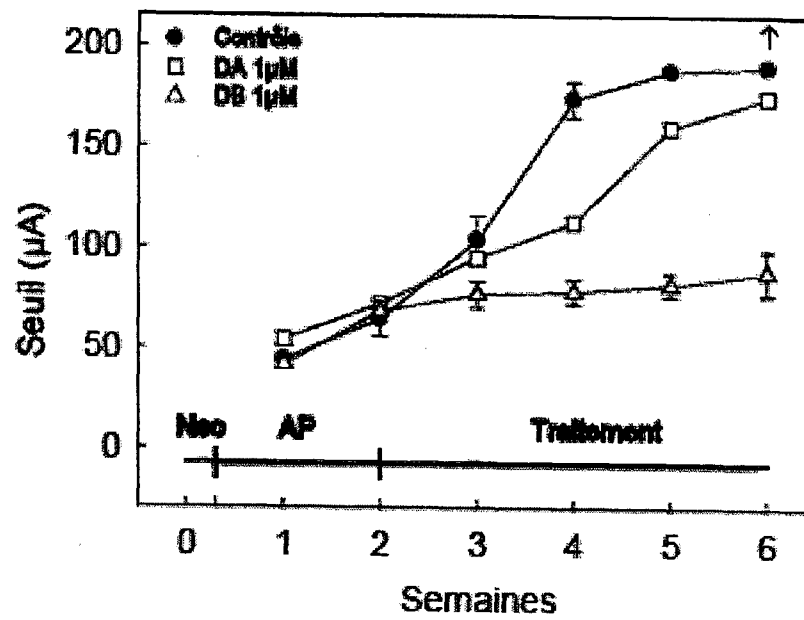


Figure 3

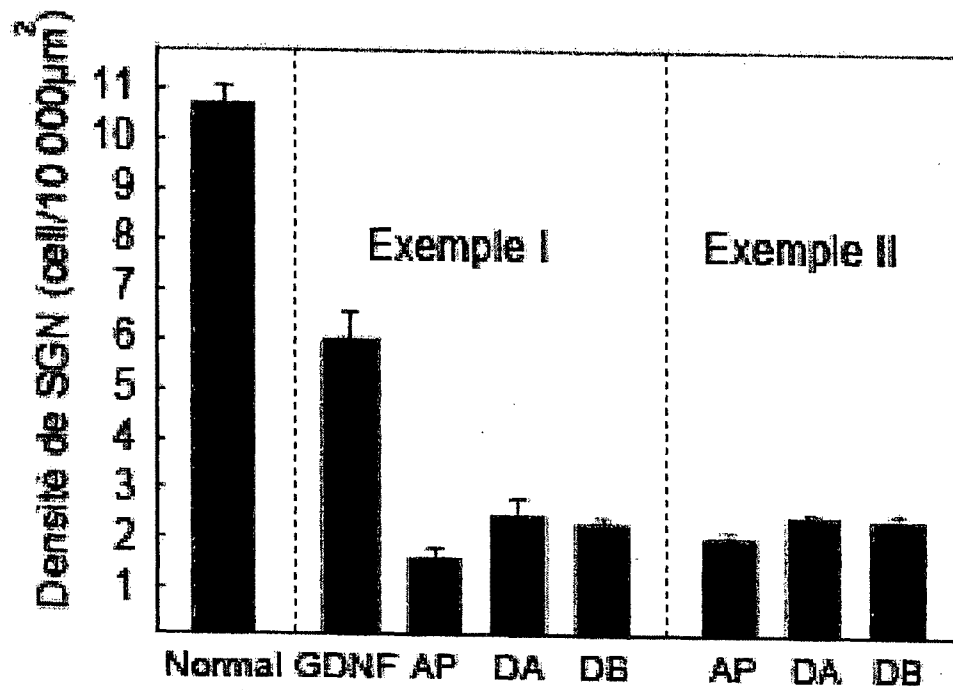


Figure 4

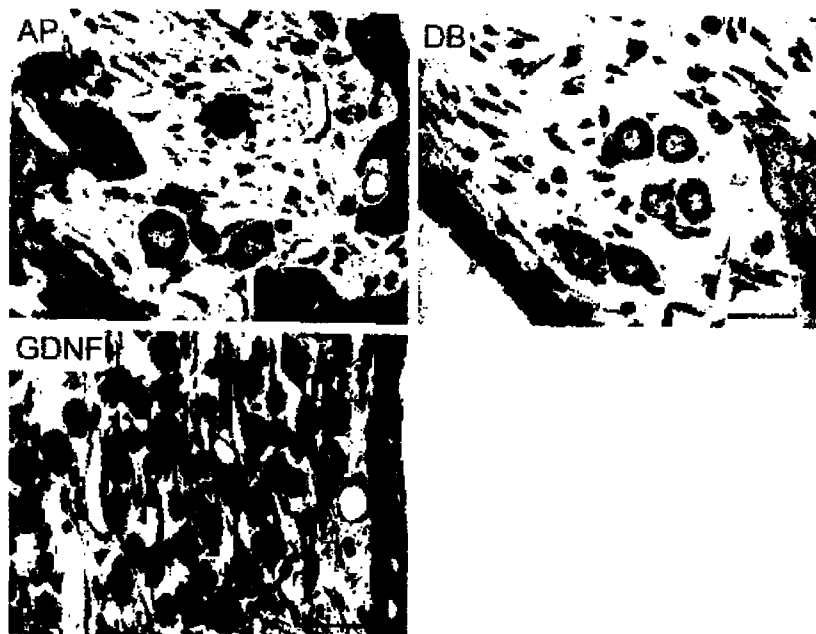


Figure 5

