

ANNEE 2004

N°

**THESE**  
  
**pour le**  
  
**DIPLÔME D'ETAT**  
  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
  
**par**  
  
**Yves-Marie LETOURNEUX**

*Présentée et soutenue publiquement le : 2 novembre 2004*

**Les mollusques du genre *Conus*  
et les applications thérapeutiques  
de leurs venins**

**Président :** Mr Patrice LE PAPE, Professeur de Parasitologie

**Membres du Jury :** Mme Anne ALLIOT, Maître de Conférence de Parasitologie  
Mlle Sophie ROZAN, Pharmacien

LETOURNEUX YVES-MARIE 2004  
LES MOLLUSQUES DU GENRE CONUS ET LES APPLICATIONS  
THERAPEUTIQUES DE LEUR VENIN

**SOMMAIRE**

<b>SOMMAIRE .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>4</b>
<b>I- LES CONES.....</b>	<b>5</b>
1. Caractéristiques générales des cônes .....	5
1.1. <i>Classification.....</i>	5
1.2. <i>Biotope, répartition.....</i>	6
1.3. <i>Morphologie.....</i>	7
1.4. <i>Reproduction.....</i>	8
1.5. <i>Régime alimentaire.....</i>	8
2. Description de l'appareil venimeux .....	11
2.1. <i>La glande musculaire.....</i>	11
2.2. <i>Le conduit à venin.....</i>	11
2.3. <i>Le sac radulaire et les dents.....</i>	12
2.4. <i>Le proboscis.....</i>	14
3. Envenimation par les cônes.....	17
3.1. <i>Détection et envenimation d'une proie.....</i>	17
3.1.1. <i>La détection de la proie.....</i>	17
3.1.2. <i>Les stratégies d'envenimation.....</i>	18

3.2. <i>Envenimation chez l'homme</i> .....	23
3.2.1. Espèces dangereuses .....	23
3.2.2. Symptômes .....	26
3.2.3. Traitements .....	27
3.2.4. Prévention.....	28

## **II- LE VENIN DES CONES..... 30**

1. Récupération du venin des cônes .....	30
2. Les composants du venin .....	32
2.1. <i>Les conopeptides</i> .....	34
2.1.1. Les conotoxines.....	34
2.1.2. Les conantokines.....	36
2.1.3. Les conopressines G et S .....	36
2.1.4. La contulakine G .....	37
2.1.5. Les contryphanes.....	37
2.1.6. Autres peptides.....	37
2.2. <i>Les protéines</i> .....	37
2.3. <i>Les molécules organiques</i> .....	38
3. Les conotoxines.....	39
3.1. <i>Structure et nomenclature des conotoxines</i> .....	39
3.2. <i>Diversité des conotoxines</i> .....	41
3.3. <i>Activités pharmacologiques des familles de conotoxines</i> .....	43
3.3.1. Familles ciblant des récepteurs canaux.....	46
3.3.2. Familles ciblant des canaux ioniques sensibles au potentiel ...	48
3.3.3. Autre famille .....	52
3.4. <i>Effets des combinaisons de conotoxines</i> .....	52
3.4.1. Pêche au harpon et paralysie rigide.....	52
3.4.2. Pêche au harpon et paralysie flasque .....	53

3.4.3. La pêche au filet.....	54
<b>III- APPLICATIONS THERAPEUTIQUES.....</b>	<b>55</b>
1. Prialt™, Ziconotide ( $\omega$ -conotoxine MVIIA) .....	56
2. CGX-1007 (conantokine G).....	59
3. CGX-1160 (contulakine G).....	60
4. ACV1 ( $\alpha$ -Conotoxine Vc1.1).....	61
5. Xen2174 ( $\chi$ -conotoxine MrIA) .....	63
6. AM336 ( $\omega$ -conotoxine CVID).....	64
7. CGX-1051 ( $\kappa$ -conotoxine PVIIA) .....	64
8. $\omega$ -conotoxine GVIA .....	65
9. $\alpha$ -conotoxine ImI.....	66
10. Autres perspectives .....	67
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>69</b>
<b>INDEX DES FIGURES .....</b>	<b>70</b>
<b>INDEX DES TABLEAUX.....</b>	<b>71</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>72</b>
<b>DOCUMENTS EN LIGNE .....</b>	<b>80</b>

## INTRODUCTION

La famille des *Conidae* passionne depuis toujours les collectionneurs. Selon le naturaliste Lamarck, « le genre cône est le plus beau, le plus étendu et l'un des plus considérables de la classe des univalves. C'est celui qui renferme les coquilles les plus précieuses et en même temps les plus remarquables, soit par la régularité de leurs formes, soit par l'éclat et l'admirable variété de plusieurs d'entre elles. Aussi sont-elles très recherchées des amateurs » (26). C'est ainsi qu'en 1796, lors de la «vente Lyonet» où était proposée une œuvre du peintre Vermeer «La femme en bleu lisant une lettre», un spécimen de *Conus cedonulli* fut vendu plus de 6 fois plus cher que la peinture (38) (39).

Depuis une trentaine d'années, les cônes passionnent les scientifiques pour une autre raison : leur venin. Les toxines contenues dans ces venins, nommées conotoxines, perturbent le fonctionnement du système nerveux ou des muscles. Les cônes utilisent une panoplie de conotoxines qui agissent en synergie afin de paralyser leurs proies. Leur spécificité d'action physiologique fait de ces toxines des agents potentiellement utilisables dans le traitement de pathologies très diverses.

# I- LES CONES

## 1. Caractéristiques générales des cônes

### 1.1. Classification (46)

embranchement : *Mollusca*

classe : *Gastropoda*

sous-classe : *Prosobranchia*

ordre : *Néogastropoda* (ou *Caenogastropoda*)

super famille : *Conoidea* (ou *Conacea* ou *Toxoglossa*)

famille : *Conidae*

genre : *Conus*



**Figure 1** : Photographie de quatre variétés de cônes. De gauche à droite : *C. textile*, *C. litteratus*, *C. marmoreus*, *C. geographus*. (collection de Mme A. ALLIOT )

## **1.2. Biotope, répartition**

Les premiers cônes sont apparus au début de l'Éocène, il y a un peu moins de 60 millions d'années. Au Lutécien (il y a 40 à 50 millions d'années), la famille commence à se développer, et les espèces fossiles de cette période abondent dans le Bassin parisien et en Normandie. Les premiers cônes piscivores, qui se nourrissent essentiellement de poissons, apparaissent peut-être au cours du Miocène (5 à 23 millions d'années). Aujourd'hui, la famille des *Conidae* compte plus de 700 espèces, vivant principalement dans les eaux peu profondes (température comprise entre 22 et 29°C) de la région Indo-Pacifique, souvent associées aux récifs coralliens **(24)**. Les cônes sont également présents dans l'Atlantique tropical et le long des côtes africaines de l'Atlantique. Certains cônes ont été récoltés à plusieurs centaines de mètres dans la région néo-Calédonienne, lors de campagnes menées par le Muséum national d'histoire naturelle et l'Institut pour la Recherche et le Développement. Les cônes qui vivent en eau peu profonde fréquentent tantôt le substrat corallien mort, tantôt les accumulations détritiques grossières ou les cuvettes sableuses. **(26)**

De nouvelles espèces sont découvertes chaque année par l'exploration approfondie de nombreuses zones marines, en particulier dans les zones de profondeurs supérieures à 100 mètres. **(13)**

### 1.3. Morphologie

La taille des cônes varie entre 1 et 20 cm, pouvant atteindre 30 cm chez *Conus prometheus* d'Afrique Occidentale, mais est le plus souvent comprise entre 5 et 10 cm.

La coquille conique, bi-conique, cylindro-conique, cylindrique ou bulbeuse est formée de 5 à 8 tours de spires calcaires à enroulement dextre autour d'un axe central, la columelle. L'ouverture de la coquille, ou péristome, est étroite et longue. Le graphisme et la coloration qui ornent la coquille sont d'une diversité extraordinaire et constituent des caractères très importants pour la détermination spécifique des cônes (46). Cette beauté, qui a toujours attiré les collectionneurs de coquillages, est en général obscurcie chez l'animal vivant, par une formation fibreuse plus ou moins épaisse, le périostracum. Celui-ci est présent chez les espèces qui vivent sur les rochers ou qui ne s'enfouissent pas dans le sable, afin de leur procurer une sorte de camouflage et d'empêcher certains organismes de se développer sur la coquille. (64)

L'animal qui sort de cette coquille, présente un pied musculeux qui lui sert à ramper. A son extrémité antérieure, se trouve un siphon allongé qui sert à respirer et à repérer les proies par chimiotactisme. Juste en dessous, le cône possède une gaine charnue : c'est l'enveloppe externe de la bouche ou rostre. La bouche peut se dilater énormément afin d'ingérer la proie. En son sein, le rostre cache un organe protractile creux, le proboscis. De chaque côté, à même sur la paroi de la bouche, deux fins tentacules mobiles portent chacun un œil. (16) (Figure 2)



### **1.4. Reproduction**

Chez les cônes, comme la plupart des néogastéropodes, les sexes sont séparés et leur reproduction implique une fécondation interne après l'accouplement. Le fait que les femelles possèdent un réceptacle séminal et que les mâles se rassemblent durant certaines périodes laisse supposer que les femelles soient inséminées par plusieurs d'entre eux. Elles peuvent pondre de quelques centaines à plusieurs millions d'œufs, contenus dans des capsules de formes aplaties. Elles les déposeront dans les rochers ou dans les coraux, à l'abri des prédateurs.

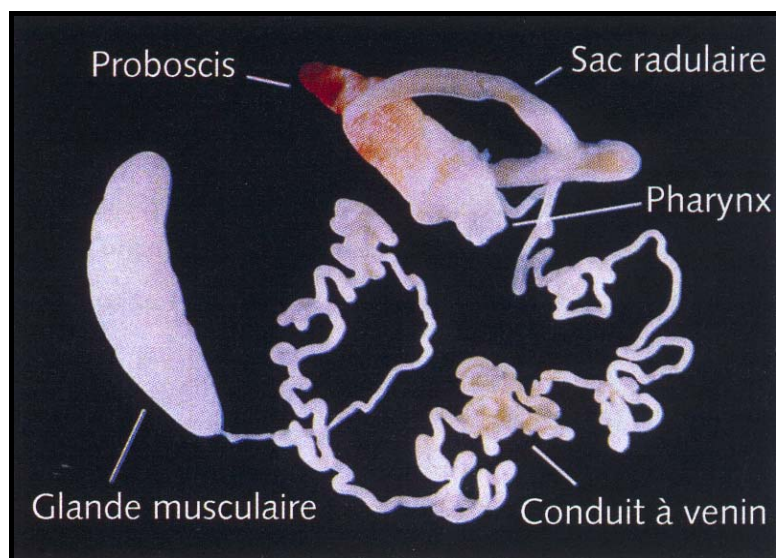
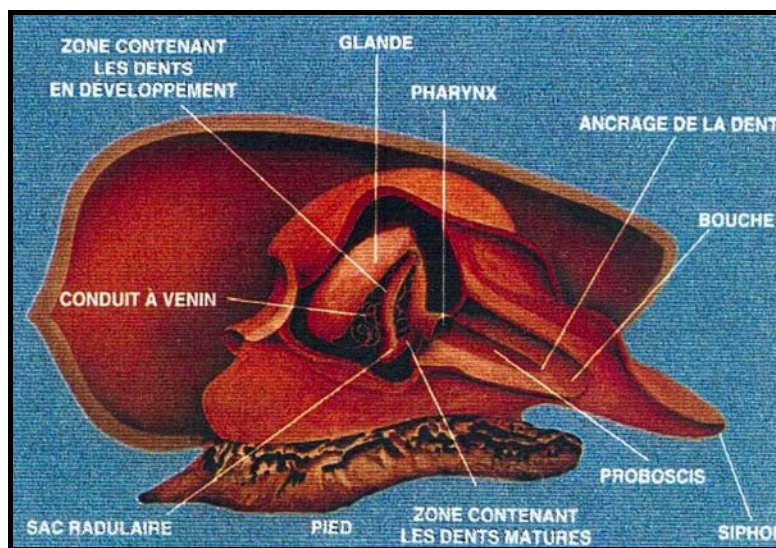
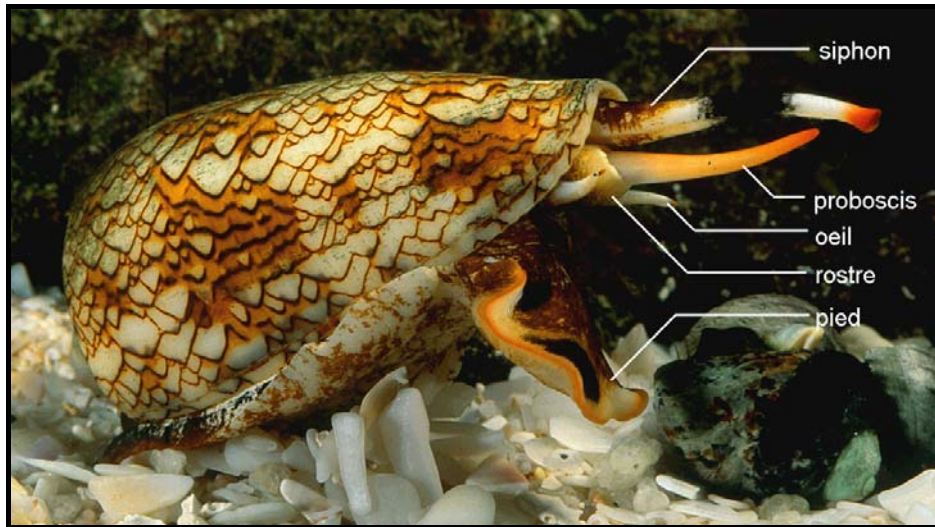
Le développement larvaire débute dans ces capsules. Si l'espèce est à développement direct (comme par exemple *C. magellanicus*), les jeunes larves seront des adultes miniatures à l'éclosion. Sinon, (chez *C. catus* par exemple) il y aura un stade intermédiaire de larve planctonique dite véligère à cause de son organe natatoire très puissant : le velum. Ce stade durera environ 3 semaines. Les organes transitoires larvaires disparaîtront alors au cours d'une métamorphose. (24)

### **1.5. Régime alimentaire**

Les cônes sont tous des prédateurs carnivores qui peuvent être classés en trois catégories suivant leur régime alimentaire (23). Il existe ainsi des cônes

vermivores qui se nourrissent de vers (annélides polychètes), des cônes malacophages qui se nourrissent de mollusques et plus remarquablement des cônes piscivores qui se nourrissent de poissons **(13)**. LIM, en 1969 **(31)** a estimé que 65% des cônes étaient vermivores contre 18% de piscivores et 16% de malacophages. Des études plus récentes confirmeraient ces résultats et tendraient à démontrer l'existence d'une quatrième catégorie incluant des cônes omnivores (*C. californicus*, *C. pictus*...) **(24)**. Ces différents régimes montrent un degré d'adaptation remarquable pour des gastéropodes.

La stratégie de chasse, le venin ainsi que la forme de la dent radulaire qui sert à perforer et à envenimer la proie vont varier suivant le régime alimentaire.



**Figure 2** : en haut : Photographie de *C. textile* (64)

**Figure 3** : au milieu : Représentation schématique d'une coupe transversale d'un cône. (26)

**Figure 4** : en bas : Appareil venimeux d'un cône disséqué. (25) (29)

## **2. Description de l'appareil venimeux**

Situé à l'avant (extrémité fine) de la coquille, l'appareil venimeux des cônes est composé de quatre organes distincts (**figures 2, 3 et 4**) : la glande musculaire, le conduit à venin, le sac radulaire et le proboscis.

### **2.1. La glande musculaire**

Egalement connue sous le nom de glande de Leiblin (**24**), elle a longtemps été considérée à tort comme une glande sécrétrice de venin. C'est une ampoule oblongue, volumineuse, de coloration blanchâtre, de consistance souple, à paroi faite de deux puissantes couches musculaires et à la lumière réduite dans laquelle ne se manifeste aucune activité glandulaire. (**16**)

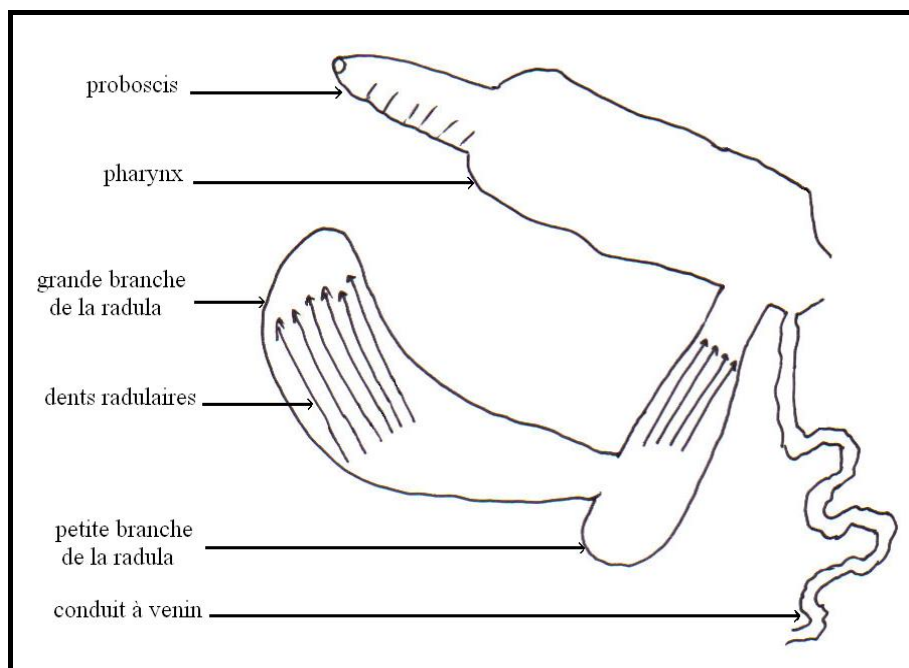
Ce sac musculo-glandulaire ne produit pas de venin mais a un rôle mécanique de soufflet. Grâce aux contractions de sa paroi fibreuse, il peut expulser le venin du conduit vers le proboscis. (**29**)

### **2.2. Le conduit à venin**

Le conduit à venin, relié à la glande en amont et au pharynx en aval, est l'organe qui élabore la sécrétion venimeuse. Il se présente comme un long tube

replié, pelotonné, d'une coloration blanc laiteux, à diamètre variant de 0,2 à 1,5 mm selon les espèces et dont la longueur peut atteindre de deux à plus de trois fois celle de la coquille. Chez un exemplaire de *Conus barthelemyi* de 6 cm de long, ce canal peut mesurer 19 cm (16). Le venin est élaboré dans ce tube fibreux, tapissé de cellules sécrétoires. Cet organe essentiel sert donc de glande sécrétrice, de réservoir ainsi que de transporteur du venin puisqu'il débouche sur le pharynx. (29)

### 2.3. Le sac radulaire et les dents

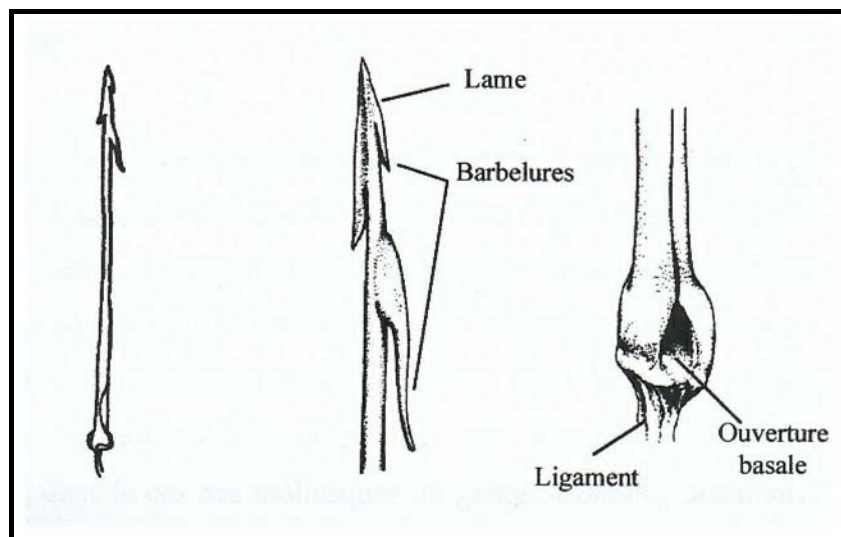


**Figure 5** : Schéma de la partie apicale de l'appareil venimeux

L'appareil digestif des mollusques gastéropodes est caractérisé par une radula (ou ruban de dents) plus ou moins évoluée. C'est dans la superfamille des

*Conoidae* que la radula ainsi que les dents ont atteint leur plus grand perfectionnement. (13)

La radula apparaît comme un sac translucide composé de deux branches, l'une courte, l'autre longue, ce qui lui confère une forme de L ou de Y. Dans la plus grande branche, libre, courbée et aveugle, d'une longueur de 2 à 15 mm, sont élaborées les dents radulaires qui serviront à «harponner» et à envenimer les proies. On y trouve une vingtaine de dents à différents stades de leur développement, mais toujours avec leurs pointes orientées vers l'extrémité aveugle. Quand la confection est achevée, elles sont transférées dans l'autre branche. Celle-ci, plus courte et qui débouche dans le pharynx en avant du canal glandulaire, contient une dizaine de dents prêtes à être utilisées. Les pointes de ces véritables petites flèches sont dirigées vers l'ouverture dans le pharynx (29) (16). Les dents sont initialement flexibles. Elles n'acquièrent leur rigidité qu'au cours de leur migration entre les deux branches radulaires. (24)



**Figure 6** : Dent radulaire d'une espèce piscivore (*C. ermineus*) à gauche la dent entière, au milieu la partie apicale et à droite la base. (28)

Quelle que soit l'espèce, la dent radulaire se présente toujours sous la forme d'un tube de chitine creux et très rigide, ouvert à ses deux extrémités, permettant ainsi au venin de s'y accumuler puis de s'écouler dans la plaie. La dent en elle-même n'est pas venimeuse. La partie apicale a la forme d'un harpon. La base possède une protubérance où s'attache un ligament qui relie la dent au sac radulaire. **(figure 5)**

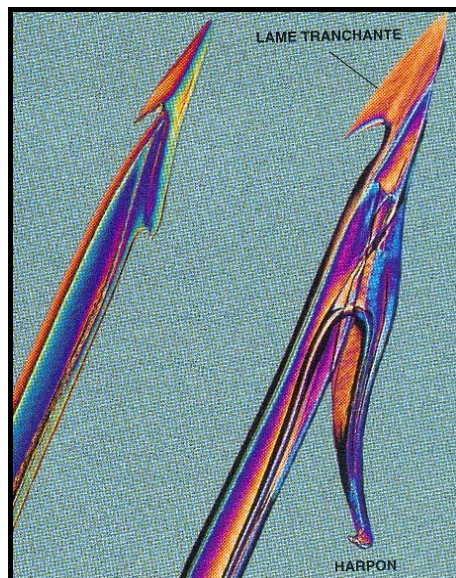
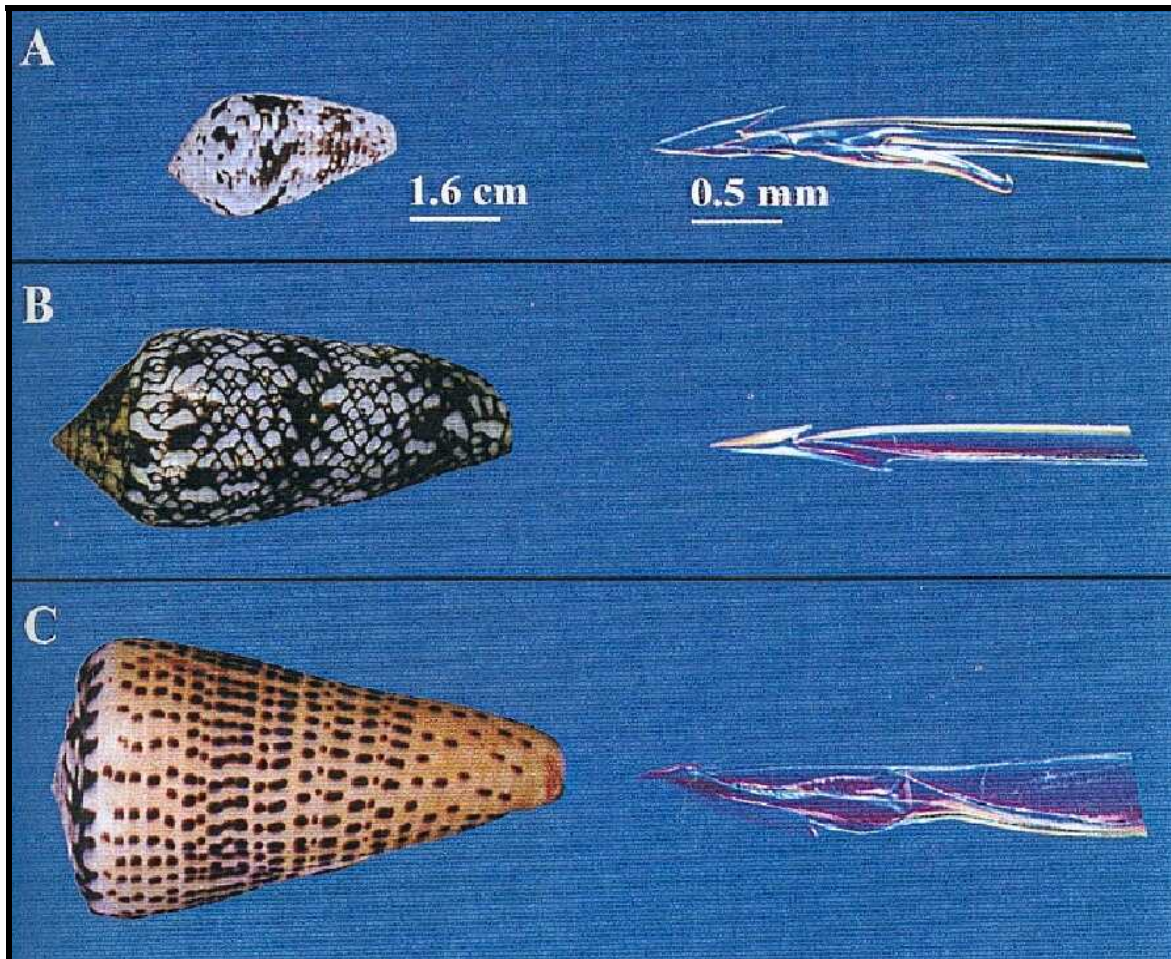
Pour le reste, la morphologie de la dent varie énormément d'une espèce à l'autre, mais est toujours en relation avec le type de proie capturée **(figure 6)**. La taille de la dent varie de quelques dixièmes de millimètres à plus de 2 cm. La dent chez les espèces vermivores et molluscivores est relativement simple, par opposition à celle de certains piscivores, qui présente des barbelures très élaborées **(figures 7 et 8)**. Ces dernières empêchent le retrait de la dent du tissu des proies et permettent de ramener le poisson vers la bouche. On peut également trouver au niveau du harpon une lame tranchante ou des denticulations qui ont pour rôle de lacérer la proie ou d'agrandir la plaie afin d'améliorer la diffusion du venin. **(29) (26)**

#### **2.4. Le proboscis**

Le proboscis est un prolongement du pharynx, situé à l'intérieur du rostre. C'est une trompe extensible fine et souple, qui ne mesure que quelques millimètres au repos. Il a pour rôle de prélever une dent puis de l'enfoncer dans la victime.

Quand un cône veut capturer une proie, une dent radulaire se place dans le pharynx. La glande musculaire se contracte et le venin emplit la dent. Le proboscis s'invagine pour la saisir et la fixer à son extrémité. La dent est fermement tenue à sa base par les muscles circulaires du proboscis. Ce dernier s'allonge alors considérablement (jusqu'à une fois et demie la longueur de la coquille chez certaines espèces) et, dès qu'il y a contact entre la dent et la proie, il l'enfonce d'un coup bref dans les tissus de la victime. Cette dent reste plantée et n'est pas récupérée par le cône. **(64) (26).**





**Figure 7** : en haut : Comparaison des dents radulaires chez trois espèces de cônes possédant des régimes alimentaires opposés : *C. catus*, piscivore (A), *C. textile*, malacophages (B), *C. leopardus*, vermivore (C). (25)

**Figure 8** : en bas : Les dents radulaires des espèces malacophages (par exemple, celles de *C. textile*, à gauche) sont moins élaborées que celles des espèces piscivores qui «pêchent au harpon», tel *C. striatus*, à droite. (26)

## **3. Envenimation par les cônes**

### **3.1. Détection et envenimation d'une proie**

Les cônes sont des carnivores prédateurs se nourrissant, selon l'espèce, de vers, de mollusques ou de petits poissons. Ce sont des animaux nocturnes, qui s'enfouissent dans le sable, sous des pierres ou des coraux pendant le jour et qui ne sont actifs que la nuit, à la recherche de leur nourriture. Véritables chasseurs à harpon, ils capturent et paralysent leurs proies sous l'action du venin contenu dans la dent et s'écoulant dans les tissus. La proie est alors ingérée par la bouche qui s'élargit notablement. La digestion s'opère en quelques heures, les restes seront régurgités. Du fait même de ce mode de vie particulier, tous les cônes sont venimeux, mais, comme nous le verrons, les stratégies d'envenimation varient selon les espèces. (26)

#### **3.1.1. La détection de la proie**

Le processus d'envenimation débute par la détection d'une proie par le cône. Il existe de façon certaine une interaction à distance, de nature chimique, entre le prédateur et la proie, bien que les mécanismes responsables soient encore mal compris. La sensibilité du cône à certaines substances serait due à un processus de chimiotactisme utilisant des récepteurs spécifiques au niveau du siphon. Ainsi, un cône piscivore réagit immédiatement lors de l'introduction d'eau provenant d'un autre aquarium où se trouvaient des poissons.

Mais les proies elles-mêmes sont parfois capables de détecter la présence d'un cône. C'est par exemple le cas des mollusques du genre *strombus*, pour lesquels on observe des mouvements de fuite à l'introduction d'eau où se trouvaient plusieurs *Conus textile*. (22)

### **3.1.2. Les stratégies d'envenimation**

Dans l'environnement marin dynamique dans lequel il évolue, et donc pour faire face à son manque de rapidité de déplacement face à ses proies, le cône a dû élaborer différentes stratégies en fonction de son régime alimentaire :

#### **- Les cônes piscivores qui «pêchent au harpon» :**

La proie des cônes piscivores est extrêmement vive. La principale fonction du venin de ces cônes est donc d'immobiliser le poisson.

Yves Letourneux (29) a pu observer, à l'aquarium de La Rochelle, le comportement en chasse du cône piscivore *C. consors* (figure 9 et 10). L'animal, enfoui dans le sable en ne laissant dépasser que le siphon, va repérer sa proie par chimiotactisme. Toujours dissimulé dans le sable, il va ramper vers elle avec son pied musculeux. Il va alors harponner le poisson, qui est instantanément paralysé. *C. consors* attire alors le poisson vers sa bouche, qui se distend, pour l'ingérer rapidement.

Cette stratégie de chasse, dite «pêche au harpon», est entre autre observée chez *C. magus*, *C. striatus*, *C. purpurascens* (55).

La dent radulaire est ici très élaborée et très spécialisée. Elle atteint chez ces espèces son plus haut degré de perfection. Le cône n'utilise qu'une seule dent, le proboscis ne la lâche pas car elle va servir à ramener la proie vers la bouche. Les barbelures empêchent le retrait de la dent du tissu de la victime.

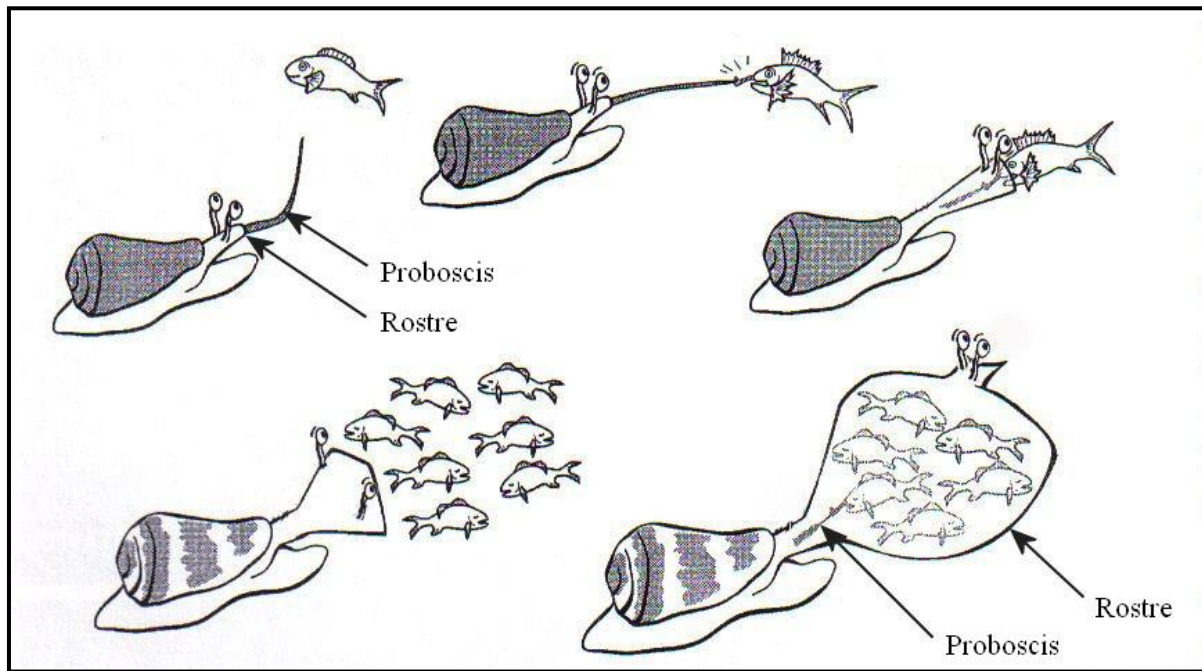
Baldomero Olivera, de l'université de l'Utah, a montré que le venin de ces cônes déclenche deux symptômes lorsqu'il est injecté à un poisson : une paralysie rigide et une paralysie flasque. Le premier effet physiologique, encore nommé choc excitotoxique, se caractérise par une tétanie qui est de courte durée : après la piqûre, le poisson a quelques spasmes violents puis s'immobilise extrêmement rapidement, parfois en moins d'une seconde, ne lui laissant pas le temps de s'échapper. Il peut se retrouver figé dans une position qui n'est pas naturelle, le corps très incurvé. Les nageoires du poisson sont, de façon caractéristique, dressées au maximum. Le second effet, requiert plus de temps pour paralyser le poisson, mais agit durablement. **(55) (42)**

- Les cônes piscivores qui «pêchent au filet».

On observe cette technique chez *C. geographus* et *C. tulipa*, beaucoup plus mobiles et de plus grande taille. Leur bouche, très extensible (plusieurs centimètres de diamètre) et très vive, est utilisée comme un filet pour emprisonner un ou plusieurs poissons. Ces poissons sont alors harponnés un à un. Les poissons étant déjà dans la bouche, il ne serait d'aucune utilité pour ces cônes d'avoir des dents radulaires aussi perfectionnées que précédemment. **(figure 9) (29).**

Baldomero Olivera **(42)** a ici observé les poissons prisonniers à travers le rostre translucide. Lorsque le cône les pique, ils paraissent anormalement

calmes, comme plongés dans un état de sédation. Le venin inoculé provoque donc une paralysie flasque, mais pas de tétanie, comme précédemment, puisque les proies ne peuvent s'échapper. De plus, une tétanisation, provoquant un déploiement rigide des nageoires, pourrait endommager la paroi très fine de la bouche. (29)



**Figure 9** : Les deux différentes stratégies d'envenimation utilisées par les cônes piscivores pour capturer leurs proies. En haut la stratégie du « harpon » et en bas celle du « filet ». (Schéma modifié à partir de (41))

#### - Les cônes malacophages :

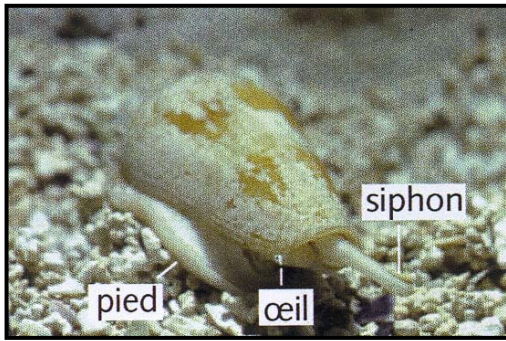
La paralysie est également la principale fonction du venin des cônes malacophages. En effet, le pied des mollusques doit être immobilisé rapidement pour ne pas se rétracter dans sa coquille (29). Si l'on observe par exemple *Conus textile*, un cône qui se nourrit essentiellement de strombes, mollusques sauteurs, on remarque qu'après avoir injecté une première dent radulaire dans le pied de la proie, le cône la libère de l'extrémité de son proboscis et en injecte une autre

quelques secondes après. Ce procédé est répété plusieurs fois, jusqu'à ce que le strombe soit paralysé. **(26)**

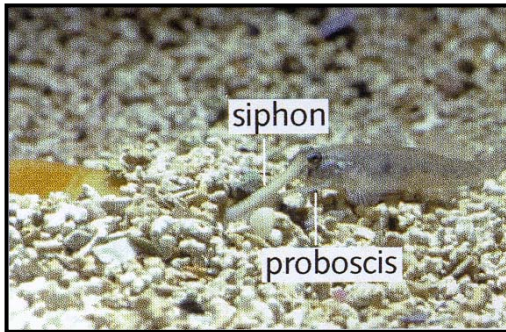
- Les cônes vermivores :

Les cônes vermivores, comme *C. quercinus*, n'ont pas les mêmes impératifs, compte tenu de la faible mobilité de leur proie. Il n'est donc pas étonnant de constater que leurs venins sont les moins dangereux pour l'homme. Ces cônes utilisent également plusieurs dents radulaires afin de lacérer les vers et de les couper en morceaux, ce qui en facilite la digestion. **(29)**





1- Un spécimen de *Conus consors* commence à s'enfouir dans le substrat sablonneux. Le siphon, un œil et le pied de l'animal sont bien visibles. Le rostre dont l'extrémité apparaît à gauche du siphon, renferme le proboscis au repos.



2- Enfoui, le cône ne laisse dépasser qu'une partie de sa coquille et le siphon. A l'approche d'une proie (ici, *Gobius minutus*), le cône étend son proboscis qui porte à son extrémité une dent radulaire.



3- Au contact de la proie, le cône enfonce d'un coup bref la dent radulaire dans les tissus du poisson. La piqûre provoque immédiatement un choc excitotoxique et une paralysie générale.



4- quelques secondes après la piqûre, le poisson est totalement paralysé et le cône distend son rostre (bouche) pour englober complètement la proie. On aperçoit un œil porté par le rostre.



5- La proie, entièrement avalée, est ensuite digérée pendant plusieurs heures. Le cône régurgitera les arêtes à la fin de la digestion.

**Figure 10** : Séquence de photographies illustrant la capture d'un poisson par *Conus consors* (26) (29)

### **3.2. Envenimation chez l'homme**

L'envenimation chez l'homme, bien que relativement rare, peut s'avérer mortelle. Depuis 1705 (archipel des Moluques) **(24)**, date de la première piqûre rapportée, plusieurs dizaines de cas ont été répertoriés dont quelques-uns ont conduit au décès en quelques heures. **(13)** Il est tout d'abord important de préciser que chaque fois que l'homme a été piqué, le cône ne confondait pas sa victime avec une proie potentielle, mais qu'il réagissait de façon défensive. Ainsi de nombreuses envenimations sont survenues au moment où la victime marchait sur un cône. Le pli de l'aîne est une autre localisation très fréquente de piqûre. Cette situation peut se trouver lorsque la future victime, ramassant au fond de l'eau ce beau coquillage puis voulant le conserver, le dépose dans son maillot de bain. **(42) (14)**

Le cône utilise donc son appareil venimeux pour chasser mais aussi pour se défendre, bien qu'en cas de danger, sa première réaction soit de se protéger au fond de sa coquille.

#### **3.2.1. Espèces dangereuses**

Tous les cônes sont potentiellement dangereux, car tous possèdent un appareil venimeux avec glande à venin et dents radulaires et sont au moins théoriquement capables de causer de vives douleurs et de faire enfler localement les tissus. Les espèces les plus dangereuses pour l'homme sont les cônes piscivores car leurs toxines sont actives sur les vertébrés, ainsi que les cônes de grande taille **(26)**. Fort heureusement, la plupart des cônes sont de petites espèces vermivores et leur menace



pour l'homme est négligeable. Leur piqûre est parfois, comme pour *C. pulicarius*, assimilable à celle d'une abeille.

Voici les espèces qui représentent le plus de risque **(16) (Tableau I)** :

- *C. geographus* et *C. striatus* sont de grandes espèces piscivores à large ouverture de la coquille. Elles possèdent un proboscis long et très extensible et leurs dents radulaires de plus de 10 mm de long sont capables de percer un vêtement mince. *C. geographus* est le cône le plus redoutable, une piqûre sur quatre est fatale. Le célèbre *C. gloriamaris*, espèce rare et très recherchée par les collectionneurs, doit également être considéré, à cause de sa grande taille, comme dangereux.
- Les petits cônes piscivores dont l'ouverture de la coquille est large, comme *C. tulipa*, *C. obscurus*, *C. magus*, *C. monachus*, *C. catus*, présentent un danger moins grand, mais certain. Leurs dents radulaires font rarement plus de 5 mm.
- Les cônes malacophages, *C. textile*, *C. aulicus*, *C. marmoreus*, *C. omaria*, sont également dangereux et en particulier les exemplaires qui ont plus de 50 mm de long.
- Les grands cônes vermivores, *C. leopardus*, *C. litteratus*, *C. quercinus*, *C. imperialis*, *C. betulinus*, doivent être redoutés à cause de leur grande taille, et de l'importante quantité de venin injectée. Si les réactions provoquées par leurs piqûres ne sont, en général, chez l'adulte, que des inflammations et œdèmes localisés, elles peuvent se dévoiler beaucoup plus graves chez l'enfant dont la masse corporelle est plus faible.

<b>Espèces</b>	<b>Piqûres mortelles</b>	<b>Piqûres très graves</b>	<b>Piqûres moins graves</b>	<b>Régime alimentaire</b>
<i>C. geographus</i>	5	3	0	Piscivore
<i>C. textile</i>	2	1	0	Malacophage
<i>C. tulipa</i>	0	3	2	Piscivore
<i>C. omaria</i>	0	1	0	Malacophage
<i>C. obscurus</i>	0	0	5	Piscivore
<i>C. catus</i>	0	0	1	Piscivore
<i>C. imperialis</i>	0	0	1	Vermivore
<i>C. lividus</i>	0	0	1	Vermivore
<i>C. quercinus</i>	0	0	1	Vermivore
<i>C. sponsalis</i>	0	0	1	Vermivore
<i>C. pulicarius</i>	0	0	1	Vermivore
<i>C. litteratus</i>	0	0	1	Vermivore
<i>C. aulicus</i>	0	0	1	Malacophage

**Tableau I** : Récapitulatif de différentes espèces ayant piqué l'homme, de la moins dangereuse, en bas, à la plus mortelle, en haut. (22)

A la suite de l'étude menée dans le Tableau, A.J. Kohn a travaillé sur la comparaison entre la gravité des piqûres et la longueur de la coquille, ainsi que celle de la dent radulaire. Il en a conclu que les piqûres les plus graves sont provoquées par des grandes espèces à dents radulaires importantes. Les espèces plus petites possédant des grandes dents (par exemple *C. catus*, *C. obscurus*) ne peuvent pas produire et injecter autant de venin que les espèces précédentes. De même, chez les cônes de grande taille mais avec de petites dents, les réactions produites sont moins graves. (16)

### **3.2.2. Symptômes**

#### **Localement : (16)**

La piqûre laisse dans les tissus de la victime un trou semblable à celui d'une aiguille et autour de celui-ci la chair vire au pourpre. Le venin se répand rapidement dans le corps. Les effets de la piqûre commencent par une très vive douleur autour de la plaie, avec ischémie localisée, cyanose, œdème, réaction inflammatoire, sensation de chaleur. L'intensité de la douleur varie de façon considérable d'un individu à l'autre. L'engourdissement et la paresthésie commencent à la plaie et s'étendent en quelques minutes à l'ensemble du corps.

#### **Après diffusion du venin : (62) (16)**

La victime peut ressentir certains des symptômes suivants :

- céphalée, malaise général, sentiment d'angoisse
- douleur
- au niveau digestif : nausée, vomissements, dysphagies
- au niveau de l'œil : ptôsis, diplopie
- aphonie
- prurit
- faiblesse musculaire, paralysie
- coma
- Au niveau neurologique : mauvaise coordination, diminution du niveau de conscience, diminution des réflexes, paresthésies
- L'atteinte respiratoire est la plus grave : parfois limitée à une gêne, elle peut également comporter une atteinte diaphragmatique et évoluer vers des apnées puis des paralysies respiratoires pouvant causer la mort en quelques heures.
- Au niveau cardiaque : arythmie, tachycardie. La mort de la victime est souvent due à un arrêt cardiaque.

L'exemple suivant, décrit par un médecin de Ponérihouen en Nouvelle-Calédonie, montre à quel point la mort peut survenir de façon fulgurante à la suite d'une piqûre de cône. (26)

« Le 16 septembre 1963, vers 11 heures 30, une fillette âgée de neuf ans, en parfaite santé, pêchait des coquillages en compagnie de deux camarades sur le récif situé au niveau de la tribu de Paama-Poindimié. Alors qu'elle avait ramassé un *Conus geographus*, elle ressentit une douleur assez vive au niveau de la main. Elle jeta le coquillage, avisant ses camarades qu'elle venait d'être piquée. Immédiatement, elle présenta aux points de la piqûre une macule érythémateuse accompagnée d'un léger œdème et, après quelques minutes, une syncope de courte durée, suivie de phases de convulsions avec des secousses musculaires très importantes. La mort survint environ 40 minutes après la piqûre venimeuse. L'examen de la victime n'a rien révélé si ce n'est l'existence de trois petites tâches noirâtres à l'endroit de la piqûre. »

### **3.2.3. Traitements**

En attendant les secours :

- Si la victime respire, il faut la placer en position latérale de sécurité, puis dégager les voies aériennes supérieures afin d'empêcher les étouffements en cas de vomissements. Il faut sans cesse contrôler la ventilation en mettant sa main sur le ventre de la victime.
- Si la victime ne respire plus, il faut pratiquer une réanimation cardio-pulmonaire. Ce geste peut lui sauver la vie.

Seul un médecin est apte à poser un garrot. Il ne faut surtout pas essayer d'aspirer le venin de la plaie avec la bouche.

Il faut noter l'heure de la piqûre et mettre si possible le cône responsable dans un récipient en verre que l'on peut fermer, afin de l'identifier et d'éviter que la situation ne se reproduise. **(62)**

#### Aux urgences :

Il n'existe pas de sérum anti-venin. Le traitement, purement symptomatique, préconise entre autre l'utilisation d'antalgiques, de tonicardiaques et d'analeptiques respiratoires. L'incision et le drainage de la plaie sont recommandés en cas de risque de nécrose ou d'infection. La priorité est portée sur la surveillance cardiaque et respiratoire. Il faut intuber la victime si nécessaire. **(14)**

### **3.2.4. Prévention**

Le développement constant de la plongée sous-marine et l'intérêt porté aux cônes par un très grand nombre de collectionneurs de coquillages accroissent considérablement les risques d'accidents, bien que de nombreuses personnes soient averties du danger encouru. Il ne faut jamais ramasser un cône vivant à cause du danger que cela représente ainsi que pour des raisons écologiques. Si cela s'avère malgré tout nécessaire (pour les chercheurs par exemple), l'animal doit inspirer la méfiance et être manipulé avec de grandes précautions. Il faut le déranger pour qu'il se rétracte dans sa coquille, prendre la coquille par son extrémité postérieure (la plus large), la tenir éloignée du corps et la placer dans un bocal en verre que l'on peut fermer (surtout pas de sac plastique). Il faut lâcher la coquille si l'on voit apparaître le proboscis puisque celui-ci est capable de

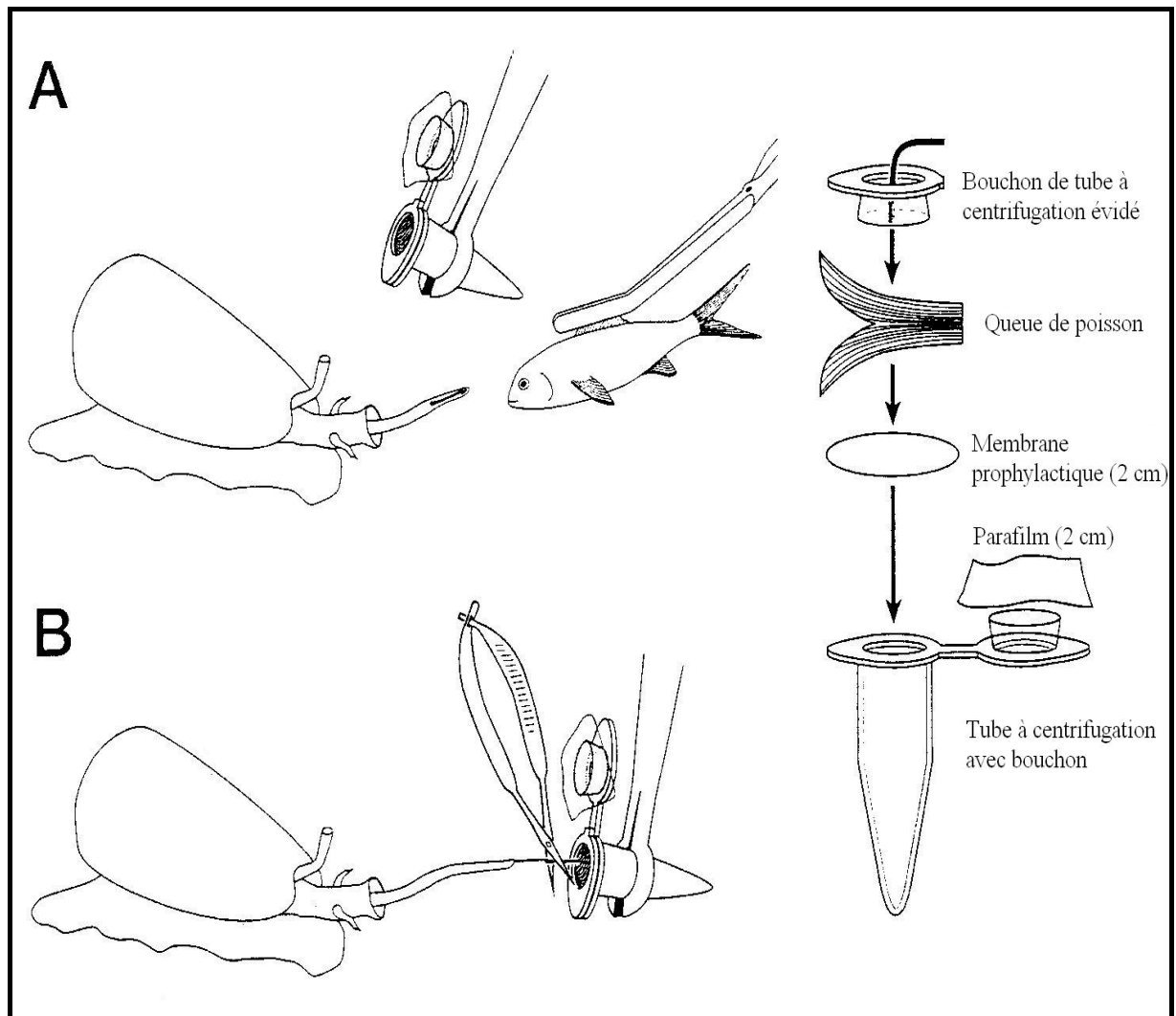
rétrogression et peut se distendre, chez certaines espèces, jusqu'à une fois et demi la longueur de la coquille. **(16)**

## II- LE VENIN DES CONES

### 1. Récupération du venin des cônes

Il existe deux techniques pour la récolte du venin des cônes. La première et la plus utilisée consiste à disséquer l'animal afin d'en extraire le conduit à venin. Ce dernier sera sectionné en plusieurs morceaux puis pressé avec des pinces plates pour en extraire la sécrétion. L'inconvénient majeur de cette méthode est qu'elle provoque la mort du cône étudié. Par ailleurs le venin récolté est en cours d'élaboration et ne correspond pas exactement au produit final injecté.

En 1995 fût développée par C. Hopkins et ses collaborateurs une nouvelle technique consistant à récupérer le venin au moment même de l'injection à une proie (**figure 11**). Il faut pour cela présenter au cône un petit poisson jusqu'à ce que ce dernier distende son proboscis. Au moment où le cône s'apprête à piquer sa proie, on substitue le poisson par un tube collecteur. Il est important d'utiliser une nageoire de poisson frais comme membrane au niveau de l'ouverture du tube. Ceci donne de meilleurs résultats. On coupe ensuite la dent radulaire du cône fixée dans la membrane. L'opération peut-être renouvelée deux fois par semaine. L'inconvénient de cette technique est qu'elle fournit de très faibles quantités de venin. (**18**)



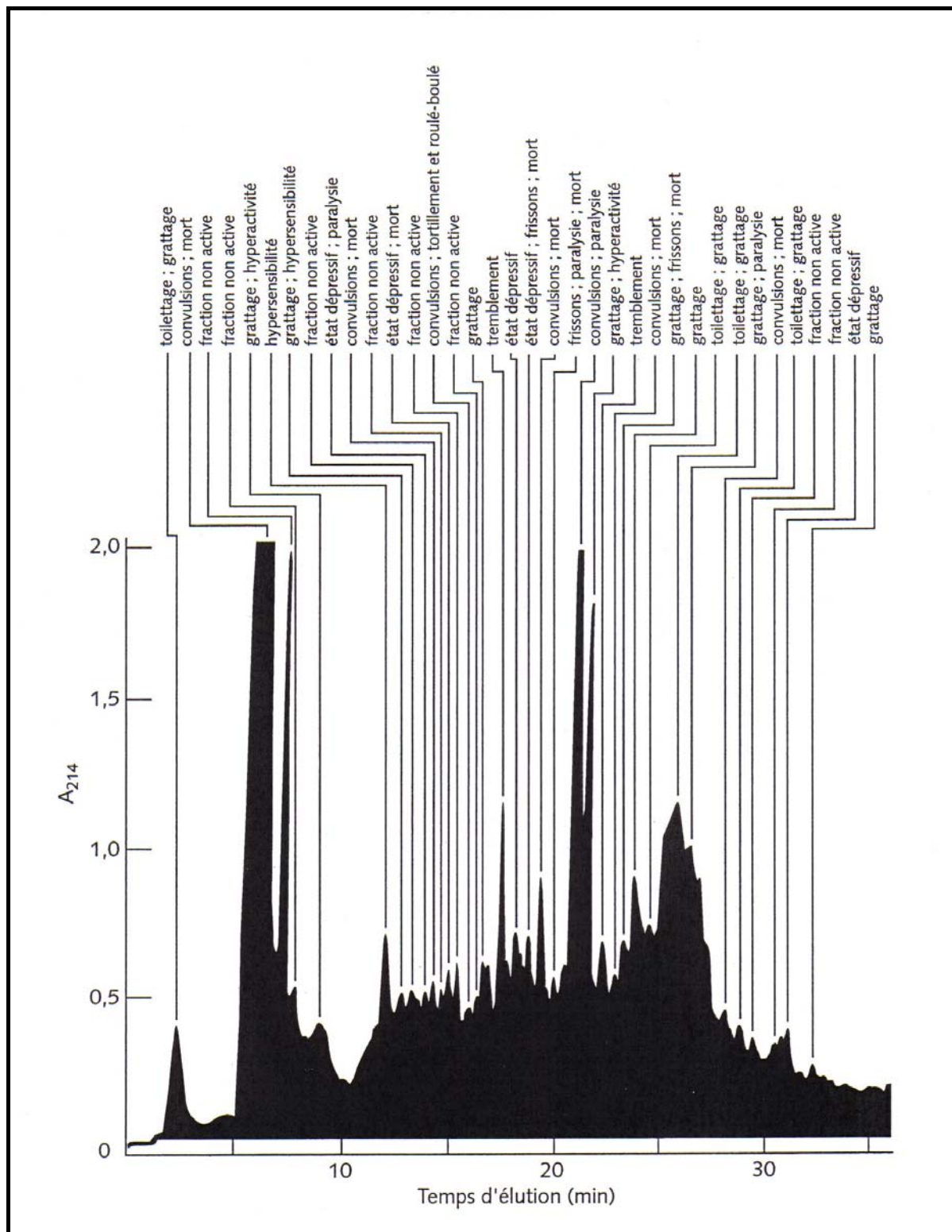
**Figure 11** : Méthode développée par C. Hopkins et ses collaborateurs pour la récolte du venin des cônes. **A** : un poisson est placé devant un cône jusqu'à ce que ce dernier distende son proboscis. On substitue juste avant la piqûre le poisson par un tube collecteur. **B** : Lorsque le cône a harponné le tube, on coupe la dent radulaire. La colonne de droite représente l'assemblage des éléments constituant le tube collecteur. (18)



## **2. Les composants du venin**

Bien que la toxicité des cônes ait été mentionnée depuis plus de 300 ans par le naturaliste hollandais Rumphius, le venin des cônes ne suscita la curiosité des scientifiques qu'au début des années 1970. Auparavant, quelques publications décrivent l'effet toxique des venins de plusieurs cônes, et ce n'est qu'un peu plus tard que L.J. Cruz et B.M. Olivera soulignèrent l'intérêt et le potentiel pharmacologique que ces venins représentent **(13)**. Les premières études pharmacologiques portèrent sur les effets des venins suite à leur injection à des mammifères, des mollusques ou des vers. Puis elles ont suscité de très nombreux travaux, favorisés par les progrès des techniques de séparation chromatographique ainsi que des méthodes d'identification par spectrométrie de masse et résonance nucléaire. Beaucoup de composants de venin ont ainsi été isolés et caractérisés. **(29) (Figure 12)**

Le venin des mollusques de la famille des *Conidae* contient une remarquable diversité et quantité de substances actives. Il se présente sous la forme d'un liquide laiteux blanchâtre contenant de petits granules insolubles. Généralement, ce venin possède plus de 80 peptides (les peptides contiennent en moyenne entre 8 et 35 acides aminés), ainsi que des protéines et des molécules organiques de faible poids **(29) (16)**.



**Figure 12 :** Analyse par chromatographie de type HPLC du venin de *C. magus*. Pour chaque pic, 0,5 à 2 nmol du composant correspondant ont été injectés intracérébralement chez la souris. Les activités biologiques observées sont notées en haut du graphique. (39) (29)

## 2.1. Les conopeptides

### 2.1.1. Les conotoxines

Les conotoxines sont les composants les plus nombreux, les plus étudiés et les plus intéressants du venin des cônes. Ces petits peptides de 8 à 41 acides aminés, réticulés par deux à cinq ponts disulfure, ont une structure très compacte et sont ainsi relativement stables. Ils sont responsables de la plupart des symptômes toxiques observés lors d'une envenimation. **(13)**

Les effets les plus marquants des conotoxines, plus particulièrement ceux des piscivores, sont observés après injection directe dans le système nerveux central de la souris (**figure 12**). En effet, la barrière hémato-encéphalique de la souris, contrairement à celle du poisson, ne permet pas le passage de ces peptides dans le cerveau, après injection en intrapéritonéale ou en intraveineuse. Beaucoup de ces peptides provoquent la paralysie ou la mort de la souris, d'autres induisent des comportements aberrants : convulsions, démangeaisons, raidissement de la queue, torpeur, tétanisation ou, au contraire, ramollissement de la musculature, tremblements, etc. **(29)**

Onze familles principales de conotoxines, incluant chacune une ou plusieurs toxines, ont été caractérisées (**tableau II**). Ce sont les  $\alpha$ -,  $\psi$ -,  $\sigma$ -,  $\omega$ -,  $\rho$ -,  $\chi$ -,  $\varepsilon$ -,  $\mu$ -,  $\delta$ -, Excito-, et  $\kappa$ -conotoxines. Certaines familles peuvent compter plusieurs milliers de peptides différents **(56)**. Nous les étudierons dans le chapitre suivant.

Famille	Cible physiologique	Espèce	Régime alimentaire
<b>FAMILLES CIBLANT DES RECEPTEURS-CANAU</b>			
$\alpha$ -Conotoxines	Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine	<i>C. geographus</i> , <i>C. magus</i> <i>C. striatus</i> , <i>C. ermineus</i> <i>C. consors</i> <i>C. pennaceus</i> , <i>C. aulicus</i> <i>C. episcopatus</i> <i>C. imperialis</i>	piscivore piscivore piscivore malacophage malacophage vermivore
$\alpha A$ -Conotoxines	Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine	<i>C. purpurascens</i> <i>C. ermineus</i>	piscivore piscivore
$\psi$ -Conotoxine	Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine	<i>C. purpurascens</i>	piscivore
$\sigma$ -Conotoxine	Récepteur 5-HT <sub>3</sub>	<i>C. geographus</i>	piscivore
Conantokines	Récepteur NMDA du glutamate	<i>C. geographus</i> , <i>C. tulipa</i>	piscivore
<b>FAMILLES CIBLANT DES CANAU IONIQUE SENSIBLES AU POTENTIEL</b>			
$\omega$ -Conotoxines	Canau Ca <sup>2+</sup> présynaptiques	<i>C. geographus</i> , <i>C. striatus</i> <i>C. magus</i> , <i>C. radiatus</i> <i>C. tulipa</i> , <i>C. consors</i> <i>C. textile</i> , <i>C. pennaceus</i>	piscivore piscivore piscivore malacophage
$\epsilon$ -Conotoxine	Canau Ca <sup>2+</sup> présynaptiques	<i>C. textile</i>	malacophage
$\mu$ -Conotoxines	Canau Na <sup>+</sup> du muscle squelettique	<i>C. geographus</i> <i>C. purpurascens</i> <i>C. pennaceus</i>	piscivore piscivore malacophage
$\mu O$ -Conotoxines	Canau Na <sup>+</sup>	<i>C. marmoreus</i>	malacophage
$\delta$ -Conotoxines	Canau Na <sup>+</sup>	<i>C. catus nigropunctatus</i> <i>C. purpurascens</i> , <i>C. striatus</i> <i>C. textile</i> , <i>C. gloriamaris</i>	piscivore piscivore malacophage
Excitotoxine	Canau Na <sup>+</sup> présynaptiques	<i>C. consors</i>	piscivore
$\kappa$ -Conotoxine	Canau K <sup>+</sup> de type "shaker"	<i>C. purpurascens</i>	piscivore
$\kappa A$ -Conotoxine	Canau K <sup>+</sup> de type "shaker"	<i>C. striatus</i>	piscivore
<b>FAMILLES CIBLANT DES RECEPTEURS COUPLES A DES PROTEINE G</b>			
Conopressines	Récepteurs de la vasopressine	<i>C. geographus</i> , <i>C. striatus</i>	piscivore
Contulakine	Récepteurs de la neurotensine	<i>C. geographus</i>	piscivore

**Tableau II :** Récapitulatif des cibles physiologiques pour les grandes familles de conopeptides. (28)

### **2.1.2. Les conantokines**

Les conantokines G, T, L et R ont été isolées respectivement des venins de *C. geographus*, *C. tulipa*, *C. lynceus*, *C. radiatus*. Ces peptides, contrairement aux conotoxines, ne possèdent pas de cystéine dans leur séquence mais présentent en revanche un grand nombre de résidus  $\gamma$ -carboxyglutamates qui permettent, en présence de calcium, de donner une conformation stable au peptide. Ce sont des antagonistes spécifiques des récepteurs-canaux NMDA (N-méthyl-D-aspartate, récepteurs du glutamate), perturbant ainsi l'influx de calcium dans les neurones du système nerveux central. **(tableau II)**

Les conantokines ont été identifiées à partir des effets observés suite à leur injection chez la souris. Elles ont la particularité de provoquer des conséquences différentes selon l'âge de l'animal. Si la souris est jeune, le peptide la plonge dans un profond sommeil, sans avoir d'effet néfaste. En revanche, cette même molécule provoque une hyperactivité sur une souris âgée de plus de trois semaines. **(37) (5)**

### **2.1.3. Les conopressines G et S**

Les conopressines G et S, isolées respectivement de *Conus geographus* et de *Conus striatus*, sont similaires en séquence et en activité biologique aux hormones Ocytocine et vasopressine. Elles provoquent d'intenses démangeaisons en injection chez la souris.

Les conopressines interfèrent avec les récepteurs de la vasopressine. La constriction des petits vaisseaux qui s'en suit provoque une élévation de la pression sanguine, optimisant ainsi la distribution des autres toxines. (17)(16)

#### **2.1.4. La contulakine G**

La contulakine G, glycopeptide isolé de *Conus geographus*, est un agoniste de la neurotensine. Elle provoque la léthargie lors d'une injection chez la souris. (tableau II) (29)

#### **2.1.5. Les contryphanes**

La contryphane et la bromocontryphane sont des peptides isolés du venin de *Conus radiatus*, provoquant une hyperexcitation lors de leur injection à une souris. Leur structure contient un D-tryptophane. Une fonction possible de ces peptides serait de contribuer à la création d'un choc excitotoxique. (21)

#### **2.1.6. Autres peptides**

On trouve également dans le venin des cônes des conorfamides, des conodynes, et de nombreux autres petits peptides dont le rôle et les cibles pharmacologiques demeurent inconnues. (33)

### **2.2. Les protéines**

Les nombreuses protéines isolées du venin des cônes présentent une grande variété d'activité biologique : glycoprotéine cardiotonique chez *Conus striatus*, convulsivante chez *Conus geographus*, protéines vasoactives chez *Conus eburneus* et *tessulatus*, protéines affectant indirectement le taux de calcium intracellulaire chez *Conus tessulatus*, phospholipases et protéines modifiant les flux de potassium chez *Conus striatus* ... **(16)**

### **2.3. Les molécules organiques**

Des molécules organiques de faible poids moléculaire sont également présentes dans le venin des cônes. Ainsi J.M. McIntosh a mis en évidence la présence de sérotonine dans le venin de *Conus imperialis*. Elle contribuerait à la paralysie musculaire des vers annélides. **(33)**

### 3. Les conotoxines

#### 3.1. Structure et nomenclature des conotoxines

La structure des conotoxines est liée à la présence d'acides aminés Cystéine. Ces résidus, en se liant par des ponts disulfures (entre atomes de soufre), guident le repliement des conotoxines et leur confèrent leur structure tridimensionnelle biologiquement active. Les familles de conotoxines ont été regroupées en superfamilles en fonction de leurs motifs cystéine (**Tableau III**) (34). Par exemple, dans la superfamille O, les toxines possèdent 6 résidus cystéine et les ponts disulfures sont toujours : cystéine 1 avec cystéine 4 (cys1-cys4), Cys2-Cys5, Cys3-Cys6.

Superfamille	Motif cystéine	Familles de conotoxines
A	CC—C—C CC—C—C—C—C	$\alpha$ $\alpha A, \kappa A$
M	CC—C—C—CC	$\mu, \psi$
S	C-C-C-C-C-C-C-C-C-C	$\Sigma$
O	C—C—CC—C—C	$\omega, \delta, \mu O, \kappa$

**Tableau III :** Motifs cystéine des différentes superfamilles de conotoxines. Dans la seconde colonne, les lignes horizontales représentent une série d'acides aminés autres que la cystéine. (34)



Cependant, le motif cystéine et la structure tridimensionnelle qui en découle ne sont pas liés de façon univoque à une cible spécifique : Ainsi les  $\omega$ - et  $\kappa$ -conotoxines qui possèdent des structures équivalentes, ont des activités pharmacologiques différentes (36). A l'inverse, pour une même cible physiologique, il peut exister différentes structures de toxines : Les  $\alpha$ ,  $\alpha A$ ,  $\psi$ -conotoxines agissent par exemple toutes les trois sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (Tableau II). On peut donc en conclure qu'à l'intérieur d'une superfamille, ce sont les séquences d'acides aminés entre les résidus cystéine qui guident l'interaction spécifique avec un récepteur donné.

Le nom de chaque conotoxine obéit à une nomenclature basée sur son activité biologique, le nom du cône et le motif cystéine qu'elle présente.

- Une lettre grecque est utilisée comme préfixe pour désigner la famille et donc le mode d'action de la conotoxine. Ainsi la  $\mu$ -GIIIA désigne une conotoxine qui bloque les canaux sodium (famille  $\mu$ ).
- On désigne ensuite l'espèce du cône à l'aide d'une abréviation d'une ou deux lettres romaines appartenant au nom de l'espèce. Pour les cônes piscivores, on utilise seulement la première lettre du nom, pour les autres cônes, on utilise en plus une consonne. Ainsi, on désigne par un M le *Conus magus* (piscivore), et par Mm le *Conus marmoreus* (malacophage). Autres exemples : Cf pour *californicus*, C pour *catus*, G pour *geographus*, O pour *obscurus*, P pour *purpurascens*, S pour *striatus*, Tx pour *textile*, T pour *tulipa*...
- Un chiffre romain est enfin utilisé pour désigner le type de motif cystéine. Une lettre romaine lui est ajoutée le cas échéant pour différencier les conotoxines encore identiques. Ainsi la  $\mu$ -GIIIA, isolée à partir du venin de *C. geographus* (G), désigne une conotoxine dont le motif cystéine est

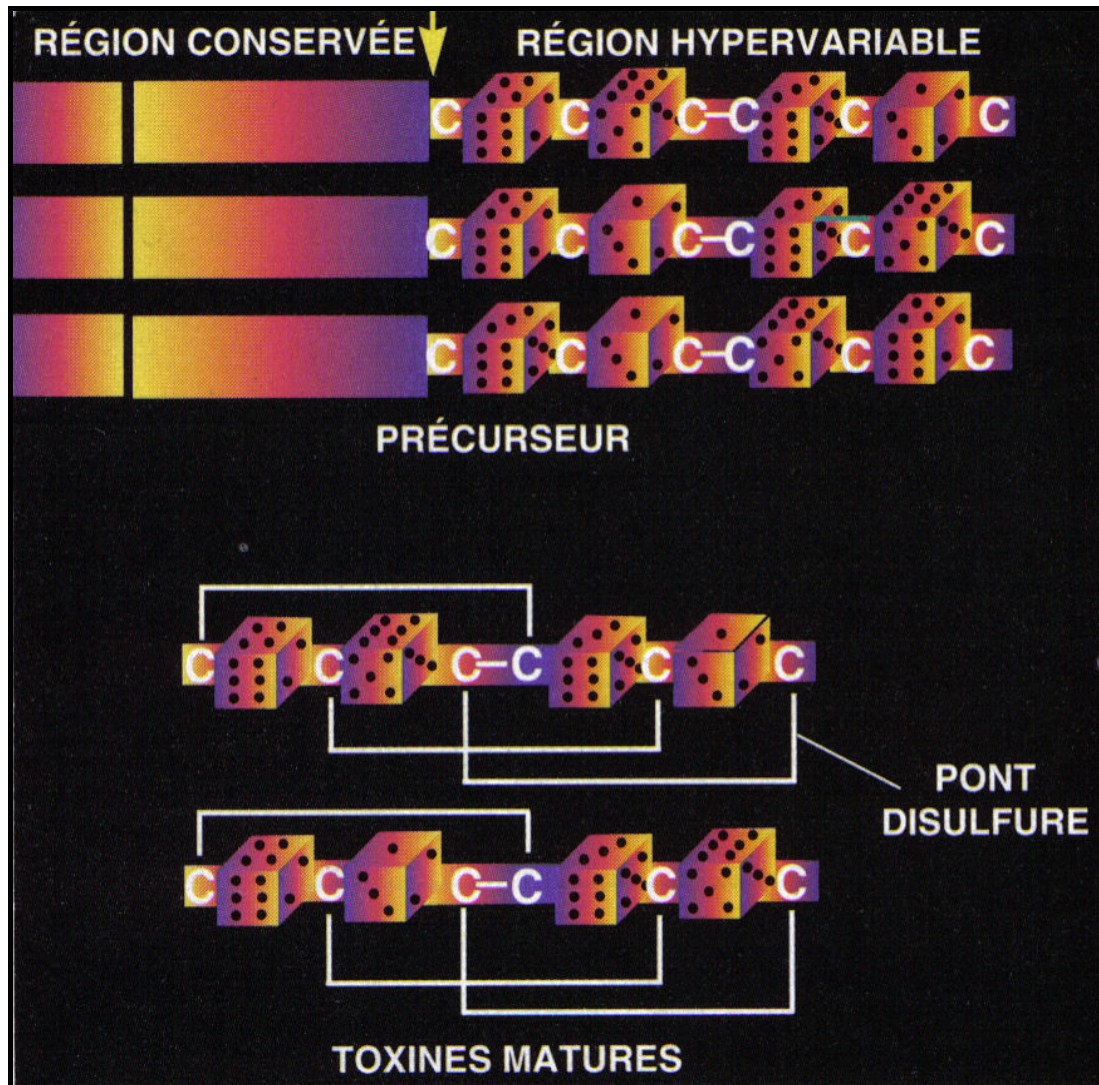
CC—C—C—CC (motif III) (A désignant le premier peptide d'une série d'homologues). (17)

### 3.2. Diversité des conotoxines

Il existe environ 600 espèces de cônes, dont chacune possède une centaine de toxines différentes. Quelques rares conotoxines se retrouvent d'une espèce à l'autre mais globalement, il pourrait y en avoir jusqu'à 50 000 (8) (56). Les chercheurs ont remarqué, bien qu'ils ne connaissent encore qu'une infime partie de ces composants, que les séquences peptidiques étaient en plus étonnamment divergentes entre les conotoxines (41). Une évolution extrêmement rapide des composants du venin de ces mollusques a donc dû s'opérer durant les dernières 50 millions d'années, faisant de chaque espèce de cône un spécialiste en neuropharmacologie. Des peptides initialement homologues entre deux espèces ont pu ainsi évoluer jusqu'à ne plus avoir une seule séquence similaire, bien qu'ayant toujours la même cible. Mais comment expliquer une évolution aussi rapide ?

L'analyse des ARN messagers de ces peptides a montré qu'ils sont dans un premier temps traduits en précurseurs de 70 à 80 acides aminés, ayant trois régions distinctes : la séquence signal, la région propeptide et une région correspondant à une copie de la toxine. La partie N-terminale (séquence signal) est quasi identique entre conotoxines similaires, tandis que la partie C-terminale (aboutissant à la toxine mature) est très variable, les résidus cystéine étant conservés (figure 13). Par un mécanisme génétique spécialisé et encore mal compris, les cônes introduisent de nouvelles séquences d'acides aminés entre les résidus cystéine. Ces hypermutations permettent la formation de tout un arsenal

de nouvelles conotoxines aux actions physiologiques très variées, à partir d'un même motif cystéine. (26) (38) (39)



**Figure 13 :** Régions hypervariables des conotoxines : Le précurseur des conotoxines est constitué d'une région conservée et d'une autre qui correspond à la séquence des toxines. Ces dernières renferment un arrangement d'acides aminés cystéine conservé (C-C-CC-C-C) et des séquences d'acides aminés (symbolisé par les dés) « hypervariables » (en haut). Les conotoxines matures sont obtenues après coupure du précurseur (à l'endroit de la flèche). Elles se replient alors par formation de ponts disulfure, qui s'établissent entre atomes de soufre des résidus cystéine. (26)

### **3.3. Activités pharmacologiques des familles de conotoxines**

Chez les cônes, La nécessité d'immobiliser une proie a favorisé, au cours de l'évolution, la sélection de conotoxines ayant pour rôle de perturber le système nerveux. La zone de contact entre les ramifications des nerfs et les fibres musculaires, appelée jonction neuro-musculaire, est la cible la plus vulnérable et la plus accessible. La transmission de l'influx nerveux des trois proies possibles des cônes, poissons, mollusques et vers, y est réalisée à l'aide du neuromédiateur acétylcholine. On peut raisonnablement penser que la plupart des conotoxines sont dirigées vers les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, ou vers tout autre récepteur pré- ou postsynaptique pouvant altérer le bon fonctionnement de la jonction neuro-musculaire. **(26) (29)**

Rappelons brièvement les événements qui se succèdent lors de la transmission synaptique de l'influx nerveux (potentiel d'action) au niveau de la jonction neuro-musculaire **(figure 14) (29)** :

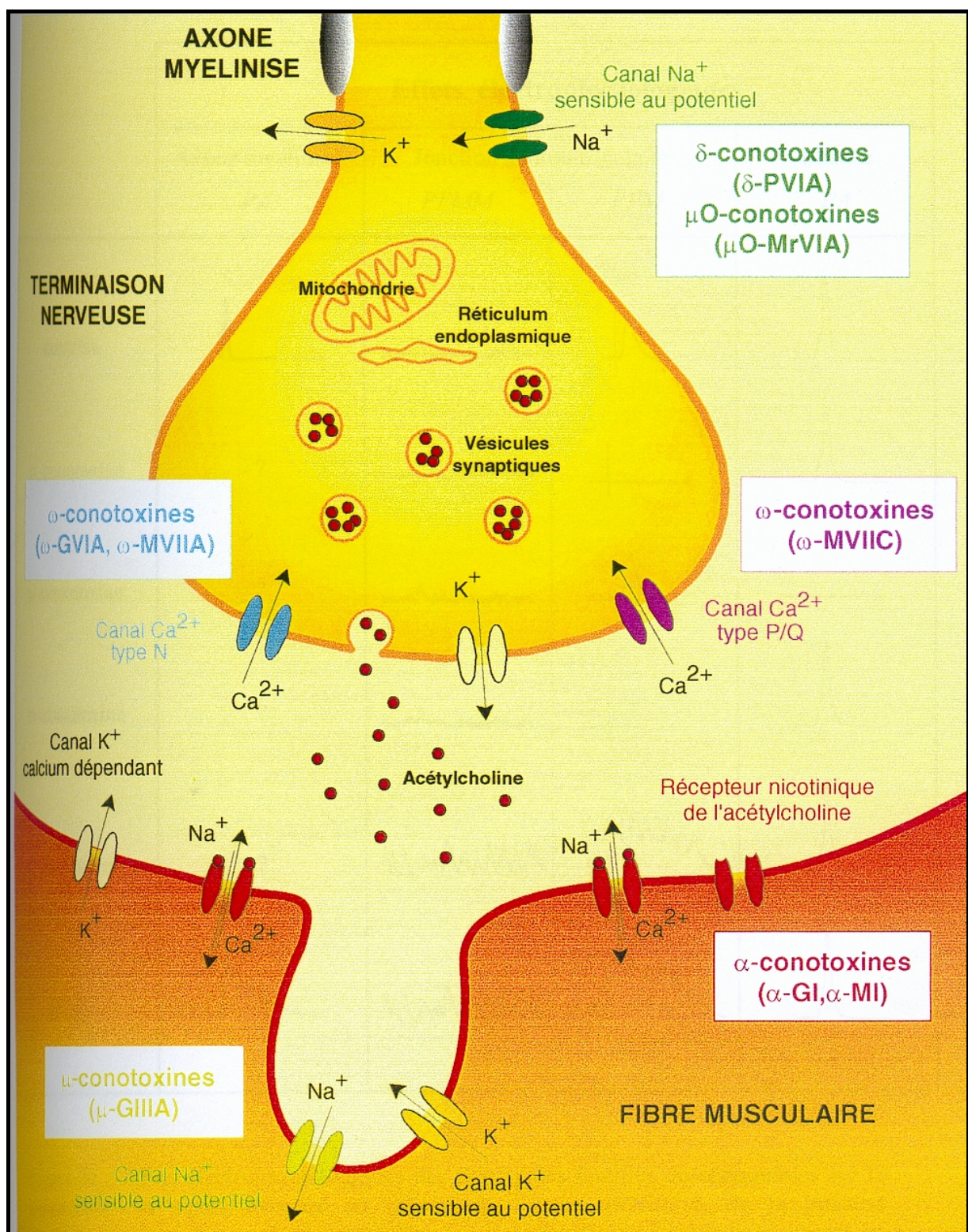
- Lorsque le potentiel d'action, après s'être propagé le long de l'axone par les dépolarisations successives de la membrane, atteint l'extrémité axonale, il provoque l'ouverture transitoire des canaux calcium présynaptiques. Les ions calcium extérieurs pénètrent donc massivement à travers la membrane présynaptique. L'augmentation de concentration de ces ions déclenche la libération d'acétylcholine dans la fente synaptique ;
- ce neuromédiateur est capté par les récepteurs de celui-ci, ancrés dans la

membrane postsynaptique ;

- ces récepteurs laissent alors passer des ions. La dépolarisation locale atteignant le seuil d'excitabilité de la fibre, elle engendre un potentiel d'action musculaire, activant la machinerie de la contraction.

Ainsi l'émission d'un potentiel d'action axonal entraîne normalement une seule contraction de la fibre musculaire. Mais lorsque les conotoxines agissent au niveau présynaptique, elles font en sorte que les contractions persistent, créant une paralysie rigide chez la proie. Par contre, lorsqu'elles agissent au niveau postsynaptique, elles bloquent la transmission neuro-musculaire, provoquant une paralysie flasque.





**Figure 14 :** Schéma représentant les modes d'actions des grandes familles de conotoxines. (29)

### **3.3.1. Familles ciblant des récepteurs canaux**

#### **-Les $\alpha$ - et les $\alpha$ A-conotoxines**

Les récepteurs de l'acétylcholine sont pharmacologiquement divisés en deux classes, nicotinique et muscarinique. Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine contrôle directement un canal cationique alors que le récepteur muscarinique agit sur différents canaux ioniques par l'intermédiaire d'une protéine G. Uniquement composé des sous-unités  $(\alpha)_2 \beta \gamma \delta$  dans le muscle, la composition pentamérique du récepteur dans les neurones est beaucoup plus complexe. **(13)**

Les  $\alpha$ -conotoxines, les plus petits peptides de la famille des conotoxines, inhibent de façon compétitive les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine de type musculaire ou neuronal. Leur diversité et leur interaction spécifique avec certains sites de liaison de l'acétylcholine en font des outils uniques et précieux pour caractériser les récepteurs nicotiniques. **(9)**

Les  $\alpha$ -conotoxines agissant sur les récepteurs nicotiniques musculaires : On trouve systématiquement au moins une de ces conotoxines dans le venin des espèces de cônes piscivores, ce qui tend à prouver que celles-ci demeurent indispensables à la paralysie des poissons. Ce sont toutes de redoutables et puissantes toxines paralysantes chez le poisson et chez la souris. On y trouve des  $\alpha$ - et des  $\alpha$ A-conotoxines. **(34) (19)**

Les  $\alpha$ -conotoxines agissant sur les récepteurs nicotiniques neuronaux : Elles sont très intéressantes pour la recherche car elles sont capables de cibler sélectivement certains sous-types de récepteurs nicotiniques neuronaux. **(32)**

#### **- Les $\psi$ -conotoxines**

Seule la  $\psi$ -conotoxine PIIIIE, extraite du venin de *Conus purpurascens*, est actuellement référencée dans cette famille. Elle possède une structure très similaire aux  $\mu$ -conotoxines mais avec un rôle pharmacologique différent : c'est un inhibiteur des récepteurs neuromusculaires de l'acétylcholine, comme les  $\alpha$ -conotoxines, mais cet antagonisme est ici non compétitif. **(34)**

#### **- Les $\sigma$ -conotoxines**

Une seule  $\sigma$ -conotoxine est actuellement référencée. Ce peptide, nommé  $\sigma$ -conotoxine GVIII A, a été isolé et purifié à partir du venin de *C. geographus* pour son activité antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>3</sub>. Cette action s'exerce de façon sélective et compétitive. Son rôle, encore mal connu, serait de s'opposer à l'action de la sérotonine qui agit physiologiquement sur les récepteurs 5-HT<sub>3</sub>. **(11)**

#### **- Les $\rho$ -conotoxines**

Les  $\rho$ -conotoxines sont des inhibiteurs des récepteurs  $\alpha_1$  adrénergiques. Cette famille a été découverte récemment par la  $\rho$ -conotoxine TIA, isolée de *C. tulipa*. **(49)**



### **3.3.2. Familles ciblant des canaux ioniques sensibles au potentiel**

#### **- Les $\omega$ -conotoxines**

Les canaux calcium sensibles au potentiel régulent l'entrée de calcium du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Ce processus de régulation intervient notamment au cours de la libération de neurotransmetteurs, du métabolisme cellulaire et de l'expression de gènes. A ce jour, on connaît six sous-types de récepteurs des canaux calcium sensibles au potentiel nommés T, L, N, P, Q et R, chaque « sous-type » étant différencié par ses propriétés biophysiques ou pharmacologiques. Les  $\omega$ -conotoxines ont la propriété de bloquer certains sous-types avec une très bonne sélectivité. **(13)**

Le premier peptide de la famille à être étudié fût l' $\omega$ -conotoxine GVIA, de *Conus geographus*. Il induit des tremblements chez la souris. Il est aujourd'hui commercialisé et utilisé dans des centaines de laboratoires comme la référence pour caractériser les canaux calcium sensibles au potentiel de type N. **(36) (40)**

Le venin de *C. magus* a permis la caractérisation de quatre autres  $\omega$ -conotoxines dont les  $\omega$ -MVIIC et  $\omega$ -MVIIA. La première permet de caractériser les canaux calcium type P/Q. La seconde, qui fait beaucoup parler d'elle dans l'industrie du médicament, présente des propriétés pharmacologiques similaires à celles de l' $\omega$ -GVIA (canaux calcium type N). **(40)**

De nombreuses autres  $\omega$ -conotoxines ont été isolées du venin de cônes. Ces toxines ont été moins étudiées que les  $\omega$ -conotoxines citées précédemment, mais certaines, tel la CnVIIA de *C. consors* **(29)**, ou la CVID de *C. catus* **(30)** semblent avoir des propriétés passionnantes pour la recherche.

### **- Les $\epsilon$ -conotoxines**

Dans cette famille, une seule conotoxine est référencée : l' $\epsilon$ -TxIX. Elle a été isolée du venin de *Conus textile*. En sa présence, l'influx de calcium dans les terminaisons nerveuses présynaptiques et la libération d'acétylcholine sont diminués. Seul 55% de la réduction de libération du neurotransmetteur sont attribuables à la diminution du flux de calcium. Cette conotoxine agirait donc sur les canaux calcium présynaptiques, mais peut-être également sur d'autres récepteurs. (45)

### **- Les $\mu$ -, $\mu$ O-conotoxines et les $\delta$ -conotoxines**

Les canaux sodium sensibles au potentiel sont des protéines transmembranaires présentes dans un grand nombre de cellules excitables. Ces canaux ioniques, en augmentant la perméabilité au sodium, sont responsables de la formation et de la propagation des signaux électriques à la surface de la plupart des cellules excitables telles que les cellules nerveuses, musculaires, cardiaques et neuroendocrines. Figurant comme un élément clé de l'excitabilité membranaire, les canaux sodium sont la cible d'un grand nombre de toxines d'origine animale et végétale. Les effets physiologiques et les études de liaison compétitive au niveau du canal sodium ont permis de classer ces toxines en six classes distinctes (sites 1 à 6). Les toxines entrant en compétition de liaison sur le récepteur font partie d'une même classe, ce qui ne signifie cependant pas que la fixation ait lieu sur le même site. À ce jour, trois familles de conotoxines altérant le fonctionnement du canal sodium ont été mises en évidence. Les  $\mu$ -conotoxines bloquent la conductance ionique en se fixant sur le site 1. Les  $\mu$ O-conotoxines inhibent la conductance du canal mais leur site de fixation reste à identifier. Enfin, les  $\delta$ -conotoxines inhibent la phase d'inactivation du courant sodium et définissent le site 6. (13)

La  $\mu$ -conotoxine GIIIA, isolée de *Conus geographus*, bloque de manière réversible les canaux sodium des muscles squelettiques sans affecter les canaux sodium neuronaux. Le site 1 a été caractérisé comme son site de fixation. La  $\mu$ -GIIIA, facilement accessible par la synthèse peptidique et au radiomarquage par l'iode 125 est aujourd'hui un outil indispensable pour discriminer et étudier les canaux sodium. D'autres  $\mu$ -conotoxines présentent des sélectivités différentes, ce qui permet de différencier pharmacologiquement de nouveaux canaux sodium. C'est le cas notamment de la  $\mu$ -conotoxine PIIIA, récemment isolée de *C. purpurascens*, et qui permet de distinguer trois types de canaux sodium. **(29)**  
**(61)**

Les  $\mu$ O-conotoxines MrVIA et MrVIB, isolées du cône malacophage *Conus marmoreus*, sont composées d'un motif cystéine tout à fait différent de celui des  $\mu$ -conotoxines. Bien que ces deux familles montrent les mêmes effets de blocage du canal sodium, elles ont cependant pour cible des récepteurs différents. En effet, la toxine  $\mu$ O-MrVIA bloque efficacement les canaux sodium neuronaux de mammifères qui restent insensibles à l'action de la  $\mu$ -GIIIA. Le blocage du canal s'effectue par un mécanisme moléculaire différent de celui induit par les  $\mu$ -conotoxines. **(12)**

Les  $\delta$ -conotoxines agissent également sur les canaux sodiques, mais sur le site 6. Elles possèdent une structure différente des  $\mu$ -conotoxines mais assez proche des  $\mu$ O-conotoxines, avec une forte hydrophobicité. Les  $\delta$ -conotoxines altèrent le canal sodium en inhibant le processus d'inactivation du courant. D'un point de vue physiologique, cela se traduit par des potentiels d'action répétés au niveau de la terminaison nerveuse et/ou un allongement de la durée du potentiel d'action. In vivo, les  $\delta$ -conotoxines provoquent le plus souvent un effet excitotoxique caractérisé par une hyperactivité et/ou une paralysie tétanique

(13). La première  $\delta$ -conotoxine isolée (la  $\delta$ -TxVIA du venin de *Conus consors*) fut d'abord appelée King Kong peptide pour ses symptômes engendrés en injection chez le homard, l'animal se dressant sur ses pattes arrières, pinces écartées (61). Depuis, de nombreuses  $\delta$ -conotoxines ont été étudiées.

### - L'excitotoxine CcTx

La CcTx a été isolée du venin de *Conus consors*. Elle est extrêmement toxique chez le poisson et la grenouille, mais se montre sans danger chez les mammifères. Elle est capable d'activer sélectivement les canaux sodium neuronaux voltage-dépendant au potentiel de repos, ce qui provoque une entrée de sodium dans les terminaisons nerveuses et les axones sans affecter directement les canaux sodium du muscle squelettique. La CcTx appartient donc à une nouvelle famille de conotoxines. (27)

### - Les $\kappa$ - et $\kappa_A$ -conotoxines

Les canaux potassium, comme les canaux sodium, sont des canaux protéiques transmembranaires s'ouvrant lorsque la membrane est dépolarisée, Ils aident à la restauration de l'état de repos après la dépolarisation. Lorsqu'une membrane subit un potentiel d'action, l'entrée des ions  $\text{Na}^+$  est suivie d'une sortie d'ions  $\text{K}^+$ . La repolarisation de la membrane s'effectue par la sortie des ions  $\text{K}^+$  et non des ions  $\text{Na}^+$ . (29)

La  $\kappa$ -conotoxine  $\kappa$ -PVIIA, peptide isolé du venin du cône piscivore *C. purpurascens*, est le premier conopeptide à bloquer les canaux potassium de type “*shaker*” sensibles au potentiel. Elle aurait un rôle dans l'immobilisation de la proie par choc excitotoxique. (55) (20)

La  $\kappa$ A-conotoxine SIVA, isolée de *Conus striatus*, bloque partiellement les canaux potassium de type “ *shaker* ”. Cependant, la cible physiologique de haute affinité de la toxine n'a pas encore été identifiée. (13)

### **3.3.3. Autre famille**

Il existe également une famille de conotoxines, découverte récemment, qui n'agit pas sur des récepteurs. Ce sont les  $\chi$ -conotoxines, inhibiteurs des transporteurs de la noradrénaline. Ils agissent de façon sélective, non compétitive et réversible. Cette famille a été découverte par la  $\chi$ -conotoxine MrIA, isolée de *C. marmoreus*, qui inhibe les transporteurs de la norépinéphrine, sans avoir d'activité pour les transporteurs de la dopamine et de la sérotonine. (49)

## **3.4. Effets des combinaisons de conotoxines**

Le succès de la prédation est assuré par la combinaison de plusieurs conotoxines. Ces dernières varient en fonction du type de chasse adopté par le cône.

### **3.4.1. Pêche au harpon et paralysie rigide**

Baldomero Olivera a démontré, en étudiant le venin de *Conus purpurascens* que la paralysie rigide, encore nommée choc excitotoxique (cf. première partie) est assurée par la combinaison d'au moins deux peptides : une  $\delta$ -conotoxine et une  $\kappa$ -conotoxine (55).

La  $\delta$ -conotoxine se fixe sur les canaux sodium présynaptiques et en empêche la fermeture. A la jonction neuromusculaire, cette action se manifeste par une forte entrée d'ions sodium dans la terminaison et par conséquent, par une dépolarisation prolongée de la membrane présynaptique. Ceci engendre l'ouverture des canaux calcium puis une cascade d'événements aboutissant à la contraction musculaire. La dépolarisation maintenue sous l'action de la  $\delta$ -conotoxine se traduit donc par des contractions répétées du muscle. Selon B.Olivera, une  $\kappa$ -conotoxine agit alors en synergie puisqu'en bloquant la sortie des ions potassium, elle renforce la dépolarisation et donc les contractions musculaires répétées. Cela aboutit à une tétanie (paralysie rigide) de la proie. **(55) (26) (42)**

### **3.4.2. Pêche au harpon et paralysie flasque**

Le deuxième symptôme provoqué par l'injection du venin de *Conus purpurascens* se caractérise par une paralysie flasque du poisson. Son entrée en action est plus longue que le précédent. Dans le cas de ce cône, au moins trois toxines agissent en synergie pour bloquer la transmission neuromusculaire : une  $\alpha$ - et une  $\psi$ -conotoxine qui bloquent toutes les deux des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, et une  $\mu$ -conotoxine, qui bloque les canaux sodium du muscle squelettique. Ici, les toxines n'agissent plus sur les terminaisons nerveuses (présynaptiques), mais sur les fibres musculaires (postsynaptiques). L' $\alpha$ - et la  $\psi$ -conotoxine bloquent la transmission neuromusculaire alors que la  $\mu$ -conotoxine bloque directement l'émission des potentiels d'action musculaire. Ainsi, l'action simultanée de ces toxines se traduit par un blocage de la contraction musculaire donc par une paralysie flasque. **(55) (26)**

### 3.4.3. La pêche au filet

Ici, c'est *Conus geographus* qui a été étudié par B.Olivera. La stratégie de ce cône ne nécessite pas de conotoxines de type  $\delta$ ,  $\kappa$  ou CcTx, qui provoquent un choc excitotoxique et une immobilisation rapide. On trouve chez ce mollusque des conotoxines de type  $\alpha$ ,  $\mu$  et  $\omega$  qui agissent en synergie afin de bloquer la transmission neuromusculaire de la proie. Par ailleurs, B.Olivera a montré qu'au niveau du système nerveux central, trois autres toxines agissent en synergie : une  $\sigma$ -conotoxine, la conantokine-G et la contulakine-G. Elles inhiberaient le « circuit sensoriel » des proies, les plongeant dans un état de sédation. Les poissons, piégés par la bouche de *Conus geographus*, seraient dans cet état léthargique avant même d'être paralysés par les conotoxines de type  $\alpha$ ,  $\mu$  ou  $\omega$ .

**(41) (26) (55)**

### **III- APPLICATIONS THERAPEUTIQUES**

Les peptides du venin des cônes, au cours de leur évolution sur 60 millions d'années, ont été optimisés pour cibler des canaux ioniques ou des récepteurs avec la plus grande affinité et la plus grande sélectivité possible. Les conotoxines constituent par conséquent des outils particulièrement recherchés en neurobiologie pour l'étude de la distribution des canaux récepteurs. Elles permettent également le diagnostic de certaines maladies où s'expriment des récepteurs anormaux. Mais ces propriétés intéressent aussi les pharmacologues et la recherche pharmaceutique.

Beaucoup de substances naturelles sont potentiellement utilisables comme agents thérapeutiques, mais la plupart d'entre elles n'ont pas une spécificité suffisante pour leur récepteur cible, ce qui est responsable d'effets secondaires indésirables. Les pharmacologues recherchent de nouvelles substances plus spécifiques. Dans ce contexte, les peptides des venins de cônes ont un incroyable potentiel pour l'élaboration de nouveaux médicaments. Leur synthèse est en plus facilement accessible du fait de leur petite taille. Les conotoxines permettent également de développer indirectement de nouveaux médicaments. Ainsi, l'étude des relations structure-activité entre un peptide et son site récepteur apporte les bases nécessaires à l'élaboration d'analogues non peptidiques. (51)

Voici en 2004 les toxines les plus prometteuses pour leurs applications thérapeutiques.



## **1. Prialt™, Ziconotide ( $\omega$ -conotoxine MVIIA)**

L' $\omega$ -conotoxine MVIIA, isolée de *C. magus*, a tout d'abord été développée par la société américaine Neurex, pour le traitement des douleurs chroniques sévères et des ischémies cérébrales. Elle fût renommée SNX-111. En 1998, la société irlandaise Elan Corporation a racheté Neurex et a rebaptisé le SNX-111 en ziconotide (dénomination commune internationale). Récemment, Elan a donné un nom de commercialisation au ziconotide : Prialt™.

Le Prialt™ devrait être le premier médicament ayant pour principe actif une toxine de venin de cône à être commercialisé.

- La toxine est découverte en 1979.
- La phase I des essais cliniques, qui étudie la toxicité chez l'homme, débute en 1995. Elle montre une bonne tolérance du SNX-111, malgré quelques problèmes d'hypotensions orthostatiques avec syncope lors de l'administration en IV de doses importantes.
- En janvier 1996 sont alors lancés les essais de phase II et III afin d'en étudier son efficacité en double aveugle dans des douleurs sévères et réfractaires de cancers et SIDA.
- Le ziconotide obtient la NDA (New Drug Application) en 1999.
- En 2001, les résultats publiés des phases II et III montrent que la moyenne des scores douloureux s'est améliorée de 52,9 % avec le ziconotide contre 17,5 % pour le placebo.
- En novembre 2001 la FDA (Food Drug Administration) demande de nouveaux essais de phase III de la molécule mais à des doses plus faibles. Les résultats s'avèrent à nouveau positifs.

- La société Elan dépose un amendement à la FDA en juin 2004 pour une demande d'autorisation de mise sur le marché américain du Prialt™ en tant que traitement des douleurs chroniques sévères. Le temps de réponse devrait être d'environ 6 mois.
- Le Prialt™ pourrait être commercialisé aux Etats-Unis durant le premier trimestre 2005. Son prix de revient est élevé. **(63) (69) (54)**

Mode d'action : Les canaux calcium de type N régulent la libération de neurotransmetteurs au niveau des synapses centrales et périphériques. Une forte densité de ces canaux est présente dans la moelle épinière où arrivent les terminaisons des fibres nociceptives A $\delta$  et C. Cette observation a permis d'envisager l'utilisation d'antagonistes des canaux calcium de type N tels que l' $\omega$ -conotoxine MVIIA, pour supprimer la douleur. **(26)**

Indications et efficacité : Le Prialt™ est un analgésique puissant. Son efficacité est donnée comme 1000 fois supérieure à celle de la morphine **(54)**. Il réduit entre autres les douleurs neuropathiques, inflammatoires, nociceptives, cancéreuses, post-opératives, ainsi que les fibromyalgies. Il est efficace pour les patients ayant des douleurs résistantes aux opioïdes. **(57)**

Le ziconotide est également un excellent neuroprotecteur. L'accumulation excessive de calcium intracellulaire est en partie responsable de la dégénérescence neuronale après une ischémie cérébrale (une insuffisance d'oxygénation après un AVC notamment). Certaines conotoxines de type  $\omega$ , en inhibant des canaux calcium, sont efficaces sur des modèles expérimentaux d'ischémie chez l'animal : la conotoxine  $\omega$ -MVIIA prévient la destruction des neurones, même quand elle est injectée plusieurs heures après un choc ischémique provoqué. **(26) (2) (6)**

Pharmacocinétique : Le temps de demi-vie du ziconotide est de 4,5 heures dans le liquide cérébro-spinal. L'effet analgésique est dose-dépendant, mais les effets secondaires également. **(58)**

Toxicité : Des essais ont été effectués avec des doses 300 fois supérieures aux doses thérapeutiques. Ils ont démontré une très grande marge de sécurité pour le Prialt™. **(7)**

Effets secondaires : Aux doses thérapeutiques, le Prialt™ ne provoque pas de fortes sédations, ni de dépression respiratoire, ni de diminution du transit intestinal comme les opioïdes. Les administrations sur de longues périodes ne produisent pas d'effet d'addiction, de désensibilisation ou d'augmentation de tolérance et il ne présente pas d'intérêt pour les toxicomanes. Sur tous ces aspects, le Prialt™ est donc une révolution. Mais il faut se montrer prudent car le Prialt™ possède de nombreux autres effets secondaires (réversibles et dose-dépendant) et les conséquences à long terme ne sont pas encore connues. Voici les principaux effets indésirables du ziconotide : **(43) (57) (54)**

- Troubles cardiovasculaires : bradycardie, hypotension orthostatique.
- Troubles gastro-intestinaux : nausées, vomissements, diarrhée, constipation, goût métallique dans la bouche.
- Troubles du système nerveux central : nystagmus, vertige, confusion, agitation, somnolence, hallucinations, ataxie.
- Troubles urologiques : rétention urinaire.
- Troubles divers : fièvre, rash cutané, hypoglycémie, congestion nasale...

Mode d'administration : Le Prialt™ agit au niveau du cerveau ou de la moelle épinière. Il faut donc qu'il se trouve du côté cérébral de la barrière hémato-encéphalique. Malheureusement, le Prialt™ comme la plupart des peptides,

passer très mal cette barrière. L'administration par voie orale et les injections en périphérique sont donc inutilisables. Il faut injecter le Prialt™ directement dans la moelle épinière (en intrathécal). Les chercheurs travaillent actuellement sur des modifications structurales du peptide afin de corriger ce défaut. (69)

## **2. CGX-1007 (conantokine G)**

La société biopharmaceutique américaine Cognetix étudie la conantokine G pour ses propriétés anti-convulsivantes dans les formes d'épilepsies résistantes aux traitements actuels. Elle l'a renommée CGX-1007 ou con-G.

La conantokine G, isolée du venin de *C. geographus*, est un antagoniste des récepteurs NMDA au glutamate, avec plus ou moins de spécificité pour la sous-unité NR2B. Les essais pré-cliniques chez l'animal ont montré d'importantes propriétés anti-épileptiques, avec très peu de toxicité. Le CGX-1007 est actuellement en phase I des essais cliniques chez l'homme pour cette indication. Dans les convulsions engendrées par une crise d'épilepsie, il se produit un déséquilibre dans la balance des transmissions inhibitrices et excitatrices, avec une augmentation de l'activité des neurones excitateurs. Le glutamate, qui est le principal neurotransmetteur excitateur, est alors libéré de façon excessive. Il est responsable en grande partie de ces convulsions. La sous-unité NR2B des récepteurs au NMDA aurait par ailleurs un rôle primordial dans les crises épileptiques secondaires généralisées. L'activité inhibitrice des récepteurs NMDA au glutamate de la con-G explique son rôle anti-convulsivant. (44) (3)

Le CGX-1007 a l'inconvénient de devoir être administré par voie intrathécale (injection directement dans l'espace autour de la moelle épinière) car il ne passe pas la barrière hémato-encéphalique. Il pourrait être injecté à l'aide du système

SynchroMed®, qui se présente sous la forme d'une petite pompe implantée dans l'abdomen et reliée à un cathéter délivrant le médicament en un site précis de l'organisme. Chez l'animal, la con-G agit rapidement (1 à 3 minutes) et durablement (2-4 heures). Il ne présenterait aucune toxicité majeure à des doses bien supérieures aux doses thérapeutiques. (4)

Par ailleurs, la conantokine G pourrait s'avérer utile dans la maladie de Parkinson. En 2000, une publication a montré que l'association de L-dopa et de CGX-1007 prolonge l'effet de la L-dopa et réduit, lors des traitements de longue durée ou à fort dosage, ses effets secondaires. (1)

Une publication récente étudie chez le rat une autre indication possible pour la contulakine G. A la suite d'une ischémie cérébrale, les cellules en transition entre la vie et la mort se mettent à exprimer anormalement les gènes c-fos et bcl-2. Il a été prouvé que cette réaction est corrélée à la mort de la cellule. Or la conantokine G réduit l'expression de ces gènes, apportant ainsi une neuroprotection au cours des ischémies cérébrales. (59)

### **3. CGX-1160 (contulakine G)**

La contulakine G est un antagoniste des récepteurs à la neurotensine. La société Cognetix a déposé un brevet en 2002 pour cette toxine, sous le nom de CGX-1160, pour toutes les douleurs chroniques et aiguës. Cette société cherche pour l'instant à la commercialiser dans le traitement à court terme des douleurs post-chirurgicales. Elle a demandé la collaboration de la société Elan pour pouvoir administrer le CGX-1160 avec le MEDIPAD® (système de délivrance de médicaments déposé par Elan et qui se présente sous la forme d'un dispositif jetable diffusant en sous-cutané de grandes quantités de principe actif).

En décembre 2002, la société Cognetix a révélé ses premiers résultats pour la phase I des essais cliniques. Ceux-ci portaient sur la sécurité d'emploi et la pharmacocinétique du CGX-1160 en intraveineuse chez l'homme sain. Au total, 48 patients volontaires ont été étudiés, dont 36 sous CGX-1160 et 12 sous placebo. Aucun effet secondaire sérieux n'a été observé.

Les essais sur les animaux ont révélé l'efficacité du CGX-1160 dans les douleurs aiguës, persistantes, inflammatoires chroniques, post-chirurgicales ou neurogènes. Ces essais ont également montré une grande marge de sécurité entre la dose thérapeutique et la dose toxique, pour les animaux étudiés, ainsi qu'une longue durée d'analgésie. (68)

#### **4. ACV1 ( $\alpha$ -Conotoxine Vc1.1)**

L'  $\alpha$ -Conotoxine Vc1.1, isolée de *C. victoriae*, est étudiée par la société australienne de biotechnologie Metabolic Pharmaceuticals Limited, pour ses propriétés analgésiques. Metabolic a renommé cette toxine ACV1. Elle devrait entrer en phase I des essais cliniques (étude de toxicité chez des hommes sains volontaires) durant le dernier trimestre 2004 (Tableau IV). (66)

Efficacité pré-clinique	Sécurité pré-clinique	Phase I	Phase II	Phase III	Mise sur le marché

**Tableau IV** : Situation en septembre 2004 de l'ACV1 dans les différentes phases nécessaires à une mise sur le marché. En rouge les phases achevées, en bleu les phases à effectuer. (66)

L'ACV1, découverte par le professeur Bruce Livett et ses collaborateurs, a un mode d'action très différent des autres analgésiques existants. D'autres toxines provenant du venin de cônes sont en cours d'études pour le traitement de la douleur (Prialt™, Xen2174,...), mais aucune ne provient de la famille des  $\alpha$ -conotoxines. Pour cela, Metabolic Pharmaceuticals a déposé un brevet valable jusqu'en 2022 en partenariat avec Bruce Livett, pour son composé ACV1 mais aussi pour toute autre principe actif utilisé dans le traitement de la douleur avec ce même mode d'action. **(66)**

L'ACV1 est un inhibiteur compétitif des récepteurs nicotiques neuronaux. Il supprime également la réponse vasculaire engendrée par les nerfs sensitifs non myélinisés. Cette réponse vasculaire est impliquée dans la transmission des messages douloureux. L'ACV1 s'avérerait ainsi très efficace dans les douleurs chroniques périphériques, y compris les formes particulièrement sévères et difficiles à traiter que sont les douleurs neuropathiques. La première indication de l'ACV1 pourrait donc concerner les douleurs neurogènes du diabétique, une affection assez fréquente pour laquelle aucun traitement n'est suffisamment efficace. **(47)**

L'ACV1 semblerait, contrairement aux  $\omega$ - et  $\chi$ -conotoxines, ne présenter aucune contre-indication à son administration par des voies plus classiques comme l'injection sous cutanée. Les premiers essais chez l'animal ne montrent pas de toxicité majeure lors de l'utilisation d'une dose cent fois supérieure à la dose thérapeutique. D'autres essais sur les rats ont enfin montré une accélération du temps de réparation de nerfs altérés. **(66)**

## **5. Xen2174 ( $\gamma$ -conotoxine MrIA)**

La  $\gamma$ -conotoxine MrIA, isolée de *C. marmoratus*, a été renommée Xen2174 par la société de biotechnologie australienne « Xenome Limited » qui cherche à le développer pour le traitement des douleurs sévères liées aux cancers.

Le Xen2174 représente une nouvelle classe de conotoxine qui agit sélectivement comme inhibiteur des transporteurs de la norépinéphrine. Ces transporteurs servent à la recapture de la norépinéphrine. La présence de Xen2174 augmente donc les quantités de norépinéphrine.

Dans la moelle épinière, la norépinéphrine est le neurotransmetteur dominant pour l'activation des voies inhibitrices descendantes de la douleur. L'administration de Xen2174 en intrathécal (injection dans l'espace autour de la moelle épinière) va activer ces voies inhibitrices, empêchant le signal de la douleur de monter au cerveau. **(50) (49)**

Dans les essais sur les animaux, le Xen2174 a démontré un effet de soulagement de la douleur supérieur à celui de la morphine. Il est efficace pour les douleurs associées à des lésions nerveuses comme les zones, les neuropathologies des diabétiques, le SIDA, les cancers.

Xenome a annoncé en juillet 2004 le début de la phase I des essais cliniques. C'est un essai randomisé, contrôlé par placebo, en double aveugle, avec doses croissantes, employant une vingtaine d'hommes sains. Le but de cet essai est de déterminer la sécurité d'emploi et la tolérance du Xen2174 après administration intraveineuse. D'autres aspects comme la pharmacocinétique et les effets anti-nociceptifs seront également examinés. Les résultats devraient être disponibles



dans le dernier quart de l'année 2004. Si ils s'avèrent positifs, d'autres tests cliniques pour des patients cancéreux avec des douleurs rebelles sont déjà planifiés. (65)

## **6. AM336 ( $\omega$ -conotoxine CVID)**

La société australienne de recherche et de développement en biotechnologie Amrad Corporation Limited, étudie actuellement l' $\omega$ -conotoxine CVID, renommée AM336, pour le traitement des douleurs sévères, résistantes aux traitements par la morphine ou autres opiacés. (53)

L' $\omega$ -conotoxine CVID, isolée récemment de *C. catus*, est assez proche de l' $\omega$ -conotoxine MVIIA (30). Lors de son administration en intrathécal chez le rat, elle a montré un pouvoir analgésique identique à celui de l' $\omega$ -conotoxine MVIIA, mais avec moins de toxicité aux doses thérapeutiques (48).

La phase I/II des essais cliniques concernant la sécurité d'emploi de l'AM336 chez l'homme a été achevée avec succès en février 2002. L'étude a montré par ailleurs le potentiel de ce composé à réduire des douleurs rebelles aux analgésiques actuels. Les résultats encourageants de ces essais ont conduit l'AM336 aux stades suivants de développement à savoir une phase II complète. Celle-ci a débuté courant 2002. (67)

## **7. CGX-1051 ( $\kappa$ -conotoxine PVIIA)**

La  $\kappa$ -conotoxine PVIIA, isolée de *Conus purpurascens*, agit sur les canaux potassium. Elle a été renommée CGX-1051 par la société Cognetix qui l'étudie.

Le rôle important des canaux potassium dans la physiologie cardiaque a conduit à une étude très récente sur les effets du CGX-1051 chez le lapin, lors d'un infarctus du myocarde (60). On crée une ischémie d'une branche coronaire durant 30 minutes puis on procède à une reperfusion de 3 heures « in situ » sur des lapins et de 2 heures « in vitro » sur des préparations de cœur de lapin. La reperfusion coronaire est reconnue comme étant la seule méthode permettant de réduire la taille de l'infarctus, à condition d'être entreprise suffisamment tôt. On mesure ensuite l'étendue de l'infarctus par un pourcentage de zone de risque. Une injection intraveineuse en bolus de CGX-1051 à 100 µg/kg 5 minutes avant la reperfusion diminue l'infarctus de 40% de zone de risque à 15%. Cette même dose injectée 10 minutes après le début de la reperfusion n'a aucun effet. Le CGX-1051 ne provoque par ailleurs aucune altération hémodynamique aux doses testées. En conclusion, le CGX-1051 est donc un puissant anti-infarctus lorsqu'il est administré juste avant la reperfusion.

## **8. ω-conotoxine GVIA**

L'ω-conotoxine GVIA, isolée de *Conus geographus*, est célèbre et commercialisée depuis quelques années dans des centaines de laboratoires comme la référence pour caractériser les canaux calcium sensibles au potentiel de type N. Mais elle permet également le diagnostic d'une maladie rare : le LEMS.

Le syndrome myasthénique de Lambert-Eaton (LEMS) est une maladie auto-immune, souvent associée au cancer du poumon à petites cellules, dans laquelle des auto-anticorps ciblent certains canaux calcium des terminaisons nerveuses. La personne souffre alors d'une fatigabilité musculaire, voire d'une paralysie.

Certaines  $\omega$ -conotoxines, et notamment l' $\omega$ -conotoxine GVIA, permettent le diagnostic de ce syndrome. En effet, en mélangeant des canaux calcium solubilisés et marqués par une  $\omega$ -conotoxine radioactive avec les sérums des patients atteints du LEMS, on obtient une immunoprécipitation permettant le dosage des auto-anticorps. (40) (52)

Par ailleurs, l' $\omega$ -GVIA pourrait avoir plusieurs rôles thérapeutiques : Elle exerce une neuroprotection lors des ischémies cérébrales en diminuant les quantités excessives de neurotransmetteurs libérés. Elle conserve ce même rôle de neuroprotection au niveau périphérique. En injection dans la moelle épinière, elle permet de diminuer l'hyperexcitabilité neuronale présente à cet endroit au cours des épisodes d'inflammation du genou (44). Une étude a montré récemment une autre perspective intéressante pour cette conotoxine : une petite quantité d' $\omega$ -GVIA combinée à de la morphine en potentialise ses effets. On pourrait ainsi diminuer les doses et donc les effets secondaires de la morphine. (15)

## **9. $\alpha$ -conotoxine ImI**

L' $\alpha$ -conotoxine ImI du cône vermivore *Conus imperialis* interfère sélectivement avec les récepteurs neuronaux nicotiques à l'acétylcholine, qui contiennent le sous-type  $\alpha 7$ . Ces récepteurs sont exprimés par les cellules tumorales du carcinome pulmonaire à petites cellules, une tumeur maligne très agressive. Leur activation provoque la sécrétion d'hormones mutagènes, stimulant la prolifération d'autres cellules cancéreuses.

L' $\alpha$ -conotoxine ImI, en bloquant les récepteurs nicotiques à la surface de ces cellules, induit une inhibition de la libération nicotine-dépendante de

l'hormone, limitant par la même occasion la prolifération cellulaire et le développement de la tumeur (34). Il faudrait administrer cette toxine en aérosol, afin d'atteindre sélectivement les cellules pulmonaires. Elle ne ciblerait alors, tel un médicament intelligent, que les cellules cancéreuses, les cellules pulmonaires normales n'exprimant pas ce récepteur. Une diffusion de ce médicament dans le reste de l'organisme serait très toxique puisque de nombreuses cellules saines possèdent ce récepteur.

## **10. Autres perspectives**

La liste précédente n'est évidemment pas exhaustive, et de nombreuses autres toxines sont en cours d'étude, à des stades plus précoces. Ainsi, par exemple, la conotoxine de synthèse SO-3, dont la structure est inspirée d'une conotoxine de *C. striatus*, possède d'importantes propriétés analgésiques sans addictions chez la souris (10). L' $\omega$ -conotoxine MVIIC pourrait s'avérer très utile dans les ischémies cérébrales (44). L' $\omega$ -conotoxine SVIB aurait des effets anti-nociceptifs chez la souris (35). L' $\alpha$ -conotoxine MII a montré des perspectives intéressantes dans la maladie de Parkinson (44). Les conantokines R, L, et T possèdent comme la CON-G des propriétés anti-convulsivantes (44) ...

Il existerait en tout jusqu'à 50 000 toxines différentes dans le venin des 600 espèces de cônes. Seule une infime partie a été étudiée mais le mode d'action de chaque famille de conotoxines permet de cataloguer les maladies où elles pourraient s'avérer utiles dans les années futures. Ainsi, les  $\alpha$ -conotoxines, qui ciblent les récepteurs neuronaux à l'acétylcholine, seraient intéressantes dans le traitement des affections impliquant ces récepteurs : maladies d'Alzheimer, de Parkinson, la schizophrénie, les cancers du poumon à petites cellules, l'addiction à la nicotine, l'anxiété, la douleur et certaines formes d'épilepsies. On pourrait

également les utiliser pour leurs propriétés myorelaxantes (51). Le tableau suivant récapitule les possibilités thérapeutiques et donc les voies de recherche des principales familles de conotoxines. (Tableau V)

Peptide	Mécanisme d'action	Potentiel thérapeutique
Conantokines	Récepteurs NMDA	Epilepsie, douleur, ischémie cérébrale, Parkinson
$\alpha$ -Conopeptides	Récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine	Anxiété, Parkinson, douleur, relaxant musculaire, hypertension, cancer
$\mu$ -Conopeptides	Canaux sodium du muscle squelettique	Blocage neuromusculaire
$\omega$ -Conopeptides	Canaux calcium	Douleur, ischémie cérébrale
$\kappa$ -Conopeptides	Canaux potassium	Hypertension, arythmie, asthme
Conopressines	Récepteurs à la vasopressine	Régulation de la pression sanguine
Contulakine-G	Récepteurs à la neurotensine	Douleurs, troubles du SNC

**Tableau V** : Potentiel thérapeutique de différentes familles de conotoxines. (51)

## CONCLUSION

Les peptides du venin des cônes, au cours de leur évolution sur 60 millions d'années, ont été optimisés pour cibler des canaux ioniques ou des récepteurs avec la plus grande affinité et la plus grande sélectivité possible. Ces propriétés ont généré un véritable « boom » dans la recherche biomédicale ces dernières années, avec près de 3000 publications depuis 1980, et des perspectives thérapeutiques très prometteuses.

Mais les cônes sont aujourd'hui menacés. Leur habitat, tel le corail tropical ou les mangroves, est de plus en plus dégradé par la pollution, l'urbanisation du littoral, les changements climatiques, les pêches excessives et les plongées. Au niveau mondial, on estime que 26% du corail et 50% des mangroves ont été détruits. Par ailleurs, les cônes souffrent d'un ramassage excessif. Les collectionneurs ne sont pas les seuls responsables. Les chercheurs en utilisent des centaines de milliers tous les ans. Certaines espèces de cône sont ainsi en voie de disparition. **(8)**

Au travers des 600 espèces de cônes, il existerait environ 50 000 toxines différentes. Le genre *Conus* renferme ainsi la plus grande pharmacopée naturelle au monde. Or, seule une infime quantité de ces toxines a été étudiée. Il devient nécessaire de fixer des règles pour le ramassage des cônes, surtout auprès des chercheurs et des sociétés biomédicales, afin de préserver cette espèce et son incroyable potentiel thérapeutique.

## INDEX DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Photographie de quatre variétés de cônes (collection de Mme A. ALLIOT ) .....	5
<b>Figure 2</b> : Photographie de <i>C. textile</i> .....	10
<b>Figure 3</b> : Représentation schématique d'une coupe transversale d'un cône. ...	10
<b>Figure 4</b> : Appareil venimeux d'un cône disséqué.....	10
<b>Figure 5</b> : Schéma de la partie apicale de l'appareil venimeux.....	12
<b>Figure 6</b> : Dent radulaire d'une espèce piscivore ( <i>C. ermineus</i> ) .....	13
<b>Figure 7</b> : Comparaison des dents radulaires chez trois espèces de cônes possédant des régimes alimentaires opposés. ....	16
<b>Figure 8</b> : Les dents radulaires des espèces malacophages comparées à celles des espèces piscivores. ....	16
<b>Figure 9</b> : Les deux différentes stratégies d'envenimation utilisées par les cônes piscivores pour capturer leurs proies.....	20
<b>Figure 10</b> : Séquence de photographies illustrant la capture d'un poisson par <i>C. consors</i> , photographies de J.-J. Soin, dans un aquarium de La Rochelle. ....	22
<b>Figure 11</b> : Méthode développée par C. Hopkins et ses collaborateurs pour la récolte du venin des cônes.....	31
<b>Figure 12</b> : Analyse par chromatographie du venin de <i>Conus magus</i> . ....	33
<b>Figure 13</b> : Régions hypervariables des conotoxines.....	42
<b>Figure 14</b> : Schéma représentant les modes d'actions des grandes familles de conotoxines.....	45

## **INDEX DES TABLEAUX**

<b>Tableau I</b> : Récapitulatif de différentes espèces ayant piqué l'homme .....	25
<b>Tableau II</b> : Récapitulatif des cibles physiologiques pour les grandes familles de conopeptides. ....	35
<b>Tableau III</b> : Motifs cystéine des différentes superfamilles de conotoxines.....	39
<b>Tableau IV</b> : Situation en septembre 2004 de l'ACV1.....	61
<b>Tableau V</b> : Potentiel thérapeutique de différentes familles de conotoxines. ...	68



## **BIBLIOGRAPHIE**

- 1- ADAMS A.C., LAYER R.T., TYLER MCCABE R., KEEFE K.A. (2000) - Effects of conantokins on l-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced behavior and immediate early gene expression. *European Journal of Pharmacology*, vol. 404, p. 303-313.
- 2- AZIMI-ZONOOZ A., KAWA C.B., DOWELL C.D., OLIVERA B.M. (2001) - Autoradiographic localization of N-type VGCCs in gerbil hippocampus and failure of w-conotoxin MVIIA to attenuate neuronal injury after transient cerebral ischemia. *Brain Research*, vol. 907, p. 61-70.
- 3- BARTON M.E., STEVE WHITE H., WILCOX K.S. (2004) - The effect of CGX-1007 and CI-1041, novel NMDA receptor antagonists, on NMDA receptor-mediated EPSCs. *Epilepsy Res*, vol. 59, p. 13-24.
- 4- BIALER M., JOHANNESSEN S.I., KUPFERBERG H.J., LEVY R.H., LOISEAU P., PERUCCA E. (2002) - Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Sixth Eilat Conference (EILAT VI). *Epilepsy Research*, vol. 51, p. 31-71.
- 5- BRANDYOPADHYAY P.K., COLLEDGE C.J., WALKER C.S., ZHOU L.M., HILLYARD D.R., OLIVERA B.M. (1998) – Conantokin-G precursor and its role in gamma-carboxylation by vitamin K-dependent carboxylase from a *Conus* snail. *J. Biol. Chem.*, vol. 273, p. 5447-5450.
- 6- BURNS L.H., JIN Z., BOWERSOX S.S. (1999) - The neuroprotective effects of intrathecal administration of the selective N-type calcium channel blocker ziconotide in a rat model of spinal ischemia. *J. of vascular surgery*, vol. 30, n° 2, p. 334-343.
- 7- CHARAPATA S.G., ELLIS D. (2002) - Unintentional overdose with intrathecal ziconotide. *Pain Medicine*, vol. 3, n°2, p. 189.

- 8- CHIVIAN E., CALLUM M.R., AARON S.B. (2003) - The threat to cone snails. *Science*, vol. 302, p. 391.
- 9- CHO J.H., MOK K.H., OLIVERA B.M., MCINTOSH J.M., PARK K.H., HANK K.H. (2000) – Nuclear magnetic resonance solution conformation of alpha-conotoxin AuIB, an alpha(3)beta(4) subtype-selective neuronal nicotinic acetylcholine receptor antagonist. *J. Biol. Chem.*, vol. 275, p. 8680-8685.
- 10- DAI Q., LIU F., ZHOU Y., LU B., YU F., HUANG P. (2003) - The synthesis of SO-3, a conopeptide with high analgesic activity derived from *Conus striatus*. *J. Nat. Prod.*, vol 66, n°9, 1276-1279.
- 11- ENGLAND L.J., IMPERIAL J., JACOBSEN R., CRAIG A.G., GULYAS J., AKHTAR M., RIVER J., JULIUS D., OLIVERA B.M. (1998) – Inactivation of a serotonin-gated ion channel by a polypeptide toxin from marine snails. *Science*, vol. 281, p. 575-578.
- 12- FAINZILBER M., VAN DER SCHORS R., LODDER J.C., LI K.W., GERAERTS W.P.M., KITS K.S. (1995) – New sodium channel-blocking conotoxins also affect calcium currents in *Lymnacea* neurons. *Biochemistry*, vol. 34, p. 5364-5371.
- 13- FAVREAU P., LE GALL F., MOLGO J. (1999) - Le venin des cônes : source de nouveaux outils pour l'étude de récepteurs et canaux ioniques. *Annales de l'institut Pasteur / actualités*, vol. 10, n° 2, p. 273-284.
- 14- FEGAN D., ANDRESEN D. (1997) - *Conus geographus* envenomation. *The lancet*, vol. 349, p. 1672.
- 15- FUKUIZUMI T., OHKUBO T., KITAMURA K. (2003) - Spinally delivered N-, P/Q- and L-type Ca<sup>2+</sup>-channel blockers potentiate morphine analgesia in mice. *Life Sci.*, vol. 73, p. 2873-2881.
- 16- GOYFFON M., HEURTAULT J. (1995) - La fonction venimeuse, Ed. Masson, Paris, p.45-56.

- 17- GRAY W.R., OLIVERA B.M., CRUZ L.J. (1998) – Peptide toxins from venomous *Conus* snails. *Ann. Rev. Biochem.*, vol. 57, p. 665-700.
- 18- HOPKINS C., GRILLEY M., MILLER C., SHON K.J., CRUZ L.J., GRAY W.R., DYKERT J., RIVER J., YOSHIKAMI D., OLIVERA B.M. (1995) – A new family of *Conus* peptides targeted to the nicotinic acetylcholine receptor. *J. Biol. Chem.*, vol. 270, p. 22361-22367.
- 19- JACOBSEN R., YOSHIKAMI D., ELLISON M., MARTINEZ J., GRAY W.R., CARTIER G.E., SHON K.J., GROEBE D.R., ABRAMSON S.N., OLIVERA B.M., MCINTOSH J.M. (1997) – Differential targeting of nicotinic acetylcholine receptors by novel alpha-conotoxins. *J. Biol. Chem.*, vol. 272, p. 22531-22537.
- 20- JACOBSEN R.B., KOCH E.D., LANGE-MALECKI B., STOCKER M., VERHEY J., VAN WAGONER R.M., VYAZOVKINA A., OLIVERA B.M., TERLAU H. (2000) – Single amino acid substitutions in kappa-conotoxin PVIIA disrupt interaction with the shaker K<sup>+</sup> channel. *J. Biol. Chem.*, vol. 275, p. 24639-24644.
- 21- JIMENEZ E.C., OLIVERA B.M., GRAY W.R., CRUZ L.J. (1996) – Contryhan is a D-tryptophane-containing *Conus* peptide. *J. Biol. Chem.*, vol. 271, p. 28002-28005.
- 22- KOHN A.J. (1963) - Venomous marine snails of the genus *Conus*. *Venomous and poisonous animals and noxious plants of the Pacific area*, Ed Kleegan H. L. and Mac farlane W.V., Pergamon press, Oxford, p. 83-96.
- 23- KOHN A.J. (1983) - Feeding biology of gastropods. *The mollusca*, vol 5, p. 36-37.
- 24- LE GALL F., FAVREAU P., RICHARD G., BENOIT E., LETOURNEUX Y., MOLGO J. (1999) - biodiversity of the genus *Conus* : a rich source of bioactive peptides. *Belg. j. zool.*, vol. 129, p. 17-42.
- 25- LE GALL F., FAVREAU P., RICHARD G., LETOURNEUX Y., MOLGO J. (1999) - the strategy used by some piscivorous cone snails to capture their

- prey: the effects of their venoms on vertebrates and on isolated neuromuscular preparations. *Toxicon*, vol. 37, p. 935-998.
- 26- LE GALL F., FAVREAU P., RICHARD G. (1999) - Cônes et toxines. *Pour la science*, vol. 261, p. 56-62.
- 27- LE GALL F., FAVREAU P., BENOIT E., MATTEI C., BOUET F., MENOUE J.L., MENEZ A., LETOURNEUX Y., MOLGO J. (1999) – A new conotoxin isolated from *Conus consors* venom acting selectively on axons and motor nerve terminals through a Na<sup>+</sup> dependent mechanism. *Eur. J. Neurosci.*, vol. 11, p. 3114-3142.
- 28- LETOURNEUX Yves (2004) - Documents personnels.
- 29- LETOURNEUX Yves (2004) - Biodiversité des cônes marins (gastéropodes) et applications neuropharmacologiques de leurs venins. *Océanis*, vol. 27, n° 3-4, p. 1-21. (2001 et mises à jour de 2004)
- 30- LEWIS R.J., NIELSEN K.J., CRAIK D.J., LOUGHNAN M.L., ADAMS D.A., SHARPE I.A., LUCHIAN T., ADAMS D.J., BOND T., THOMAS L., JONES A., MATHESON J.L., DRINKWATER R., ANDREWS P.R., ALEWOOD P.F. (2000) - Novel omega-conotoxins from *Conus catus* discriminate among neuronal calcium channel subtypes. *J. Biol. Chem.*, vol. 275, p. 35335-35344.
- 31- LIM C.E. (1969) - Identification of the feeding types in the genus *Conus* Linné. *Veliger*, 12, p. 160-164.
- 32- LOUGHAN M., BOND T., ATKINS A., CUEVAS J., ADAMS D.J., BROXTON N.M., LIVETT B.G., DOWN J.G., JONES A., ALEWOOD P.F., LEWIS R.J. (1998) - Alpha-conotoxin EpI, a novel sulfated peptide from *Conus episcopatus* that selectively targets neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Biol. Chem.*, vol. 273, p. 15667-15674.
- 33- MCINTOSH J.M., FODERATO T.A., LI W., IRELAND C.M., OLIVERA B.M. (1993) – Presence of serotonin in the venom of *Conus imperialis*. *Toxicon*, vol. 31, p. 1561-1566.

- 34- MCINTOSH J.M., SANTOS A.D., OLIVERA B.M. (1999) – *Conus* peptides targeted to specific nicotinic acetylcholine receptor subtypes. *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 68, p. 59-88.
- 35- MURAKAMI M., SUZUKI T., NAKAGAWASAI O., MURAKAMI H., MURAKAMI S., ESASHI A., TANIGUCHI R., YANAGISAWA T., TANNO K., MIYOSHI I., SASANO H., TADANO T. (2001) - Distribution of various calcium channel alpha(1) subunits in murine DRG neurons and antinociceptive effect of omega-conotoxin SVIB in mice. *Brain. Res.*, vol. 903, p. 231-236.
- 36- NARASIMHAN L., SINGH J., HUMBLET C, GURUPRASAD K. & BLUNDELL T. (1994) - Snail and spider toxins share a similar tertiary structure and "cysteine motif". *Nat. struct. biol*, vol. 1, n° 12, p. 850-852.
- 37- NIELSEN K.J, SKJÆRBÆK N., DOOLEY M., ADAMS D.A., MORTENSEN M., DODD P.R., CRAIK D.J., ALEWOOD P.F., LEWIS R.J. (1999) – Structure-activity studies of conantokins as human N-methyl-D-aspartate receptor modulators. *J. Med. Chem.*, vol. 42, p. 415-426.
- 38- OLIVERA B.M., RIVIER J., CLARK C., RAMILO C.A., CORPUZ G.P., FE C., ABOGADIE F.C., MENA E.E., WOODWARD S.R., HILLYARD D.R., CRUZ L.J. (1990) - Diversity of *Conus* neuropeptides. *Science*, vol. 249, p. 257-263.
- 39- OLIVERA B.M., RIVIER J., SCOTT J.K., HILLYARD J.R. & CRUZ L.J. (1991) -Conotoxins. *J. biol. chem.*, vol. 266, p. 22067-22070.
- 40- OLIVERA B.M., MILJANICH G.P., RAMACHANDRAN J., ADAMS M.E. (1994) – Calcium channel diversity and neurotransmitter release: ω-conotoxins and ω-agatoxin. *Annu. Rev. Biochem.*, vol. 63, p. 823-867.
- 41- OLIVERA B.M. (1997) - E.E. Just Lecture, *Conus* venom peptides, receptor ion channel targets, and drug design: 50 million years of neuropharmacology. *Molecular biology of the cell*, vol. 8, p. 2101-2109.

- 42- OLIVERA B.M. (1999) - *Conus* venom peptides: correlating chemistry and behavior. *J. comp. physiol.*, vol. 185, p. 353-359.
- 43- PENN R.D., PAICE J.A. (2000) - Adverse effects associated with the intrathecal administration of ziconotide. *Pain*, vol. 85, p. 291-296.
- 44- RAJENDRA W., ARMUGAM A., JEYASEELAN K. (août 2004) - Neuroprotection and peptide toxins. *Brain Res. Rev.*, vol. 45, p. 125-141.
- 45- RIGBY A.C., LUCAS-MEUNIER E., KALUME D.E., CZERWIEC E., HAMBE B., DAHLQVIST I., FOSSIER P., BAUX G., ROEPSTORFF P., BALEJA J.D., FURIE B.C., FURIE B., STENFLO J. (1999) - A conotoxin from *Conus textile* with unusual post translational modifications reduces presynaptic Ca<sup>2+</sup> influx. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 96, n° 10, p. 5758-5763.
- 46- ROCKEL D., KORN W., KOHN A.J. (1995) - Manual of the living conidae. Vol. 1: indo-pacific region. Ed. Verlag Christa Hemmen.
- 47- SANDALL D.W., SATKUNANATHAN N., KEAYS D.A., POLIDANO M.A., LIPING X., PHAM V., DOWN J.G., KHALIL Z., LIVETT B.G., GAYLER K.R. (2003) - A novel alpha-conotoxin identified by gene sequencing is active in suppressing the vascular response to selective stimulation of sensory nerves in vivo. *Biochemistry*, vol. 42, n° 22, p. 6904-6911.
- 48- SCOTT D., WRIGHT C., ANGUS J. (2002) - Actions of intrathecal omega-conotoxins CVID, GVIA, MVIIA, and morphine in acute and neuropathic pain in the rat. *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 451, p. 279-286.
- 49- SHARPE I.A., GEHRMANN J., LOUGHNAN M.L., THOMAS L., ADAMS D.A., ATKINS A., PALANT E., CRAIK D.J., ADAMS D.J., ALEWOOD P.F., LEWIS R.J. (2001) - Two new classes of conopeptides inhibit the alpha1-adrenoceptor and noradrenaline transporter. *Nature Neuroscience*, vol. 4, p. 902-907.

- 50- SHARPE I.A., PALANT E., SCHROEDER C.I., KAYE D.M., ADAMS D.J., ALEWOOD P.F., LEWIS R.J. (2003) - Inhibition of the norepinephrine transporter by the venom peptide chi-MrIA. Site of action, Na<sup>+</sup> dependence, and structure-activity relationship. *J. Biol. Chem.*, vol.278, p. 40317-40323.
- 51- SHEN G.S., LAYER R.T., McCABE R.T. (2000) - Conopeptides: From deadly venoms to novel therapeutics. *Drug Discovery Today*, vol. 5, n° 3, p. 98-106.
- 52- SHER E., GIOVANNINI F., BOOT J., LANG B. (2000) - Peptide neurotoxins, small-cell lung carcinoma and neurological paraneoplastic syndromes. *Biochimie*, vol. 82, p. 927-936.
- 53- SHULKES A., BALDWIN G., GIRAUD A. (2001) - Meeting Report: Regulatory peptides: what do they regulate? , *Trends Endocrinol Metab*, vol. 12, n°2, p. 46-47.
- 54- STAATS P.S., YEARWOOD T., CHARAPATA S.G., PREYSLEY R.W., WALLACE M.S., BYAS-SMITH M., FISHER R., BRYCE D.A., MANGIERI E.A., LUTHER R.R., MAYO M., MCGUIRE D., ELLIS D. (2004) - Intrathecal Ziconotide in the treatment of refractory pain in patients with cancer or AIDS. *JAMA*, vol. 291, n° 1, p. 63-70.
- 55- TERLAU H., SHON K.-J., GRILLEY M., STOCKER M., STUHMER W. & OLIVERA B.M. (1996) - Strategy for rapid immobilization of prey by fish-hunting marine snail, *Nature*, vol. 381, p. 148-151.
- 56- TERLAU H., OLIVERA B.M. (2004) – *Conus* venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides. *Physiol. Rev.*, vol. 84, n° 1, p. 41-68.
- 57- WANG Y.X., BOWERSOX S.S. (2000) – Analgesic properties of ziconotide, a selective blocker of N-type neuronal calcium channels. *CNS drug reviews*, vol.6, n° 1, p. 1-20.
- 58- WERMELING D., DRASS M., ELLIS D., MAYO M., MCGUIRE D., O'CONNELL D., HALE V., CHAO S. (2003) - Pharmacokinetics and

pharmacodynamics of intrathecal ziconotide in chronic pain patients. *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 43, n° 6, p. 624-636.

- 59- WILLIAMS A.J., LING G., BERTI R., MOFFETT J.R., YAO C., LU X.M., DAVE J.R., TORTELLA F.C. (2003) - Treatment with the snail peptide CGX-1007 reduces DNA damage and alters gene expression of c-fos and bcl-2 following focal ischemic brain injury in rats. *Exp. Brain. Res.*, vol. 153, n° 1, p. 16-26.
- 60- ZHANG S.J., YANG X.M., LIU G.S., COHEN M.V., PEMBERTON K. DOWNEY J.M. (2003) - CGX-1051, a peptide from *Conus* snail venom, attenuates infarction in rabbit hearts when administered at reperfusion. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, vol. 42, p. 764-771.
- 61- ZLOTKIN E., GORDON D., NAPSCHI-SHICHOR I., FAINZILBER M. (1996) - Metamorphoses of a conotoxin. *Natural Toxins II*, Ed. B.R. Singh & A.T Tu, Plenum press, New York.



## **DOCUMENTS EN LIGNE**

62- DON R. REVIS (diplômé de l'université de médecine de Floride), Toxicity, cone shell neurotoxin, 7 déc 2001 :

<http://emedicine.com/med/topic1636.htm>

63- KORNPORBST Jean-Michel. Les médicaments de la mer :

<http://www.mnhn.fr/mnhn/conc/site/scientifique/annales/monde/kornporbst.pdf>

64- Site de l'université de Melbourne (Australie) :

<http://www.biochemistry.unimelb.edu.au/cone/>

65- Site officiel de la société australienne de biotechnologie Xenome Limited, rubrique « média articles » :

<http://www.xenome.com>

66- Site officiel de la société australienne de biotechnologie Metabolic Pharmaceuticals Limited :

<http://www.metabolic.com.au>

67- Site officiel de la société australienne de recherche et de développement en biotechnologie Amrad Corporation Limited, rubrique « business development » :

<http://www.amrad.com.au>

68- Site officiel de la société biopharmaceutique américaine Cognetix Inc.:

<http://www.cognetix.com>

69- Site officiel de la société pharmaceutique irlandaise Elan corporation, rubrique « products in development », puis « Prial<sup>TM</sup> » :

<http://www.elan.com>

**UNIVERSITE DE NANTES**

**Année de la soutenance**

**FACULTE DE PHARMACIE**

**2004**

---

**Nom - Prénoms : LETOURNEUX Yves-Marie**

**Titre de la Thèse : Les mollusques du genre *Conus* et les applications thérapeutiques de leurs venins**

---

**Résumé de la Thèse :**

Les mollusques gastéropodes du genre *Conus* sont des prédateurs marins caractérisés par un appareil venimeux très perfectionné et des techniques de chasses remarquables. Ils peuvent être à l'origine d'envenimations graves voire mortelles chez l'homme.

Les toxines contenues dans le venin des cônes, nommées conotoxines, agissent en synergie afin de paralyser les proies. Elles perturbent le fonctionnement du système nerveux et des muscles.

La spécificité d'action physiologique des conotoxines en fait d'excellents candidats pour l'élaboration de nouveaux médicaments.

---

**MOTS CLES : CONOTOXINE - CÔNE - VENIN - PRIALT - CONANTOKINE**

---

**JURY :**

**PRESIDENT : M. Patrice LE PAPE, Professeur de Parasitologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes**

**ASSESEURS : Mme Anne ALLIOT, Maître de Conférence de Parasitologie**

**Faculté de Pharmacie de Nantes**

**Mlle Sophie ROZAN, Pharmacien**

**4, Chemin de la Dune des Floralties**

**85350 LA TRANCHE/MER**

---

**Adresse de l'auteur :**

12 rue des Dervallières  
44 000 NANTES