Actions et efficacités des différentes oximes dans le traitement de l'intoxication par les neurotoxiques organophosphorés.

M.-A. Vonesch[a], F. Nachon[b], P. Burnat[c].

a Service de pharmacie hospitalière, HIA Sainte-Anne, BP 20545 – 83041 Toulon Cedex 9.
b Département de toxicologie de l'Institut de recherche biomédicale des armées, antenne de la Tronche, 24 avenue des Maquis Grésivaudan – 38702 La Tronche.
c Service de biochimie toxicologie clinique, HIA Bégin, 69 avenue de Paris – 94163 Saint-Mandé Cedex.

Article reçu le 11 mai 2011, accepté le 1er juin 2011.

Résumé

Le panel des neurotoxiques organophosphorés disponibles et susceptibles d'être utilisés dans un contexte terroriste, nécessite une actualisation constante des thérapeutiques mises en place dans le cadre d'une intoxication par ces agents chimiques de guerre. Les oximes, dont la pralidoxime présente dans l'auto-injecteur bicompartimenté du Service de santé des armées en France, font partie des antidotes majeurs indiqués dans un tel contexte. La pralidoxime possède une efficacité certaine et potentialisée par l'association d'atropine et d'avizafone mais limitée à certains agents neurotoxiques organophosphorés. D'autres oximes commercialisées ou en développement pourraient présenter un plus grand intérêt permettant d'élargir le spectre d'action de la pralidoxime. La comparaison de ces oximes, d'une part vis-à-vis de leur capacité à réactiver les acétylcholinestérases *in vitro* reflétant leur efficacité *in vivo* et d'autre part, de leur toxicité semble indiquer que l'HI-6 représente le meilleur compromis concernant ces deux paramètres. La stabilité des oximes en vue du développement d'une formulation galénique adaptée et l'amélioration de leur passage au niveau du système nerveux central, constituent des pistes de recherche d'actualité.

Mots-clés : Acétylcholinestérases. Inhibition. Neurotoxiques organophosphorés. Oximes. Pharmacocinétique. Pharmacodynamique. Réactivation.

Abstract

ACTIONS AND EFFICACIES OF DIFFERENT OXIMES IN TREATING INTOXICATION WITH ORGANOPHOSPHORUS NERVE AGENTS.

The panel of organophosphorus nerve agents available which could be used by terrorists requires a constant update of therapeutics employed in the frame of intoxication by chemical warfare agents. Oximes as pralidoxime, which is an essential component of the French Armed Forces Health Service two compartments auto-injector are part of major drugs used in this context. Pralidoxime has a sure efficiency also potentiated by combining atropine and avizafone yet is limited to certain neurotoxic agents. Other oximes commercialized or in development could be interesting to broaden the action spectrum of pralidoxime. Comparing the oximes through their ability to reactivate *in vitro* acetylcholinesterases reflecting their *in vivo* efficacy and through their toxicity suggests that HI-6 is the best compromise for these two parameters. The research of stable oximes for developing an adapted pharmaceutical formulation and improving their penetration through the blood brain barrier are burning current issues.

Keywords: Acetylcholinesterases. Inhibition. Organophosphorus nerve agents. Oximes. Pharmacodynamic. Pharmacokinetics. Re-activation.

Introduction.

Dans le cadre de la prise en charge d'une intoxication par les neurotoxiques organophosphorés (NOP), trois médicaments sont classiquement employés aussi bien en auto-traitement sur un théâtre d'opérations qu'en traitement hospitalier. Ainsi, l'auto-injecteur bicompartimenté (AIBC) du Service de santé des armées (SSA) fabriqué par la Pharmacie centrale des armées (PCA) contient, sous forme lyophilisée, du sulfate d'atropine antagonisant les effets de l'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques, du chlorhydrate d'avizafone qui est un précurseur du diazepam agissant comme un anticonvulsivant et du méthylsulfate de pralidoxime.

M.-A. VONESCH, pharmacien. F. NACHON, IDEF. P. BURNAT, pharmacien chef des services, professeur agrégé du Val-de-Grâce.
Correspondance : M.-A. VONESCH. Service de pharmacie hospitalière, HIA Sainte-Anne, BP 20545 – 83041 Toulon Cedex 9.
E-mail : ma.vonesch@gmail.com

La pralidoxime est une oxime permettant la réactivation des acétylcholinestérases inhibées par les NOP. Si la pralidoxime est actuellement la seule oxime commercialisée en France, il en existe cependant de nombreuses autres capables de réactiver les cholinestérases inhibées par les neurotoxiques organophosphorés. La problématique liée à l'emploi de ces oximes est basée sur leurs propriétés très différentes sur le plan galénique, principalement influencée par leur solubilité et leur stabilité, comme d'un point de vue pharmacologique, du fait de leur efficacité variable selon le NOP considéré, sans oublier leur différence de toxicité.

Dans cet article, nous nous attacherons à dégager les avantages et les inconvénients des trois oximes commercialisées au niveau international : la pralidoxime (2-PAM), l'obidoxime (LüH-6) et l'asoxime (HI-6) ; ainsi que de trois autres oximes : la trimédoxime (TMB-4), la méthoxime (MMB-4) et l'HLö-7 vis-à-vis des intoxications par les différents neurotoxiques de guerre. Nous nous intéresserons également à leurs propriétés physico-chimiques, qui conditionnent leur formulation galénique et leur application thérapeutique sur le plan pratique, qu'elle soit effective ou potentielle.

Le mode d'action des neurotoxiques organophosphorés et le phénomène de vieillissement des acétylcholinestérases.

Les NOP sont des composés chimiques liposolubles, particulièrement toxiques, développés pour les premiers d'entre eux en Allemagne durant l'entre-deux-guerres. Ils se divisent en deux groupes : les agents G qui sont des esters dérivés des acides fluorophosphonique ou phosphoramidique tels que le tabun (GA), le sarin (GB), le soman (GD) ou encore le sarin cyclohexylique (GF) et les agents V qui sont des esters de l'acide thiophosphonique tels que le VX et ses analogues russe (VR) et chinois (VXC). Leurs propriétés physico-chimiques sont variables mais ils possèdent tous une affinité élevée pour les cholinestérases : acétylcholinestérases tissulaires, érythrocytaires et centrales ainsi que les butyrylcholinestérases plasmatiques qu'ils inhibent par phosphylation de la fonction hydroxyl de la sérine située dans leur site catalytique. Cette action inhibitrice sur l'acétylcholinestérase est responsable de son inaptitude à hydrolyser son substrat physiologique, l'acétylcholine, conduisant alors à une accumulation de ce neurotransmetteur. Ce phénomène conduit à une hyperstimulation des récepteurs cholinergiques post-synaptiques, muscariniques et nicotiniques, à la fois au niveau central et périphérique, pouvant être fatale. Lors de cette étape, les oximes peuvent jouer un rôle bénéfique, puisqu'elles vont permettre la déphosphylation des acétylcholinestérases favorisant ainsi la récupération d'une enzyme active. La réactivation spontanée des enzymes n'est pas systématique comme en témoigne l'absence de ce phénomène avec le sarin, le sarin cyclohexylique et le tabun (1).

Cependant, cette réactivation qu'elle soit spontanée pour certains NOP ou induite par les oximes n'est plus possible après la désalkylation du conjugué formé entre le NOP et l'acétylcholinestérase (fig. 1). Ce phénomène correspond au « vieillissement » de l'enzyme également dénommé « aging » (2). Le vieillissement par désalkylation du conjugué enzyme-NOP conduit à la formation d'un adduit acide méthylphosphonique anionique qui forme une liaison ionique forte additionnelle avec l'acétylcholinestérase. De plus, la charge négative de l'acide méthylphosphonique repousse la fonction oximate négative du réactivateur en approche. Le vieillissement entraîne donc à la fois une augmentation de la stabilité et une baisse de réactivité du conjugué

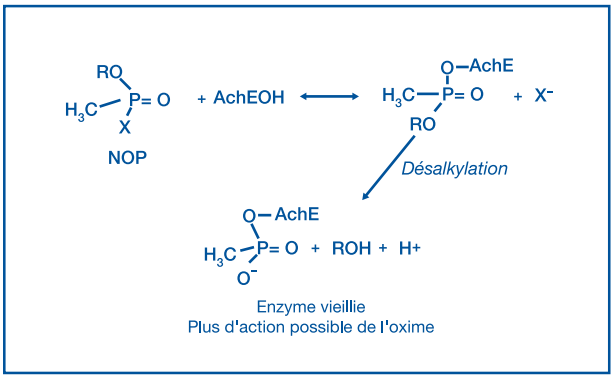


Figure 1 : Schéma descriptif du phénomène de vieillissement des acétylcholinestérases. R est le groupement alkyl du NOP. X^- est un groupement partant ou un anion.

formé par l'acétylcholinestérase et le NOP, interdisant toute réactivation ultérieure. La vitesse de vieillissement dépend essentiellement de la nature de l'agent NOP mais aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la structure des NOP et leur interaction avec les acétylcholinestérases humaines (1). *In vitro*, le vieillissement des enzymes survient après quelques minutes avec le soman, en cinq à six heures avec le sarin, après 46 heures avec le tabun et au bout de 48 heures avec le VX (tab. I). Le conjugué enzyme-VR possède une demi-vie plus élevée, de plus d'une semaine (12 jours), que celui du conjugué enzyme-VX alors que pour son homologue chinois, le VXC, le vieillissement est plus rapide. La rapidité de l'altération des enzymes inhibées par le soman permet de comprendre la résistance à la réactivation des acétylcholinestérases inhibées par ce NOP. En plus de la nature de l'organophosphoré, la vitesse de vieillissement de l'enzyme varie selon l'espèce animale considérée (3).

Tableau I. Délai avant l'apparition du phénomène « d'aging » pour différents NOP.

NOP	Soman	Sarin	Tabun	VX
Délai avant apparition du phénomène « d'aging » (*in vitro*)	Quelques minutes	5-6 heures	> 46 heures	> 48 heures

Le vieillissement rapide des acétylcholinestérases conduisant à une inefficacité du traitement à base d'oxime est à l'origine de l'utilisation d'un traitement prophylactique consistant en la prise de bromure de pyridostigmine avant une potentielle intoxication aux NOP et en particulier avec le soman et le tabun. Ce médicament masque une partie des sites catalytiques d'acétylcholinestérase en s'y fixant de façon réversible. Cependant, la pyridostigmine ne franchissant pas la barrière hémato-encéphalique (BHE), la protection octroyée par cette prémédication ne concerne donc pas les cholinestérases centrales et seulement environ 30 % des cholinestérases situées en périphérie. Cette mesure prophylactique est insuffisante, elle est limitée à un usage militaire, et même si de nouveau traitement prophylactique à base d'enzymes bioépuratrices sont en cours de développement (4), il est encore nécessaire de disposer de thérapeutiques à visée curative comme les oximes.

Le mécanisme d'action général des oximes.

Le mécanisme d'action principal des oximes consiste à hydrolyser la liaison établie entre les enzymes et leur inhibiteur, afin de régénérer les acétylcholinestérases inhibées par les NOP. De façon plus approfondie, les oximes, dont les structures les plus courantes sont représentées sur la figure 2, sont de puissants agents nucléophiles possédant une affinité élevée pour les sites actifs des acétylcholinestérases. L'acétylcholinestérase possède deux sites de liaison pour son substrat et ses inhibiteurs, le site catalytique à proprement parler enfoui au fond d'une gorge ainsi que le site périphérique situé à l'entrée de cette gorge et en contrôlant l'accès. Lorsque l'enzyme est inhibée par un NOP, le fond de la gorge est complètement occupé.

La réactivation de l'enzyme se déroule de la manière suivante. Dans un premier temps, le réactivateur en approche de l'enzyme inhibée va interagir avec le site périphérique à l'entrée de la gorge. Puis, la fonction oximate du réactivateur va descendre dans la gorge pour approcher la phosphylsérine. Quand il est suffisamment proche, l'oximate réagit sur l'atome de phosphore de la phosphylsérine pour former une nouvelle liaison covalente. La formation de cette nouvelle liaison fragilise la liaison entre l'atome de phosphore et la sérine, qui finit par se rompre. L'oxime fraîchement phosphylée sort du site actif. La sérine libérée peut à nouveau jouer son rôle catalytique dans l'hydrolyse de l'acétylcholine. Néanmoins, après avoir réactivé l'acétylcholinestérase, l'oxime phosphylée ou phosphyloxime peut retourner dans le site actif et retransférer le groupement phosphyle à la sérine catalytique. Les phosphyloximes sont elles-mêmes de bons inhibiteurs des cholinestérases.



Figure 2 : Formule générale d'une oxime, un puissant agent nucléophile.

L'action régénératrice de l'oxime et la vitesse à laquelle elle réactive les cholinestérases sont dépendantes de nombreux facteurs tels que la nature et la concentration du NOP inhibiteur ; la vitesse de vieillissement, la structure et la localisation de l'enzyme (cérébrale, tissulaire ou érythrocytaire) ; la concentration et la structure chimique de l'oxime et enfin l'espèce animale considérée. En particulier, la structure de l'oxime modifie son affinité pour les acétylcholinestérases et leur réactivité vis-à-vis de celles-ci (1). Le mécanisme d'action principal des oximes correspondant à la réactivation des acétylcholinestérases ne permet pas d'expliquer l'efficacité de certaines d'entre elles comme l'HI-6 vis-à-vis des NOP entraînant un vieillissement extrêmement rapide des enzymes tel que le soman. C'est pourquoi, d'autres propositions de mécanismes d'action des oximes ont été envisagées ; parmi celles-ci nous pouvons évoquer différentes hypothèses :

– une interaction de l'oxime au niveau central, au sein de la voie de transmission GABAergique ;

– une interaction au niveau de la voie de transmission cholinergique des muscles squelettiques ;

– une inhibition du relargage de l'acétylcholine ;

– une altération des neurotransmetteurs ;

– une interaction avec les terminaisons nerveuses pré-synaptiques ou les récepteurs post-synaptiques à l'acétylcholine ;

– un effet anticonvulsivant intrinsèque de l'oxime.

Par ailleurs, certaines hypothèses de mécanismes d'action secondaires ont été confirmées. En effet, d'après Øydvin et al., la pralidoxime et l'HI-6 interagiraient avec les récepteurs nicotiniques, de plus, l'HI-6 et l'HLö-7 inhiberaient partiellement le relargage de l'acétylcholine *in vitro* chez le rat après inactivation des acétylcholinestérases par le soman. Ce mécanisme d'action commun à l'HI-6 et l'HLö-7 pourrait être en partie dû à la fonction aldoxime qu'elles partagent et qui se situe en quatrième position au niveau d'un de leurs deux cycles pyridiniques (5). Les oximes peuvent également avoir un rôle de protection sur les cholinestérases du fait de leur fixation sur leur site actif, empêchant alors le NOP de se fixer.

Cependant, ces mécanismes d'action sont annexes et l'efficacité des oximes dépend essentiellement de leur aptitude à réactiver les acétylcholinestérases.

La réactivation des différentes cholinestérases.

Les acétylcholinestérases sont localisées au niveau tissulaire (poumon, cœur, muscles squelettiques), érythrocytaire et cérébral. Les butyrylcholinestérases

sont des enzymes sans activité physiologique connue, présentes au niveau plasmatique et cérébral. Mais elles servent de leurre en cas d'intoxication aux NOP, car en réagissant avec eux, elles diminuent leur concentration inhibitrice efficace. Cependant, les butyrylcholinestérases diffèrent des acétylcholinestérases au niveau de la structure de leur site catalytique, ce qui rend les oximes bispyridiniques inadaptées à la réactivation des butyrylcholinestérases. C'est pourquoi, d'autres oximes permettant une réactivation spécifique des butyrylcholinestérases sont actuellement en cours de recherche.

Les répartitions périphérique et centrale des cholinestérases, sont responsables d'une variabilité de l'action des oximes en fonction de leur accessibilité à ces différents compartiments. De la même façon, la perméabilité du passage de la BHE par les NOP, définit le type de cholinestérases qu'ils vont pouvoir inhiber et la prédominance des symptômes observés. Par exemple, le VR et le VX franchissent difficilement la BHE, en revanche ils présentent une forte affinité pour les cholinestérases périphériques (6).

Shih et al. ont étudié la capacité de différentes oximes, dont l'HI-6 (sous forme de dichlorure et de diméthylsulfonate plus hydrosoluble), l'HLö-7, la méthoxime (MMB-4), la trimédoxime (TMB-4) et la pralidoxime (2-PAM), à réactiver les cholinestérases tissulaires, sanguines et cérébrales *in vivo* chez le cochon d'Inde, à la suite d'une administration sous-cutanée de sarin, de sarin cyclohexylique, de VR ou de VX. Les résultats obtenus sont exposés et discutés ci-dessous.

Les cholinestérases cérébrales.

Globalement, les oximes testées n'ont que peu d'effet sur la réactivation des cholinestérases cérébrales. La plupart des oximes dérivant de pyridiniums éprouvent des difficultés à franchir la BHE du fait de la présence de leur charge positive permanente. Ainsi, au maximum 10 % de la concentration périphérique en oximes sont retrouvés au niveau central (7).

En considérant une concentration périphérique en oximes compatible avec une utilisation thérapeutique, la concentration théorique au niveau central est alors insuffisante pour réactiver efficacement les acétylcholinestérases à ce niveau. Ceci justifie pleinement la co-administration d'atropine et d'avizafone, qui eux franchissent la BHE, afin de contrer les effets cholinergiques centraux induits par les NOP.

La réactivation des acétylcholinestérases humaines du système nerveux central pourrait être considérablement améliorée par les amidine-oximes, récemment synthétisées et testées chez l'animal afin de présenter une alternative à la pralidoxime et plus largement aux oximes dont le passage de la BHE se trouve limité. En effet, ces nouvelles oximes présentent une structure s'affranchissant des charges positives permanentes des oximes bispyridiniques ce qui augmente leur lipophilie et donc leur passage et leur action au niveau cérébral. Mais l'efficacité des amidine-oximes est encore inférieure à celle de la pralidoxime (8). D'autres pistes sont actuellement explorées et un effort conjoint de l'Institut de recherche biomédicale des armées (IRBA) (Département de toxicologie) et de laboratoires mixtes CNRS universitaires de Strasbourg (Faculté de pharmacie) et de Rouen (IRCOF) a récemment permis de mettre au point une nouvelle génération d'oximes non chargées, aussi efficace *in vitro*, voire plus efficace, que toutes les oximes connues sur l'acétylcholinestérase humaine inhibée par le VX et le tabun (9). Toutefois, leur efficacité *in vivo* reste à établir.

Les cholinestérases tissulaires.

La réactivation des acétylcholinestérases tissulaires varie selon l'oxime employée.

Au niveau pulmonaire, la méthoxime s'est avérée être la plus efficace vis-à-vis du sarin, du cyclosarin et du VX suivi de près par l'HLö-7 (10). L'HI-6, sous forme de dichlorure, s'est montrée supérieure aux autres oximes contre le VR et à la pralidoxime contre le VX.

Au niveau cardiaque, la méthoxime est la plus efficace contre le cyclosarin et le VR. La première position de la méthoxime est supplantée par la pralidoxime pour le cyclosarin et par l'HLö-7 pour le VX.

Au niveau musculaire, l'HLö-7 s'est avérée être la plus efficace contre le sarin, le cyclosarin et le VX alors que l'HI-6 s'est trouvée être la meilleure oxime contre le VR.

Les cholinestérases sanguines.

Du fait de leur localisation, les cholinestérases sanguines, érythrocytaires et plasmatiques, sont les premières à être inhibées par les NOP et à être réactivées par les oximes. L'effet réactivateur des oximes est majoritairement plus intense du fait de leur concentration plus élevée au niveau sanguin qu'au niveau tissulaire.

Les cholinestérases érythrocytaires sont réactivées plus efficacement par l'HI-6 sous forme de diméthylsulfonate, lorsqu'elles ont été inhibées par le sarin ou le cyclosarin. En revanche, la méthoxime s'avère plus efficace en cas d'intoxication par le VX et le VR.

L'HI-6 et l'HLö-7 seraient dix à dix mille fois plus efficace que la pralidoxime et la méthoxime, dans la réactivation *in vitro* des acétylcholinestérases érythrocytaires inhibées par le sarin, le cyclosarin et le VR chez l'homme (3). Les résultats d'une étude de mesure de l'activité des différentes oximes pour réactiver les acétylcholinestérases érythrocytaires humaines inhibées par le VX, le VR et le VXC, mettent en évidence l'ordre d'efficacité suivant : HLö-7 > HI-6 > MMB-4 ≥ obidoxime > 2-PAM (11).

En résumé, dans l'étude de Shih et al., réalisée chez le cochon d'Inde, la méthoxime est la seule oxime significativement efficace pour réactiver les cholinestérases inhibées par l'un ou l'autre des quatre NOP suivants : sarin, cyclosarin, VX et VR, dans les trois compartiments tissulaires et au niveau sanguin (10).

L'action de l'HLö-7 est plus faible que celle de la méthoxime vis-à-vis des cholinestérases tissulaires inhibées par le VR ou le cyclosarin alors que les autres oximes manquent d'efficacité vis-à-vis de la réactivation des cholinestérases tissulaires inhibées par le cyclosarin.

De manière générale, la pralidoxime s'avère moins efficace sur les cholinestérases périphériques que les autres oximes étudiées.

En outre, les données concernant la réactivation des cholinestérases au niveau sanguin ne peuvent pas être extrapolées au niveau tissulaire, car aucune corrélation n'existe entre l'activité des oximes dans ces deux compartiments.

Par ailleurs, ces résultats peuvent difficilement être extrapolés à l'homme, car d'après Luo et al., la réactivation des cholinestérases inhibées par le VR, le sarin ou le cyclosarin, *in vitro* chez le cochon d'Inde, en utilisant les oximes dont l'HI-6 et l'HLö-7, s'effectue plus lentement que chez l'homme ou le singe (3).

La comparaison des differentes oximes.

D'un point de vue structurel, les oximes actuellement commercialisées sont divisées en deux groupes : la pralidoxime possédant une structure à un seul cycle pyridinique et les autres constituant le deuxième groupe disposant d'un noyau structural composé de deux cycles pyridiniques.

Sous forme de sels d'ammoniums quaternaires, les oximes passent difficilement la BHE. Ce passage varie selon la posologie de l'oxime considérée, la nature de ses groupements caractéristiques, la co-administration d'un traitement comme l'atropine, voire même selon le type de NOP employé qui pourrait alors faciliter le passage de la BHE (12).

Les oximes substituées en deuxième position de leur cycle pyridinique, comme la pralidoxime et l'HI-6, seraient moins stables que celles substituées en quatrième position comme l'obidoxime (13).

Plusieurs explications concernant la différence d'efficacité des oximes dans la réactivation des acétylcholinestérases ont été proposées. Outre l'affinité même de l'oxime pour l'enzyme, plus l'acidité du groupement oxime mais aussi du proton méthine est forte, plus l'oxime sera un bon réactivateur (1).

La position du groupement oxime au niveau du cycle pyridinique a également son importance. Placé en deuxième position, l'oxime présenterait un intérêt dans l'intoxication par le soman et situé en quatrième position, l'oxime est active lors de l'intoxication par le tabun (14).

En outre, l'efficacité d'une même oxime pourrait varier en fonction de l'effet stérique engendré par le groupement alkyl du NOP considéré (15).

La comparaison de l'activité des différentes oximes est fortement dépendante du choix du modèle animal utilisé (fig. 3). Pour des raisons éthiques évidentes, peu d'études présentent des résultats de l'action des oximes chez l'homme ou chez le singe alors que le modèle primate non humain, même s'il est imparfait, représente le modèle le plus pertinent pour l'étude *in vivo* de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique des oximes afin de permettre une extrapolation des résultats à l'homme. Les résultats obtenus *in vivo* chez le rat et le cochon d'Inde, ce dernier étant majoritairement considéré comme le meilleur modèle non primate, sont à extrapoler à l'homme avec prudence.

En effet, la réactivation des acétylcholinestérases par les oximes de la série H (HI-6, HLö-7, LüH-6) peut être

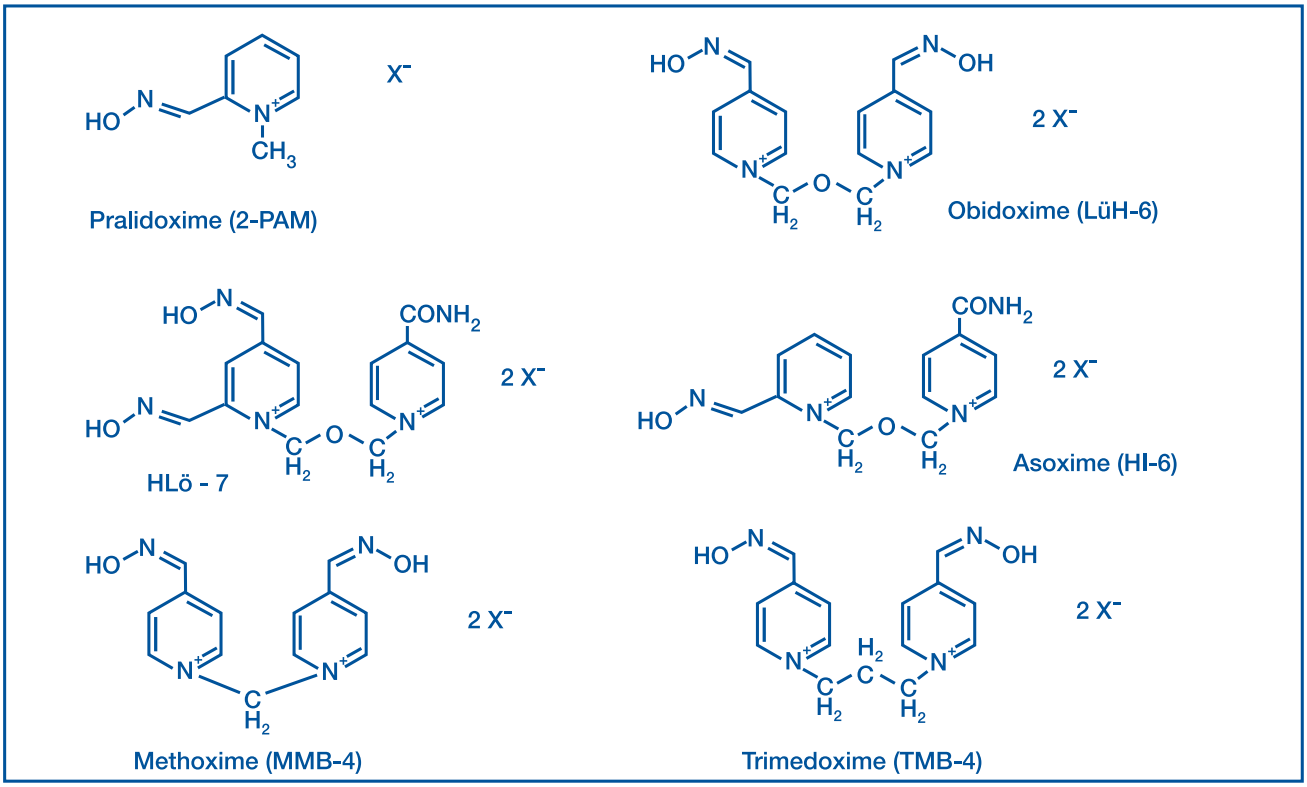


Figure 3 : Structure chimique des principales oximes. X^- étant le contre-ion.

quelques centaines de fois plus rapide chez l'homme que chez le cochon d'Inde. En revanche, le modèle d'étude *in vitro* de l'activité réactivatrice des oximes vis-à-vis des acétylcholinestérases érythrocytaires est validé et semble bien corrélé à leur efficacité *in vivo* (3). Il est également nécessaire d'interpréter les résultats des études en fonction de la concentration en oxime employée qui doit être compatible avec une utilisation thérapeutique chez l'homme. En effet, une dose élevée *in vitro* pourra générer de très bons résultats mais reproduire les effets d'un NOP *in vivo* (16).

La formulation des oximes utilise des sels différents : chlorure, iodure, bromure, lactate, méthylsulfate, méthanesulfonate, faisant ainsi varier les propriétés de ces oximes, notamment leur stabilité et leur solubilité. Généralement, la pralidoxime, la trimédoxime et l'obidoxime sont stables et peuvent se conserver en ampoules sous forme liquide tandis que l'HI-6 et l'HLö-7 sont instables en solution aqueuse et ne peuvent être conservées que sous forme sèche, solubilisées juste avant leur administration notamment dans les auto-injecteurs (17).

La pralidoxime (2-PAM).

La première réactivation des acétylcholinestérases a été effectuée en 1951 par l'hydroxylamine, un réactif fréquemment utilisé dans la synthèse des oximes. Quatre ans plus tard, la synthèse puis l'utilisation de la pralidoxime, ont permis la réactivation de ces enzymes à une vitesse un million de fois supérieure à celle constatée en utilisant l'hydroxylamine (18). La pralidoxime est couramment utilisée aux États-Unis et en France.

Lors de l'attentat au sarin dans le métro de Tokyo en 1995, 700 ampoules de 500 mg de pralidoxime ont été utilisées. Cependant, l'atropine fut beaucoup plus largement employée (19). Si l'efficacité de la pralidoxime est démontrée dans les intoxications par le sarin ou le VX, en revanche, elle est très limitée lorsque d'autres NOP tels que le tabun, le soman, le sarin cyclohexylique ou encore le VR sont utilisés (20).

C'est une des raisons pour laquelle la pralidoxime apparaît aujourd'hui dépassée par des oximes de conception plus récente et est en passe d'être remplacée par l'HI-6 dans l'AIBC du SSA (Ineurope®) ainsi que dans les protocoles de traitement des intoxications par les NOP élaborés par les armées étrangères. Par ailleurs, la pralidoxime pénètre difficilement la BHE et par conséquent, son activité sur les acétylcholinestérases centrales est très limitée.

L'hypothèse selon laquelle l'administration conjointe d'atropine, améliorerait le passage de la pralidoxime au niveau central, est controversée (21).

L'administration d'une dose de 10 mg/kg de pralidoxime en intramusculaire, conduit à une concentration sanguine supérieure à 4 mg/L en cinq à dix minutes et qui se maintient environ une heure. Les effets secondaires notables observés de cette oxime sont : des étourdissements, une vision brouillée, une diplopie, une difficulté d'accommodation, des nausées et des céphalées (22).

La trimédoxime (TMB-4).

La trimédoxime synthétisée en 1957 est également active dans le traitement de l'intoxication par le tabun, en plus du sarin et du VX. Cependant, il s'agit de l'oxime la plus toxique, car sa dose létale 50 (DL_{50}) chez la souris, est trois fois plus faible que celle de l'obidoxime, quatre fois plus faible que celle de la pralidoxime et huit fois plus faible que celle de l'HI-6 (23). Elle présente toutefois une forte efficacité, en lien étroit avec sa toxicité, contre les pesticides organophosphorés. Son efficacité contre le tabun est supérieure à celles des trois oximes actuellement commercialisées.

L'obidoxime (LüH-6).

L'obidoxime a été synthétisée en 1964 par l'équipe d'Hagedorn à Freiburg (Allemagne). Par rapport à la pralidoxime, elle présente un intérêt certain vis-à-vis de la réactivation des acétylcholinestérases inhibées par les pesticides organophosphorés. En dehors de cette particularité d'action, elle possède le même spectre d'activité que la trimédoxime concernant les cholinestérases inhibées par les NOP, si ce n'est qu'elle semblerait active lorsqu'elle est co-administrée avec de l'atropine, chez des cochons d'Inde prétraités par de la pyridostigmine et intoxiqué par du soman.

En revanche, son action est limitée lors des intoxications par le cyclosarin, mais son efficacité vis-à-vis du tabun est supérieure à celle de la trimédoxime et de l'HI-6. Une posologie de 5 mg/kg administrée en intramusculaire conduit en cinq minutes à des concentrations sanguines supérieures à 4 mg/L, se maintenant environ trois heures (22).

Des effets secondaires sont cependant notés comme : une pâleur, des nausées, une sensation de brûlure, des céphalées et des paresthésies faciales. La toxicité hépatique de l'obidoxime est néanmoins plus faible que celle de la trimédoxime, même si elle représente tout de même 10 % des effets secondaires observés chez les patients traités par cette oxime (24).

L'obidoxime, employée en Allemagne, en Norvège, en Finlande et aux Pays-Bas est une oxime largement utilisée dans le cadre du traitement des intoxications aux pesticides organophosphorés (25). L'oxime K-27 appartenant à la série des K-oximes est actuellement à l'étude ; elle pourrait également être une bonne candidate dans cette indication thérapeutique (26).

La méthoxime (MMB-4).

La méthoxime est en cours de développement aux États-Unis pour remplacer la pralidoxime. Elle est efficace dans les intoxications par le soman, le sarin, le cyclosarin et le VX mais pas lorsque le tabun est utilisé (20). Son efficacité demeure dix à mille fois plus faible que celle de l'HI-6 et de l'HLö-7 lorsque le toxique en cause est le cyclosarin ou le VR (3). En revanche, sa toxicité est supérieure à celle de l'HI-6.

L'HI-6.

L'HI-6 ou asoxime, synthétisée en 1966, appartient à la série des oximes d'Hagedorn. Elle a démontré une

efficacité, c'est-à-dire une réactivation supérieure à 10 % de l'activité des acétylcholinestérases (27), dans la réactivation des enzymes inhibées par le sarin, le cyclosarin, le soman, le VX ou le VR chez la souris (28).

Bien que son spectre d'action soit large, son efficacité est faible lors des intoxications par le tabun ainsi que par la majorité des pesticides organophosphorés. D'après Hamilton et al., l'HI-6 en association avec l'atropine et le diazépam, aurait cependant permis à des singes intoxiqués par le tabun de survivre (29). Les enzymes inhibées par le tabun sont particulièrement difficiles à réactiver du fait de la fonction amide de ce NOP qui diminue l'électrophilie de l'atome de phosphore, empêchant ainsi l'attaque nucléophile de l'enzyme par l'oxime. Comme les autres oximes, elle serait peu efficace lors d'intoxications par le soman.

Une injection intramusculaire de 250 mg ou de 500 mg, conduit à une concentration sanguine supérieure à 4 mg/L en quatre à six minutes. Cette concentration sanguine se maintient environ deux heures pour la plus faible posologie et plus de trois heures pour la plus élevée (22).

L'HI-6 est la moins toxique des oximes présentées. Elle existe sous forme de dichlorure et de méthylsulfonate dont les pharmacocinétiques sont similaires, ce dernier sel étant plus soluble. Le méthylsulfonate d'HI-6 semble, à ce jour, représenter le meilleur compromis entre efficacité et toxicité d'une oxime dans le cadre du traitement d'une intoxication par les NOP exceptés, le tabun et le soman.

Son instabilité en solution aqueuse, nécessite de la conserver sous forme lyophilisée jusqu'à sa reconstitution extemporanée avant injection. Le groupement isonicotinamide, présent dans la structure de l'HI-6 et initialement introduit pour en diminuer sa toxicité, aurait une importance dans sa supériorité d'efficacité par rapport à la pralidoxime et à l'obidoxime dans le traitement de l'intoxication par le VX, le VR, le sarin ou le cyclosarin (15). La différence d'efficacité entre l'HI-6 et la pralidoxime serait également due à l'interaction du second cycle pyridinique de l'HI-6, avec le site périphérique allostérique de l'acétylcholinestérase, permettant ainsi une meilleure orientation de l'oxime (30).

Les oximes de la série H auraient un effet réactivateur sur les cholinestérases centrales puisqu'elles antagonisent l'hypothermie centrale induite par le sarin (18).

En France, le *Common Technical Document* (CTD) concernant le dépôt d'AMM visant à remplacer la pralidoxime, dont l'action reste modérée, par l'HI-6 dans l'AIBC du SSA est en cours de constitution. L'emploi de cette oxime dans le cadre de la lutte contre l'intoxication aux NOP est déjà autorisé aux États-Unis, au Canada et en Suède.

L'HLö-7.

L'HLö-7, dont le nom lui fut donné en l'honneur d'Ilse Hagedorn et Marianne Löffler, qui l'ont synthétisée en Allemagne en 1986, possède une efficacité supérieure à l'HI-6 dans les intoxications par le tabun et le VX (18).

En revanche, son activité *in vivo*, co-administrée à de l'atropine est plus faible que celle de l'HI-6 lorsque le sarin, le sarin cyclohexylique ou le soman sont utilisés.

La toxicité de l'HLö-7 est environ trois fois plus élevée que celle de l'HI-6. Tout comme l'HI-6, l'HLö-7 présente une instabilité en milieu aqueux nécessitant un conditionnement du médicament sous forme lyophilisée.

Globalement, sans évoquer leur toxicité et leur disponibilité en France et tout en sachant que les études sont le plus souvent réalisées chez l'animal ou *in vitro*, l'efficacité des oximes en fonction des différents NOP utilisés, pouvant être proposée est représenté dans le tableau II.

Tableau II. Efficacité des oximes en fonction du NOP.

NOP	Soman
Tabun	LüH-6, TMB-4 et HLö-7 mais pas HI-6, MMB-4 et 2-PAM.
Soman	MMB-4 mais efficacité limitée.
Sarin	HI-6, TMB-4, MMB-4 et 2-PAM.
Cyclosarin	MMB-4 et HI-6 essentiellement. Très peu d'efficacité pour les autres.
VX	TMB-4, LüH-6, MMB-4, HI-6, HLö-7et 2-PAM.
VR	HI-6, MMB-4 et LüH-6.

Conclusion.

Aucune oxime n'est efficace contre tous les NOP et encore moins contre tous les composés organophosphorés comprenant la majorité des pesticides. Le choix d'une oxime à visée thérapeutique, résulte d'un compromis entre son efficacité et sa toxicité, selon la probabilité du risque encouru, lequel dépend du contexte d'emploi. Le spectre d'action des oximes varie selon de nombreux paramètres, tels que la concentration, étroitement liée à la toxicité de la molécule. La nature de l'oxime influence d'une part, le phénomène de vieillissement des enzymes et d'autre part, son pouvoir de réactivation des cholinestérases.

Actuellement, l'HI-6 semble la meilleure candidate dans le cadre du traitement d'une intoxication aux NOP et elle devrait remplacer à terme la pralidoxime dans l'AIBC fabriqué par la PCA. En effet, bien que présentant une faiblesse d'action vis-à-vis du tabun, elle est efficace contre de nombreux agents notamment le VX et le VR qui sont des toxiques de guerre présentant une place importante dans la menace chimique, du fait de leur haute toxicité et de leur caractère persistant. Cependant, la menace terroriste peut aussi faire appel à des toxiques plus volatils comme ce fut le cas à Tokyo.

L'utilisation thérapeutique d'une oxime requiert une certaine stabilité, en vue de trouver une formulation galénique adaptée. Ce point constitue la limite dans le choix des oximes bispyridiniques comme l'HI-6, puisque leur faible stabilité en solution aqueuse nécessite une conservation du médicament sous forme sèche.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Worek F, Thiermann H, Szinicz L, Eyer P. Kinetic analysis of interactions between human acetylcholinesterase, structurally different organophosphorus compounds and oximes. Biochem Pharmacol. 2004;6 (11):2237-48.
2. Masson P, Nachon F, Lockridge O. Structural approach to the aging of phosphylated cholinesterases. Chem Biol Interact. 2010: 187(1-3):157-62.
3. Luo C, Tong M, Maxwell DM, Saxena A. Comparison of oxime reactivation and aging of nerve agent-inhibited monkey and human acetylcholinesterases. Chem Biol Interact. 2008;175(1-3):261-6.
4. Trovaslet-Leroy M, Musilova L, Renault F, Brazzolotto X, Misik J, Novotny L, et al. Organophosphate hydrolases as catalytic bioscavengers of organophosphorus nerve agents. Toxicol Lett. 2011;206(1):14-23.
5. Øydvin OK, Tansø R, Aas P. Pre-junctional effects of oximes on [3H]-acetylcholine release in rat hippocampal slices during soman intoxication. Eur J Pharmacol. 2005;516(3):227-34.
6. Karasova JZ, Bajgar J, Jun D, Pavlikova R, Kuca K. Time-course changes of acetylcholinesterase activity in blood and some tissues in rats after intoxication by Russian VX. Neurotox Res. 2009;16(4):356-60.
7. Sakurada K, Matsubara K, Shimizu K, Shiono H, Seto Y, Tsuge K, et al. Pralidoxime iodide (2-PAM) penetrates across the blood-brain barrier. Neurochem Res. 2003;28(9):1401-7.
8. Kalisiak J, Ralph EC, Zhang J, Cashman JR. Amidine-oximes: reactivators for organophosphate exposure. J Med Chem. 2011.
9. Mercey G, Verdelet T, Saint-André G, Gillon E, Wagner A, Baati R, et al. First efficient uncharged reactivators for the dephosphylation of poisoned human acetylcholinesterase. Chem Commun (Camb). 2011;47(18):5295-7.
10. Shih TM, Skovira JW, O'Donnell JC, McDonough JH. *In vivo* reactivation by oximes of inhibited blood, brain and peripheral tissue cholinesterase activity following exposure to nerve agents in guinea pigs. Chem Biol Interact. 2010;187(1-3):207-14.
11. Aurbek N, Thiermann H, Szinicz L, Eyer P, Worek F. Analysis of inhibition, reactivation and aging kinetics of highly toxic organophosphorus compounds with human and pig acetylcholinesterase. Toxicology. 2006;224(1-2):9.
12. Carpentier P, Delamanche IS, Le Bert M, Blanchet G, Bouchaud C. Seizure-related opening of the blood-brain barrier induced by soman: Possible correlation with the acute neuropathology observed in poisoned rats. NeuroToxicology. 1990;11:493-508.
13. Ashani Y, Bhattacharjee AK, Leader H, Saxena A, Doctor BP. Inhibition of cholinesterases with cationic phosphonyl oximes highlights distinctive properties of the charged pyridine groups of quaternary oxime reactivators. Biochem Pharmacol. 200366(2):191-202.
14. De Jong LP, Verhagen MA, Langenberg JP, Hagedorn I, Löffler M. The bispyridinium-dioxime HLö-7. A potent reactivator for acetylcholinesterase inhibited by the stereoisomers of tabun and soman. Biochem Pharmacol. 1989;38(4):633-40.
15. Maxwell DM, Koplovitz I, Worek F, Sweeney RE. A structure activity analysis of the variation in oxime efficacy against nerve agents. Toxicol Appl Pharmacol. 2008,231:157-64.
16. Pohanka M, Jun D, Kuca K. Amperometric Biosensor for Evaluation of Competitive Cholinesterase Inhibition by the Reactivator HI-6. Anal Lett. 2007;40(12):2351-9.
17. Antonijevic B, Stojiljkovic MP. Unequal efficacy of pyridinium oximes in acute organophosphate poisoning. Clin Med Res. 2007;5(1):71-82.
18. Stojiljkovic MP, Jokanovic M. Pyridinium oximes: rationale for their selection as causal antidotes against organophosphate poisonings and current solutions for auto-injectors. Arh Hig Rada Toksikol. 2006;57(4):435-43.
19. Burnat P, Renaudeau C, Ceppa F, Gidenne S, Vaillant C, Almeras D et al. Attentat au sarin dans le métro de Tokyo. Medecine et Armées. 2001;29:(1):33-4.
20. Kuca K, Jun D, Bajgar J. Currently used cholinesterase reactivators against nerve agent intoxication: comparison of their effectivity *in vitro*. Drug Chem Toxicol. 2007;30(1):31-40.
21. Hasan MY, Petroianu GA, Sheen R, Nurulain SM, Lorke D, Kalasz H. "Paraoxon and atropine do not increase pralidoxime (PXX) passage through the blood brain barrier (BBB)." J. Clin. Pharmacol. 2007;47:1206.
22. Jokanovic M. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. Toxicol Letters. 2009;190(2):107-15.
23. Clement JG. Toxicology and pharmacology of bispyridinium oximes. Insight into the mechanism of action vs soman poisoning *in vivo*. Fundam. appl. Toxic. 1981;1:193-202.
24. Eyer, P. The role of oximes in the management of organophosphorus pesticide poisoning. Toxicol Rev. 2003;22:165-90.
25. Thiermann H, Szinicz L, Eyer F, Worek F, Eyer P, Felgenhauer N et al. Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning. Toxicol Lett. 1999;107:233-9.
26. Nurulain SM, Lorke DE, Hasan MY, Shafiullah M, Kuca K, Musilek K et al. Efficacy of eight experimental bispyridinium oximes against paraoxon-induced mortality: comparison with the conventional oximes pralidoxime and obidoxime. Neurotox Res. 2009;16:60-7.
27. Bajgar J, Fusek J, Kuca K, Bartosova L, Jun D. Treatment of organophosphate intoxication using cholinesterase reactivators: facts and fiction. Mini Rev Med Chem. 2007;7:461-6.
28. Kuca K, Musilek K, Jun D, Pohanka M, Zdarova Karasova J, Novotny L et al. Could oxime HI-6 really be considered as "broad-spectrum" antidote ? J. Appl. Biomed. 2009;7:143-9.
29. Hamilton MG, Lundy PM. HI-6 therapy of soman and tabun poisoning in primates and rodents. Arch Toxicol. 1989;63:144-9.
30. Ashani Y, Radic Z, Tsigelny I, Vellom DC, Pickering NA, Quinn DM, et al. Amino acid residues controlling reactivation of organophosphonyl conjugates of acetylcholinesterase by mono- and bisquaternary oximes. J Biol Chem. 1995;270(11):6370-80.