

 Département de Médecine Aiguë Service de Pharmacologie et Toxicologie Cliniques	Date création V 1.0: 20.11.2020 Date version actuelle: 20.11.2020	Version 1.0
	Rédacteur : Laura Wainstein	Révisé et validé par : C. Samer, groupe Guidelines COVID
Evaluation pharmacologique de la BROMHEXINE dans la prise en charge de l'infection à COVID-19		

A retenir :

- La bromhexine est un bronchosécrétoLytique utilisé en Suisse lors d'affections chroniques des voies respiratoires avec formation de sécrétions persistantes.
- Plusieurs études précliniques ont suggéré que la bromhexine se comporterait comme un inhibiteur sélectif et puissant de la TMPRSS2 (*Transmembrane Protein Serine 2*). Sachant que la TMPRSS2 jouerait un rôle dans l'activation protéolytique et l'invasion de l'épithélium des voies respiratoires humaines par les différents virus à tropisme respiratoire dont le SARS-CoV-2, les inhibiteurs de la TMPRSS2 sont ainsi devenus des candidats d'intérêt dans le traitement de COVID-19. Par rapport à d'autres inhibiteurs de la TMPRSS2 (tels que le mésylate de camostat ou de nafamostat), l'utilisation clinique bien connue, le profil de tolérance favorable aux doses habituellement utilisées, et le prix, font de la bromhexine une molécule de choix.
- Son profil pharmacocinétique semble en outre intéressant notamment du fait d'une forte distribution dans le parenchyme pulmonaire et d'un faible potentiel d'interactions. Toutefois, l'important effet de premier passage hépatique pourrait rendre difficile l'ajustement de la dose efficace nécessaire à l'inhibition de la TMPRSS2 et non toxique.
- Quelques essais cliniques impliquant la bromhexine, seule ou en association avec d'autres agents thérapeutiques (hydroxychloroquine, spironolactone), à visée thérapeutique ou prophylactique, sont actuellement en cours. Deux d'entre eux ont été publiés ; il s'agit d'essais cliniques randomisés ouverts de petite taille, montrant des résultats encourageants chez les patients atteints de COVID-19, bien que de faible niveau de preuve, et dans lesquels en outre tous les patients de chaque groupe avaient reçu de l'hydroxychloroquine.
- Les données sur la bromhexine restent donc très préliminaires. Chez les personnes infectées par le SARS-CoV-2, la bromhexine en association avec l'hydroxychloroquine pourrait bloquer l'entrée complète du virus dans les cellules hôtes, via leur action synergique. En prophylaxie, l'inhibition de la TMPRSS2 serait essentielle et l'entrée endosomale non spécifique négligeable, impliquant donc le rôle potentiellement majeur d'un inhibiteur de la TMPRSS2, comme la bromhexine.

1. Données pharmacologiques

1.1. Propriétés et indications

La bromhexine, ou bromhexine hydrochloride, est un dérivé synthétique de la vasicine, un principe actif végétal tiré d'une plante médicinale indienne appelée *Adhatoda vasica*. Il s'agit d'un bronchosécrétoLytique, qui exerce un effet sécrétoLytique et sécrétoMoteur sur le tractus bronchique, et fluidifie ainsi les sécrétions bronchiques visqueuses et encombrantes. Elle exerce son action sur la phase gel du mucus en activant la synthèse des sialomucines. En rétablissant l'état de viscosité et d'élasticité des sécrétions bronchiques, elle facilite leur expectoration et soulage ainsi la toux irritative en libérant les voies respiratoires.

En Suisse, la bromhexine est commercialisée sous le nom de Bisolvon®/Bisolvon®Kids et est indiquée classiquement chez l'adulte, comme chez l'enfant, en cas de « *formation excessive de mucus lors de toux*

dues à un refroidissement, et lors d'affections chroniques des voies respiratoires avec formation de sécrétions persistantes et ralentissement du transport des sécrétions sur prescription médicale».

La bromhexine est structurellement apparentée à l'ambroxol, un métabolite actif déméthylé de la bromhexine, qui est également un médicament connu sur le marché (Bisolvon® Ambroxol), utilisé dans des indications respiratoires proches.

1.2. Pharmacocinétique

La bromhexine présente une pharmacocinétique proportionnelle à la dose, pour un intervalle de dose de 8 à 32 mg, après administration orale. Elle est résorbée rapidement et totalement à partir du tractus gastro-intestinal. Les concentrations plasmatiques maximales se produisent après environ 1 heure. La bromhexine subit un important métabolisme de premier passage dans le foie (de 75-80%) ; les formes solides et liquides présentent ainsi des biodisponibilités semblables après administration orale, d'environ seulement 20 à 25%. La prise simultanée de nourriture conduit à une augmentation des concentrations plasmatiques de la bromhexine.

La bromhexine est rapidement et largement distribuée dans les différents tissus après administration intraveineuse, le volume de distribution allant jusqu'à 1209 ± 206 l (19 l/kg). La distribution dans le tissu pulmonaire bronchique et parenchymateux a été étudiée après administration orale de 32 et 64 mg. Deux heures après une administration orale, les concentrations dans le tissu pulmonaire étaient de 1,5 à 4,5 fois plus élevées dans le tissu des bronches et bronchioles, et de 2,4 à 5,9 fois plus élevées dans le parenchyme pulmonaire, comparées aux concentrations plasmatiques. La liaison de la bromhexine inchangée aux protéines plasmatiques est majeure (95%, liaison non-restrictive). Elle traverse par ailleurs la barrière hémato-encéphalique et de petites quantités traversent le placenta.

La bromhexine est presque entièrement métabolisée en plusieurs métabolites hydroxylés et en acide dibromanthranilique. Tous les métabolites et la bromhexine elle-même sont conjugués très probablement sous forme de N- et O-glucuronides. Il n'existe pas de signes probants de modification du profil du métabolisme et de l'élimination de la bromhexine par les sulfonamides, l'oxytétracycline ou l'érythromycine. Par conséquent, des interactions pertinentes, relatives aux concentrations plasmatiques de la bromhexine, sont peu probables avec CYP 2C9 ou 3A4.

La bromhexine est un principe actif possédant un important taux d'extraction hépatique après administration intraveineuse (843 - 1073 ml/min), ayant pour conséquence une variabilité inter- et intra-individuelle importante. Après administration de bromhexine radiomarquée, environ $97,4 \pm 1,9\%$ de la radioactivité sont retrouvés dans les urines, dont moins de 1% sous forme inchangée. Après administration unique de doses orales entre 8-32 mg, la demi-vie terminale était comprise entre 6,6 et 31,4 h. La demi-vie pertinente pour prévoir la pharmacocinétique en doses multiples est d'environ 1 heure. C'est pourquoi aucune accumulation de dose n'a été observée lors de l'administration de doses multiples (facteur d'accumulation 1,1). [Martindale Online ; Swissmedicinfo Online].

1.3. Modalités d'administration

La bromhexine est autorisée chez l'adulte et chez l'enfant âgé de plus de 2 ans. Elle peut être administrée par voie orale ou inhalée. Elle existe ainsi sous trois formes galéniques différentes : comprimés à 8 mg, sirop à 4 ou 8 mg/5 ml et solution à 2mg/1 ml. Chez l'adulte la posologie est comprise entre 24 et 48 mg en 3 prises par jour lors d'une prise par voie orale, et de 8 à 12 mg en 2 à 3 prises par jour lors d'une prise par voie inhalée. [Martindale Online ; Swissmedicinfo Online].

1.4. Toxicité

Des effets indésirables gastro-intestinaux peuvent se produire occasionnellement et une augmentation transitoire des transaminases sériques a été signalée. D'autres effets indésirables ont été rapportés, notamment des céphalées, des étourdissements, des sueurs et des éruptions cutanées. L'inhalation de

bromhexine a parfois provoqué une toux ou un bronchospasme chez des sujets sensibles [Martindale Online ; Swissmedinfo Online].

2. Données précliniques (biochimiques, moléculaires, animales) à l'origine de l'intérêt pour la bromhexine comme traitement potentiel des infections à Sars-Cov-2

2.1. La TMPRSS2 et les virus respiratoires

Le SARS-CoV-2 pénètre dans les cellules de l'organisme en arrimant sa protéine de surface S (spike) aux récepteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2) de l'hôte. Une fois fixé à l'ACE2, le virus a besoin d'une autre protéine cellulaire qu'est la TMPRSS2 (*Transmembrane Protein Serine 2*). La TMPRSS2 est une sérine-protéase de surface cellulaire, régulée par les androgènes et exprimée dans les voies respiratoires humaines. Elle possède plusieurs domaines structuraux, dont le principal, le domaine extracellulaire sérine-protéase, est responsable de l'activité protéolytique de la protéine. La TMPRSS2 est ainsi capable de cliver la protéine S virale et d'initier la fusion des membranes. Il s'agit d'une étape déterminante pour que le SARS-CoV-2 pénètre dans la cellule. On distingue aussi sur la TMPRSS2 un exosite localisé à proximité du site actif, qui joue un rôle crucial pour aider la protéine S à s'orienter correctement avant arrimage [Depfenhart et al. 2020, Singh et al. 2020]. En détail, la protéine S virale se lie au récepteur de l'ACE2 des cellules épithéliales alvéolaires de type 2 par sa sous-unité S1. Puis la TMPRSS2 clive la protéine S en sous-unités S1 et S2. Cela conduit à la libération d'un peptide de fusion interne combiné avec la sous-unité S2, qui permet au virus de pénétrer dans la cellule par endocytose. De plus, la TMPRSS2 clive également l'ACE2 conduisant à l'excrétion d'un fragment de 13 kDa, qui peut augmenter l'entrée du virus chez l'hôte [Stepanov & Lierz 2020].

Une équipe a observé que les cellules VeroE6 exprimant les TMPRSS2 étaient très sensibles à l'infection par le SARS-CoV-2, et qu'en utilisant la surexpression de la TMPRSS2 comme outil, l'isolement du virus était plus facilement possible [Matsuyama et al. 2020].

Il a été montré par ailleurs que la TMPRSS2 jouait également un rôle dans l'activation protéolytique et l'invasion de l'épithélium des voies respiratoires humaines par le virus de la grippe [Böttcher et al. 2006], ainsi que par les virus SARS-CoV et MERS-Cov dans des modèles animaux [Iwata-Yoshikawa al. 2019]. Chez les souris infectées par le virus de la grippe, la TMPRSS2 était en effet un facteur de la cellule hôte essentiel à la propagation du virus, et l'arrêt de l'expression de cette protéase a inhibé la réplication virale [Tarnow et al 2014, Sakai et al. 2014, Hatesuer et al. 2013]. Dans les modèles murins, les souris TMPRSS2-knockout présentaient également un niveau plus faible de propagation des virus SARS-CoV et MERS-Cov dans les poumons, associé à une sévérité immunopathologique réduite [Iwata-Yoshikawa al. 2019].

2.2. Les inhibiteurs de la TMPRSS2 : place de la bromhexine

Comme la protéine S virale sert de médiateur à l'entrée du SARS-CoV-2 dans les cellules hôtes, elle est la principale cible des anticorps neutralisants lors de l'infection, et représente donc aujourd'hui un point central des pistes de développement thérapeutique et vaccinal.

Hofmann et ses collègues ont confirmé que le SARS-CoV-2 pénétrait dans les cellules hôtes principalement par liaison et fusion avec l'ACE2 [Hofmann et al. 2020]. L'inhibition de l'activité de la TMPRSS2 est donc devenue une excellente cible pour une intervention antivirale. La TMPRSS2 joue en outre un rôle crucial dans la modulation du comportement métastatique de certaines tumeurs, par exemple dans le cancer de la prostate, et dans la modulation de l'inflammation comme dans la pancréatite. Considérant ces hypothèses, Hoffmann et ses collaborateurs ont alors proposé d'utiliser le mésylate de camostat, un inhibiteur non sélectif de la TMPRSS2 [Kawase et al. 2012], approuvé au Japon pour le traitement de la pancréatite chronique, comme traitement off-label des patients infectés par le SARS-CoV-2. Leur proposition était fondée sur la constatation que l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule dépend de la liaison de la protéine virale S au récepteur cellulaire de l'ACE2 et de l'amorçage de la protéine S par la protéase

TMPRSS2 de la cellule hôte. L'étude de Hoffmann a indiqué que le clivage de la protéine S par la TMPRSS2 se produisait au niveau du site S1/S2 multibase riche en arginine. Cette action est empêchée par le mésylate de camostat, qui inhibe par conséquent l'entrée du virus du SARS-CoV-2 dans les lignées de cellules pulmonaires Calu-3 et les cellules épithéliales primaires des voies respiratoires humaines [Hoffmann et al. 2020]. Sur la base d'études dans la grippe et d'autres coronavirus, la TMPRSS2 pourrait également réguler l'assemblage viral dans l'appareil de Golgi et la libération du SARS-CoV-2 de la membrane plasmique [Shen et al. 2017].

Toutefois le camostat n'est actuellement autorisé que pour le traitement de la pancréatite chronique au Japon. Très peu de données sont disponibles sur son profil de risque, avec peu ou pas d'expérience d'utilisation chez les enfants, les femmes enceintes, les patients multimorbides et autres patients à haut risque [Depfenhart et al. 2020]. Le mésylate de nafamostat est également un inhibiteur de la sérine protéase, largement utilisé en Asie comme anticoagulant dans les atteintes rénales. Sa structure est étroitement liée à celle du mésylate de camostat. Certains chercheurs avaient déjà mis en évidence son potentiel à inhiber le MERS-CoV [Yamamoto et al. 2016].

Dans la recherche pour la découverte de molécules ayant un effet suppresseur de métastases dans le cancer de la prostate, la bromhexine a été identifiée comme un inhibiteur de la TMPRSS2 lors d'un criblage sur diverses chimiothèques, comprenant plus de 1200 médicaments approuvés par la FDA [Lucas et al. 2014]. Lucas et al. ont montré une diminution de la fréquence des métastases et un ralentissement de la propagation des métastases chez les souris atteintes d'un cancer de la prostate en utilisant des inhibiteurs de la TMPRSS2, notamment la bromhexine. Avec une IC50 de 0,75 μ M, l'inhibition a été signalée comme sélective, puissante, avec de faibles effets sur les protéases de l'hepsine et de la matriptase apparentées [Lucas et al. 2014 ; Shen et al. 2017]. En général, les composés de bromure, en particulier les composés de bromure aromatiques, présentent une affinité de liaison relativement élevée pour les séquences peptidiques, les protéines et les enzymes contenant de la sérine [Lucas et al. 2014 ; Depfenhart et al. 2020].

L'équipe de Shrimp et al. (2020) a cherché à mettre au point un test biochimique utilisant la protéase active TMPRSS2 et un substrat peptidique fluorogène, afin de d'évaluer l'action et l'efficacité de molécules existantes reconverties en candidats thérapeutiques potentiels dans le Covid-19. Ils ont démontré une efficacité pour quantifier l'inhibition jusqu'à des concentrations subnanomolaires, en évaluant l'inhibition du camostat, du nafamostat et du gabexate, tous trois approuvés au Japon. Ils ont également établi le profil d'un métabolite du camostat (FOY-251) et du chlorhydrate de bromhexine. Les composés testés étaient, par ordre de puissance, le nafamostat (IC50 = 0,27 nM), le camostat (IC50 = 6,2 nM), le FOY-251 (IC50 = 33,3 nM) et le gabexate (IC50 = 130 nM). Le chlorhydrate de bromhexine n'a montré aucune inhibition de la TMPRSS2 dans cette étude [Shrimp et al. 2020].

Laporte et Naesens (2017) ont rapporté que la bromhexine n'avait montré aucun effet significatif d'inhibition de l'entrée cellulaire ou de la réplication in vitro pour les virus influenza sur des cellules Calu-3 infectées. Cependant, les auteurs ont montré que les virus influenza utilisaient, contrairement au Sars-CoV-2, une protéase extracellulaire de l'hôte différente pour l'amorçage, rendant potentiellement ces résultats non représentatifs pour le SARS-CoV-2 [Laporte & Naesens 2017].

Ces connaissances sur le mode d'entrée des différents coronavirus dans la cellule hôte, l'interaction potentielle de la bromhexine avec la TMPRSS2, ainsi son utilisation clinique et sa sécurité bien connues, ont ainsi plaidé en faveur de son évaluation chez les patients atteints d'une infection à SARS-CoV-2. Les équipes de recherche se sont orientées vers cette molécule plutôt que vers un autre inhibiteur de la

TMPRSS2, notamment par rapport au mésylate de camostat dont l'utilisation est bien moins établie et très coûteuse [Maggio & Corsini 2020, Habtemariam et al. 2020].

Notons que les données pharmacocinétiques permettent d'envisager l'utilisation de la bromhexine dans cette indication puisque, dans les cellules épithéliales pulmonaires et bronchiques, ses concentrations sont 4 à 6 fois supérieures à celles que l'on retrouve dans le plasma, et donc suffisamment élevées pour inhiber la TMPRSS2 en théorie [Maggio & Corsini 2020]. Une dose de bromhexine à 96 mg par jour PO est la dose maximale chez l'adulte et pourrait assurer une forte inhibition de la TMPRSS2 ; une dose de charge initiale, qui pourrait renforcer l'inhibition du virus, a également été évoquée [Li et al.2020]. Par rapport à d'autres inhibiteurs, l'IC90 pour l'inhibition de la TMPRSS2 par la bromhexine est favorable à 1 µmol, contre 10 µmol pour le mésilate de camostat. Cependant, le premier effet de passage hépatique pour la bromhexine est beaucoup plus élevé que pour le mésilate de camostat (75-80% contre 33-40%) [Depfenhart et al. 2020], nécessitant de rechercher la dose efficace per os.

Enfin de manière générale, la TMPRSS2 reste une cible thérapeutique intéressante et ce d'autant qu'il s'agit d'une protéine de l'hôte, avec donc peu ou pas de risque de voir émerger des mutations qui conduisent à une résistance au traitement si celle-ci est bloquée [<https://www.inserm.fr/actualites-et-evenements/actualites/covid-19-250-molecules-candidates-pour-cibler-corecepteur-tmprss2>].

3. Données cliniques et expérience à venir dans COVID-19

On retrouve 5 essais cliniques en cours impliquant la bromhexine au 12.11.2020 sur le site clinicaltrials.gov :

- Trois études dans lesquelles la bromhexine est utilisée à visée thérapeutique dans la pneumonie à SARS-CoV-2, suspectée ou confirmée, légère ou non, en association avec des soins standard, de l'hydroxychloroquine ou de la spironolactone respectivement ;
- Deux études dans lesquelles la bromhexine est utilisée à visée prophylactique chez les professionnels de santé en contact avec des patients malades, soit seule, soit en association avec de l'hydroxychloroquine.

L'infection aiguë sévère par le SARS-CoV-2 entraîne une cascade de cytokines, avec une activation en aval de l'IL-6 considérée comme une caractéristique marquante en termes de progression de la pneumonie vers l'hyper-inflammation et le SDRA. Les mécanismes d'action présumés de la bromhexine et de l'hydroxychloroquine seraient alors d'atténuer la liaison tissulaire en amont du SARS-CoV-2. La bromhexine bloquant l'entrée des cellules virales médiées par les récepteurs via la TMPRSS2, et l'hydroxychloroquine pouvant inhiber la voie lysosomiale virale, une synergie potentielle sur le blocage de l'entrée des cellules virales pourrait donc théoriquement exister lors d'une utilisation combinée de ces deux molécules ; à l'heure actuelle cela ne reste que spéculatif. Ces essais cliniques spécifiques permettront donc de voir si de tels agents sont plus susceptibles d'être efficaces à un stade précoce de la maladie COVID-19, étant donné qu'ils empêchent l'entrée du virus en amont [Lipworth et al, 2020].

Li T, et al. Clin. Transl. Sci (2020) 1–7; doi:10.1111/cts.12881.

Cet essai clinique (NCT04273763) a déjà fait l'objet d'une publication. Il s'agissait ainsi d'un essai pilote contrôlé, randomisé, ouvert, qui visait à tester la faisabilité des comprimés de chlorhydrate de bromhexine dans le traitement de la maladie COVID-19 légère ou modérée, et à explorer son efficacité et sa sécurité cliniques. Les patients présentant une maladie COVID-19 légère ou modérée ont été randomisés dans le groupe bromhexine ou le groupe témoin selon un rapport de 2:1. Le protocole national

de routine en Chine de diagnostic et de traitement de la pneumonie à SARS-CoV-2 a été appliqué dans les deux groupes, les patients du groupe expérimental ayant reçu en plus du chlorhydrate de bromhexine par voie orale, 32 mg trois fois par jour pendant 14 jours consécutifs.

Au total, 18 patients présentant une maladie COVID-19 modérée ont été randomisés dans le groupe bromhexine (n = 12) ou le groupe de contrôle (n = 6). Notons que le nombre de patients finalement inclus a été bien inférieur à celui issu du calcul du nombre de sujets nécessaires prévu par les analyses statistiques, cela ayant été mis sur le compte du succès de l'endigement de la maladie en Chine.

Il a été suggéré que la bromhexine pourrait présenter un avantage dans l'amélioration du CT thoracique, le besoin d'oxygénothérapie et le taux de décharge à 20 jours. Toutefois, aucun de ces résultats n'était statistiquement significatif. La fréquence des effets indésirables hépatiques (effet indésirable le plus fréquemment rapporté) était deux fois plus faible dans le groupe bromhexine (3/12) que le groupe de contrôle (4/6).

- Population : patients hospitalisés avec COVID-19, avec âge ≥ 18 ans mais ≤ 80 ans et pneumonie à Sars-Cov-2 légère ou modérée, confirmée ou cliniquement suspectée ; patients avec signe de sévérité clinico-biologique initiale ou avec une progression de la maladie COVID-19 en cours d'étude exclus.
- Procédure :
 - tous les participants ont été traités avec des médicaments antiviraux, i.e granules de chlorhydrate d'arbidol (0,1 g-0,2 g 3x/j) et de l'hydroxychloroquine, ainsi que pour certains participants des deux groupes de l'interféron humain recombinant $\alpha 2b$ en spray (0,083 ml 3x/j, 10 dans le groupe bromhexine et 4 dans le groupe contrôle), des corticostéroïdes (2 dans chaque groupe), de l'acétylcystéine (10 et 6 respectivement) et de la phytothérapie chinoise (11 et 5 respectivement)
 - chlorhydrate de bromhexine par voie orale, 32 mg trois fois par jour pendant 14 jours consécutifs dans le groupe traitement. Calcul de la dose de bromhexine administrée sur la base des données pharmacocinétiques à disposition.
- Critères de jugement principaux :
 - Temps de guérison clinique définie comme le retour à la normale des symptômes cliniques (fièvre et symptômes respiratoires) en 48 heures.
 - Taux de détérioration après le début du traitement, défini comme la présence d'une détresse respiratoire, d'une fréquence respiratoire $\geq 30/\text{min}$, d'une $\text{SaO}_2 \leq 93\%$ au repos et d'un indice d'oxygénation ≤ 300 mmHg.
- Critères de jugement secondaires : clairance virologique pendant la période d'étude (taux de conversion SRAS-CoV-2 négatif dans les 20 jours, taux de conversion SRAS-CoV-2 négatif), suivi clinique (taux de rémission clinique, délai de rémission de la fièvre, taux d'amélioration significative de la tomographie thoracique, pourcentage de patients nécessitant une oxygénothérapie, taux de sortie dans les 20 jours) et l'apparition d'effets secondaires.
- Données d'efficacité :
 - Données démographiques et caractéristiques cliniques identiques dans les deux groupes à baseline.
 - Il n'y a pas eu de différences significatives sur les critères de jugement primaires ou secondaires entre les deux groupes. Le temps médian entre le début de la maladie et la guérison pour tous les patients était de 15,0 jours (13,0-22,0 jours).
 - Tous les patients des deux groupes ont obtenu une rémission clinique et des résultats négatifs pour le SRAS-CoV-2. Le délai global avant la rémission de la fièvre était de 11,0 jours (9,0-12,0 jours), avec 10,5 jours (9,3- 11,0 jours) pour le groupe bromhexine et 11,5 jours (9,5-12,0 jours) pour le groupe témoin ($P = 0,70$). Aucun patient de l'un ou l'autre groupe ne s'est détérioré pendant la période d'observation. Le groupe bromhexine

présentait un taux plus élevé d'amélioration remarquable/complète au CT (66,7% contre 33,3%, $P = 0,62$), un pourcentage plus faible de patients nécessitant une oxygénothérapie (16,7% contre 33,3%, $P = 0,11$), et un taux de sortie plus élevé dans les 20 jours (83,3 contre 33,3 %, $P = 0,12$).

- Données de sécurité :
 - 13 patients (72,2%) ont signalé des effets indésirables (EI) pendant la période d'étude, dont atteinte hépatique (38,9%), gingivite (11,1%), insomnie (11,1%), maux de tête (5,6%) et taux élevé de globules blancs dans les urines (5.6%).
 - Tous ces EI ont été classés comme étant de niveaux 1 ou 2 et aucun patient n'a suspendu l'étude en raison d'EI graves. Le plus souvent, l'EI était une lésion hépatique, qui s'est produite chez 3 patients (25,0 %) et 4 patients (66,7 %) du groupe bromhexine et le groupe de contrôle respectivement.
 - Aucune différence significative de tous les types d'EI n'a été observée entre les groupes. 9 des 13 EI ont été définis comme non liés, et 4 ont été définis comme éventuellement sans rapport avec le traitement.

Ansarin et al. 2020 Bioimpacts. 2020; doi: 10.34172/bi.2020.27

Un autre essai clinique conduit en Iran, non enregistré dans *Clinicaltrials.gov* mais dans la base de données nationale iranienne (IRCT) publié. Cet essai clinique randomisé ouvert visait à évaluer l'efficacité d'un traitement précoce par bromhexine sur le taux d'admissions en unité de soins intensifs (USI), la ventilation mécanique et la mortalité chez les patients atteints de COVID-19. Les patients ont été randomisés soit dans le groupe bromhexine soit dans le groupe témoin, dans un rapport de 1:1, avec 39 patients dans chaque bras. Le traitement standard a été mis en œuvre dans les deux groupes, les patients du groupe traitement ayant reçu 8 mgx3/j PO de bromhexine en plus. Au total, 78 patients présentant des caractéristiques démographiques et pathologiques similaires à *baseline* ont été inclus. Une réduction significative des admissions en USI (2 sur 39 contre 11 sur 39, $P=0,006$), de la nécessité de l'intubation (1 sur 39 contre 9 sur 39, $P=0,007$) et de la mortalité (0 contre 5, $P=0,027$) dans le groupe traité par bromhexine par rapport au groupe standard, a été mis en évidence. Aucun patient n'a été exclu de l'étude pour effet indésirable grave.

- Population : patients hospitalisés dans un hôpital universitaire du 18.04 au 18.05.2020, âgés de 18 ans ou plus, avec un diagnostic clinico-radiologique (pas de confirmation par test PCR) par pneumologue certifié.
- Procédure :
 - Traitement standard : Les patients ont reçu un traitement basé sur le protocole de traitement national iranien COVID-19 et les directives de meilleures pratiques de l'époque, ainsi que Hydroxychloroquine 200 mg/j pendant deux semaines, en plus d'une thérapie de soutien symptomatique
 - Dans le groupe traitement : chlorhydrate de bromhexine 8 mg trois fois par jour pendant deux semaines après la randomisation, en plus de la thérapie standard
- Critères de jugement principaux : amélioration du taux d'admission en USI, de l'intubation/ventilation mécanique et de la mortalité à 28 jours.
- Critères de jugement secondaires : amélioration clinique des symptômes, y compris la fièvre, la dyspnée et la faiblesse, évaluation de la CRP, de la LDH et du rapport neutrophiles/lymphocytes (NLR), de la durée du séjour dans l'hôpital. L'amélioration clinique a été définie comme le l'amélioration des symptômes du patient permettant un RAD avec traitement ambulatoire.
- Résultats

- *Âge moyen de 58,4±13,7 ans dans le bras traité et 61,1 ±16,1 dans le bras standard., 48 % d'hommes dans le groupe de traitement et 61 % dans le groupe standard.. Aucune différence significative dans les affections comorbides (diabète, HTA), ni dans la durée entre l'apparition des symptômes et l'admission en entre les deux groupes. IMC et score APACHE dans les deux groupes presque identiques.*
- Données d'efficacité :
 - *mortalité à 28 jours : aucun patient n'est décédé (0%) dans le groupe de traitement, 5 sont morts (12,8%) dans le groupe standard (P= 0,027).*
 - *2 patients du groupe bromhexine ont été admis aux USI (5,1 %) vs 11 patients (28,2 %) dans le bras standard (P=0.006).*
 - *1 patient a reçu une ventilation mécanique (2,6 %) parmi les patients sous bromhexine vs 9 patients (23,1 %) dans le bras standard (P=0,007)*
 - *Dans un délai de deux semaines, la dyspnée a persisté à 3,4% dans le groupe de traitement contre 48,3% dans le groupe standard (P≤0.001) et persistance de la toux chez 6,9% des patients dans le groupe de traitement contre 40,0% dans le groupe standard (P=0,003).*
 - *Les patients du groupe bromhexine présentaient amélioration du niveau de LDH (363,2±83,6 contre 445,3±115,2 ; P=0,056), NLR [1,7 (1,0) contre 3,0 (6,3) ; P=0,052] et CRP [0% contre 81,8% ; P<0,001]] dans un intervalle de deux semaines par rapport au groupe standard.*
 - *Pas de différence significative dans la durée de séjour à l'hôpital entre les deux groupes (traitement 7,6±3,5 jours et standard 8,1±5,5 jours ; P=0,587).*
- Données de sécurité : *aucun effet secondaire grave rapporté, sans précision.*

Références

- Ansarin K, et al. Effect of bromhexine on clinical outcomes and mortality in COVID-19 patients: A randomized clinical trial. *Bioimpacts*. 2020; 10(4): 209–215. doi: [10.34172/bi.2020.27](https://doi.org/10.34172/bi.2020.27)
- Böttcher E, Matrosovich T, Beyerle M et al. Proteolytic activation of influenza viruses by serine proteases TMPRSS2 and HAT from human airway epithelium. *J. Virol*. 80 2006;9896–9898.
- Depfenhart M, de Villiers D, Lemperle G et al. Potential new treatment strategies for COVID-19: is there a role for bromhexine as add-on therapy? *Intern Emerg Med*. 2020 Aug;15(5):801-812.
- Habtemariam S, Nabavi SF, Ghavami S et al. Possible use of the mucolytic drug, bromhexine hydrochloride, as a prophylactic agent against SARS-CoV-2 infection based on its action on the Transmembrane Serine Protease 2. *Pharmacol Res*. 2020 Jul;157:104853.
- Hatesuer, B. et al. Tmprss2 is essential for influenza H1N1 virus pathogenesis in mice. *PLoS Pathogens* 2013; 9, 1003774.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor; *Cell* 2020 pii: S0092-8674(20)30229-4 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32142651/>.
- Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y et al. TMPRSS2 contributes to virus spread and immunopathology in the airways of murine models after coronavirus infection. *J. Virol*. 2019;93 (6) : e01815–01818 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30626688/>.
- Kawase M, Shirato K, van der Hoek L et al. Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry, *J. Virol*. 86 (2012) 6537–6545 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/224962166/>
- Laporte M and Naesens L. Airway proteases: An emerging drug target for influenza and other respiratory virus infections. *Curr Opin Virol* 24: 16-24, 2017.

Li T, Sun L, Zhang W et al. Bromhexine Hydrochloride Tablets for the Treatment of Moderate COVID-19: An Open-Label Randomized Controlled Pilot Study. Citation: Clin. Transl. Sci (2020) 1–7; doi:10.1111/cts.12881.

Lipworth B, Chan R, Lipworth S, RuiWen Kuo C. [Weathering the Cytokine Storm in Susceptible Patients with Severe SARS-CoV-2 Infection](#). J Allergy Clin Immunol Pract. 2020 Jun;8(6):1798-1801.

Lucas JM, Heinlein C, Kim T et al. The androgen regulated protease TMPRSS2 activates a proteolytic cascade involving components of the tumor microenvironment and promotes prostate cancer metastasis. Cancer Discov 2014 (4) :1310–1325.

Maggio R, Corsini GU. Repurposing the mucolytic cough suppressant and TMPRSS2 protease inhibitor bromhexine for the prevention and management of SARS-CoV-2 infection. Pharmacol Res. 2020 Jul;157:104837.

Matsuyama S, Nao N, Shirato K et al. Enhanced isolation of SARS-CoV-2 by TMPRSS2-expressing cells, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (2020) <https://doi.org/10.1073/pnas.2002589117>.

Nitulescu GM, Paunescu H, Moschos SA et al. [Comprehensive analysis of drugs to treat SARS-CoV-2 infection: Mechanistic insights into current COVID-19 therapies](#). Int J Mol Med. 2020 Aug;46(2):467-488. doi: 10.3892/ijmm.2020.4608.

Sakai, K. et al. The host protease TMPRSS2 plays a major role in in vivo replication of emerging H7N9 and seasonal influenza viruses. J. Virol 2014; 88, 5608–5616.

Shen LW, Mao HJ, Wu YL, Tanaka Y, Zhang W. TMPRSS2: a potential target for treatment of influenza virus and coronavirus infections. Biochimie 2017;142:1-10.

Shrimp JH, Kales SC, Sanderson PE. An Enzymatic TMPRSS2 Assay for Assessment of Clinical Candidates and Discovery of Inhibitors as Potential Treatment of COVID-19. ACS Pharmacol Transl Sci. 2020 Sep 7;3(5):997-1007.

Singh N et al. Structure-based drug repositioning over the human TMPRSS2 protease domain: search for chemical probes able to repress SARS-CoV-2 Spike protein cleavages. Eur J Pharm Sci 2020. DOI: [10.1016/j.ejps.2020.105495](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105495)

Stepanov D & Lierz P. Bromhexine Hydrochloride: Potential Approach to Prevent or Treat Early Stage Novel 2019 Coronavirus Disease. J Infect Dis Epidemiol 2020, 6 (3):135.

Tarnow, C. et al. TMPRSS2 is a host factor that is essential for pneumotropism and pathogenicity of H7N9 influenza A virus in mice. J. Virol. 2014; 88, 4744–4751.

Yamamoto M, Matsuyama S, Li X et al. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome coronavirus S protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60(11):6532– 6539.