

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 485 375

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 81 11804

(54) Composition coagulante utilisable comme pansement et utilisation sous forme de produit préconditionné.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). A 61 K 37/48; A 61 L 15/03.

(22) Date de dépôt..... 16 juin 1981.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : EUA, 30 juin 1980, n° 164 821, et 20 avril 1981, n° 255 953.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — « Listes » n° 53 du 31-12-1981.

(71) Déposant : Société dite : APPLIED MEDICAL DEVICES, INC., résidant aux EUA.

(72) Invention de : John H. Altshuler.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Claude Rodhain, conseils en brevets d'invention,
30, rue La Boétie, 75008 Paris.

Composition coagulante utilisable comme pansement et utilisa-
tion sous forme de produit préconditionné.

La présente invention concerne des coagulants ou agents de coagulation, et plus précisément des pansements, 5 ou compresses absorbantes, préconditionnés, saturés avec la solution coagulante, de façon à favoriser la coagulation du sang dans la région d'une blessure, de manière fiable et efficace.

Jusqu'à présent, on avait mis au point des 10 pansements ou des compresses traités comme produits favorisant l'arrêt du saignement des blessures, des coupures, des égratignures, etc. En général, l'approche qui a été suivie a consisté à formuler une composition qui comprend un agent de coagulation, avec ou sans agent germicide ou antiseptique, et 15 à saturer la compresse ou le ruban de gaze sur le pansement avec cette solution. A titre d'exemple, le brevet des Etats-Unis d'Amérique délivré à Curtis, n° 2 579 367, décrit la formulation d'un pansement dans lequel on applique une solution aqueuse ou une pâte protéinée sur la zone à traiter, 20 cette opération étant suivie de l'application d'un coagulant protéinique, celle-ci étant transformée en un escarre artificiel, insoluble, semi-perméable. La composition du coagulant protéinique suggérée dans ce brevet, comprend des sels métalliques sélectionnés, tels que des sels solubles dans 25 l'eau, du zinc divalent, du manganèse, du cobalt, et en particulier, l'acétate de zinc, le sulfure de cobalt et le sulfate de manganèse. Il est proposé d'appliquer cette composition sur une gaze chirurgicale et de la laisser sécher, cette opération étant suivie de l'application de la gaze sur 30 un revêtement constitué par la pâte protéinique et sur une blessure, de façon à ce que la pâte réagisse avec le sel métallique du pansement pour former un caséinate de métal. D'autres auteurs ont proposé l'utilisation de divers types 35 de pansements ou de compresses traités avec un agent coagulant tels que ceux décrits dans les brevets des Etats-Unis

d'Amérique n° 2 442 211 délivré à Beardsley, n° 3 731 683 délivré à Zaffaroni, n° 3 342 183 délivré à Edinbaum, n° 3 317 376 délivré à Schattner et n° 3 228 259 délivré à Enderson. Cependant, au cours des dernières années, aucun 5 d'eux n'a élaboré un procédé efficace de préparation d'une composition coagulante préconditionnée qui, au moyen d'un stockage adéquat, puisse être appliquée sous forme d'un pansement sur une blessure, et agir efficacement pour convertir la fibrinogène du sang en un caillot de fibrine.

10 On comprendra mieux le fait qu'il est important d'agir directement sur le fibrinogène en étudiant le mécanisme de coagulation du sang. D'une manière générale, le facteur de coagulation non modifié, connu sous le nom de proenzyme, est converti en un enzyme actif qui est capable 15 à son tour de transformer des milliers de molécules du substrat en enzymes actifs. Une réaction en chaîne est ainsi amorcée et l'activation d'une seule molécule de proenzyme peut conduire à l'activation de la totalité du mécanisme de coagulation. D'autre part, le système fibrinolytique est an- 20 tagoniste vis-à-vis du mécanisme de coagulation et maintient un équilibre entre la formation du caillot et la destruction de celui-ci. Dans le système fibrinolytique, un groupe de proenzymes, lorsqu'ils sont attirés, sont transformés en enzymes qui sont capables de dissoudre les caillots sanguins, 25 l'enzyme dissolvant ou lytique étant désigné sous le nom de plasmine. Cependant, de nombreux facteurs peuvent apparaître et perturber l'équilibre entre la formation du caillot et la lyse du caillot. ..

Il n'entre pas dans le cadre de la présente 30 invention de considérer les facteurs qui peuvent interrompre la réaction en chaîne ou la séquence de coagulation. Il est cependant important de reconnaître qu'il est très souhaitable que l'activité de coagulation se produise en l'un des derniers stades de la séquence ou de la réaction en chaîne, et 35 plus précisément sur le site de la blessure, de façon à ce que le mécanisme de coagulation ne soit pas interrompu par

d'autres facteurs perturbateurs dans la séquence. Cette approche permet de rendre minimal le risque que l'agent de coagulation pénètre dans le flux sanguin, et aura pour effet de provoquer la coagulation de la façon la plus rapide et la plus superficielle dans la région de la blessure.

La thrombine est une substance protéinique stérile, préparée à partir de la prothrombine, par interaction avec de la thromboplastine, généralement ajoutée en présence de calcium. Sous forme concentrée, elle présente un puissant effet de coagulation sur le sang et, plus précisément, sur la coagulation du fibrinogène plasmatique en transformant celui-ci en un caillot de fibrine. D'ordinaire, la thrombine est disponible sous forme d'une poudre mélangée à des proportions mineures d'autres ingrédients, tels que le chlorure de sodium, le chlorure de calcium, la glycine et le chlorure de benséthonium, pour jouer le rôle d'agent de conservation lorsque la thrombine est stockée sous forme sèche ou pulvérulente. Elle a été appliquée, au cours des dernières années, sous forme d'une solution, directement sur des coupures ou des blessures, ou utilisée en association avec d'autres agents hémostatiques tels qu'une éponge de gélatine absorbable qui est appliquée après la fermeture d'une incision chirurgicale, l'éponge étant progressivement absorbée. Cependant, personne n'a conçu de procédé satisfaisant permettant de la formuler de façon à pouvoir la préconditionner et la stocker hermétiquement en vue d'une application ultérieure sur une blessure.

Le brevet des Etats-Unis d'Amérique 2 433 299, délivré à Siegers, porte sur la conservation de la thrombine par stockage dans une solution de saccharose, qui, en même temps qu'une solution de sérum physiologique, peut être pulvérisée ou appliquée sur un tissu saignant. Cependant, le principal intérêt de ce brevet est de mettre en lumière les problèmes associés à la conservation de la thrombine, et le fait que la solution de saccharose ne lui permet pas d'être utilisable dans la pratique, en tant que substance préconditionnée, pour effectuer une coagulation.

Une importante difficulté à noter, est la nécessité de fournir un produit capable d'être transporté commercialement. Il doit présenter une durée de vie au stockage acceptable, dans des conditions thermiques auxquelles il est
5 probable qu'une composition de coagulation plasmatique préconditionnée puisse être soumise.

La présente invention a donc pour objet de fournir une composition coagulante nouvelle et améliorée et un procédé pour sa préparation, sous forme préconditionnée,
10 pour une application sur une coupure ou une blessure, soit intérieurement, soit extérieurement à l'organisme. L'invention a également pour objet de fournir un pansement nouveau et amélioré, contenant une solution coagulante qui, lorsqu'elle est appliquée sur une blessure, est capable de coaguler le sang
15 tout en évitant la pénétration de particules étrangères, et pouvant être facilement retiré de la peau, sans provoquer une réouverture de la blessure.

Un autre but de l'invention est de fournir une solution de thrombine préconditionnée, qui se prête à une
20 utilisation en association avec des compresses absorbantes, des pansements, des bandages, etc., et qui est capable d'être conservée et stockée pendant une période prolongée, en vue d'une utilisation ultérieure pour traiter des blessures et des coupures de façon sûre et fiable.

25 Une composition coagulante préconditionnée et un procédé pour préparer celle-ci ont été élaborés en vue d'une utilisation pour coaguler le sang, à la fois rapidement et efficacement. Les pansements, les bandages, les compresses absorbantes, etc., imprégnés d'une solution coagulante, se
30 prêtent tout particulièrement à une utilisation pour provoquer une coagulation superficielle lorsque cela est nécessaire, par exemple, sur le site d'une blessure ou d'une coupure. La composition de l'invention comprend une proportion mineure, mais efficace, de thrombine dissoute dans une solution de sérum
35 physiologique à laquelle un conservateur est, ou a été, ajouté.

Le principal agent de conservation est un polyol totalement hydroxylé, à chaîne droite en C₃ à C₆, tel que le glycérol, le mannitol, le sorbitol. Il est souhaitable que l'un ou plusieurs des acides aminés essentiels ne contenir 5 pas de soufre, soient présents sous forme d'un agent de conservation supplémentaire et facultativement, un polyéthylène glycol, ayant de préférence une masse moléculaire dans la gamme de 2500 à 6000, est présent.

La teneur en chlorure de sodium de la solution 10 coagulante est pratiquement égale à la teneur isotonique et empêche la rupture des globules rouges lorsqu'elle est appliquée à une blessure.

Un pansement, ou une compresse de gaze, est saturé avec la solution obtenue et conditionné de façon étanche, par exemple en le plaçant dans un récipient ou dans un paquet pouvant être fermé de façon étanche puis est enfermé de façon étanche et de préférence stocké à basse température, par exemple entre 2° et 8°C, dans des conditions réfrigérées, de façon à obtenir une durée de vie au stockage maximum. Le 20 bandage, le pansement, la compresse, etc., peuvent ensuite être retirés de leur récipient ou paquet et appliqués directement sur la blessure ou la coupure sans préparation spéciale ou activation de la composition coagulante.

Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, la thrombine est dissoute dans une solution de sérum physiologique en même temps que de la lysine, du glycérol et du polyéthylène glycol. Des pansements prêts à l'utilisation sont saturés avec le mélange obtenu, puis empaquetés individuellement de façon étanche et stockés en vue d'une utilisation ultérieure. Dans ce mode de réalisation, la durée de vie au stockage et l'efficacité de la thrombine sont prolongées de façon significative, par les effets de conservation combinés du glycérol, du polyéthylène glycol et de la lysine.

Dans un autre mode de réalisation préféré, 35 la thrombine est combinée à de la lysine et à du glycérol, et est introduite dans une solution de sérum physiologique,

intimement mélangée et dissoute, puis appliquée immédiatement à un pansement, ou à une compresse, de façon à saturer totalement celui-ci. On conditionne le pansement de façon étanche en le plaçant dans une enveloppe ou autre récipient pouvant 5 être fermé de façon étanche, et on le stocke à basse température afin de minimiser l'évaporation de la solution et à maintenir la thrombine à l'état actif.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention, ressortiront de la description détaillée ci-10 après, associée aux dessins annexés dans lesquels :

- La Fig. 1 est une vue en perspective d'un pansement prêt à l'utilisation, contenu dans une enveloppe pouvant être fermée hermétiquement et constituant un mode de réalisation de la présente invention.

15 - La Fig. 2 est un diagramme schématique représentant les étapes conduisant à la préparation de la forme préférée d'un coagulant préconditionné conforme à la présente invention.

- Et la Fig. 3 est un graphique représentant 20 la stabilité comparative et le temps de coagulation des solutions coagulantes préparées conformément à la présente invention.

Conformément à la présente invention, on prépare une solution coagulante en combinant 50-2000 unités 25 par ml, et de préférence de 10 à 100 unités de thrombine par ml de solution coagulante, ainsi que de petites quantités d'un acide aminé essentiel exempt de soufre, le composé polyhydroxylé et, facultativement, du polyéthylène glycol.

La solution coagulante physiologique salée 30 peut présenter une concentration finale en chlorure de sodium de l'ordre de 0,50 % à 0,95 % en poids.

Comme cela a déjà été indiqué, la solution coagulante salée diluée est isotonique ou pratiquement iso-tonique en concentration en sel, de façon à éviter une rup-35 ture inutile des globules rouges sur le site de la blessure.

L'acide aminé est de préférence introduit sous forme solide, en proportions molaires de 0,01 à 0,25. On peut, par exemple, utiliser de la L-lysine dans un rapport molaire de 0,05, soit 0,91325 gramme pour 100 ml de solution coagulante.

Il est à noter, en ce qui concerne la pratique de la présente invention, que certaines blessures sur lesquelles la composition de l'invention peut être appliquée, se situent à l'intérieur de cavités du corps, par exemple de la bouche. Des pansements et des bandages imprégnés avec la solution coagulante peuvent parfaitement être utilisés pour stopper les saignements après l'extraction d'une dent ou d'autres actes chirurgicaux oraux. Une certaine partie de la solution coagulante, provenant du pansement, pourrait être ingérée. En conséquence, il est prudent d'utiliser des substances conservatrices qui sont généralement reconnues comme étant sans danger dans les produits alimentaires, c'est pourquoi on utilisera notamment les acides aminés essentiels (qui ne comprennent pas de partie soufre) dans la solution coagulante. Comme cela a déjà été indiqué, l'acide aminé est présent dans la solution, aux concentrations molaires de 0,01 à 0,25.

Un nombre limité de composés humectants polyhydroxylés peuvent être utilisés dans la composition coagulante de l'invention, à savoir les polyols totalement hydroxylés, à chaîne droite en C₃ à C₆, parmi lesquels on peut notamment, et de préférence, citer le glycérol et les alcools des sucres en C₆. Parmi les polyols préférés, on citera le mannitol, le sorbitol, et les mélanges de ceux-ci. La teneur en polyol de la solution coagulante est de 10 à 50 % en poids. Le glycérol, qui est le polyol préféré, semble conférer aux pansements une propriété d'antiadhérence au caillot qui permet de retirer le pansement plus facilement du caillot, sur le site de la blessure. Lorsqu'on utilise le glycérol, la concentration peut être de 10 à 50 % en volume, la concentration préférée étant d'environ 30 % v/v de la solution coagulante.

La présence de polyéthylène glycol est facultative mais préférée. Lorsqu'il est présent, le polyéthylène glycol constitue 0,01 à 4,00 % en poids de la solution coagulante. On préfère un polyéthylène glycol d'une masse moléculaire dans la gamme de 2500 à 6000.

A titre d'exemple, pour un mode de réalisation préféré de la solution coagulante, on introduit un polyéthylène glycol d'une masse moléculaire d'environ 6000, dans des proportions de l'ordre de 0,2 %, soit 0,2 gramme pour 100 millilitres de solution coagulante dans une solution de sérum physiologique en même temps que de la lysine, dans un rapport molaire de 0,05, et que 6500 unités internationales de thrombine pour 100 ml de coagulant. Le glycérol est ajouté dans la proportion d'environ 30 parties en volume de la solution. Dans la solution résultante, décrite ci-dessus, la lysine, le glycérol et le polyéthylène glycol jouent chacun le rôle de conservateur protéinique, et on a constaté que leur utilisation combinée augmentait de façon significative la conservation de l'effet de la thrombine lorsqu'elle est appliquée sur une compresse ou un autre produit absorbant.

La thrombine, dans une solution de sérum physiologique est stable pendant des périodes prolongées, si l'on prend soin de tenir la solution à 2°-8°C. Cependant, sur le plan pratique, il est très difficile d'éviter l'éventualité qu'un lot de solution de thrombine soit soumis à des températures ambiantes supérieures. Il est inévitable que certains lots de produits coagulants provenant du site de fabrication passent un certain temps dans un camion non réfrigéré, lors d'une période de congé, ou pendant un week-end, ou qu'ils soient exposés pendant plusieurs heures au soleil sur un quai de chargement. Si l'existence de thrombine désactivée thermiquement n'a pas été constatée avant l'utilisation, l'incapacité du bandage ou du pansement à induire une coagulation constituera un préjudice vis-à-vis du fabricant. La nouveauté de l'invention est de fournir des solutions de thrombine capables de résister à une désactiva-

tion sous l'effet de conditions thermiques auxquelles certains lots pourraient être soumis. En d'autres termes, un but important atteint ici est la préparation de compositions coagulantes restant actives pendant des périodes prolongées,
5 à savoir pendant des mois, aux températures ambiantes.

Des essais indiquent que l'agent de stabilisation ou de conservation principal est le polyol humectant. L'acide aminé stabilise la thrombine à un degré mineur, mais de façon cumulative. Il n'est pas certain que le polyéthylène
10 glycol contribue à la stabilité thermique mais néanmoins sa présence est considérée souhaitable et préférée.

Dans tous les cas, les compositions de l'invention, et en particulier les modes de réalisation préférés de celle-ci, ont présente une durée de vie au stockage
15 supérieure à cent jours, à 37°C. A 37°C, les solutions de thrombine dans du sérum physiologique se désactivent au bout de quelques jours. Les compositions de l'invention sont suffisamment stables (thermiquement) pour permettre une distribution de formes fabriquées de l'invention, telles que des
20 compresses absorbantes, des pansements, des bandages, etc., en provenance du site de fabrication par des voies commerciales normales.

Pour préparer la solution coagulante, on dissout le chlorure de sodium dans de l'eau stérile à la
25 température ambiante (désionisée ou distillée) à la concentration souhaitée, puis on utilise une partie de la solution de sérum physiologique pour prédissoindre la thrombine (qui est normalement sous forme de poudre). On mélange une proportion nettement plus importante de la solution de sérum physiologique et la totalité du polyol utilisé dans le lot, puis on y mélange la solution de thrombine. On ajoute ensuite la totalité de l'acide aminé (pulvérulent), par exemple la lysine, et si on en utilise, la totalité du polyéthylène glycol (solide) sur la base du rapport poids à
30 volume (final) et on les mélange jusqu'à dissolution. On effectue ensuite des ajustements jusqu'à l'obtention du volume final de la composition coagulante avec davantage de solution de sérum physiologique.

Comme l'illustre la Fig. 1, la solution est ensuite appliquée à un pansement 10 de façon à le saturer totalement. A titre d'exemple, le pansement peut être constitué d'une ou plusieurs couches de ruban de gaze, représentées en 12, qui sont noyées dans une pellicule plastique poreuse 13, à l'aide d'un procédé classique. Le pansement, ou la compresse, est ensuite enfermé de façon étanche dans une enveloppe de papier 14 comprenant une feuille de doublure 15 et une couche intérieure 16 d'une pellicule de polyéthylène.

Les couches de pellicules intérieures 16 présentent des bords scellés thermiquement 17, le long de leurs bords contigus qui sont appliqués l'un sur l'autre, de manière à enfermer de façon totalement étanche le pansement. Une fois qu'il a été conditionné de la façon décrite ci-dessus, le pansement est stocké à faible température, de préférence de l'ordre de 2°C à 8°C.

La Fig. 2 illustre les opérations effectuées pour la préparation de la solution elle-même et décrites ci-dessus, avec les produits successifs suivants : lysine 20 - thrombine 21 - conservateur 22, sérum physiologique 23, composition coagulante 24, pansement saturé 25, étanchéité et stockage 26.

La Fig. 3 est un graphique représentant l'activité de coagulation, sur la base d'essais de stabilité des solutions coagulantes dans lesquels on combine de la thrombine à divers conservateurs conformément à la présente invention. Les essais effectués indiquent les proportions décrites ci-dessus, c'est-à-dire une teneur en thrombine de 50 à 2000 unités de thrombine par millilitre de solution et une teneur en polyol de l'ordre de 10 à 50 parties en poids de la solution coagulante. C'est ainsi qu'un rapport en excès de 50 parties de glycérol a tendance à produire une très grande viscosité ou épaisseur et semble retarder l'activation par contact, c'est-à-dire que la thrombine devient moins accessible au fibrinogène comme agent de coagulation. Dans des proportions inférieures à 10 parties de glycérol dans la solution, le glycérol perd son effet conservateur.

Comme cela a déjà été indiqué, la gamme de concentrations de l'acide aminé est de l'ordre de 0,01 à 0,25 mole. Les acides aminés préférés sont la lysine, la glycine et l'isoleucine. La gamme de teneurs en polyéthylène glycol est de 0,01 à 4,0 % en poids dans la solution coagulante.

Dans les exemples non limitatifs suivants, décrivant la solution coagulante et les résultats qu'on peut en obtenir, les proportions relatives sont indiquées soit en pourcentage, soit en poids par volume, selon le cas.

Les résultats des essais obtenus avec les coagulants préparés de la façon décrite dans les exemples I à VI, sont illustrés par la Fig. 3. On notera que les proportions et les conditions d'essais choisies pour les exemples I à VI, ont été sélectionnées de façon à fournir des résultats pratiquement idéalisés, mettant en valeur les résultats que l'on peut obtenir avec la présente invention. Les compositions des modes de réalisation préférés sont décrites dans l'exemple VIII.

20 Exemple I

On prépare une solution coagulante contenant les ingrédients suivants :

<u>Ingrédient :</u>	<u>Pour 100 millilitres :</u>
Thrombine	1500 unités
25 Lysine	0,1 en mole
Polyéthylène glycol	0
Glycérol	30 parties (en volume)
Sérum physiologique	concentration en NaCl :
	0,95 % (équilibre)

30 Les ingrédients sont mélangés intimement, de la façon décrite ci-dessus, et introduits dans un flacon, puis stockés à une température de 40°C, pour déterminer la stabilité de la solution au moyen d'un essai de stabilité accéléré. Il ressort du graphique de la Fig. 3, basé sur des tests de stabilité accélérés, après soixante jours

de stockage à 40°C, que la thrombine en solution reste stable et capable de coaguler le sang en moins de 10 secondes. L'essai accéléré est équivalent à une durée de vie au stockage de huit mois à la température ambiante, ou de douze 5 mois à 4°C. Les résultats des essais de stabilité accélérés, pour les solutions coagulantes des exemples I à V, sont illustrés sur la Fig. 3.

Exemple II

On prépare une solution coagulante de la 10 façon suivante :

<u>Ingrédient</u> :	<u>Pour 100 millilitres</u> :
Thrombine	1500 unités
Lysine	0,05 en mole
Glycérol	30 parties (en volume)
15 Polyéthylène glycol	0
Sérum physiologique	concentration en NaCl : 0,95 % (équilibre)

On mélange intimement les ingrédients, de la façon décrite ci-dessus, et on sature une compresse absorbante avec la solution, puis on la conditionne et on la stocke hermétiquement de la façon décrite ci-dessus, de façon à ce qu'elle soit prête à l'utilisation. En l'absence de polyéthylène glycol, il est apparu que des quantités réduites de lysine affaiblissent la stabilité et l'activité 25 de coagulation de la solution.

Exemple III

On prépare une solution coagulante de la façon suivante :

<u>Ingrédient</u> :	<u>Pour 100 millilitres</u> :
30 Thrombine	1500 unités
Lysine	0
Polyéthylène glycol	(mm = 6000) 0,2 gramme
Glycérol	30 parties (en volume)
Sérum physiologique	concentration en NaCl : 0,95 % (équilibre)
35	

On mélange intimement les ingrédients de la façon décrite ci-dessus, et on sature une compresse absorbante avec la solution, puis on la conditionne et on la stocke hermétiquement, de façon à ce qu'elle soit prête à l'utilisation. En l'absence de la lysine, le temps de coagulation s'accroît de façon notable, ce qui indique une diminution importante de la stabilité.

Exemple IV

On prépare une solution coagulante de la façon suivante :

<u>Ingrédient</u> :	<u>Pour 100 millilitres</u> :
Thrombine	1500 unités
Lysine	0,1 en mole
Glycérol	30 parties (en volume)
15 Polyéthylène glycol	0,2 gramme
Sérum physiologique	concentration en NaCl : 0,95 % (équilibre)

On mélange intimement les ingrédients de la façon décrite ci-dessus, et on sature une compresse absorbante avec la solution, puis on la conditionne et on la stocke hermétiquement de la façon décrite ci-dessus, de façon à ce qu'elle soit prête à l'utilisation. La stabilité est accrue et la durée de vie au stockage est prolongée de façon notable par la présence de lysine et de polyéthylène glycol.

Exemple V

On prépare une solution coagulante de la façon suivante :

<u>Ingrédient</u> :	<u>Pour 100 millilitres</u> :
30 Thrombine	1500 unités
Lysine	0,05 en mole
Glycérol	30 parties (en volume)
Polyéthylène glycol	0,2 gramme par millilitre
Sérum physiologique	concentration en NaCl : 0,9 % (équilibre)
35	

On mélange intimement les ingrédients de la façon décrite ci-dessus, et on sature une compresse absorbante avec la solution, puis on la conditionne et on la stocke hermétiquement de la façon décrite ci-dessus, de façon à ce qu'elle soit prête à l'utilisation. Malgré une diminution de la teneur en lysine, la stabilité de la solution est excellente d'après les essais de stabilité accélérés.

Exemple VI

On prépare une solution coagulante de la façon décrite ci-dessus :

<u>Ingrédient</u> :	<u>Pour 100 millilitres</u> :
Thrombine	1500 unités
Lysine	0,05 en mole
Glycérol	0
15 Polyéthylène glycol	0, 2 gramme par millilitre
Sérum physiologique	concentration en NaCl : 0,90 % (équilibre)

Les résultats d'essais de vieillissement accélérés sont pratiquement identiques à ceux qui ont été obtenus avec la solution coagulante de l'exemple III, comme l'illustre la courbe III de la Fig. 3.

Exemple VII

On plonge un pansement prêt à l'utilisation, du type décrit ci-dessus, et représenté dans la Fig. 1, dans une solution coagulante de la composition décrite dans l'exemple V, jusqu'à ce qu'il soit complètement saturé. A titre d'illustration, on notera que pour un pansement préparé à partir d'une compresse de Telfa, de l'ordre de 5,08 cm x 7,62 cm x 0,1 cm, les proportions d'ingrédients dans la compresse, par cm³ de compresse, sont les suivantes :

Thrombine	-	≥ à 25,83 unités par cm ³
Polyéthylène glycol	-	≥ à 516 microgrammes par cm ³
Glycérine	-	≥ à 77 microlitres par cm ³
Lysine (monochlorhydrate)	-	≥ à 2,36 milligrammes par cm ³

Les concentrations ci-dessus, par cm³, sont basées sur une distribution homogène dans la compresse de Telfa.

Exemple VIII

5 Une formulation préférée pour la pratique de l'invention est décrite ci-dessous, et est préparée de la façon décrite dans l'exemple I, et utilisée pour imprégner des pansements, etc., de la façon décrite dans l'exemple VII.

	<u>Ingrédient :</u>	<u>Proportion :</u>
10	Eau	70 parties en volume
	Glycérine	30 parties en volume
	L-lysine (monochlorhydrate)	0,913 gramme pour 100 ml de solution (0,05 M)
	Chlorure de sodium	0,9 gramme / 100 ml de solution
15	Polyéthylène glycol (M _n = 6000)	0,2 gramme pour 100 ml de solution
	Thrombine bovine * (Parke-Davis)	6500 Unités Internationales pour 100 ml de solution
20	* La gamme préférée de thrombine pour l'imprégnation de compresses telles que des compresses de Telfa est de 100-125 Unités Internationales par compresse.	

Exemple IX

Une série d'études ont été effectuées à 2-8°C, et à 37°C, avec les proportions utilisées pour la formulation de l'exemple VIII, sauf indication contraire, en remplaçant, selon les cas, la glycérine par du mannitol et du sorbitol, et la L-lysine par de l'isoleucine et de la glycine et en omettant le polyéthylène glycol et l'acide aminé.

30 Les séries témoins, c'est-à-dire de la thrombine dans du sérum physiologique, se sont désactivées au bout d'environ un jour à 37°C et n'ont pas présenté des pertes significatives de l'activité au bout de 75 jours à 2-8°C, comme l'ont indiqué des mesures du temps de coagulation de la thrombine. Tous les essais avec les solutions

décrivées brièvement ci-après, effectués à 2-8°C, ont confirmé la stabilité de la thrombine en solution aux basses températures.

Les solutions de thrombine dans du sérum physiologique avec 0,05 M de glycine ou d'isoleucine, ou de L-lysine sans polyéthylène glycol (PEG) ou humectant, ont montré à 37°C, qu'il se produisait une certaine augmentation de la stabilité, toutes ces solutions étant stables pendant au moins dix jours sans perte d'activité, mais présentant ensuite une rapide perte d'activité et toutes les solutions perdant totalement leur activité au bout de quarante jours. Dans cet essai témoin, l'isoleucine et la glycine ont donné des résultats meilleurs que la L-lysine.

Les solutions de thrombine dans du sérum physiologique (sans PEG, ni acide aminé) avec 15 % de mannitol, ou 30 % de glycérine, ou 30 % de sorbitol ont présenté une activité de la thrombine soutenue à 37°C pendant quarante jours (sorbitol), et dans certains essais pendant soixante-quinze jours (glycérine et mannitol). Des solutions comparables qui contenaient 0,2 % de PEG, et 0,05 M de lysine ont présenté également une certaine stabilité pendant au moins quarante jours, à la fois à la température ambiante et à 37°C.

Un ensemble de solutions dans du sérum physiologique contenant de la thrombine, 0,02 % de PEG, 30 % de glycérine et 0,05 M de L-lysine, d'isoleucine, ou de glycine, ont présenté une activité de coagulation, après stockage à la température ambiante et à 37°C, pendant au moins cent vingt jours.

La thrombine utilisée dans les exemples ci-dessus est une substance protéinique, d'origine bovine et, par exemple, peut être du type formulé et vendu par Parke-Davis, de Detroit, Michigan. La préparation commerciale pour 10 000 unités de thrombine est constituée d'environ 180-200 milligrammes de poudre de thrombine, 17,4 milligrammes de chlorure de sodium, 15,6 milligrammes de

chlorure de calcium, 19 milligrammes de glycine et 0,2 milligramme de chlorure de benzéthonium.

Après fabrication et stockage de façon hermétique de la façon décrite ci-dessus, les compresses saturées obtenues peuvent être transportées aux températures normales, bien qu'il soit recommandé de les stocker dans des conditions réfrigérées de façon à prolonger la durée de vie de la solution, et en particulier à préserver l'activité de la thrombine aussi longtemps que possible. Dans tous les cas, l'efficacité de la solution coagulante peut être déterminée lorsque le paquet est ouvert. Si la solution a séché, la thrombine n'agira pas de façon efficace comme agent de coagulation.

Le graphique de la Fig. 3 démontre l'augmentation prononcée de la durée de vie de la thrombine lorsqu'elle est combinée conformément aux exemples I, IV et V. Des études accélérées à 40°C, indiquent que les formulations ci-dessus fournissent une stabilité de la thrombine équivalente à au moins une durée de vie au stockage de huit mois à la température ambiante (+22°C.) ou au moins une durée de vie au stockage de douze mois à basse température (2°C-8°C). Les études accélérées à 40°C indiquent également que la stabilité de la molécule de thrombine est augmentée de façon cumulative par les trois ingrédients, à savoir, le glycérol ou la glycérine, le polyéthylène glycol (PEG), et l'acide aminé essentiel exempt de soufre. Si l'on omet le PEG facultatif, la teneur en acide aminé de la formulation devrait être au moins le double de ce qu'elle est dans la formulation préférée (de 0,05 M à 0,1 M) pour maintenir une stabilité adéquate de la thrombine en l'absence de polyéthylène glycol.

Comme le montre la description ci-dessus, il a été découvert que la solution coagulante protéinique préconditionnée, telle qu'elle est décrite ici, constitue non seulement une manière et un moyen hautement efficaces pour effectuer une coagulation lorsqu'elle est appliquée

sur une blessure, mais évite également les opérations longues et coûteuses de mélange et de préparation d'un coagulant chaque fois que cela est nécessaire pour une utilisation individuelle. D'autre part, la durée de vie au stockage des solutions coagulantes décrites ici est suffisante pour assurer une efficacité après des périodes de stockage prolongées. Lorsqu'elle est appliquée sur une blessure, la thrombine, même lorsqu'elle est présente en proportion mineure dans une solution diluée, est capable d'agir dans les derniers stades de la séquence de coagulation pour autant que le patient présente un fibronogène circulant normal.

Bien que des pansements prêts pour l'utilisation et qu'un procédé spécifique de préparation de ceux-ci aient été décrits, on notera que diverses modifications et transformations peuvent y être apportées sans sortir de l'esprit et du cadre de l'invention telle qu'elle est définie par les revendications suivantes.

REVENDICATIONS

- 1°) - Composition coagulante se prêtant à l'utilisation comme pansement pour des blessures, caractérisée en ce qu'elle comprend une solution de 50-2000 unités de thrombine par ml d'une solution aqueuse contenant du 5 chlorure de sodium dans des quantités pratiquement isotoniques et de 10 à 50 % en poids d'un polyol totalement hydroxylé à chaîne droite en C₃ à C₆.
- 2°) - Composition coagulante selon la revendication 1, caractérisée en ce que la solution contient 10 également un acide aminé essentiel exempt de soufre dans des proportions molaires de 0,01 à 0,25.
- 3°) - Composition coagulante selon la revendication 2, caractérisée en ce que cet acide aminé est la lysine.
- 15 4°) - Composition coagulante selon la revendication 2, caractérisée en ce que cette solution contient une combinaison de glycérol et de lysine.
- 5°) - Composition coagulante selon la revendication 2, caractérisée en ce que la solution contient 20 également 0,1 à 4,0 % en poids d'un polyéthylène glycol d'une masse moléculaire dans la gamme de 2500 à 6000.
- 6°) - Composition coagulante selon la revendication 5, caractérisée en ce que cette solution contient du glycérol, de la lysine et du polyéthylène glycol.
- 25 7°) - Composition coagulante selon la revendication 1, caractérisée en ce que le glycérol est présent à raison d'environ 30 parties en volume de la solution.
- 8°) - Produit coagulant préconditionné convenant à une utilisation sous forme de bandage, de pansement, 30 etc., pour des blessures, caractérisé en ce qu'il comprend en association :

une solution de thrombine contenant du chlourure de sodium en proportions approximativement isotóniques ainsi que 10 à 50 % en poids d'un polyol totalement hydroxylé à chaîne droite en C₃ à C₆, et

5 un produit absorbant saturé par cette solution et un moyen de stockage étanche permettant de stocker hermétiquement ce matériau absorbant saturé.

9°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 8, caractérisé en ce que la proportion 10 de cette thrombine est dans la gamme de 25 à 250 unités par cm³ de matériau absorbant.

10°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 8, caractérisé en ce que cette solution contient des proportions molaires d'un acide aminé essentiel 15 exempt de soufre, de 0,01 à 0,25.

11°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 10, caractérisé en ce que cette solution contient de la lysine.

12°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 11, caractérisé en ce que cette solution contient du glycérol et de la lysine.

13°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 10, caractérisé en ce que cette solution contient 0,1 à 4,0 % en poids d'un polyéthylène glycol d'une 25 masse moléculaire dans la gamme de 2500 à 6000.

14°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 13, caractérisé en ce que cette solution contient du glycérol, de la lysine et du polyéthylène glycol.

15°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 8, caractérisé en ce que cette solution contient environ 30 parties en volume, par rapport à la solution, de glycérol.

16°) - Produit coagulant préconditionné selon la revendication 8, sous forme d'un pansement prêt à 35 l'utilisation, caractérisé en ce qu'il contient environ 25,0 unités de thrombine par cm³ de matériau de compresse.

Att. H. D'Amour

2485375

