



N° 865.169

Classif. Internat.: B01D

Mis en lecture le: 31 -12- 1980

Le Ministre des Affaires Economiques,

*Vu la loi du 24 mai 1854 sur les brevets d'invention;**Vu la Convention d'Union pour la Protection de la Propriété Industrielle;*

*Vu le procès-verbal dressé le 10 septembre 19780 à 15 h. 55  
au Service de la Propriété industrielle;*

## ARRÊTE :

**Article 1.** — *Il est délivré à la Sté dite : TERUMO CORPORATION,  
44-1, 2-chome, Hatagaya, Shibuya-Ku, Tokyo (Japon),*

*repr. par l'Office Kirkpatrick-G.C. Plucker à Bruxelles,*

T. A.D.U

*un brevet d'invention pour : Agent de fractionnement de liquide,  
(Inv. : Y. Asada, T. Watanabe et T. Ichikawa)*

*qu'elle déclare avoir fait l'objet de demandes de brevet  
déposées au Japon le 11 septembre 1979, n° 116388/79 et  
le 26 mai 1980, n° 69913/80*

**Article 2.** — *Ce brevet lui est délivré sans examen préalable, à ses risques et  
périls, sans garantie soit de la réalité, de la nouveauté ou du mérite de l'invention, soit  
de l'exactitude de la description, et sans préjudice du droit des tiers.*

*Au présent arrêté demeurera joint un des doubles de la spécification de l'invention  
(mémoire descriptif et éventuellement dessins) signés par l'intéressé et déposés à l'appui  
de sa demande de brevet.*

Bruxelles, le 30 septembre 1980

PAR DÉLEGATION SPÉCIALE :

Le Directeur

L. SALPETEUR

30001089

## MÉMOIRE DESCRIPTIF

DÉPOSÉ A L'APPUI D'UNE DEMANDE

DE

## BREVET D'INVENTION

FORMÉE PAR

TERUMO CORPORATION

p o u r

Agent de fractionnement de liquide.

-----

(Inventeurs: Y. ASADA, T. WATANABE et T. ICHIKAWA)

-----

Demandes de brevets japonais n° 116388/79 du 11 septembre 1979  
et n° 69913/80 du 26 mai 1980 en sa faveur

-----

La présente invention concerne un agent de fractionnement de liquide qui est utilisé pour séparer des constituants de liquides consistant en plusieurs constituants de différentes densités.

Cet agent de fractionnement de liquide est utilisé pour séparer un constituant spécifique d'autres constituants par exploitation de la différence de densité entre ce constituant spécifique et les autres constituants du liquide à fractionner et par interposition entre ces constituants.

CD.MJ. MDB.4F

54P116388 Y

7

A cette fin, il est désirable que l'agent de fractionnement de liquide ait une densité intermédiaire entre celle des constituants précités, soit capable de s'écouler pendant le fractionnement par centrifugation et soit stable et impropre à s'écouler après achèvement du fractionnement par centrifugation.

Un agent de fractionnement de liquide bien connu de ce genre est une matière gélifiée qui consiste en une huile de silicone, en silice et en un agent gélifiant. Toutefois, un agent de fractionnement liquide d'une telle constitution suscite des difficultés. Par exemple, du fait que ses constituants, qui sont mutuellement insolubles, sont mélangés mécaniquement pour la formation d'un gel thixotropique à l'intervention d'un agent gélifiant qui accélère la formation de liaisons hydrogène entre les particules de silice (agent d'ajustement de la densité), une coagulation se manifeste parce que les liaisons hydrogène deviennent de plus en plus fortes au cours du temps, ce qui se traduit par une séparation des phases et par une médiocre flottabilité lors du fractionnement par centrifugation. Pour éviter cet inconvénient, on a déjà proposé d'ajouter un agent tensio-actif pour empêcher la séparation des phases, mais il en résulte un autre désavantage qui est l'hémolyse par l'agent tensio-actif.

En outre, les agents de fractionnement de liquide de la constitution ci-dessus exposent aussi à l'inconvénient qu'ils tendent à changer de nature par réticulation et à subir d'autres altérations chimiques lors de la stérilisation par exposition au rayonnement  $\gamma$  après conditionnement en quantité convenable dans un tube de prise de sang. Il en résulte une dégradation de l'aptitude à fractionner les liquides et un ralentissement de la coagulation.

tion du sang et du dépôt du caillot à cause de l'évaporation des constituants de bas poids moléculaire de la matière gélifiée rendant la face intérieure du tube hydrofuge. En outre, ces agents de fractionnement sont relativement onéreux en raison de la nature des matières premières qui les composent.

Un autre agent de fractionnement de liquide connu est une matière gélifiée à base de polyester. Cette matière ne donne pas nécessairement satisfaction du fait qu'elle rend la face intérieure du tube hydrofuge et retardé ainsi la coagulation du sang et le dépôt du caillot. De plus, les agents de fractionnement de liquide de ce genre ont une odeur désagréable. On observe fréquemment avec les tubes de prise de sang de 7 ml que la matière gélifiée ne devient pas suffisamment fluide parce que la sollicitation est insuffisante pendant la centrifugation du fait que la quantité de sang collectée est trop faible.

La présente invention vise à éviter ces inconvénients des agents connus et a pour but de procurer un agent de fractionnement de liquide qui a une excellente stabilité à long terme, qui peut être stérilisé par exposition aux rayons X, qui ne manifeste sensiblement aucun caractère hydrofuge, qui est exempt d'odeur désagréable et qui peut être produit à un prix relativement faible.

A ces différentes fins parmi d'autres, l'invention à pour objet un agent de fractionnement de liquide permettant de fractionner un liquide contenant plusieurs constituants de différentes densités en séparant un constituant spécifique par exploitation de sa différence de densité, qui est caractérisé en ce qu'il consiste, comme constituant principal, en un copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle ayant une viscosité de 10.000 à 80.000 centipoises et de préférence de

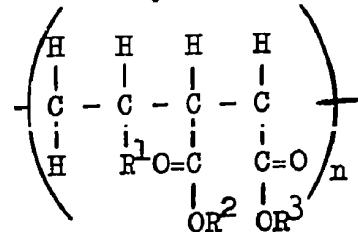
40.000 à 80.000 centipoises à 25°C, et qui régule l'augmentation de la viscosité et de la densité mélangés au constituant principal.

Dans le dessin,

Fig. 1 est une vue en perspective illustrant l'utilisation de l'agent de fractionnement de liquide faisant l'objet de l'invention comme séparateur du serum du sang dans un tube de prise de sang et

Fig. 2 est une vue en coupe dans le tube de prise de sang illustré à la Fig. 1 après la séparation par centrifugation.

Conformément à l'invention, le copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle répond à la formule générale:



où  $\text{R}^1$  représente un radical alkyle de 2 à 58 atomes de carbone qui peut être de nature unique ou de différentes natures en combinaison dans la molécule du copolymère comme la chose est désirée,  $\text{R}^2$  et  $\text{R}^3$  sont choisis parmi les atomes d'hydrogène et radicaux méthyle, éthyle, butyle et 2-éthylhexyle et  $n$  représente un nombre entier qui est tel que la viscosité du copolymère soit de 40.000 à 80.000 centipoises à 25°C lorsque le copolymère sert de constituant principal ou qui correspond à un nombre d'atomes de carbone de 30 à 60 lorsque le copolymère sert de cire.

Ce copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle est jaune clair, transparent, inodore, inerte à l'égard du sang, impropre à absorber le sang ou à être élué dans celui-ci etc. et est stable à long terme. Il permet que la face interne du tube de prise de sang reste propre CD.MJ. MDB.<sup>4</sup>

parce qu'il ne dégage aucun agent hydrophobe. Il ne subit sensiblement aucune modification de caractère chimique ou physique lors de la stérilisation par les rayons  $\gamma$  ou d'autres agents analogues.

Lorsque l'agent de fractionnement de liquide conforme à l'invention est utilisé pour séparer le serum du sang, la densité du copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle est choisie à une valeur de 1,00 à 1,038 et de préférence de 1,02 à 1,035.

Conformément à la présente invention, les dérivés formés par des amines aliphatiques et la smectite peuvent être issus d'une amine aliphatique primaire, d'une amine aliphatique secondaire ou une amine aliphatique tertiaire et de la smectite. Ces dérivés d'amines sont déjà connus. Parmi ces dérivés, les dérivés d'amines aliphatiques tertiaires de la smectite sont les plus intéressants et des exemples en sont les produits vendus sous les noms de Bentone 34, Bentone 38, Bentone 27 et Bentone 128 (sels d'ammonium quaternaires de la smectite, de la Société NL Industry CO.).

La poudre inorganique fine utilisée comme agent d'ajustement de la viscosité et de la densité conformément à l'invention peut être choisie avec avantage parmi la silice calcinée, la silice précipitée etc.

L'agent générateur de structure utilisé conformément à l'invention est ajouté pour maintenir l'état gélifié de l'agent de fractionnement de liquide et peut être choisi à volonté en fonction de la nature du liquide à fractionner. Pour la séparation du serum du sang, par exemple, on peut utiliser un copolymère diméthylpolysiloxane-polyoxyalkylène (par exemple ceux vendus sous les dénominations SH-3771, SH-190 et SH-192 par la Société Toray Silicone Co., Ltd.) ou un Carbitol (par exemple l'éthyldiglycol) etc.

000 103

Conformément à l'invention, en plus du copolymère

d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle, de l'agent d'ajustement de la viscosité et de la densité et de l'agent génératrice de structure, un agent tensio-actif (par exemple du monolaurate d'huile de ricin hydrogénée polyéthoxylée, du triisostéarate d'huile de ricin hydrogénée polyéthoxylée etc.) peut être ajouté suivant les nécessités.

La constitution de différents agents de fractionnement de liquide conformes à l'invention qui se prêtent à séparer le serum du sang est détaillée aux tableaux I et II. Dans ceux-ci, le copolymère (A) d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de diméthyle est un copolymère de n- $\alpha$ -oléfine et de maléate de diméthyle (poids moléculaire moyen 3000 à 4000, densité 1,027 à 1,038 à 25°C et viscosité de 40.000 à 70.000 centipoises à 25°C) l' $\alpha$ -oléfine étant formée de composés de 12 et de 14 atomes de carbone, respectivement ; le copolymère (B) est un copolymère de n- $\alpha$ -oléfine et de maléate de diméthyle (poids moléculaire moyen 2000 à 3000, densité 1,005 à 28°C et viscosité 10.000 à 15.000 centipoises à 28°C), l' $\alpha$ -oléfine étant formée de composés de 6 et de 8 atomes de carbone, respectivement ; le copolymère (C) est un copolymère de n- $\alpha$ -oléfine et de maléate de diméthyle, l' $\alpha$ -oléfine étant formée de composés de 30 et de 60 atomes de carbone en moyenne.

TABLEAU I

(Exemples d'agent de fractionnement pour le sérum)

Unité: parties en poids

Constitution

1      2      3      4      5      6

Copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle

(A)	100	100	100	100	50	-
(E)	-	-	-	-	50	100
(C)	-	-	1,0	3,0	-	-
Aerosil R-972*	-	2,0	2,0	2,0	1,0	-
Aerosil 200**	1,0	1,0	-	-	-	-
Bentone 38***	-	1,0	1,0	1,0	3,0	-
Bentone 34***	-	-	-	-	-	-
Bentone 27***	3,0	-	-	-	-	-
Bentone 128***	-	2,0	-	-	-	-

- 7 -

54P116388 Y

\* Silice hydrophobe en poudre fine d'une granulométrie moyenne de 16 microns et d'un poids spécifique apparent d'environ 60 g/litre (Société NIPPON AEROSIL CO., LTD.)

\*\* Silice hydrophobe en poudre fine d'une granulométrie moyenne de 12 microns et d'un poids spécifique apparent d'environ 60 g/litre (Société NIPPON AEROSIL CO., LTD.)

\*\*\* Sels d'ammonium quaternaire de smectite (Société NL Industry Co., E.U.A.)

335 169

TABLEAU II  
(Exemples d'agent de fractionnement pour le sérum)

Unité: parties en poids	Constitution	7	8	9	10	11	12
Copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkylique							
(A)	100	100	100	100	100	50	-
(B)	-	-	-	-	-	50	100
(C)	-	-	5,0	5,0	-	-	-
Aerosil R-972*	6	-	7,0	5,0	7,0	7	
Aerosil 200**	-	6	-	-	-	-	-
Agent tension actif***	0,5	1,0	1,0	-	1,0	3,0	
Agent générateur de structure****	0,18	0,04	-	0,2	0,5	0,6	

\* voir tableau I

\*\* voir tableau I

\*\*\* Monolaurate d'huile de ricin hydrogénée polyéthoxylée (Société NIHON EMULSION CO., LTD.)

\*\*\*\* SH-3771 (Société Toray Silicone Co., Ltd.) copolymère diméthylpolysiloxane-polyoxy-alkylique d'une densité de 1,060 à 1,080 à 20°C d'une viscosité de 260 à 280 centipoises

SOCIÉTÉ ICI

On trouvera ci-après la description du procédé de préparation de l'agent de fractionnement de liquide conforme à l'invention.

La première opération pour la préparation du copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle est la polymérisation sous basse pression de l'éthylène en une  $n$ - $\alpha$ -oléfine. Celle-ci est alors séparée en fractions différentes par le nombre des atomes de carbone, par exemple en fractions de 4, de 6, de 8 et de 10, de 12 et de 14, de 16 et de 18 et de 30 à 60 par distillation fractionnée. Suivant la densité du liquide qu'il convient de fractionner, ces différentes fractions peuvent être utilisées isolément ou en combinaison et une fraction dont les nombres d'atomes de carbone sont de 12 et de 14 ou bien de 6 et de 8 est préférable pour séparer le serum du point de vue de la viscosité et de la densité. La ou les fractions choisies sont soumises à la copolymérisation avec un maléate de dialkyle de la manière habituelle et donnent ainsi le produit désiré.

En fonction des besoins, on ajoute à ce copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle d'une viscosité de 10.000 à 80.000 centipoises et de préférence de 40.000 à 80.000 centipoises à 25°C, qui est le constituant principal, un dérivé d'amine aliphatique de smectite, un agent d'ajustement de la viscosité et de la densité tel que de la silice en poudre fine, un agent générateur de structure et une cire consistant en un copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle. Ce mélange est malaxé au moyen d'une calandre, d'un broyeur, d'un mélangeur planétaire etc.

L'agent de fractionnement de liquide ainsi obtenu a de préférence, par exemple pour séparer le serum du sang, une viscosité de 250.000 à 800.000 centipoises à 25°C et

une densité de 1,035 à 1,055. Tous les agents mentionnés dans les tableaux ci-dessus manifestent la thixotropie et sont susceptibles de s'écouler sous l'effet d'une force centrifuge ou d'une force analogue, mais subsistent dans l'état normal sous forme de gel par ailleurs stable et uniforme. De plus, comme l'agent de fractionnement de liquide ne contient pas les agents gélifiants d'usage habituel, il ne tend pas à coaguler avec le temps de la manière décrite ci-dessus et ne subit pas de séparation des phases ni d'altération de la flottabilité. Sa densité est relativement élevée et voisine de celle du sérum du sang de sorte que même si une séparation des phases a lieu, la couche inférieure ne vient pas flotter en suspension dans le sérum.

EXEMPLE -

Comme illustré à la Fig. 1, on dépose au fond de plusieurs tubes de prise de sang 2 d'une capacité de 10 ml environ 1,7 ml de chaque agent de fractionnement de liquide 1 des constitutions ci-dessus (numérotées 1 à 12). On dépose alors en position oblique dans chaque tube de prise de sang une étoffe non tissée en polyester 3 enduite de 1 à 3 mg de terre de diatomées (par exemple Caper Flattery Sand n° WG-200, de la Société Kyoritsu Ceramic Materials Co., Ltd.). On ferme alors chaque tube avec un bouchon en caoutchouc butyle 4, puis on met les tubes sous vide. Ensuite, on introduit un échantillon de sang dans chacun des tubes de prise de sang et on laisse reposer les échantillons pendant 7 à 8 minutes. En conséquence de cette opération, la terre de diatomées se disperse dans le sang lors de l'introduction de celui-ci et, conjointement avec l'étoffe non tissée 3, accélère la coagulation du sang. On obtient donc une coagulation convenable en peu de temps. On fait

passer chaque tube de prise de sang dans une centrifugeuse pour une durée de 10 minutes sous 700 à 1000 G, chaque agent de fractionnement du sang se trouvant interposé de manière stable entre la couche de sérum et le caillot. Cet état est illustré à la Fig. 2. Du fait que l'agent de fractionnement du sang est thixotropique et a une densité intermédiaire entre celle du sérum 5 du sang et celle du caillot 6, il se maintient entre le sérum 5 et le caillot 6 en formant un gel qui sépare les deux couches. Du fait que la terre de diatomées et l'étoffe non tissée 3 ont une densité plus élevée, elles ne se retrouvent pas mélangées à la couche de sérum 5. On obtient ainsi une couche de sérum 5 de haute pureté exempt de fibrine entraînée. Ce sérum 5 est facilement retiré du tube de prise de sang par décantation ou aspiration.

Du fait que les particules de smectite ne transmettent pas la lumière, leur état de dispersion peut être vérifié aisément au microscope ou à l'aide d'un moyen analogue, ce qui rend plus facile la vérification de la qualité. Comme les dérivés d'amines aliphatiques de la smectite font augmenter la viscosité, l'agent générateur de structure qui est d'habitude essentiel peut être supprimé. La cire utilisée dans l'exemple ci-dessus est spécialement efficace pour empêcher la séparation des phases de l'agent de fractionnement du sang. Du fait que le copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle est utilisé comme constituant principal aux fins de l'invention, les frais de fabrication sont faibles et sont à peu près le tiers de la dépense à consentir dans le cas des silicones liquides.

Lorsque l'agent de fractionnement de liquide est utilisé pour séparer le sérum, il ne forme pas de couche hydrofuge dans le tube de prise de sang en déga-

geant des substances hydrophobes et ne retarde pas la coagulation du sang. Comme le tube de prise de sang est fait de verre, il accélère la coagulation par contact avec le sang, de sorte qu'il est nécessaire de maintenir la face intérieure du tube propre. Par conséquent, le temps nécessaire pour collecter un échantillon de sérum est plus bref que lorsqu'on utilise un agent de fractionnement de liquide classique qui a l'inconvénient de former une couche hydrofuge. L'avantage est encore plus marqué lorsqu'on utilise conjointement de la terre de diatomées et une étoffe non tissée. L'économie de temps peut s'elever jusqu'à 30 minutes.

Lorsqu'on travaille par conditionnement dans un tube de prise de sang, la stérilisation est désirable. Lors des essais cliniques, aucune altération chimique ou physique ayant un effet défavorable n'a été observée après stérilisation par exposition au rayonnement  $\gamma$ .

Ci-dessus, l'agent de fractionnement de liquide conforme à l'invention a été décrit uniquement avec référence à la séparation du sérum, mais il est évident que des applications semblables sont possibles pour d'autres fractionnements de liquides.

REVENDEICATIONS.

1 - Agent de fractionnement de liquide permettant de fractionner un liquide contenant plusieurs constituants de différentes densités en séparant un constituant spécifique par exploitation de sa différence de densité, caractérisé en ce qu'il consiste, comme constituant principal, en un copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle et en agent d'ajustement de la viscosité et de la densité mélangés au constituant principal.

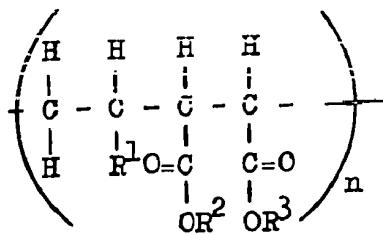
2 - Agent de fractionnement de liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce que le copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle a une viscosité de 10.000 à 80.000 centipoises à 25°C.

3 - Agent de fractionnement de liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce que les agents d'ajustement de la viscosité et de la densité comprennent au moins un agent choisi parmi les dérivés d'amines aliphatiques de la smectite comptant 8 à 24 atomes de carbone et les poudres inorganiques fines.

4 - Agent de fractionnement de liquide suivant la revendication 3, caractérisé en ce que les dérivés d'amines aliphatiques de la smectite sont des sels d'ammonium quaternaires de smectite.

5 - Agent de fractionnement de liquide suivant la revendication 3, caractérisé en ce que les poudres inorganiques fines sont la silice précipitée et la silice calcinée.

6 - Agent de fractionnement de liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce que le copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle répond à la formule générale:



où  $\text{R}^1$  représente un radical alkyle de 2 à 58 atomes de carbone qui peut être de nature unique ou de différentes natures en combinaison dans la molécule du copolymère comme la chose est désirée,  $\text{R}^2$  et  $\text{R}^3$  sont choisis parmi les atomes d'hydrogène et radicaux méthyle, éthyle, butyle et 2-éthylhexyle et  $n$  représente un nombre entier.

7 - Agent de fractionnement liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce que dans la formule générale,  $\text{R}^1$  représente une combinaison de radicaux alkyle de 10 et de 12 atomes de carbone.

8 - Agent de fractionnement liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce que dans la formule générale,  $\text{R}^1$  représente une combinaison de radicaux alkyle de 4 et de 6 atomes de carbone.

9 - Agent de fractionnement liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'il contient un agent générateur de structure en quantité de 0,04 à 0,6 partie en poids pour 100 parties en poids du copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle.

10 - Agent de fractionnement liquide suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'il contient en outre 1,0 à 3,0% en poids, sur la base du constituant principal, d'une cire consistante en un copolymère d' $\alpha$ -oléfine et de maléate de dialkyle dont l' $\alpha$ -oléfine compte 30 à 60 atomes de carbone.

11 - Agent de fractionnement liquide suivant la revendication 6, caractérisé en ce qu'il contient en outre

000169

0,5 à 3,0 parties en poids d'un agent tensio-actif.

Bruxelles, le 10 septembre 1980  
P.Pon. de TERUMO CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER

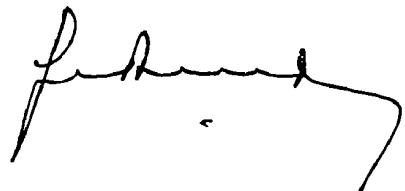


Fig.1.

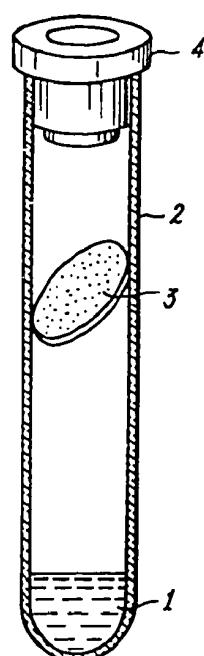
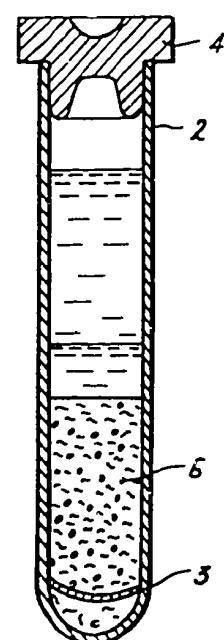


Fig.2.



Bruxelles, le 10 septembre 1980  
P. Pon. de TERUMO CORPORATION  
OFFICE KIRKPATRICK - G.C. PLUCKER

A handwritten signature is written over the typed address, appearing to read "P. Pon. de TERUMO CORPORATION".