

ANNEE 2022

N°

THÈSE
Pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Par
Héloïse DE LA ROCHE

Présentée et soutenue publiquement le 14 novembre 2022

***Histoire de quelques médicaments de l'hémostase,
entre hasard et recherches.***

**Président du jury : Docteur CARBONNELLE Delphine, MCU de
Physiologie, UFR de Pharmacie (Nantes)**

**Directeur de thèse : Docteur PETIT Karina, MCU de Pharmacognosie,
UFR de Pharmacie (Nantes)**

**Membre du jury : Docteur JAVEL Pierre, Pharmacien d'officine (La
Baule)**

« Je pense que le secret de leur succès est à 3 volets : ils n'ont jamais cessé de se demander, ils ont continué à essayer, et ils étaient sur un projet visant à faire quelque chose de bien pour l'humanité au lieu d'essayer de la détruire. »

Link, parlant des étudiants qui l'ont aidé durant ses recherches, 1959

Remerciements

A mon Jury

Docteur Karina Petit, d'avoir accepté de m'encadrer sur ce long projet. Merci pour votre enthousiasme sur mon sujet dès notre première entrevue. Merci de m'avoir permis de faire de cette thèse un récit à mon image.

Docteur Delphine Carbonnelle, d'avoir accepté d'être la présidente de mon jury en ce jour si important. Vous avez su accueillir et accompagner les jeunes étudiants que nous étions avec bienveillance lors de nos premières années d'études. Merci pour la confiance que vous avez suscité en moi.

Docteur Pierre Javel, d'avoir accepté d'être membre de mon jury. De binôme de preneur, tu es devenu un ami de grande valeur. Merci de m'accompagner au quotidien tant dans ma vie professionnelle que personnelle. Merci pour chacun de tes conseils et tous les beaux moments partagés. Je ne doute pas que l'avenir nous offrira encore beaucoup de belles aventures.

Aux pharmas

A chacun des membres des *deux mille vingues*, tous ces bons moments, ces cafés derrière la forêt, ces révisions, ces soirées inoubliables parfois oubliées, ces cours passés ensemble, bien que parfois très peu écoutés... *Morgane, Mario, Clémentine, Amandine, Marine, Vincent* et bien d'autres encore. *Félix* du fond du cœur.

A Emma, pour ce voyage inoubliable au Bénin, et toutes ces fins de soirées à refaire le monde.

A Camille, pour cette belle amitié depuis la P2, merci pour ta bonne humeur et ta positivité au quotidien.

A la *coloc*, ce merveilleux été passé à vos côtés, *Kévin, Johan, Héléna* et *Pierre*. Vous m'avez donné l'envie de devenir pharmacien d'officine. Merci d'être toujours présents pour répondre à mes questions (et pour les bonnes tranches de rigolade aussi :D).

A *Clémence*, cette amitié qui a démarré au premier jour de fac. A tous nos coups de gueule, passés et à venir, à cette fameuse soirée sous la grue... Merci pour tous ces merveilleux moments depuis la P2, tu es toujours fidèle à toi-même.

A *Johan*, pour ta présence dans ma vie au quotidien, et la confiance mutuelle que nous partageons. Notre amitié m'est très précieuse.

A vous 5, « la famille », un énorme merci, tant pour les innombrables choses que vous m'avez apprises, que pour votre soutien dans ma vie personnelle. Vous êtes incroyables. J'ai hâte de vivre nos prochaines aventures en scénic...

Aux *bières de l'ambiance, Charlotte, Jasmine, Carla, Corentin, Titouan, Morgan, Clément, Laure, Adeline, Julien* et les autres... Pour m'avoir si bien accueillie dans votre promotion, vous êtes les amis que je n'attendais pas.

Aux amis

A mes amies d'enfance, *Marie-Mathilde, Caroline, Claire* et *Angéline* toujours à mes côtés, que vous soyez loin ou tout près.

A ceux du lycée, *Alex, Chloé, Simon, Joséphine, Apolline*, qui m'ont écoutée déblatérer sur mes études et mes péripéties pharma pendant toutes ces longues années.

A *Apolline*, cette merveilleuse colocataire et future médecin.

A la famille

A mes 4 frères et sœurs, le club des cinq. Il n'en fallait ni un de plus ni un de moins. D'un soutien imparable avec qui je passe toujours de bons moments, vous êtes mon pilier.

A mes parents, toujours dans mon cœur.

Aux relecteurs de qualité

Hélène, Anne-Claire, Emma et Pierre un énorme merci d'avoir contribué à cette thèse en relisant chacun une partie, voire deux, votre aide a été très précieuse.

A Grégoire

Pour ton soutien et ta patience sur cette dernière ligne droite (et non la moindre), un grand merci pour tes idées et tes (turbo) conseils.

Merci de remplir mon quotidien de petits bonheurs et de donner un bel éclat à ma nouvelle vie.

A Alain, que j'ai eu l'honneur d'appeler grand-père. Toi qui aimais tant l'Histoire, cette thèse t'est dédiée.

Table des matières

| | |
|--------------------------------------------------------|----|
| Remerciements | 3 |
| I. Introduction | 10 |
| II. La coagulation | 12 |
| 1. L'hémostase primaire | 13 |
| 2. La cascade de coagulation | 15 |
| 3. La fibrinolyse | 17 |
| 4. Les accidents thromboemboliques..... | 18 |
| III. Les héparines | 20 |
| 1. Le foie de chien, un organe prometteur..... | 21 |
| a) La première découverte..... | 21 |
| b) Le maître reprend les travaux de l'élève | 22 |
| c) Vers l'identification de la molécule | 22 |
| 2. Purification..... | 23 |
| a) Foie de chien, foie de bœuf ou d'intestins ? | 23 |
| b) Obtention | 25 |
| 3. Des essais à l'utilisation clinique..... | 26 |
| a) Test sur les animaux..... | 26 |
| b) Essais cliniques | 26 |
| i. Du traitement préventif..... | 26 |
| ii. ... au traitement curatif..... | 26 |
| c) L'héparine en clinique..... | 27 |
| 4. Découverte du mécanisme d'action..... | 29 |
| a) Un mécanisme d'action complexe..... | 29 |
| b) Autres activités biologiques..... | 30 |
| c) Effet sur les thrombocytes..... | 31 |
| 5. Vers de nouvelles molécules | 31 |
| a) Les Héparines de Bas Poids Moléculaire (HBPM) | 31 |
| i. Naissance des HBPM | 31 |
| ii. Entre purification et essais cliniques..... | 32 |
| b) Le danaparoïde | 33 |
| c) Le fondaparinux | 33 |

| | | |
|-----|-----------------------------------------------------------|----|
| 6. | Utilisation dans la dialyse | 34 |
| 7. | Spécialités commercialisées | 37 |
| 8. | Résumé de l'histoire des héparines..... | 38 |
| IV. | Les antivitamines K | 39 |
| 1. | La maladie du mélilot gâté..... | 40 |
| 2. | Dérivés coumariniques | 41 |
| a) | Le dicoumarol..... | 41 |
| 1) | Le fermier, la vache et le biochimiste | 41 |
| 2) | Une longue route vers l'inconnu | 42 |
| 3) | Recherches cliniques chez l'animal et propriétés | 43 |
| 4) | Pratique clinique..... | 44 |
| 5) | De l'international à son déclin..... | 45 |
| b) | La Warfarine..... | 45 |
| 1) | La mort aux rats | 45 |
| 2) | Utilisation clinique | 47 |
| 3) | Une sombre renommée internationale | 49 |
| 3. | Pharmacologie | 50 |
| 4. | Temps de prothrombine | 51 |
| 5. | Vitamine K et poussins..... | 53 |
| 6. | Spécialités contenant des AVK..... | 55 |
| 7. | Résumé..... | 56 |
| V. | Aspirine | 57 |
| 1. | Le Saule au cours des années | 58 |
| a) | Antiquité..... | 58 |
| b) | Vestiges égyptiens | 59 |
| c) | Epoque moderne | 60 |
| 2. | De la salicine à l'acide salicylique | 60 |
| a) | La salicine et les pharmaciens..... | 60 |
| b) | Une production sans cesse améliorée | 61 |
| c) | Des applications nombreuses | 62 |
| d) | Des perspectives enterrées..... | 62 |
| 3. | De l'acide salicylique à l'acide acétyl salicylique | 63 |

| | | |
|------|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| a) | Découvertes tombées dans l'oubli | 63 |
| b) | Bayer industrie | 64 |
| c) | Un fils voulant aider son père | 64 |
| 4. | La guerre silencieuse de l'Aspirine | 65 |
| a) | Brevet controversé..... | 65 |
| b) | Première Guerre Mondiale, perte pour Bayer | 66 |
| c) | France vaincue, Bayer reprends ses droits | 68 |
| 5. | Action sur l'hémostase | 70 |
| a) | Une molécule mystérieuse | 70 |
| b) | Mécanisme pharmacologique | 70 |
| c) | Essais cliniques | 72 |
| d) | Vers une utilisation élargie | 72 |
| 6. | Spécialités contenant de l'Aspirine..... | 73 |
| 7. | Résumé du saule à l'Aspirine | 77 |
| VI. | Hirudine et sangsue | 79 |
| | La vipère et la sangsue : Fable de Jean-Pierre Claris de Florian (1792) | 79 |
| 1. | La sangsue médicinale | 80 |
| a) | Physiologie | 80 |
| b) | Historique d'un annélide suceur de sang | 81 |
| i. | De l'Antiquité au Moyen-Age | 81 |
| ii. | Apogée des saignées | 82 |
| iii. | Le bdellomètre..... | 84 |
| iv. | Activité commerciale | 85 |
| v. | Déclin | 86 |
| c) | Hirudothérapie..... | 87 |
| 2. | Hirudine..... | 87 |
| a) | Une production qui prend son temps..... | 87 |
| b) | Intérêt dans la dialyse | 88 |
| c) | Propriétés anticoagulantes de l'hirudine | 89 |
| d) | Différentes spécialités..... | 90 |
| i. | Des spécialités oubliées..... | 90 |
| ii. | Les hirudines recombinantes..... | 91 |

| | |
|--------------------------------------------------------|-----|
| 3. Vers de nouvelles applications | 91 |
| 4. Spécialités contenant un dérivé de l'hirudine | 93 |
| 5. Résumé de l'histoire des hirudines..... | 93 |
| VII. Les agents fibrinolytiques | 94 |
| 1. La streptokinase, premier fibrinolytique | 95 |
| a) De la bactérie à la molécule..... | 95 |
| b) Expérimentations | 96 |
| 2. Successeurs | 97 |
| a) L'urokinase | 97 |
| b) Le t-PA | 98 |
| 3. Résumé des thrombolytiques..... | 100 |
| VIII. Conclusion..... | 101 |
| Serment de Galien | 103 |
| Liste des figures..... | 104 |
| Liste des tableaux..... | 106 |
| Bibliographie | 107 |

I. Introduction

Depuis des milliers d'années, l'Homme s'est intéressé au sang, symbole d'appartenance, tachant de le comprendre et de l'appivoiser. Le sang a suscité la curiosité des scientifiques, cela a permis d'atteindre son étude approfondie et de mettre en valeur l'importance de la coagulation sanguine.

La première allusion à la thrombose est faite par Marcello Malpighi en 1686, il voit des polypes comblant les cavités cardiaques post mortem. Il conjecture que lorsque la chair se meure ce qui assure la fluidité du sang se dérègle et aboutit à ces évènements d'amas fibreux. Par la suite, William Hewson, Antoine-François Fourcroy, Benjamin Guy Babington et d'autres scientifiques apporteront leur pierre à l'édification de la cascade de coagulation. (1) (2)

Nous pouvons également prendre comme exemple la saignée qui, connue depuis l'antiquité, occupe une grande part des thérapeutiques à partir du XVIIème siècle. C'est ainsi qu'en 1799 George Washington, atteint alors d'une sévère infection de l'épiglotte, aurait subi des saignées à répétition pour purger son corps. (3)

De ces acquis historiques sont nées la compréhension des pathologies de l'hémostase et la connaissance nécessaire pour les soigner. C'est ainsi que les médicaments de l'hémostase entrent en jeu.

D'une part il y a les antiagrégants plaquettaires, qui agissent au début de l'hémostase. D'autre part, nous trouvons les anticoagulants agissant sur la phase de coagulation. Leur disparité est telle que l'on peut les trouver à la fois au comptoir de l'officine, parfois disponibles sans ordonnance, et en hôpital avec des conditions de prescription rigoureuses.

Le dernier état des lieux de l'ANSM montre une utilisation accrue des anticoagulants. Elle se justifie par une facilité croissante de suivi en ville et une augmentation du diagnostic des maladies à risque d'accidents thromboemboliques (telle que la fibrillation atriale). (4) (5)

Si bien qu'une grande partie de la population a consommé ou consommera des anticoagulants ou antiagrégants plaquettaires, et ce chez des patients de plus en plus jeunes.

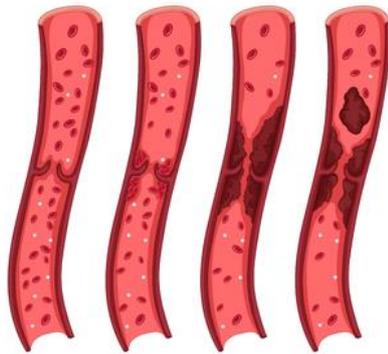
L'arrivée des Anticoagulants Oraux Directs (AOD) en 2009 a provoqué une diminution de l'emploi des Antivitamines K (AVK). Dans la pratique, les AVK prévalent chez les plus de 80 ans, leur traitement étant équilibré depuis de nombreuses années il n'est pas conseillé de changer le médicament prescrit, mais progressivement il est possible qu'ils soient remplacés pour laisser la place aux AOD.

Mais l'intérêt des médicaments de l'hémostase ne réside pas seulement dans la multiplicité de leurs indications ou du nombre important de molécules. Il se trouve aussi dans la diversité de leurs mécanismes d'action et surtout dans leurs origines variées.

Cet écrit a pour objectif de vous faire voyager dans le temps afin de découvrir les origines des médicaments de l'hémostase et comprendre leurs applications médicales. Découvrez la multitude de protagonistes : étudiants comme éminents professeurs, médecins, pharmaciens, biologistes, scientifiques ou même fermiers, qui ont contribué à élaborer des médicaments aujourd'hui indispensables en cardiologie. Leurs histoires plus ou moins connues retracent des siècles de recherches, de croyances et surtout d'avancement.

Cet écrit bibliographique se limite à quelques molécules naturelles majeures, tant dans leur découverte, que dans leur utilisation et/ou leur originalité. Ainsi, les protéines impliquées dans la coagulation (obtenues par purification incomplète à partir de plasma de donneurs et/ou par ADN recombinant) et les désintégrines (peptides antiagrégants plaquettaires identifiés dans le venin de certains serpents et produits par biotechnologie) ne seront pas abordées.

II. La coagulation



Avant d'aborder l'aspect historique de ces nombreuses classes médicamenteuses à succès, commençons par présenter le cœur de cet écrit : la physiologie de la coagulation.

L'hémostase correspond à l'ensemble des mécanismes qui concourent à prévenir les saignements spontanés et à assurer l'arrêt des hémorragies en cas de brèche vasculaire.

Il s'agit d'une collaboration entre procoagulants et anticoagulants qui agissent ensemble pour maintenir un équilibre.

Elle se décompose en trois étapes :

- L'hémostase primaire déclenchée par une brèche vasculaire (ou agrégation plaquettaire)
- La cascade de coagulation (ou hémostase secondaire)
- La fibrinolyse (ou hémostase tertiaire)

Il est important de noter que ces trois étapes cohabitent dans le même espace-temps.

1. L'hémostase primaire

Déclenchée par la brèche vasculaire, l'hémostase primaire est l'immédiate agrégation des thrombocytes au niveau de la brèche, ils forment ainsi le clou plaquettaire. (Figure 1)

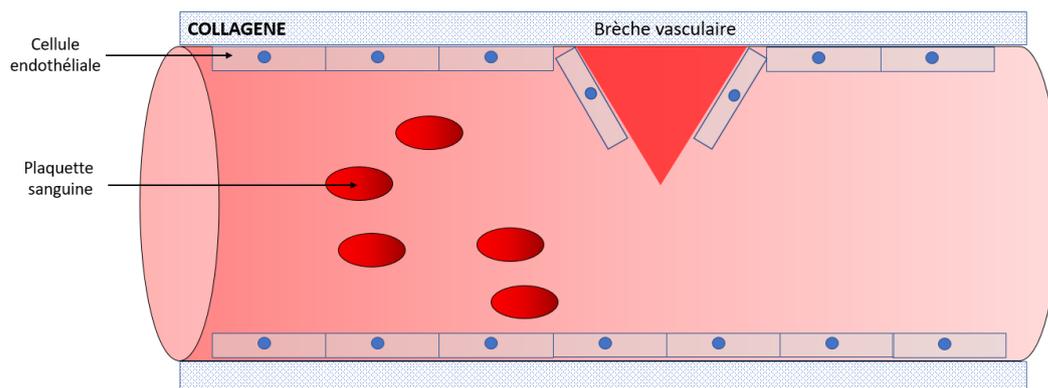


Figure 1 : Vaisseau subissant une brèche vasculaire

Dans un premier temps, se déroule le temps vasculaire : la constriction réflexe du vaisseau sanguin. Elle est déclenchée par la libération de médiateurs des cellules endothéliales du vaisseau et des plaquettes, comme le thromboxane A2.

Ensuite, les plaquettes vont adhérer au sous-endothélium via le facteur de Von Willebrand, synthétisé par les cellules endothéliales, qui se lie à la fois au récepteur Gp Ib-IX plaquettaire et au collagène du sous-endothélium (Figure 2).

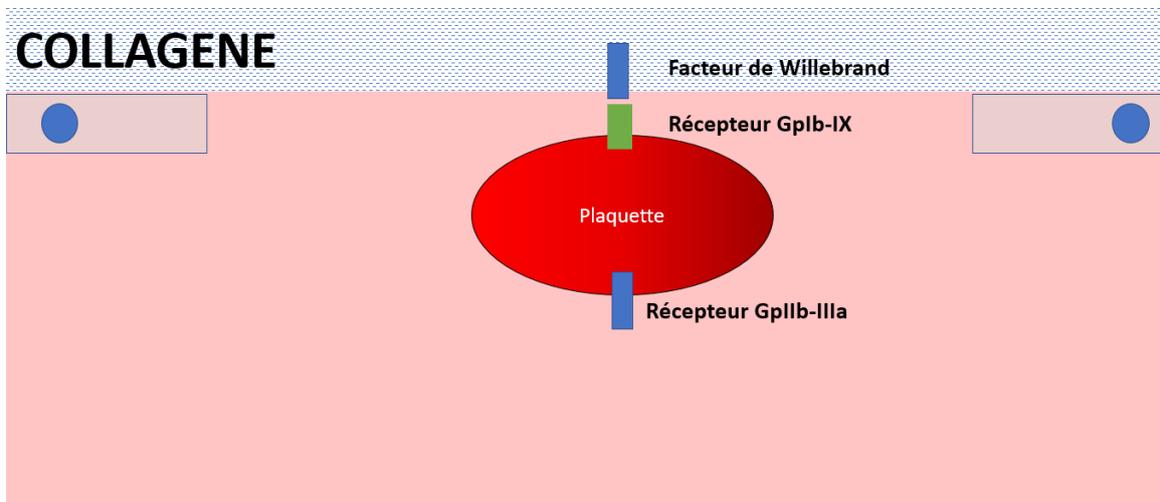


Figure 2 : Adhésion des thrombocytes au sous endothélium

Suite à la libération d'activateurs plaquettaires comme l'ADP, le collagène ou la thrombine, les thrombocytes vont prendre une forme de sphère, émettre des pseudopodes et effectuer un retournement de leur membrane plasmique : le flip-flop. Cela permet d'exposer des sites de fixation pour les facteurs de coagulation. Les thrombocytes activés vont exposer leur récepteur GpIIb-IIIa. En présence de calcium ils se fixeront au fibrinogène et au facteur de Willebrand, ainsi ils formeront un agrégat plaquettaire de plus en plus imposant. Lors de leur activation, ils vont aussi se dégranuler en libérant le contenu de leurs granules. (Figure 3)

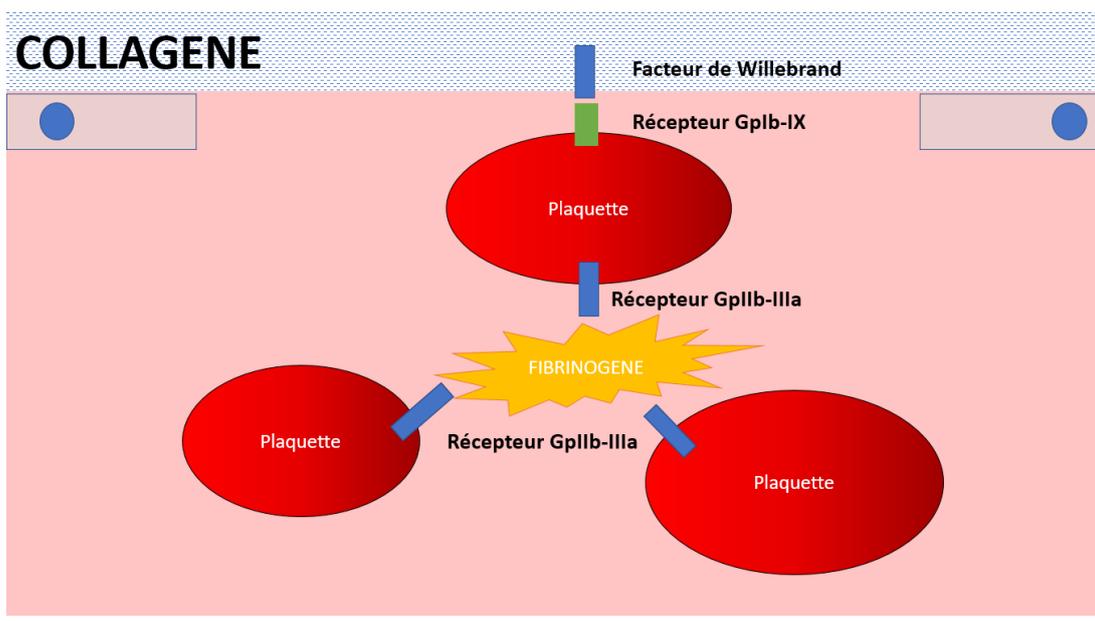


Figure 3 : Agrégation des thrombocytes via le fibrinogène

Le système d'adhésion a donc une régulation médiée par les cellules endothéliales (inhibition du système) et les thrombocytes eux-mêmes (activation). (Figure 4)

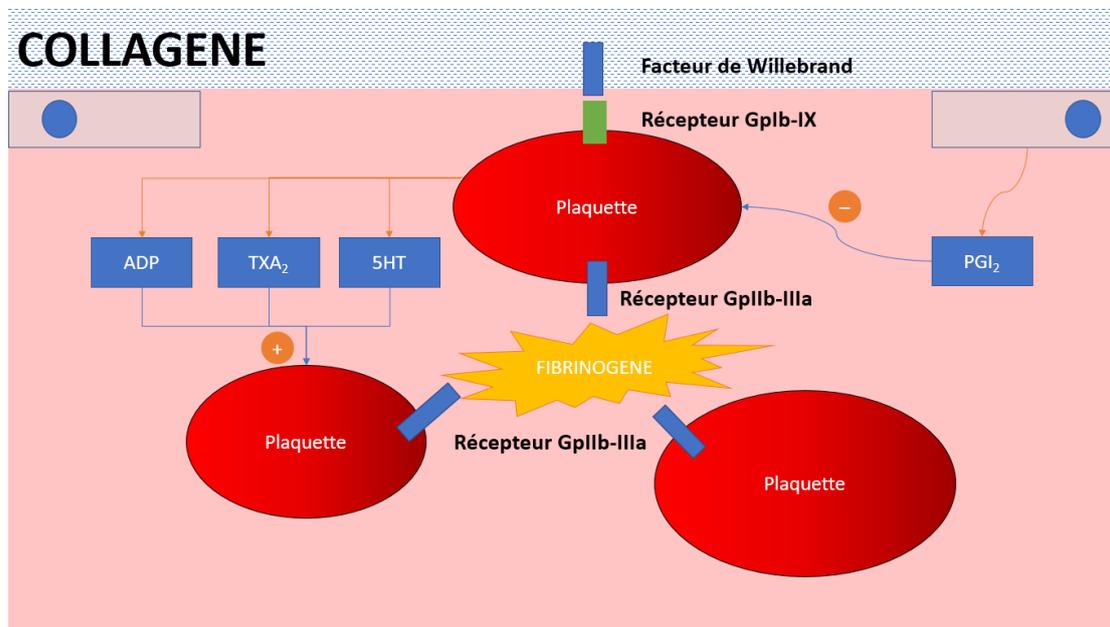


Figure 4 : Système de régulation de l'agrégation des thrombocytes

2. La cascade de coagulation

Il s'agit ensuite de renforcer le thrombus formé lors de l'étape d'hémostase primaire via la formation de fibrine. Le fibrinogène qui est alors encore soluble, sera transformé en fibrine pour que le thrombus devienne un caillot insoluble.

On parle de cascade de coagulation car il s'agit un enchaînement de réactions enzymatiques activant les facteurs de coagulation (qui sont des pro-enzymes) pour arriver à l'activation du Facteur II (appelé alors Facteur IIa) qui est la thrombine. Cette dernière transformera le fibrinogène (Facteur I) en fibrine. (Figure 5)

On peut différencier deux voies d'activation de cette cascade (Figure 5) :

- Voie extrinsèque : initiée par le Facteur Tissulaire (FT) présent dans le sous-endothélium et démasqué lors de la brèche vasculaire.

La chaîne d'activation ne sera pas la même selon la quantité de FT produite : s'il est en excès, c'est le facteur X qui sera directement activé par le complexe [FT-FVIIa] tandis que s'il est en faible quantité il y aura d'abord activation du facteur IX (Figure 5).

- Voie intrinsèque : faisant intervenir d'autres protéines : facteurs XII et XI. (Figure 5).

In vivo la voie extrinsèque est prépondérante.

On notera l'existence d'une boucle d'amplification pour amplifier la chaîne de réaction. Enfin la thrombine transforme le fibrinogène en fibrine, ce réseau permettra aussi la cicatrisation du tissu.

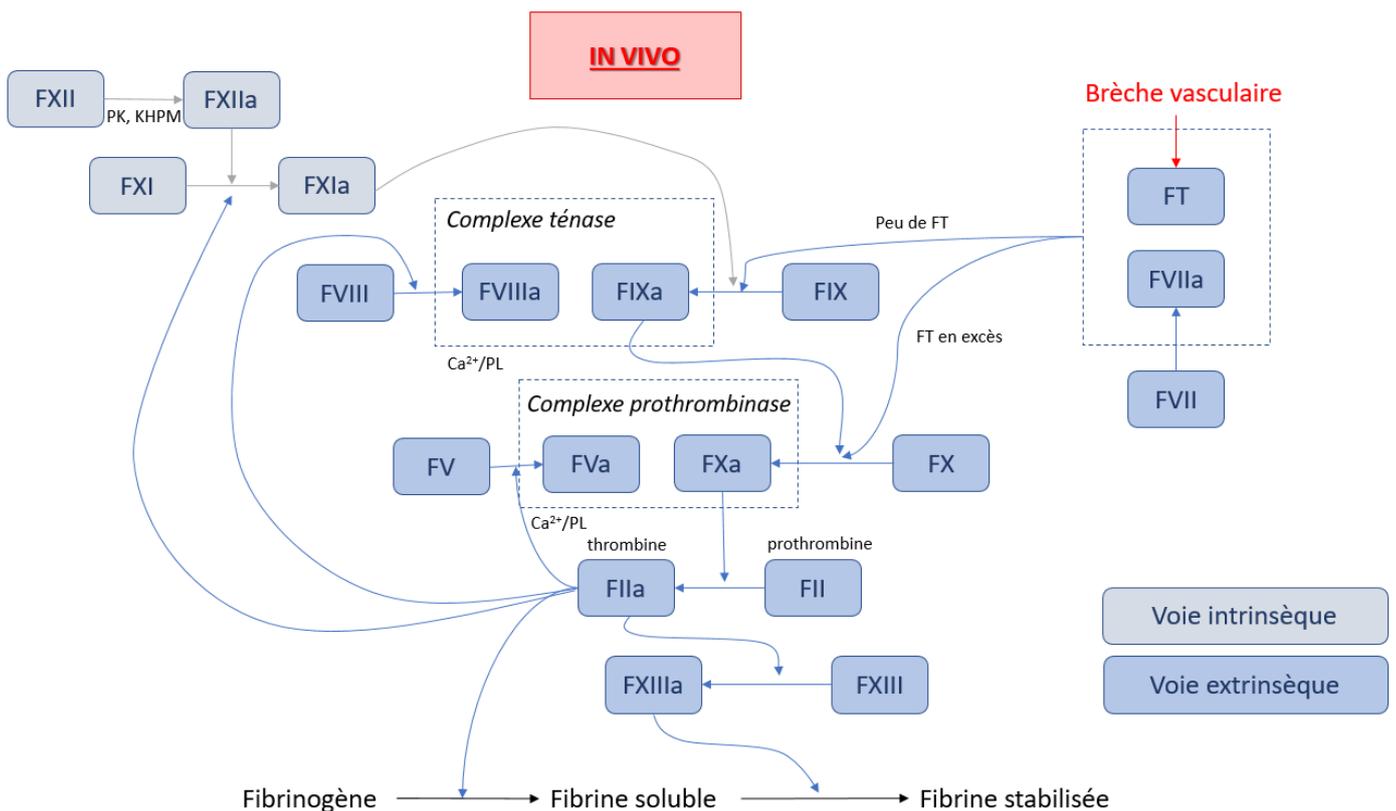


Figure 5 : Cascade de la coagulation

Il existe de nombreux tests d'exploration de la coagulation que nous n'aborderons pas, citons simplement les principaux utilisés en clinique aujourd'hui : le TCA Temps de Céphaline Activée, le TP Taux de Prothrombine, le TQ, Temps de Quick.

De nombreux régulateurs de la cascade de coagulation cohabitent pour établir un équilibre entre saignement et thrombus, notamment l'anti-thrombine principal inhibiteur de la coagulation, les protéines C et S et le « Tissu Factor Pathway Inhibitor » TFPI (Figure 6).

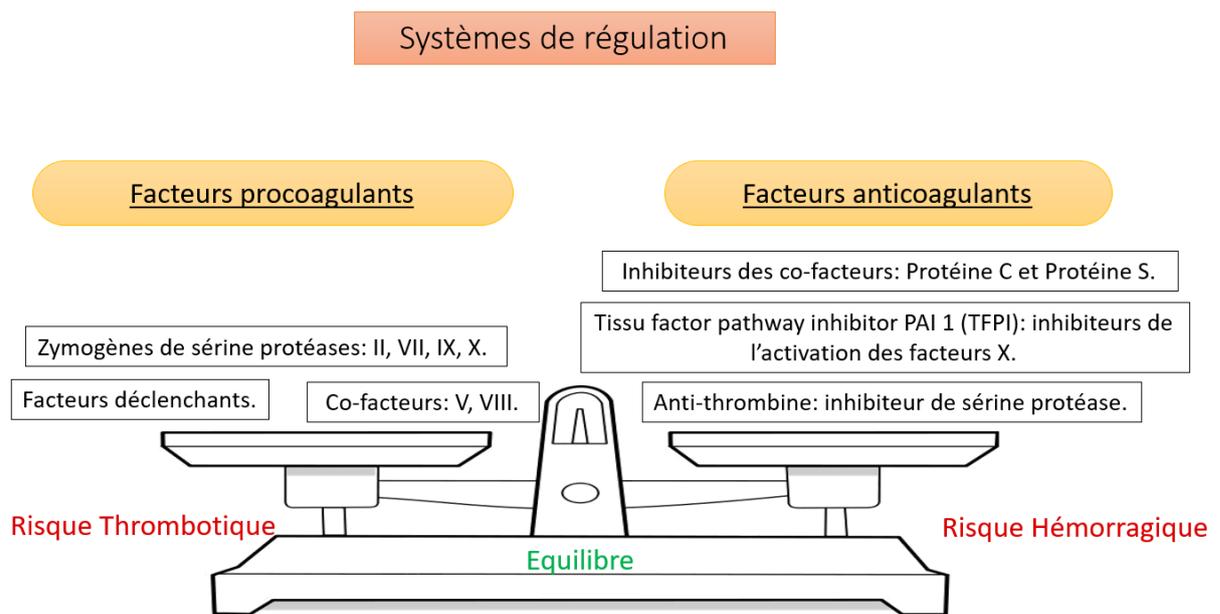


Figure 6 : Régulateurs de la cascade de coagulation

3. La fibrinolyse

Après la coagulation vient la phase de fibrinolyse. Le caillot formé par la fibrine est dégradé par une enzyme appelée plasmine. Elle provient de la transformation du plasminogène activée par l'urokinase et le t-PA : l'activateur tissulaire du plasminogène. Le t-PA est sécrété par la paroi vasculaire après un traumatisme alors que l'urokinase est activée par la plasmine et la kallikréine qui intervient au début de la coagulation, amplifiant ainsi la fibrinolyse.

Il existe deux inhibiteurs agissant à deux niveaux différents : le PAI-1 inhibant le t-PA et l'anti-plasmine inhibant la plasmine (Figure 7).

La finalité est d'éviter la thrombose pouvant être provoquée par le caillot sanguin.

La dégradation de la fibrine par la plasmine libère des produits de dégradation de la fibrine comme les d-dimères qui peuvent être dosés dans le sang afin d'évaluer l'importance de la fibrinolyse.

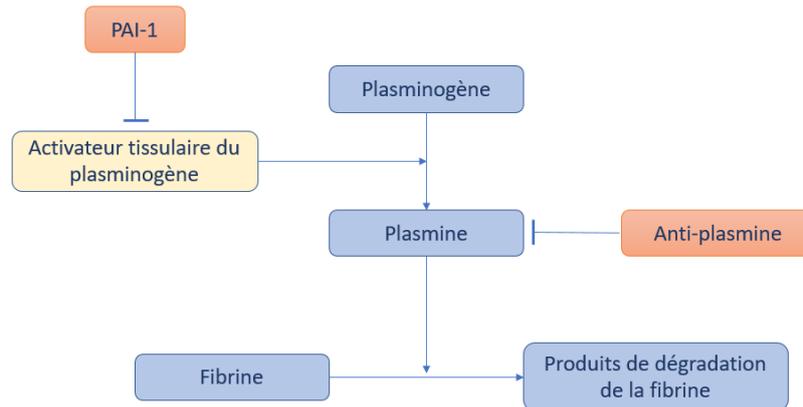


Figure 7 : Cascade de la fibrinolyse

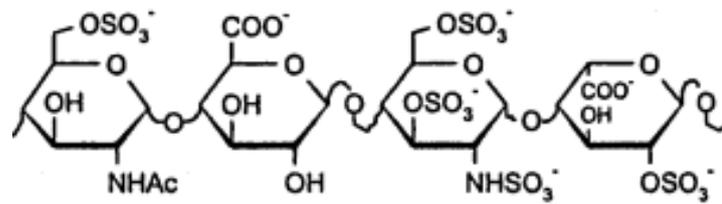
4. Les accidents thromboemboliques

Ces situations d'urgence que l'on appelle accidents thromboemboliques peuvent se situer à plusieurs niveaux :

- Membres inférieurs : Formation d'un caillot sanguin, ou thrombus, dans une veine de plus ou moins grand calibre (au niveau des mollets ou cuisses dans 90% des cas). Le sang ne peut ainsi plus circuler librement. On parlera alors de **thrombose veineuse profonde**, ou **phlébite**. (6)
- Pulmonaire : Le thrombus peut se former au niveau de l'artère pulmonaire ou une de ses ramifications. On parlera alors de **embolie pulmonaire**. Ils résultent le plus souvent d'une thrombose veineuse profonde dont le caillot aurait migré jusqu'aux poumons. Ces cas sont heureusement le plus souvent pris en charge à temps. (7)

- Cardiaque : Le thrombus se forme généralement lorsqu'une plaque de graisse (appelée athérome) se détache de la paroi des artères coronariennes pour la boucher. Le cœur n'est plus correctement approvisionné en oxygène, créant une hypoxie d'une partie du cœur, ce qui peut conduire à des séquelles. C'est **l'infarctus du myocarde** (IDM) ou crise cardiaque. (8)
- Cerveau : De la même manière que pour l'IDM, un thrombus peut se former au niveau des artères cérébrales, conduisant à une asphyxie du tissu cérébral, et donc une destruction de cellules nerveuses sur une zone plus ou moins grande. Cela correspond à 85% des **Accidents Vasculaires Cérébraux** (AVC) (les 15% des autres AVC étant dûs à des hémorragies cérébrales). (9)

III. Les héparines



Cette famille de médicaments est fréquemment prescrite par les médecins hospitaliers et les généralistes. Ceci s'explique par le fait qu'elle peut être utilisée en préventif comme en curatif, et surtout en urgence grâce à son mécanisme d'action rapide. En tant que médicament biologique, elles proviennent d'un organisme vivant, ce qui rend leur processus d'obtention plus long et plus complexe que celui des médicaments de synthèse chimique.

Découvrons les nombreux protagonistes ayant participé à la découverte, mais aussi au développement clinique de ces médicaments pendant presque un siècle de progrès scientifique.

1. Le foie de chien, un organe prometteur

a) La première découverte

Au début du XXème siècle, les scientifiques cherchent à étudier les extraits de foie d'animaux pour en étudier les propriétés pro- et anti- coagulantes. Jay McLean, jeune étudiant américain de 26 ans, travaille sur le foie de chien dans l'Université Johns Hopkins, à Baltimore. Il étudie notamment la céphaline, phospholipide présentant des propriétés procoagulantes, sous la tutelle de William Henry Howell. En 1916, ce jeune scientifique fera une heureuse erreur de manipulation chimique : il laisse l'extrait sur lequel il travaille à conserver avec des solvants organiques, ce qui lui fera subir une détérioration. Il découvre alors que le foie de chien renferme un polysaccharide sulfaté qui possède une activité anticoagulante, il sera nommé plus tard « héparine ». (1) (10) (11)

Howell doutant de ses réflexions, Mc Lean publie un article en 1916 contre l'avis de son mentor. Il finit par interrompre ses recherches et se dirige vers une carrière de chirurgien. Par la suite il ne s'impliquera plus dans le projet « héparine » et sa découverte sera attribuée à Howell. Ce n'est qu'en 1945, après le décès de Howell, qu'il fut communément admis que cette découverte revient aux deux hommes. Avant le démarrage des essais cliniques, McLean n'avait pas fait valoir son implication dans les travaux sur l'anticoagulant. (1)

b) Le maître reprend les travaux de l'élève

Trois ans plus tard, Howell, spécialiste de la coagulation, reprend les travaux de son étudiant pour en isoler le polysaccharide qu'il nommera « héparine » en raison de sa grande abondance dans le foie. Cependant le succès n'est pas encore présent puisque les premières purifications laissent à désirer : elles titrent seulement 2% du produit. De même, les premiers essais cliniques effectués pendant des transfusions sont un échec total. (1) (11)

c) Vers l'identification de la molécule

La recherche de la structure et du mécanisme d'action de l'héparine implique de purifier cette substance. Dans les années 30, Johann Erik Jorpes biochimiste suédois, permet de déterminer la constitution chimique de l'héparine. C'est un mucopolysaccharide acide, dont les chaînes sont polysulfatées. Ces dernières sont de longueur variable, ce qui conduit à utiliser le mot héparine au pluriel. Elles sont constituées d'un enchaînement répétitif de glucosamine, d'acide glucuronique et d'acide iduronique (*Figure 8*). (11) (12)

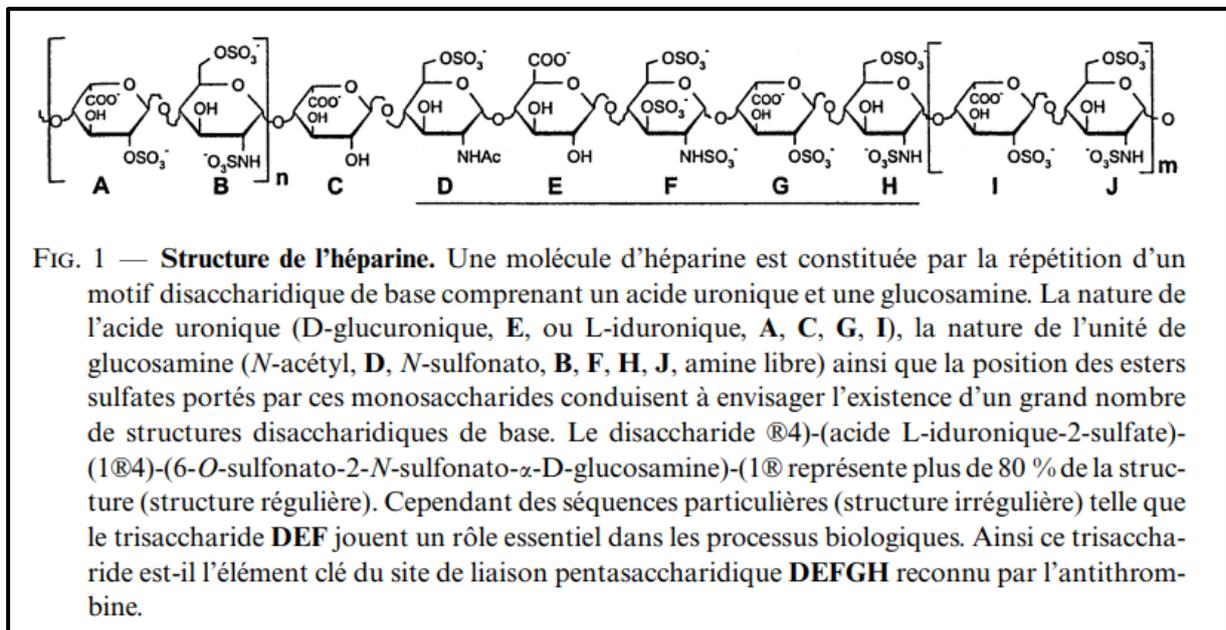


FIG. 1 — **Structure de l'héparine.** Une molécule d'héparine est constituée par la répétition d'un motif disaccharidique de base comprenant un acide uronique et une glucosamine. La nature de l'acide uronique (D-glucuronique, E, ou L-iduronique, A, C, G, I), la nature de l'unité de glucosamine (N-acétyl, D, N-sulfonato, B, F, H, J, amine libre) ainsi que la position des esters sulfates portés par ces monosaccharides conduisent à envisager l'existence d'un grand nombre de structures disaccharidiques de base. Le disaccharide (1→4)-(acide L-iduronique-2-sulfate)-(1→4)-(6-O-sulfonato-2-N-sulfonato-α-D-glucosamine)-(1→ représente plus de 80 % de la structure (structure régulière). Cependant des séquences particulières (structure irrégulière) telle que le trisaccharide DEF jouent un rôle essentiel dans les processus biologiques. Ainsi ce trisaccharide est-il l'élément clé du site de liaison pentasaccharidique DEFGH reconnu par l'antithrombine.

Figure 8 : Structure de l'héparine (14)

Aujourd'hui la structure des héparines est complètement élucidée (*Figure 8*). Les héparines font partie du groupe des mucopolysaccharides ou glycosaminoglycanes. (12)

Définition d'un mucopolysaccharide : Polyoside d'origine animale renfermant un sucre aminé (glucosamine ou galactosamine). Les principaux mucopolysaccharides sont la chitine, l'acide hyaluronique, la chondroïtine, l'héparine, les antigènes des groupes sanguins. (13)

2. Purification

a) Foie de chien, foie de bœuf ou d'intestins ?

Avant la purification de l'héparine, son activité anticoagulante finalement peu encourageante en regard de ses nombreux effets indésirables, ne laisse pas présager un brillant avenir.

Plusieurs scientifiques ont participé à sa purification :

- Best aux Connaught Laboratories de Toronto (célèbre aussi pour la purification de l'insuline),
- Arthur Charles et David Scott, dans le même laboratoire en 1933,
- Schmitz et Fischer à Copenhague (1933),
- Jorpes à Stockholm (1935)

Bien qu'initialement trouvée dans le foie de chien, l'héparine se retrouve dans d'autres organes et tissus en quantité non négligeable. Howell et Holt ont signalé la présence d'héparine dans des extraits de ganglions lymphatiques et dans le sang. King l'a obtenu sur membrane de muqueuse utérine, tandis que Katshiwamura et Katsuki déclarent l'avoir trouvé dans des extraits de lait, de rein, de poumon et d'autres tissus animaux. Finalement l'héparine serait distribuée dans tout le corps animal. Cependant ils n'ont pas précisé le taux de purification obtenu pour ces extraits.

Charles et Scott reprennent les observations de leurs confrères pour évaluer les quantités relatives dans ces différents tissus : foie de bœuf, foie de chien, foie de porc,

poumon de bœuf, muscle de bœuf, sang de bœuf et sérum de bœuf. Ils publient en 1933 un article présentant leurs travaux (Figure 9). (14)

The method which we have used for preparing heparin from the various tissues is very similar to our former process for obtaining quantities of this material from beef liver. From a series of experiments with beef liver, it was found that the present method gave results with 500 gm. of this tissue which were remarkably constant both in respect to the yield of heparin and to the purity of the product. The heparin content of each tissue was determined in triplicate experiments. The method was as follows:

500 gm. of fresh tissue were finely minced and autolyzed at 25° for 24 hours. To this were then added 730 cc. of 0.5 N NaOH and 87 cc. of saturated ammonium sulfate solution. The mixture was extracted at 50° for 30 minutes and then rapidly heated to 70°. It was filtered immediately through linen cloths and allowed to drain for 12 hours. The filtrate was acidified to pH 2 to 2.5 with concentrated sulfuric acid and heated to 65°. The hot mixture was filtered and the precipitate washed with hot dilute sulfuric acid (pH 2 to 2.5) to remove traces of ammonium sulfate. The precipitate was extracted at room temperature with 100 cc. of 95 per cent ethyl alcohol for 20 hours. The alcohol was removed by centrifugation and the precipitate dissolved in 75 cc. of alkaline water (pH 8 to 8.4). 2 gm. of trypsin and a few drops of xylene were added. The solution was incubated at 37° for 36 hours. During this time adjustments in pH were made when necessary. At the end of the digestion period, 2 volumes of 95 per cent alcohol were added. The mixture was acidified with 0.5 cc. of HCl and allowed to stand for 20 hours. The precipitated heparin was separated by centrifugation and dissolved in 50 cc. of water at pH 8. The alkaline solution was heated to 75° to prevent subsequent tryptic action. An insoluble fraction was removed by centrifugation. To the clear supernatant solution, 2 volumes of acetone were added and the mixture was acidified with 0.3 cc. of HCl. The precipitate which formed was separated by centrifugation, washed with alcohol, and dried *in vacuo*. This dried powder was

weighed and was designated "crude heparin." A sample of this was assayed, and the number of units per kilo of tissue calculated. The remaining powder was dissolved in 0.8 per cent ammonium sulfate (50 cc. per gm. of powder). The acidity was adjusted to pH 4.1 to 4.3 with N sulfuric acid and the solution heated to 70°. A precipitate formed and was removed by filtration. The heparin in the filtrate was precipitated by adding 1.5 volumes of acetone. After standing for 15 hours the acetone was decanted and the precipitate dissolved in water. The volume used here was twice

TABLE I
Distribution of Heparin in Various Tissues

| Tissue | Crude heparin per kilo tissue | | Purified heparin per kilo tissue | |
|--------------------|-------------------------------|-------|----------------------------------|-------|
| | mg. | units | mg. | units |
| Ox liver..... | 780 | 1800 | 190 | 1900 |
| " " "..... | 880 | 2000 | 315 | 1900 |
| " spleen..... | 1000 | 1030 | 230 | 700 |
| " heart..... | 200 | 420 | 54 | 380 |
| " blood..... | 280 | 185 | 66 | 60 |
| " thymus..... | 640 | 70 | 310 | 35 |
| " blood serum..... | 24 | 4 | | |
| " lung..... | 840 | 3300 | 230 | 2200 |
| " muscle..... | 2000 | 1500 | 600 | 1900 |
| Hog liver..... | 1400 | 5000 | 340 | 1700 |
| Dog "..... | 900 | 4500 | 380 | 4400 |

* In these experiments 7.5 cc. of ethyl acetate and 35 cc. of toluene were intimately mixed with each 500 gm. of minced tissue. The mixture was then autolyzed for 24 hours and the heparin purified by the standard procedure.

that used in dissolving the crude heparin. Glacial acetic acid was then added to give a concentration of 2 per cent acetic acid, and Lloyd's reagent mixed with the solution (500 mg. per 50 cc. of solution). The mixture was allowed to stand for 12 hours. The precipitate was removed and 2 volumes of acetone added to the clear supernatant liquid. The white precipitate was separated by centrifugation, washed with alcohol, and dried *in vacuo*. This was designated "purified heparin" and was weighed, assayed, and the units per kilo of tissue calculated.

Figure 9 : Procédé d'extraction de l'héparine par Scott et Charles, 1933 (14)

Leur conclusion révèle que l'héparine est présente en plus grande quantité dans le poumon de bœuf que dans le foie. La découverte de cette source plus abondante en matière première permet alors de simplifier la purification de l'héparine. Le produit sera plus fiable et moins dangereux à utiliser. C'est un progrès encourageant pour la nouvelle molécule. (11)

La production à échelle industrielle arrive dans les années 1940. Cependant ce ne sont ni le foie de chien, ni le poumon de bœuf qui seront utilisés mais bien les intestins de porc. Aujourd'hui encore ils restent la source principale des héparines, qui sont toujours produites par purification et non par synthèse. (10)

b) Obtention

Penchons-nous sur le processus de l'obtention des héparines standards ou Héparines Non Fractionnées (HNF).

Les protéines et acides nucléiques présents dans la muqueuse intestinale de porc sont détruits par l'utilisation conjointe d'enzymes, de NaCl et de chaleur, puis l'héparinate de sodium est extrait à l'aide d'un solvant basique. Cet extrait est alors purifié et les glycosaminoglycanes non sulfatés sont éliminés. Cependant ces techniques ne permettent d'obtenir qu'une seule dose par intestin de porc utilisé. Deux sels peuvent être préparés : l'héparine sodique ou calcique. (1) (15)

Même si la production se fait principalement à partir de porc, elle peut aussi être obtenue par du poumon de bœuf (souligné lors de l'étude de Scott et Charles), muqueuse intestinale de bœuf ou de mouton. Cependant, le bœuf a rapidement été mis de côté par peur de l'encéphalopathie spongiforme bovine sévissant pour la première fois en 1986. (15) (16)

La production biologique n'est pas sans risques, des cas de contamination frauduleuse à la chondroïtine persulfatée survenant en 2008 ont été rapportés, provoquant des réactions d'hypersensibilité et plusieurs décès (affaire des « héparines chinoises). L'AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé) a fait retirer certains lots du marché et renforcé la surveillance des chaînes de production. *(A noter que cet évènement concerne les héparines de bas poids moléculaire traitées plus bas)* (15)

Les processus d'obtention biologiques demandent plus de temps et sont plus limités en ressources en comparaison aux processus chimiques plus rapides utilisés pour l'aspirine par exemple.

3. Des essais à l'utilisation clinique

a) Test sur les animaux

Murray teste en 1937 les extraits de Scott et Charles chez les chiens, les lapins, les cobayes et les souris. L'effet anticoagulant perdure et les effets indésirables sont absents. Un 2^{ème} extrait dont la pureté est multipliée par deux est produit et administré aux sujets « sans effet délétère ». Aujourd'hui encore, chaque lot d'héparine produit à partir de source animale est contrôlé et testé sur un animal anesthésié. (17)

b) Essais cliniques

i. Du traitement préventif...

La première indication testée dans les essais cliniques est le traitement préventif de l'embolie pulmonaire post-opératoire. Gordon Murray et Clarence Craaford, respectivement à Toronto et Stockholm, montrent un effet évident de la prévention des thromboses en post-opératoire dans les deux premières études cliniques. Ces derniers ont commencé sur des sujets sains fin 1930, puis entre 1940 et 1950, dans la prévention des thromboses post-opératoires et le traitement des thromboses veineuses et des embolies pulmonaires. (1) (10)

ii. ... au traitement curatif

Trois études cliniques se sont succédées, l'indication était toujours la même : le traitement de l'embolie pulmonaire (*Tableau 1*).

Tableau 1 : Essais cliniques entre 1946 et 1959 (1) (10)

| Année | Protocole | Nombre de patients inclus dans l'étude | Nombre de décès | Scientifique ayant publié les résultats |
|-------|--------------------------|----------------------------------------|-----------------|-----------------------------------------|
| 1946 | Héparine puis coumarine | 71 | Absence | Bauer |
| 1946 | Héparine puis dicoumarol | 329 | 1 | Allen |
| 1959 | Héparine seule | 626 | 5 | Bauer |

c) L'héparine en clinique

L'utilisation en clinique des héparines se déploie dans les années 60. De ceci résulte un développement colossal de la chirurgie. En effet, les embolies pulmonaires et phlébites étant très nombreuses, l'utilisation de cet anticoagulant ouvre de nombreuses portes pour la chirurgie, qui devient alors bien plus sûre qu'elle ne l'avait jamais été. Son utilisation, avec la découverte des Héparine de Bas Poids Moléculaire (HBPM), prendra de l'ampleur et un budget assez conséquent : 15 328 000 Francs en 1982. De nombreuses publicités relayeront son utilisation (*Figure 10*). (11) (12)

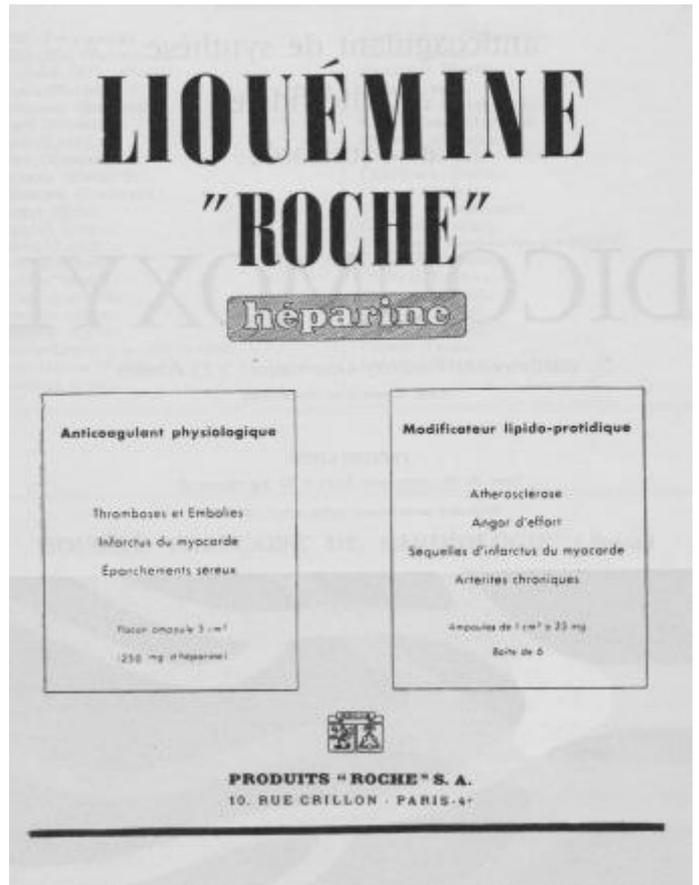


Figure 10 : Publicités de l'héparine ; 1959, 1960 (1)

Début des années 1960, les scientifiques vont argumenter sur le risque hémorragique important de l'héparine, notamment dans les embolies pulmonaires sans gravité apparente. Intervient alors la balance bénéfices/risques : c'est l'évaluation par le praticien de l'équilibre entre les effets thérapeutiques bénéfiques pour le patient et ses effets indésirables qui peuvent lui être délétères. Ici c'est le surdosage en anticoagulant qui est le risque principal, car il peut mener à des hémorragies importantes. Afin d'assurer un bon suivi de sa prise médicamenteuse, le patient doit effectuer des tests biologiques contraignants pour l'exercice en ville, cela peut s'avérer très coûteux. (1) (11)

La grande efficacité de l'héparine va mettre fin à ces discussions.

Un autre obstacle va se dresser devant l'utilisation en masse des héparines : son mode d'administration. En effet, elles sont administrées par voie intra-veineuse (IV) ou sous-cutanée (SC). Nous conviendrons qu'une injection quotidienne pendant plusieurs mois n'est pas en faveur d'une observance thérapeutique sans faille, et encore moins témoin d'un confort pour le patient. (11)

4. Découverte du mécanisme d'action

a) *Un mécanisme d'action complexe*

Le mécanisme d'action a quant à lui été plus long à élucider. C'est la recherche de nouvelles molécules avec une efficacité et une tolérance supérieure qui a encouragé son exploration.

La découverte d'un mécanisme indirect, sollicitant un co-facteur est décrite en 1939, mais il a fallu attendre 1968 pour connaître ce dernier. Appelée « antithrombine III » (ATIII), c'est cette glycoprotéine de 60 000 Da qui agit directement sur les facteurs de la coagulation de manière physiologique. En 1973, on découvre que les héparines agissent comme catalyseur de cette réaction. En effet, les chaînes d'héparine portent de nombreux groupes chargés négativement, elles peuvent se lier avec l'antithrombine, qui va elle-même changer de conformation et se lier de façon irréversible sur les facteurs de coagulation. Physiologiquement, elle inhibe lentement le facteur IIa (appelée aussi thrombine) et Xa, ainsi que le IXa XIa XII a et la plasmine. (Figure 11). En présence d'héparine, son activité est 10 fois supérieure. On parle aujourd'hui d'activité 300 à 1000 fois supérieure. (1) (12) (15) (18)

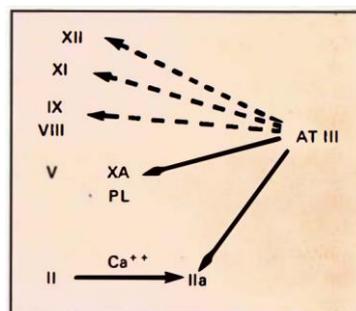


Figure 11 : Cible de l'antithrombine III (12)

Deux découvertes vont faire naître une nouvelle famille d'héparine : les Héparines de Bas Poids Moléculaire (HBPM). D'une part l'hypothèse que l'inhibition du facteur Xa, situé plus en amont de la cascade de coagulation pourrait s'avérer plus efficace que d'inhiber la thrombine. D'autre part le fait que la longueur des chaînes influe seulement sur l'activité antithrombine et non sur celle anti-facteur Xa. Ceci amènera à développer cette activité anti Xa et donc des chaînes plus courtes. De plus,

du fait de leur Poids Moléculaire (PM) plus faible, elles sont moins sujettes à interagir avec d'autres molécules, ce qui leur confère une moindre toxicité. On parle « d'héparine à faible dose ». (1)

Enfin, les héparines ne passent pas la barrière foëto-placentaire, ce qui leur permet d'être administrées chez la femme enceinte. Aujourd'hui encore, les héparines sont les seuls anticoagulants administrables chez la femme enceinte.

b) Autres activités biologiques

L'activité anticoagulante n'est pas la seule activité que l'on retrouve à leur arsenal biologique. Du fait de ses nombreuses charges négatives et de son poids moléculaire important, les interactions avec d'autres cibles sont nombreuses et souvent non spécifiques.

Outre sa fixation à l'antithrombine, on retrouve une fixation au fibrinogène, aux lipoprotéines B, au Facteur plaquettaire 4 (PF4) et à d'autres enzymes, telles que la lipoprotéine lipase des cellules endothéliales ou bien les protéines kinases. Elles possèdent aussi une faible activité anti-inflammatoire locale, de par l'inhibition des fractions du complément, on la retrouve notamment aujourd'hui dans la spécialité Flector Tissugel Héparine® pouvant être utilisée dans l'entorse bénigne (toujours commercialisée mais peu utilisée en pratique). (12) (19)

Les héparines interagissent avec trois protagonistes principaux : la paroi vasculaire (via les cellules endothéliales), l'AT III et les cellules sanguines, notamment les plaquettes.

Au niveau de la paroi endothéliale, elles ont un effet sur la production de l'activateur tissulaire du plasminogène (t-PA). Lui-même intervenant dans la fibrinolyse, on peut ajouter un effet pro-fibrinolytique à la liste des activités des héparines.

Les pistes de recherche se sont alors tournées vers une action antithrombine et anti-Xa uniquement, ou une activité endothéliale préférentielle (piste abandonnée dans le futur).

c) Effet sur les thrombocytes

Un effet rare mais grave est rapporté par les différentes études, il correspond à une thrombose veineuse et/ou artérielle et un accident hémorragique qui aurait lieu entre le 7^{ème} et 14^{ème} jour de traitement. Une hypothèse considère que le phénomène serait immunoallergique, causé par un anticorps reconnaissant le complexe héparine-plaquettes. Cela pourrait conduire à une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD).

Une autre conjecture, serait que l'anticorps sécrété contre l'héparine serait toxique pour l'endothélium vasculaire et provoquerait une activité procoagulante plus importante. (12)

Plus tard, cet évènement a été qualifié de Thrombopénie Induite par les Héparines (TIH) (encore nommé ainsi aujourd'hui). C'est une interaction entre les héparines et le facteur plaquettaire 4 (PF4) qui en est responsable. Elle est due aux longues chaînes polysulfatées, et induit une activation de l'agrégation plaquettaire, ce qui provoque des thromboses. (20) (21)

Heureusement un antidote s'est fait connaître en 1937 : le sulfate de protamine. Il s'associe avec l'héparine pour former un complexe et ainsi désactiver l'action thrombotique. (10)

Après ces évènements, le cahier des charges d'une héparine « parfaite » s'est étoffé : synthétiser des molécules assez chargées négativement pour se lier à l'antithrombine, tout en ayant une faible activité sur la thrombine et ne se liant pas au PF4. (20)

5. Vers de nouvelles molécules

a) Les Héparines de Bas Poids Moléculaire (HBPM)

i. Naissance des HBPM

Un nouveau type d'héparine fait son apparition dans les années 1980 : les Héparines de Bas Poids Moléculaire (HBPM), elles succèdent aux Héparines Non Fractionnées (HNF). C'est la longueur de la chaîne polysaccharidique décrite par Johann Erik Jorpes qui les différencie. Au niveau du mécanisme d'action, les HBPM ont

une action plus centrée sur le Xa tandis que les HNF sont anti IIa et anti Xa. Ceci est lié au fait que si l'action anti Xa est seulement liée à l'action de l'AT, l'activité anti IIa est aussi liée à la longueur de la chaîne des héparines. En réduisant la taille de la molécule, cette interaction disparaît. (10) (11)

ii. *Entre purification et essais cliniques*

L'utilisation des HBPM est plus sûre car elles provoquent moins de TIH et leur meilleure biodisponibilité permet d'adapter la posologie en fonction du poids du patient. Rapidement utilisées en ambulatoire, elles ne laissent la place aux HNF que chez l'insuffisant rénal, à cause de leur élimination rénale. (10)

En 1985, plusieurs laboratoires français, notamment l'institut Choay à Paris et les Laboratoires Pharmuka SA à Gennevilliers participent à l'élaboration de ces nouvelles héparines (*Figure 12*). De même plusieurs essais cliniques sont en cours et avec eux, la promesse d'une commercialisation imminente. La RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) a permis une grande avancée sur la chimie structurale des héparines, et notamment de caractériser la séquence pentasaccharidique responsable de la liaison avec l'antithrombine. (12)

| Tableau I LES DIFFÉRENTES HÉPARINES | | | | |
|------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| | calciparine | CY 216 | CY 222 | Pk 10 169 |
| origine | muqueuse intestinale de porc | ID | ID | ID |
| préparation | extraction | fractionnement alcoolique | hydrolyse contrôlée et affinité | dépolymérisation contrôlée |
| PM | 4-30 000 | 4 000-10 000 | 1 500-8 000 | 4-6 000 |
| activité anticoagulaire dite « héparine » (anti IIa) | 170 UI/mg | 50 UI/mg | < 40 UI/mg | 40-60 UI/mg |
| activité anti Xa | 150 UI/mg | 200 UI/mg | 250 UI/mg | 130-160 UI/mg |
| rapport anti Xa/ anti IIa | # 1 | 4 | 10 | 2-4 |

Figure 12 : Résultats des essais effectués par l'Institut Choay et les Laboratoires Pharmuka SA (12)

Les HBPM CY 216 et CY 222 sont produits par l'Institut Choay et le composé Pk 10 169 est produit par les Laboratoires Pharmuka SA. Ils sont ici comparés avec la Calciparine® (HNF), démontrant ainsi le manque d'effet sur le facteur IIa de ces HBPM.

b) Le danaparoïde

En 1983, un nouvel élément nommé Org 10172 se fait connaître. Il est introduit par l'étude allemande de Harenberg, traitant un patient ayant développé une TIH sous HBPM. Cette molécule suscite un grand intérêt lorsqu'elle s'avère être efficace comme alternative aux AVK, qui sont employés en substitution des héparines en cas de TIH. Les AVK n'étant efficaces que trois jours après le début de leur administration, on comprend alors l'urgence et le besoin de trouver des molécules substitutives. (22)

Qualifié d'héparinoïde (similaire aux héparines), le danaparoïde sodique est un mélange de glycosaminoglycanes extraits de la muqueuse intestinale de porc (environ 6000 daltons), composé essentiellement de sulfate d'héparane (85 %) et dépourvu de tout fragment héparinique. Il présente une haute affinité pour l'antithrombine III et une activité anti-facteur Xa prépondérante (ratio activité anti-facteur Xa sur activité anti-facteur IIa voisin de 20, nettement plus élevé que celui des HBPM). Premier véritable traitement de la TIH, il est relégué aujourd'hui au rang de traitement de 2^{ème} intention, après la découverte du fondaparinux, de l'argatroban et des anticoagulants oraux directs (AOD). (23)

c) Le fondaparinux

Développé dans les années 90, le fondaparinux est un des premiers anticoagulants obtenus par synthèse, à partir de glucose et de glucosamine. (18)

C'est la séquence pentasaccharidique qui permet de lier l'héparine à l'antithrombine. Sans ses chaînes polysaccharidiques elle ne se lie plus à la thrombine et devient donc spécifique du facteur Xa (*Figure 13*).

Son principal avantage par rapport aux HBPM : le risque de thrombopénie induite est nul, ce qui constitue un véritable plus dans l'utilisation des héparines en clinique. (10)

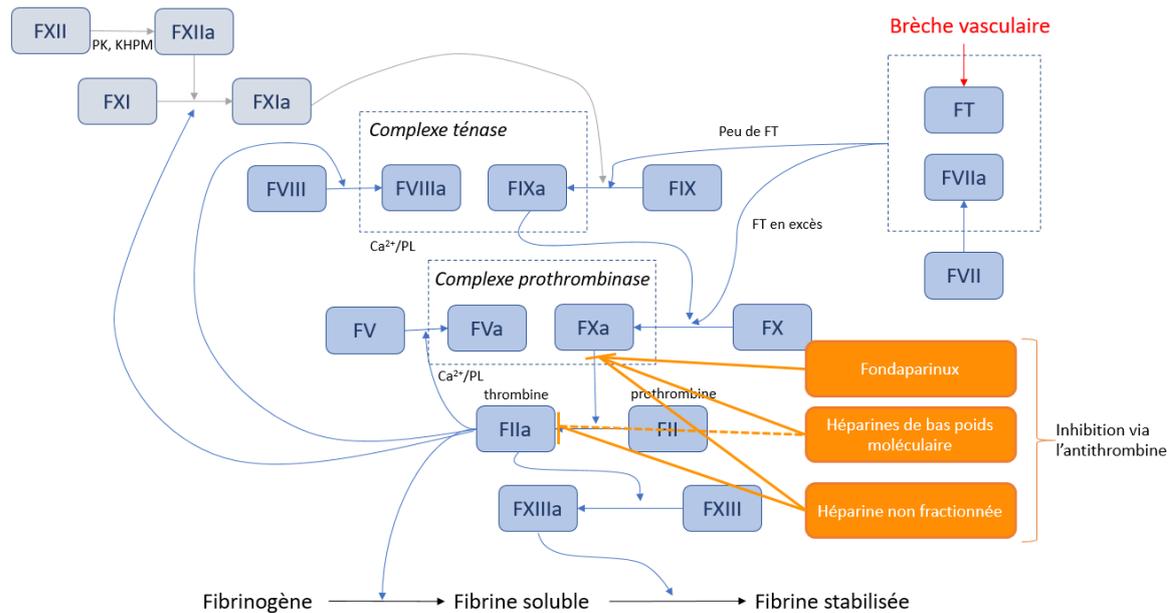


Figure 13 : Action des héparines sur la cascade de coagulation

D'autres traitements comme l'argatroban Arganova®, ou les AOD sont aujourd'hui utilisés dans la TIH.

6. Utilisation dans la dialyse

Durant la Première Guerre Mondiale, les médecins militaires sont à la recherche d'une molécule anticoagulante qui permettrait d'utiliser l'hémodialyse, et ainsi de soigner les nombreux combattants décédés d'insuffisance rénale des suites de graves blessures. L'héparine constitue un véritable espoir lorsqu'elle est découverte. Les appareils de dialyse sont amenés à évoluer rapidement, notamment avec des membranes plus efficaces et des circuits extracorporels plus petits. Les tubes, au départ fabriqués à base de de boyaux de saucisses, voient leur composition changer en cellophane.

En 1925, Haas teste l'héparine sur les animaux et montre son intérêt dans la dialyse. Cependant, les extraits comportent toujours des impuretés et ne peuvent être utilisés chez l'Homme.

Le Néerlandais Willem Kolff réussit en 1945 à traiter une patiente plongée dans le coma à cause de son insuffisance rénale aiguë. L'héparine devient donc le premier

anticoagulant permettant l'utilisation d'un rein artificiel et le traitement de l'insuffisance rénale (*Figure 14*). (17)

Les scientifiques s'attellent à la comparaison de l'utilisation d'une HNF ou d'une HBPM, et préconisent les HBPM dans la dialyse. Le risque de provoquer une thrombocytopénie par le dépôt de plaquettes sur les membranes de dialyse est amoindri par rapport aux HNF.

L'époprosténol, ou prostacycline ou encore prostaglandine I₂ (PGI₂), commercialisé sous le nom de Veletri® est aussi utilisé dans la dialyse rénale chez les patients à haut risque hémorragique. Cette prostaglandine bien connue pour son rôle dans l'inflammation, est un anticoagulant naturellement présent dans le corps humain, et potentialise l'effet de l'héparine de 50%. Produite par la paroi endothéliale des vaisseaux, son activité est due à la stimulation de l'adénylate cyclase qui provoque une augmentation de l'AMPc. Il en résulte une diminution du calcium intra cytoplasmique et donc l'inhibition de l'agrégation plaquettaire. Elle a aussi un effet endothélial en freinant la libération de facteurs pro thrombotiques. Cependant la surveillance des paramètres hémodynamiques est fortement conseillée, car la PGI₂ a un effet vasodilatateur. De plus les frais élevés peuvent constituer un frein à son utilisation. (24) (25)

Plus tard des échantillons d'hirudine ont pu être purifiés et son utilisation dans la dialyse rénale a pu voir le jour. (17)

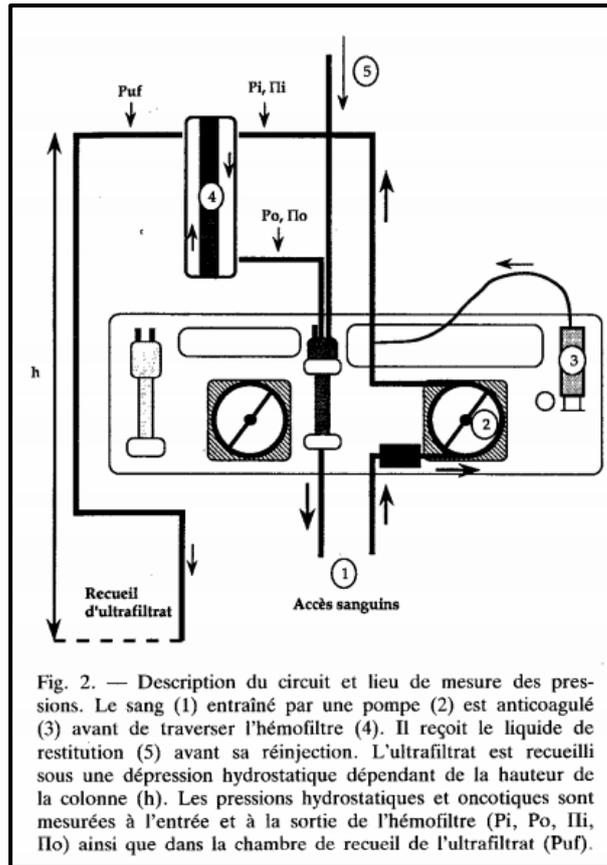


Figure 14 : Schéma d'une hémofiltration (24)

7. Spécialités commercialisées

L'héparine aujourd'hui se présente sous différentes formes (HNF sels calcique ou sodique, HBPM, ou motifs simplifiés) et sous différents noms commerciaux, résumés dans le tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2 : Spécialités contenant des héparines ou assimilés commercialisées en France, 2021

| Classe d'héparine | DCI | Nom commercial | Date AMM |
|-------------------|-------------------|------------------------------|-------------------|
| HNF | Héparine calcique | Calciparine® | 20 juin 1986 |
| | | Héparine calcique PANPHARMA® | 13 février 1978 |
| | Héparine sodique | Héparine Choay® | 24 juin 1986 |
| | | Héparine sodique PANPHARMA® | 7 mars 1977 |
| HBPM | Enoxaparine | Lovenox® | 3 avril 1987 |
| | | Inhixa® | 15 septembre 2016 |
| | Biosimilaires | Enoxaparine ARROW® | 19 février 2020 |
| | | Enoxaparine CRUSIA® | 17 juillet 2017 |
| | | Enoxaparine BECAT® bgr | 4 août 2017 |
| | Tinzaparine | Innohep® | 18 octobre 1995 |
| | Daltéparine | Fragmine® | 4 décembre 1987 |
| | Nadroparine | Fraxiparine® | 4 mars 1985 |
| | | Fraxodi® | 6 mai 1998 |
| | Fondaparinux | Arixtra® | 21 mars 2002 |
| Danaparoïde | Orgaran® | 15 juillet 1996 | |

Les dates sus nommées correspondent aux premières AMM délivrées. Le dosage n'a pas été précisé. Sources : Commissions de Transparence HAS et RCP

8. Résumé de l'histoire des héparines

La Figure 15 permet de repositionner dans un contexte chronologique la découverte et l'utilisation de l'héparine, sous toutes ses formes.

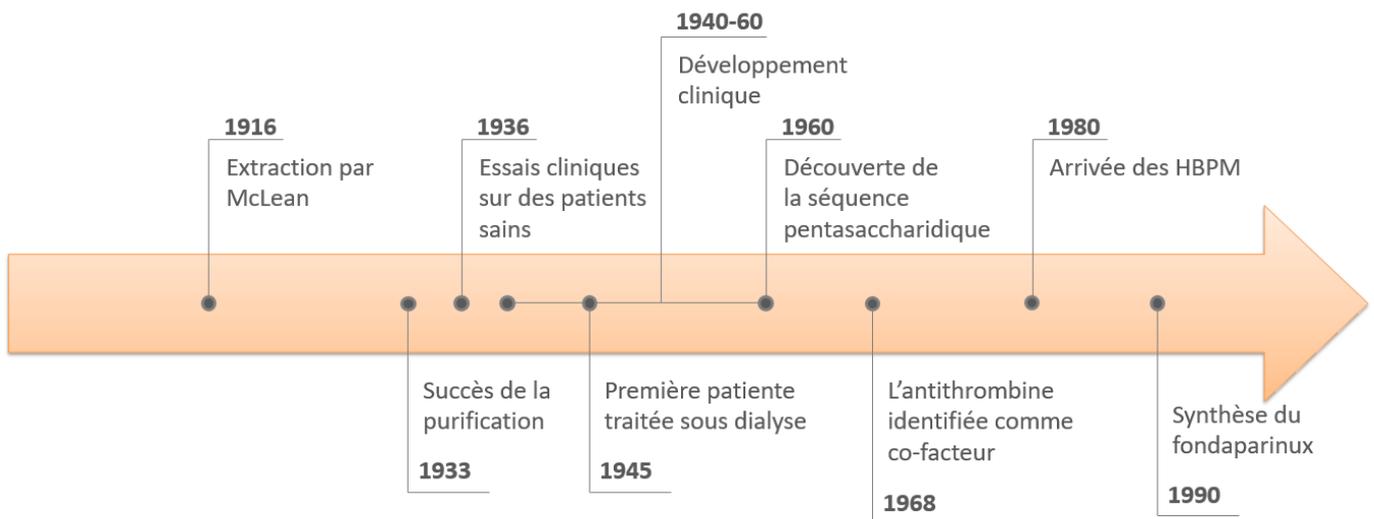


Figure 15 : Découverte et développement des héparines

IV. Les antivitamines K



(25)

Les antivitamines K ou AVK, sont des anticoagulants agissant de façon indirecte sur la cascade de la coagulation. Ils sont administrés par per os, contrairement aux héparines. Leur découverte apporte leur lot d'attentes et de déceptions. Aujourd'hui de plus en plus délaissés en faveur des AOD (Anticoagulants Oraux Directs), ils sont malgré tout encore très prescrits. Le récit de leur histoire conte un mélange entre la recherche de scientifiques curieux et dévoués et des événements fortuits.

1. La maladie du mélilot gâté

L'histoire des antivitamines K commence durant l'hiver de 1921 à 1922, avec deux pathologistes vétérinaires : F.W. Schofield et L.W. Roderick. Le premier travaille dans l'ouest du Canada, en Alberta, et le second au Dakota du Nord, Etats-Unis. Malgré la distance qui les sépare, ils observent presque simultanément l'apparition d'une nouvelle maladie touchant les bovins. Une grande partie du bétail présente des saignements spontanés, excessifs et parfois mortels. Ces derniers peuvent survenir à la suite d'un acte de petite chirurgie, comme la castration ou encore une blessure légère. Au premier abord, les vétérinaires conjecturent que cette affection décimant les troupeaux serait due à une bactérie, on parle alors d'une septicémie hémorragique. Cependant Schofield dément rapidement cette théorie, et met aussi de côté celle de la carence nutritionnelle.

Durant leurs recherches, Schofield et Roderick notent un allongement du temps de coagulation, en utilisant une technique du Pr W.H. Howell sur du sang contaminé comparé à du sang de bovin sain. Ils montrent que la maladie peut être réversible en changeant de foin ou en effectuant des transfusions sur le bétail contaminé. Le mystère finit par être résolu par Schofield : c'est un trouble de la coagulation qui résulte de l'ingestion de mélilot fermenté (*Melilotus alba* et *Melilotus officinalis*). Sans doute conservé trop longtemps dans le silo à grain, cette plante issue de la famille des Fabacées contient une molécule provoquant une diminution conséquente de la prothrombine (facteur II), précurseur de la thrombine (facteur IIa). On la nomme alors la « maladie du mélilot gâté » (ou maladie du trèfle doux). (3) (11) (26) (27) (28)

Il s'avère que le contexte économique de la Grande Dépression est peu favorable aux fermiers. Le sol est surexploité, le climat peu favorable et les fermiers sont contraints d'importer le mélilot d'Europe. Ils n'avaient alors pas assez d'argent pour donner du foin de bonne qualité à leurs animaux et se trouvaient dans l'obligation de donner du foin moisi, contaminé par certaines souches. Ainsi le contexte

économique a donné l'effet d'une épidémie se propageant dans le Canada et les Etats-Unis. (28) (29)

2. Dérivés coumariniques

a) *Le dicoumarol*

1) *Le fermier, la vache et le biochimiste*

Cependant, les tentatives pour extraire la molécule responsable du décès des bovins échouent les unes après les autres. Elle est cependant identifiée comme dérivé de la coumarine. Karl Paul Link, biochimiste travaillant pour le collège d'agriculture de l'université du Wisconsin, se voit recevoir les publications des deux chercheurs pour étudier ce dérivé coumarinique. Cependant, Link a été chargé de travailler sur un tout autre aspect de la problématique du mélilot : produire une variété adaptée aux conditions climatiques du Wisconsin, mais aussi pauvre en coumarine. Un foin comportant de la coumarine a pour attrait d'avoir une bonne odeur de foin fraîchement coupé, attirant les bêtes, mais elle lui confère aussi un goût amer proportionnel à sa teneur. A cette époque, elle est aussi utilisée pour parfumer le tabac de mauvaise qualité, dans la vanille artificielle ou même dans certains parfums. (27) (28) (30)

En 1933, la bravoure d'un fermier, nommé Ed Carlson, va le pousser à parcourir 200 miles dans une tempête, sa vache morte à l'arrière de son camion, un litre de sang contenu dans un bidon, et frapper à la porte de Karl Paul Link. Sa ferme était touchée par la maladie du mélilot gâté et on lui avait conseillé de s'en remettre au Service d'expérimentation agricole. Les bureaux de ce dernier étant fermés, la bonne fortune l'avait amené à toquer à la porte du service de biochimie et il était tombé sur le biochimiste de garde : Link (*Figure 16*). Ce dernier ne peut malheureusement que lui recommander d'appliquer la méthode de Roderick et Schofield et ainsi de transfuser ses bêtes malades et de changer leur nourriture. Carlson retourne alors bredouille dans sa ferme...

La rencontre avec ce fermier aura cependant un impact conséquent sur Link et va le pousser à orienter ses recherches vers l'identification de la substance

anticoagulante. Il utilisera notamment le sang de la vache de Carlson non coagulé et le foin qu'il avait amené comme preuve de son infortune. (11) (26) (27) (30)



Figure 16 : Karl Paul Link travaillant dans son laboratoire, Wisconsin (29)

2) Une longue route vers l'inconnu

Entre février 1933 et juin 1939, un long chemin est parcouru par Link et ses collaborateurs : Harold Campbell, Smith et Roberts. En effet, Link qualifie le mélilot de « biochemical grab-bag » soit un fourre-tout biochimique contenant de nombreux produits inactifs, provoquant tour à tour le faux espoir d'une grande découverte. Le 28 juin 1939, Link retrouve Campbell endormi sur un canapé, un technicien ivre à ses côtés, lui annonçant une grande découverte... Ce n'est que deux interminables jours plus tard que Campbell lui annonce officiellement qu'il a isolé 6 mg de la substance cristalline sur une lame de microscope. Elle est nommée « Dicoumarol », et quatre mois plus tard 1,8 g sont isolés par Strahmann. (27) (28) (30)

La complexité de son isolement résulte du fait que le principe actif est sensible au milieu acide, ce qui rend sa solubilisation complexe. Sa structure est identifiée comme le 3,3'-méthylène-4,4'-hydroxycoumarine et elle est synthétisée le 1^{er} avril 1940. Enfin la substance peut être révélée au monde. Elle est étudiée par trois

médecins de la Mayo Clinic de Rochester, qui commencent des essais sur les cobayes, lapins, rats, souris et chiens. Les deux produits, synthétique et naturel, se montrent être identiques tant au niveau de leurs propriétés biochimiques que chimiques. En effet, le dérivé synthétique donne aussi le goût amer au foin et provoque le même déséquilibre en prothrombine qui induit l'hémorragie.

La structure chimique présente une similarité avec la coumarine : il s'avère que le mélilot étant naturellement composé de coumarine, l'oxydation produite par la prolifération microbienne d'*Aspergillus spp.*, transforme la coumarine en 4-hydroxycoumarine qui se couple alors avec le formaldéhyde et forme le dicoumarol (Figure 17). (11) (27) (30)

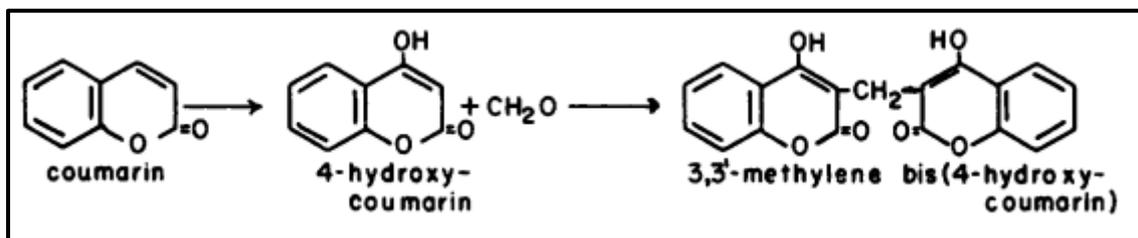


Figure 17 : Transformation de la coumarine en dicoumarol (27)

En 1941, la *Wisconsin Alummi Research Foundation* (WARF), société finançant les recherches de Link, dépose un brevet sur le dicoumarol. Plus tard, trois laboratoires seront autorisés à produire du dicoumarol : *Lilly*, *Squibb* et *Abbott*. (28)

3) Recherches cliniques chez l'animal et propriétés

Après sa synthèse en grande quantité, Link remet la molécule entre les mains des cliniciens afin qu'ils s'attèlent à son activité physiologique. La Mayo Clinic et le Wisconsin General Hospital sont les deux structures majeures à l'avoir étudiée. Rapidement, ils montrent une corrélation entre l'importance de la dose et celle de l'intensité et la durée de l'hypoprothrombinémie. De plus, cette dose varie en fonction des espèces testées, et il existe la notion de seuil, en dessous duquel l'action est fortement diminuée.

Une autre propriété plus singulière lui est attribuée : une période de latence entre 12h et 24h est nécessaire avant de percevoir une activité. D'ores et déjà Link et son équipe décrètent que la dose administrée sera individualisée selon les patients, en pratique clinique. Aujourd'hui encore, l'instauration d'AVK demande au moins 3 jours

avant un équilibre du traitement, avec un suivi biologique important pendant plusieurs mois.

Il existe aussi une fluctuation de l'action anticoagulante selon la consommation de vitamine K et de vitamine C. Link insiste notamment sur le fait que la vitamine K permet de s'opposer aux effets du dicoumarol. Cependant les premières études ne la désignent pas comme antidote. Link est accusé d'avoir fait une erreur mais il reste sur ses positions, et il est soutenu en 1942 par le Dr Shepard Shapiro (New-York). Puis, petit à petit, les cliniciens se rangent du côté de Link et il est déclaré qu'une administration précoce de vitamine K hydrosoluble permet de contrecarrer les effets du dicoumarol.

Il faut néanmoins 10 ans pour arriver à cette conclusion, en effet les cliniciens utilisaient un test moins sensible que celui de Link et Campbell. (27)

En 1942-43, plusieurs scientifiques de Toronto et du Wisconsin, notamment Best, Dale, Jaques et Meyer, établissent un lien entre la formation du thrombus (caillot sanguin) et un mécanisme de coagulation du sang (la cascade de coagulation ne sera proposée qu'en 1964). Cela signifie que le dicoumarol provoque une réduction de la formation du thrombus. Une autre activité intéressante est relevée : lors d'une administration à dose thérapeutique chez les chiens, il est observé une diminution de l'adhésion plaquettaire. Ceci a aussi été démontré par Quick, inventeur du temps de prothrombine. Cette découverte est prometteuse pour son utilisation clinique en prévention. (27) (31)

4) Pratique clinique

Link synthétise une centaine de molécules anticoagulantes à partir de la structure du dicoumarol. Les premières études chez l'homme entre 1941 et 1944 lui indiquent un bel avenir en tant que médicament. Il est même évoqué comme un rival de l'héparine, qui est alors le seul anticoagulant disponible. (27)

Meyer, de l'hôpital général du Wisconsin, est le premier à introduire le dicoumarol en clinique humaine, en janvier 1941, suivi de près par Allen de la Mayo Clinic, qui publie en premier ses résultats en juin 1941. Au départ la pratique clinique n'est pas évidente, car le rendement était d'environ 1 gramme par tonne de trèfle. Cependant avec la synthèse chimique l'affaire se simplifie. Meyer et son équipe observent que le dicoumarol diminue l'adhésion plaquettaire mais n'affecte pas la numération plaquettaire, contrairement aux héparines. (32)

En 1942 Nichol propose son utilisation dans l'infarctus du myocarde ce qui finit par arriver en 1944. (27)

5) De l'international à son déclin

La recherche clinique a aussi eu son équivalent suédois : le laboratoire de Jörgen Lehmann a reçu en 1940 du foin de mélilot avec comme directive d'étudier la molécule responsable de la maladie du mélilot gâté. Sachant que la molécule en question était soupçonnée d'avoir des similitudes avec la coumarine, ils étudièrent sa structure en détail. Ils observèrent une relation entre celle-ci et la naphthoquinone, partie de la vitamine K, synthétisée par Doisy. D'ores et déjà ils établissent une théorie quant à son mécanisme d'action : une inhibition compétitive de la vitamine K.

Leurs recherches arrivent aux mêmes conclusions que celles de Link, et ils décident de publier un article. Cependant, ils éprouvent quelques difficultés à le diffuser au niveau international. Rappelons que nous sommes en plein milieu de la Seconde Guerre Mondiale et que toutes les communications entre l'Europe et l'Amérique sont interrompues, du fait des attaques au niveau aérien mais aussi sous-marin. Le laboratoire reçoit une réponse de Link en décembre 1942, soit 4 mois après le premier envoi. Les lettres se succèdent et Link félicite les suédois de leur travail. En 1943, de nombreux hôpitaux suédois traitent les patients atteints de thromboses avec le dicoumarol, c'est un véritable succès ! (33)

Néanmoins, cet âge d'or du dicoumarol laisse place à une période de déclin avec des scientifiques très critiques à son égard. Ces critiques parfois peu fondées et pouvant être dues à une mauvaise utilisation de l'antidote laissent cependant place à une réflexion finale : une autre molécule similaire mais plus sécuritaire est souhaitable. (27)

b) La Warfarine

1) La mort aux rats

Entre 1945 et 1946, Link, tombé malade par une réactivation d'une tuberculose latente, est contraint de passer sa convalescence dans un sanatorium à Lake View, Alabama. La plupart des étudiants et scientifiques étant toujours mobilisés dans les

forces de l'armée, il se trouve seul avec beaucoup de temps pour réexaminer les données concernant les composés dérivés du dicoumarol. Ces derniers sont numérotés en fonction de leur classe chimique.

En 1946, L. D. Scheel, un collègue de Link est de retour et l'aide dans ses recherches. Ils observent que certains produits semblent plus puissants, notamment le n°42 et n°63, et maintiennent un état d'hypoprothrombinémie plus important sans induire de saignements visibles. Ils ont aussi l'avantage d'être moins coûteux et plus faciles à produire. Il vient alors à Link l'idée d'utiliser ces produits chez le rat. (*Figure 18*). Le composé n°42 est donc proposé en tant que rodenticide, et le n°63 en clinique. (27)

Concernant le composé n°63, il est envoyé à la Meyer au Wisconsin, qui effectue les tests nécessaires à son introduction en clinique. Bien qu'il soit 2 à 3 fois plus puissant que le dicoumarol et paraîtrait moins toxique, les études cliniques n'ont pas abouti et il a été rapidement remplacé. (27) (32)

L'idée ne fait pas l'unanimité, car il est vrai qu'un produit de mort aux rats est moins réjouissant qu'une utilisation révolutionnaire en clinique, mais est finalement acceptée. L'utilisation du composé n°42 est acceptée dans le contrôle des rongeurs en 1948 et est nommé la « Warfarine »... (*Figure 18*)

Elle possède une activité anticoagulante environ 10 fois plus puissante que le dicoumarol, avec une efficacité supérieure et de plus longue durée d'action. Son nom, inventé par Link, provient de la combinaison entre le "WARF" de *Wisconsin Alummi Research Foundation* et le -arine de coumarine. La molécule devient alors très populaire et fait le tour du monde ! (27) (34)

L'utilisation de warfarine ou d'autres anticoagulants dans les produits rodenticides est encore courante, et l'administration de vitamine K en est l'antidote. (35)



Figure 18 : Link promouvant la warfarine en tant que rodenticide (29)

2) Utilisation clinique

Un triste évènement va permettre son essor en tant que médicament : trois ans après sa commercialisation en tant que mort au rat, un membre de l'armée américaine s'empoisonne en utilisant un raticide contenant de la warfarine. Tout comme l'utilisation sur les rats, il a consommé la warfarine à petite dose pendant plusieurs jours. Il apparait aux scientifiques que le corps humain présente des différences par rapport aux animaux et qu'il distribue moins bien la warfarine. Cet acte malheureux, dont il sort indemne grâce à l'administration de vitamine K, a le mérite de diminuer l'appréhension quant à sa toxicité et de relancer les recherches. Cela conduit à la commercialisation de la warfarine sous le nom de Coumadine® en 1954. Il est commercialisé sous forme de sel sodique (*Figure 19*), et parait « plus facile à manipuler cliniquement » selon Shapiro et Meyer. (27) (30)

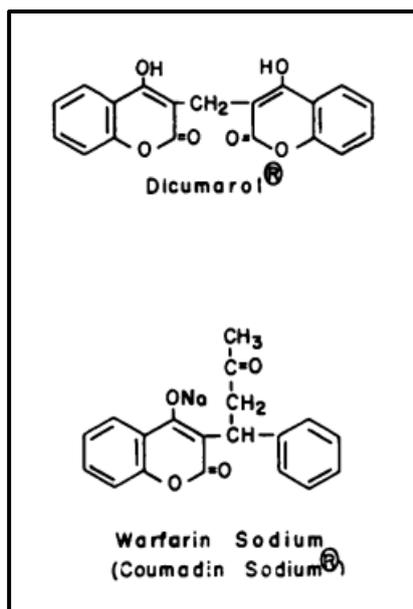


Figure 19 : Structure du dicoumarol et de la warfarine (27)

Link perçoit la thérapie anticoagulante sous warfarine comme un équilibre. Il le visualise sous la forme d'un triangle entre le dosage de prothrombine qui permet un suivi biologique, la vitamine K comme antidote, et le jugement du clinicien (Figure 20). (27)

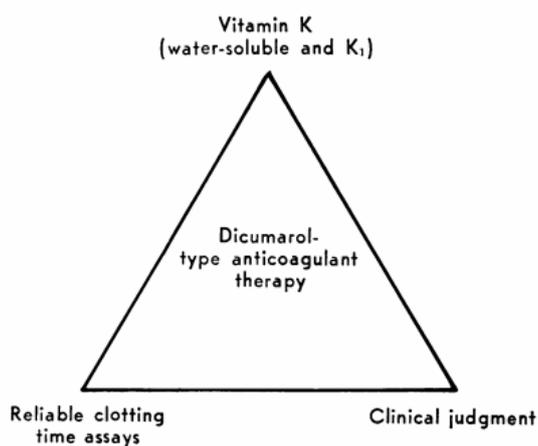


Figure 20 : Le triangle de la thérapie par anticoagulant type dicoumarol (27)

Entre 1960 et 1992, plusieurs essais cliniques ont lieu, et prouvent son intérêt dans la prévention de l'embolie pulmonaire. Il est notamment démontré une efficacité en association avec l'héparine sur les premiers jours de traitement (27)

L'avantage de la warfarine consiste à pouvoir être administrée par voie parentérale (intramusculaire et intraveineuse) et d'avoir un temps de latence moins long que celui du dicoumarol. Le TP est aussi plus facile à maintenir, ce qui facilite son utilisation clinique.

Meyer rapporte une grande variabilité inter individus, certains patients paraissent très résistants aux doses de warfarine. Il raconte une anecdote qui aurait pu coûter la vie d'un homme, mais qui s'est heureusement bien terminée. Deux hommes portant le même nom sont hospitalisés dans la même structure : l'un était traité par warfarine, mais son taux de prothrombine ne diminuait pas et l'on continuait à lui administrer le médicament. Des saignements finirent par être repérés par les infirmières : il était en surdosage. L'équipe s'est alors rendue compte que le traitement lui était administré mais les prises de sang étaient effectuées sur son homonyme... (32)

Cependant le succès de la Coumadine® ne devient complet que lorsqu'elle est administrée au président Dwight Eisen-Hower après qu'il ait fait un infarctus du myocarde. (27) (30)

3) Une sombre renommée internationale

Un fait dont la véracité n'est ni prouvée ni officielle, termine de donner une certaine notoriété à la warfarine. En 1953, la mort de Joseph Staline fait grand bruit en URSS. La veille du 1er mars, le dirigeant partage un repas avec 3 fonctionnaires : Malenkov, Khrouchtchev et Lavrenti Béria. Une rumeur était parvenue aux oreilles de ce dernier que le dictateur avait pour projet de l'éliminer prochainement. Le lendemain, Staline ne se montre pas de la journée, ce qui est plutôt inhabituel. Le soir, un courrier parvient et il faut donc le lui porter : il est retrouvé allongé sur le sol, à demi conscient. Mais ses subordonnés, notamment Béria, s'y opposent fermement, et ne préviennent pas les médecins, prétextant sa phobie des blouses blanches. Sa mort est annoncée le 5 mars, le rapport officiel mentionne des hémorragies cérébrales, qui seraient en fait accompagnées d'hémorragie digestive, cardiaque et rénale, ce qui ne concorde pas avec une mort naturelle.

Il est donc suggéré que la warfarine, devenant très populaire, pouvait en être la responsable. Par ses caractéristiques incolore, inodore et insipide, elle est le poison idéal ! Cependant pour préserver la paix politique du pays, la possibilité d'un empoisonnement est restée secrète. (36)

3. Pharmacologie

Malgré le fait que Link avait déjà pressenti que la vitamine K avait un rôle à jouer dans la manière d'agir du dicoumarol, le mécanisme d'action n'a été élucidé qu'en 1974 par Stenflo. Il décrit alors une réaction de carboxylation dépendante de la vitamine K qui conduit à l'activation des facteurs de coagulation. Plus précisément, il observe une absence de résidus acide γ -carboxyglutamique sur la prothrombine inhibée par le dicoumarol. Or ces derniers sont nécessaires pour fixer le calcium et ainsi activer la prothrombine. Il conjecture que la vitamine K transforme l'acide glutamique en acide γ -carboxyglutamique. (37)

Plus tard, en 1978, Whitlon et Bell finissent de résoudre le mystère entourant le dicoumarol en décrivant l'inhibition d'une enzyme nommée l'époxyde réductase par les antivitamines K. Elle empêche la réduction de la vitamine K, c'est la vitamine K réduite qui est responsable de la réaction de carboxylation décrite par Stenflo. (28)

Cependant tous les facteurs de la coagulation ne sont pas concernés, il s'agit des quatre facteurs nommés vitamine K dépendants : II, VII, IX, X mais aussi des protéines S et C, tous essentiels à la cascade de la coagulation (*Figure 21*). (38)

Armand Quick élabore en 1935 le taux de prothrombine (TP) pensant que celui-ci n'explorait que la prothrombine. En réalité il découvre quelques années plus tard que celui-ci explore la prothrombine et le fibrinogène grâce à la « thromboplastine ». Elle contient du facteur tissulaire, une protéine et des phospholipides. La thromboplastine peut avoir plusieurs origines, mais la principale utilisée par Quick provient de cerveau de lapin déshydraté par de l'acétone (*Figure 22*).

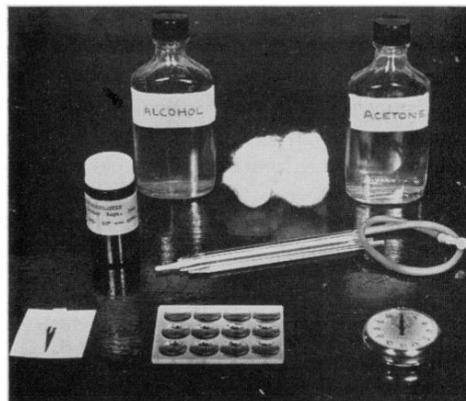


Figure 22 : Instruments utilisés pour effectuer un test de Quick (39)

De 1935 à 1983 de nombreuses tentatives d'améliorer le test de Quick sont effectuées mais aucune ne permet une pratique simple et pratique. Cela complique aussi les essais cliniques à domicile sur le dicoumarol. Les prises de sang à répétition et la technique nécessitant un biologiste expérimenté, constituent un obstacle au bon déroulement des essais. Cependant ce TP reste essentiel pour pouvoir administrer en toute sécurité le dicoumarol ou la warfarine.

Avec l'essor de la warfarine, la thromboplastine se trouve très demandée et les sources de thromboplastine multipliées. Les sources disponibles étant fluctuantes, l'expression du TP se trouve modifiée selon la source utilisée. Les Etats-Unis et le Royaume-Uni, sont le parfait exemple pour illustrer cette divergence : n'utilisant pas la même source, les Etats-Unis ont eu bien plus d'accidents hémorragiques, dus à des surdosages en Warfarine. Bien que les deux pays respectaient la valeur cible à avoir dans leur pratique clinique, le Royaume-Uni eut bien moins d'accidents. Selon la sensibilité de la thromboplastine il était donc plus ou moins aisé d'atteindre la valeur cible de TP. Le test perd alors son intérêt car il ne constitue plus un suivi fiable vis à vis de la toxicité ou de l'effet thérapeutique.

Observant cela, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), propose une nouvelle expression du TP en 1982. Il permet de corriger la valeur du TP obtenue par le biais d'un calcul prenant en compte une préparation internationale normalisée.

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{TQ}_{\text{patient}}}{\text{TQ}_{\text{témoin}}} \right)^{\text{ISI}}$$

Ainsi naît l'INR, International Normalised Ratio. La thromboplastine témoin est calibrée par rapport à une préparation internationale de référence et la correction du calcul s'effectue en multipliant le ratio par la puissance ISI : Indice International de Sensibilité. La puissance ISI est déterminée par chaque fabricant en se référant à quatre thromboplastines de référence d'origine humaine, lapine, bovine et combinée. Ce changement permet de standardiser les thromboplastines de différentes origines et donc le contrôle biologique sous traitement AVK. Bien que les variations interindividuelles restent un obstacle à une utilisation en toute sécurité des AVK, l'arrivée de l'INR constitue une avancée spectaculaire dans la pratique clinique. (29) (39) (40) (41) (42) (43)

5. Vitamine K et poussins

Si aujourd'hui nous connaissons l'implication de la vitamine K dans la synthèse des facteurs procoagulants, c'est la vitamine K naturelle (appelée phytonadione) qui fut découverte en première, notamment grâce à l'implication de Carl Pieter Henrik Dam, biologiste danois de l'Université de Prague. Il est aussi aidé par Fritz Schonheyder. (26)

Dam travaille sur des poussins en étudiant le métabolisme des stérols. Les poussins alimentés artificiellement présentent des hémorragies spontanées, l'hypothèse est faite sur l'absence d'un facteur inconnu dans leur alimentation, car les saignements font écho à ceux provoqués par le scorbut, carence en vitamine C. Cependant après administration de vitamine C, l'affaire n'est pas résolue. Le résultat est le même en faisant un essai avec les autres vitamines connues (A, D et E). La substance manquante est donc inconnue. Ils proposent en 1935 de nommer ce facteur antihémorragique « Vitamine K » (K pour Koagulation).

Les deux scientifiques changent l'alimentation des poussins en testant différents groupes d'aliments : céréales et graines, légumes, organes d'animaux, graisses et huiles, ou même des œufs de poules. Ils tuent alors les animaux pour effectuer des examens de coagulation et rechercher la vitamine K, qu'ils déterminent comme liposoluble. Ils concluent aussi lors de leurs expériences, que sa plus grande

source est le foie de porc (qui est aussi, rappelons-le, une source importante d'héparines), ainsi que les graines de chanvre et certains légumes. (44)

Il faut attendre 1939 pour l'extraction de la vitamine K par Dam et Paul Karrer à Zurich à partir de la luzerne *Medicago sativa*, *Fabaceae*. Ces travaux furent suivis par ceux de Stephen Bennett Binkley et Edward Adelbert Doisy qui isolèrent la vitamine K biologique et définissent sa structure. Ils étudient la distinction entre la vitamine K1, d'origine végétale et isolée de la luzerne de la vitamine K2, isolée de la farine de poisson, synthétisées par les bactéries de la flore intestinale et ayant une activité similaire (mais une constitution différente). Le prix Nobel de physiologie a été décerné à Dam et Doisy en 1943 pour leurs travaux. (11) (26) (45)

De plus, des groupes scientifiques travaillaient sur des malades atteints de cholestase présentant des hémorragies, or la vitamine K est difficilement absorbée par les sels biliaires, le lien fut donc établi avec cette dernière. (11)

Aujourd'hui la vitamine K est utilisée en tant qu'antidote des AVK, mais aussi en cas de malabsorption ou de carence en vitamine K. On sait que lors de la prise d'antibiotiques, il est possible d'observer une diminution de la vitamine K2 par destruction de la flore intestinale et donc diminution de sa synthèse. Chez les nourrissons elle est utilisée en supplémentation à la naissance pour pallier à la carence présente dès la naissance qui peut engendrer un syndrome hémorragique. (46) (47)

6. Spécialités contenant des AVK

Le tableau 3 ci-dessous recense les spécialités d'AVK commercialisées en France.

Tableau 3 : Spécialités contenant un AVK commercialisées en France, 2021 (48)

| DCI | Nom commercial | Date AMM | Statut commercialisation | Laboratoire |
|----------------------|-------------------------|----------|---------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Warfarine | <i>Coumadine® 10 mg</i> | 1959 | <i>Boîte de 30 cp : arrêt en 2001</i> | Dupont Pharma |
| | Coumadine® 2 mg | 1988 | Commercialisé | |
| | Coumadine® 5 mg | 2001 | Commercialisé | |
| Fluindione | Préviscan® 20 mg | 1988 | Commercialisé | Merck (racheté par Procter et Gamble Pharmaceutical France) |
| Acénocoumarol | Minisintrom® 1mg | 1993 | Commercialisé | Novartis pharma |
| | Sintrom® 5mg | 1990 | Commercialisé | |
| Phénindione | <i>Pindione®</i> | 1952 | <i>Boîte de 250 cp : arrêt en 1992</i> <i>Boîte de 20 : arrêt en 2004</i> | <i>Merck Lipha santé</i> |
| Tioclomarol | <i>Apegmone® 4 mg</i> | 1974 | <i>Boîte de 100 cp : arrêt en 1992</i> <i>Boîte de 30 cp : arrêt en 2004</i> | <i>Merck Lipha santé</i> |

7. Résumé

La Figure 23 ci-dessous illustre l'histoire des AVK depuis leur découverte jusqu'à la compréhension du mécanisme d'action.

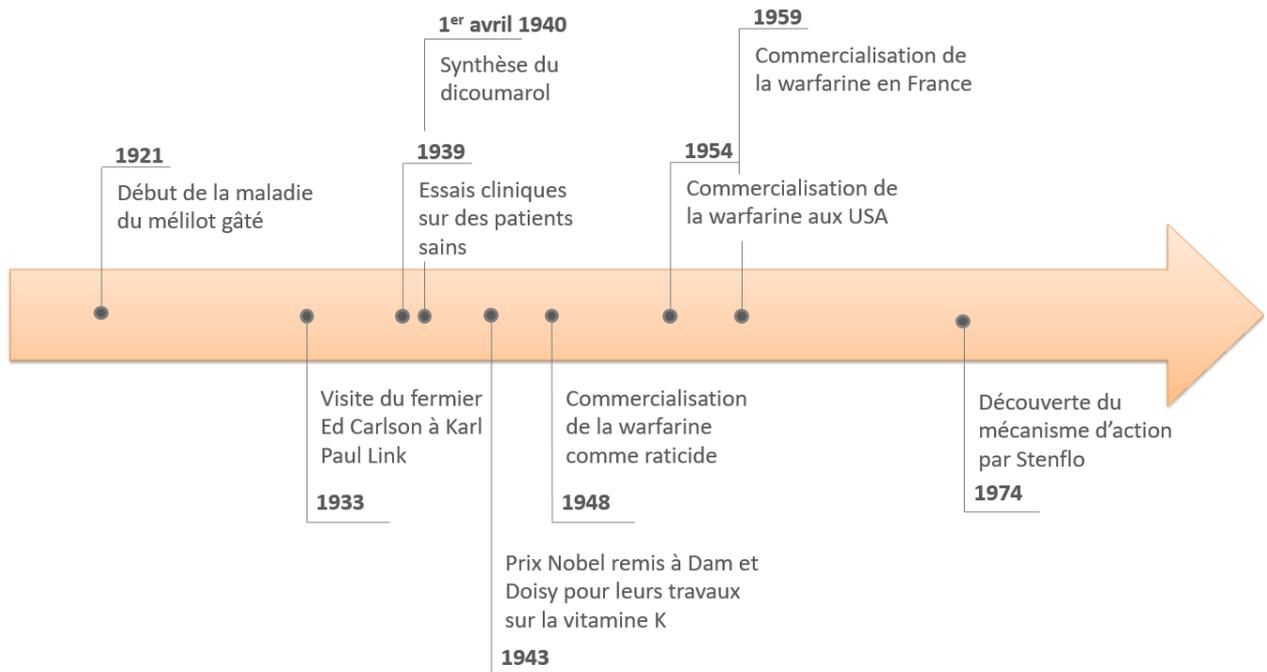


Figure 23 : Frise chronologique de la découverte des AVK

V. Aspirine



Médicament miracle dont la réputation n'est plus à faire, l'Aspirine®, acide acétylsalicylique, est un des anti-inflammatoires les plus couramment utilisés au niveau mondial. Synthétisée en 1897 par le laboratoire Bayer, qui n'est alors qu'un teinturier, elle a conquis bien des terrains avec ses multiples actions pharmacologiques : anti-inflammatoire, antidouleur, et surtout antiagrégant plaquettaire. C'est le chimiste Félix Hoffman qui permit à Bayer de devenir le géant industriel pharmaceutique qu'il est aujourd'hui. Bien que reconnu comme celui qui a synthétisé l'acide acétyl salicylique, sa découverte fut bien plus complexe que sa simple synthèse dans un laboratoire allemand.(3)

1. Le Saule au cours des années

a) Antiquité

Tout commence avec le saule, arbre de la famille des *Salicaceae* dont les différentes espèces sont regroupées sous le genre *Salix* (Figure 24), et utilisé couramment en herboristerie. Son utilisation remonte à des millénaires. Des tablettes d'argile dépeignant l'emploi des feuilles de saule afin de traiter des maux de têtes ou les affections inflammatoires ont été retrouvées dans les vestiges de la civilisation sumérienne. De la même façon, la civilisation babylonienne consommait les feuilles de saule pour des indications identiques. Un peu plus tard, on retrouve la civilisation chinoise qui en tirait profit sous forme de décoctions de jeunes pousses. Ces trois civilisations utilisaient différentes espèces de saule, comme le saule pleureur, *Salix babylonica* ou *Salix purpurea*. (49) (50)



Figure 24 : *Salix alba* (51)

b) Vestiges égyptiens

Bien que son emploi par les Egyptiens soit survenu dès le XVIème siècle av. J.C., on en découvre les traces qu'au XIXème siècle, le jour où Edwin Smith, savant passionné de l'Egypte ancienne, se procure deux papyrus au marché de Louxor le 20 janvier 1862. Il donne son nom à l'un d'entre eux, et vend l'autre à Georg Moritz Ebers traducteur allemand, qui le nommera à son patronyme. (Figure 25). Ce dernier le traduit, et découvre les immenses richesses que renfermait ce manuscrit de 20 mètres de long et 30 centimètres de large. En l'acquérant Edwin Smith n'avait pas saisi la portée de son achat.

Ainsi, les européens ont pu avoir accès à la sagesse médicale antique égyptienne. Bien que parsemé de croyances, cet écrit recense des centaines de plantes à visée médicale et couvre de nombreux domaines médicaux, notamment le domaine de l'inflammation. Remontant jusqu'au XVIe siècle av. JC. Cet ouvrage constitue un des manuscrits les plus anciens et complets découverts à ce jour. Le saule y est décrit comme très répandu en terre égyptienne, et utilisé en tant qu'antalgique ou anti-inflammatoire. L'espèce principalement décrite est le saule blanc *Salix alba* (Figure 24). (49) (50) (52) (53) (54)

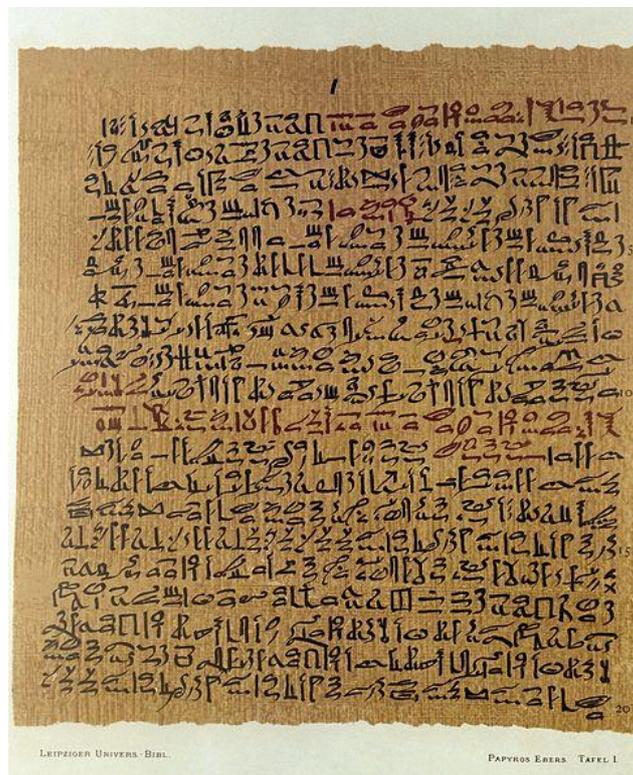


Figure 25 : Papyrus Ebers (55)

Avec l'essor du commerce, le saule se répand sur le continent et devient un remède couramment utilisé dans le monde. Hippocrate et ses disciples le préconisent dans les douleurs de l'accouchement. Pour Dioscoride, célèbre médecin grec, le saule sera un excellent antalgique dans les douleurs auriculaires, mélangé à du miel de rosat et de l'écorce de grenade. (52) (56) (57)

c) Epoque moderne

On retrouve sa trace avec Paracelse, dans sa théorie des signatures qui implique que l'apparence du traitement correspond à son indication. Ainsi, le saule poussant en milieu humide, corrige les affections rhumatismales, aggravées par l'humidité.

En 1698, Nicolas Lemery publie un « traité universel des drogues simples » dans lequel il décrit le saule comme antipyrétique.

En 1758, le paludisme fait rage, et le quinquina devient la plante à la mode pour soigner les symptômes du paludisme : maux de tête, fièvre, douleurs musculaires. Le révérend Edward Stone, dans sa recherche de remèdes, teste le saule en décoction sur ses propres paroissiens. Il est le premier à publier un mémoire scientifique mentionnant les bienfaits du saule, bien que le niveau de preuve scientifique soit bas. (52) (56) (57)

2. De la salicine à l'acide salicylique

a) La salicine et les pharmaciens

Les pharmaciens ont joué un rôle important dans le développement de l'acide salicylique, en commençant par Fantana, pharmacien italien puis Johan Andreas Buchner, professeur de l'Université de Munich, qui extraient du saule des petites quantités de cristaux jaunes qu'ils pensent purs et nomment « salicin » en 1828. Un an plus tard c'est au tour d'un Français nommé Pierre-Joseph Leroux de perfectionner l'extraction en obtenant une poudre blanche dépourvue d'impuretés. Leroux envoie deux flacons de substance à l'hôpital militaire d'Arras pour tester la molécule. L'étude de la poudre par Bartholdi, Pelletier et Caventou révèle plusieurs composants :

- Une matière grasse et verte
- Une matière jaune amère
- Un extrait résineux
- Une matière gommeuse
- Un sel magnésique à acide organique

Le principe actif, soit la salicine, se trouve dans la matière jaune sous forme de cristaux inodores. Elle se transforme en acide salicylique une fois dans l'intestin, ce qui lui confère ses propriétés anti-inflammatoires. Les scientifiques de l'époque débattent sur le gain d'activité de la salicine par rapport à l'extrait de saule. Certains pensent que les autres substances présentes dans l'extrait permettent de potentialiser l'activité de la salicine. Après étude approfondie de sa structure et découverte d'un noyau hétéroside, elle est nommée « salicoside ». (50) (52) (57) (58)

b) Une production sans cesse améliorée

La technique de Leroux devient dépassée après l'intervention de Raffaele Piria en 1838. De passage à la Sorbonne il découvre une nouvelle technique qui lui permet de synthétiser à partir de la salicine une molécule plus active que le chimiste italien nomme acide salicylique. La synthèse commence par l'extraction de la salicine du saule, puis son hydrolyse en alcool salicylique. Ensuite elle est oxydée en aldéhyde acétique et enfin une 2ème oxydation est effectuée pour obtenir l'acide salicylique. (Figure 26). N'étant pas d'une grande simplicité, et surtout d'un mauvais rendement, elle est remplacée par la méthode d'Hermann Kolbe qui s'affranchit du transfert d'ion hydrure qui rendait le procédé ardu. Cette dernière méthode est améliorée par Shmitt en 1885. (50) (52) (53) (56) (57)

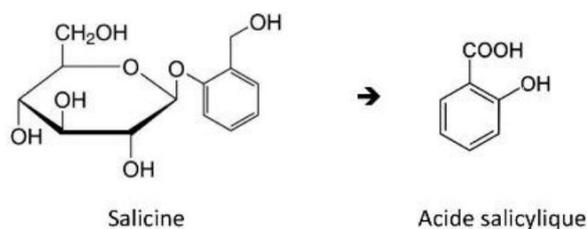


Figure 26: Structure de la salicine et de l'acide salicylique (57)

A noter que l'espèce utilisée ici n'est pas *Salix alba*, aujourd'hui la plus répandue, mais *Salix helix*.

La production devient alors industrielle et son utilisation est possible dans l'inflammation, la douleur ou la fièvre : le succès est total. Le seul inconvénient semble venir de l'apparition fréquente et importante d'ulcères gastriques.

c) Des applications nombreuses

Cette poudre, devenue presque magique, est principalement utilisée dans les douleurs rhumatismales, faisant écho à la théorie des signatures de Paracelse. Elle est aussi proposée comme antiseptique intestinal, utilisée dans la fièvre typhoïde, mais aussi en externe, de par son analogie avec l'acide benzoïque et le phénol. Les propriétés antipyrétiques ont été mises en lumière par Carl Buss, médecin, qui remarque une diminution de la fièvre chez les patients atteints de typhoïde. Peu de temps après ce sont ses propriétés anti goutteuses qui vont la propulser en haut de l'échelle mondiale. (50) (52) (56)

L'acide salicylique possède différents sels, et selon le sel choisi l'emploi diffère. Ainsi on retrouve le salicylate de sodium dans le rhumatisme articulaire aigu, dans la goutte, et en tant qu'antiseptique des voies biliaires et cholagogue. C'est le plus utilisé. Le salicylate de méthyle s'applique en badigeons comme antirhumatismal et anesthésique local, alors que le salicylate de phényle, salol, en antithermique, analgésique et antiseptique. (57) (59)

On attribue le premier essai clinique de l'Aspirine à John Mclaggan, qui l'utilise dans les rhumatismes.

d) Des perspectives enterrées

Autre plante intéressante mais peu exploitée dans cette histoire : la reine des prés, *Filipendula ulmaria*, *Rosaceae* (anciennement *Spirea ulmaria*). Karl Jakob Lowig en extrait une molécule en 1835 appelée « acide spirique », elle s'avère être présente en grande quantité dans la plante mais surtout être identique à l'acide salicylique. On trouve aussi mention de cette plante bien plus tôt dans les écrits de Nicolas Lemery. (57) (60)

Un dérivé de l'acide salicylique eut sa petite heure de gloire. Marcellus Nencki, médecin suisse, eut l'idée de coupler l'acide salicylique avec un phénol, et créer ainsi le « salol » (Figure 27). Son goût plus appétissant lui conférait une plus grande popularité. Il était cependant surtout présenté comme un antiseptique. Etant dégradé très rapidement en acide salicylique + phénol, cet engouement était purement commercial et sa supériorité ne fut pas démontrée. (56)

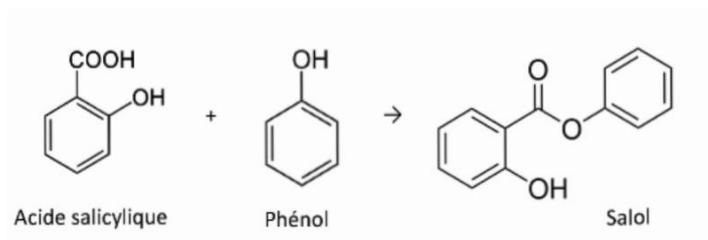


Figure 27 : Couplage de l'acide salicylique et d'un phénol pour obtenir le salol (57)

3. De l'acide salicylique à l'acide acétyl salicylique

a) *Découvertes tombées dans l'oubli*

En 1852, le français Charles Frederic Gerhardt (1816-1856) publie ses travaux sur la synthèse de « l'acide acétosalicylique ». Ce pharmacien strasbourgeois élucide et modifie la structure de l'acide salicylique. Il devient le tout premier chimiste à synthétiser l'acide acétyl salicylique mais sans le savoir, puisqu'il pense avoir obtenu l'anhydride acétyl salicylique. Ses échantillons sont trop impurs pour être étudiés et il décède brutalement quelques années plus tard. Il n'aura pas le temps d'exploiter ce qui deviendra un des médicaments les plus connus au monde. (11) (52) (56) (57) (61)

Deux autres chimistes, Hermann Von Glim et Hermann Kolbe, vont contribuer à faire avancer la longue route vers l'Aspirine. Outre leur prénom, ils ont aussi en commun d'avoir effectué la synthèse de l'acide acétyl salicylique. Considérant leurs travaux comme de la chimie organique pure, ils ne seront pas exploités dans leur versant pharmacologique et resteront dans l'oubli. (56)

b) Bayer industrie

Mondialement connu comme industrie pharmaceutique, *Bayer industrie* doit son premier envol aux colorants. Cette entreprise est fondée en 1863 par Friedrich Bayer et Johann Friedrich Weskott sous le nom de « *Friedrich Bayer & Company* », spécialisée dans la teinture au charbon. En 1890, une filiale pharmaceutique est créée dans la compagnie, dirigée par Arthur Eichengrün. La direction des essais pharmacologiques, toxicologiques et cliniques est confiée à Heinrich Dreser secondé par Witthauer. (52) (62) (63) (64)

Bayer n'est pas le seul laboratoire à avoir fait fortune grâce à l'industrie du colorant en Europe : on retrouve aussi *Hoecht* (Allemagne), *Sandoz* (Suisse) et *La Société des Usines du Rhône* (France) qui deviendra *Rhône Poulenc* en 1926. (59)

c) Un fils voulant aider son père

Une quarantaine d'années après la synthèse de Gerhardt, Félix Hoffman jeune chimiste de *Bayer industrie*, reprend ses travaux tombés dans l'oubli. Il se base sur l'acide salicylique pour synthétiser l'acide acétyl salicylique. Hoffman se sert déjà du salicylate de sodium et de l'acide salicylique pour traiter les affections rhumatismales de son père, mais les effets nocifs de cette molécule sont nombreux (nausées, crampes d'estomac, irritations, œdèmes, albuminurie, éventuellement collapsus), il désire les diminuer significativement pour améliorer les conditions de vie de son père.

Les résultats qu'il obtient sont présentés au responsable des essais cliniques, Heinrich Dreser, mais ils ne semblent pas suffisamment intéressants pour y porter autant d'attention que nécessaire. Malgré la diminution prometteuse des effets indésirables, Dreser n'est pas convaincu. Il teste la cardiotoxicité de la molécule sur la grenouille et en obtient une tachycardie : son opinion en devient encore plus défavorable. Cependant Hoffman est soutenu par Eichengrün qui, boosté par la diminution des effets indésirables, appuie le projet avec toute l'influence dont il dispose. Lorsque les projets en cours de Dreser n'aboutissent pas, ce dernier finit par s'intéresser de plus près à la molécule, tant qu'il finit par écrire une publication en oubliant de citer Hoffman. (2) (3) (56)

4. La guerre silencieuse de l'Aspirine

a) *Brevet controversé*

Kurt Witthauer (second de Dreser) chaperonne les premiers essais cliniques à Berlin, qui semblent très prometteurs, et encourage Bayer à breveter la poudre synthétique. Dans un premier temps l'Allemagne refuse de délivrer un brevet, car elle ne les donne que pour les procédés d'innovation de fabrication. Or c'est Gerhardt, non conscient du futur succès de la molécule, qui en est à l'origine, ce n'est donc pas considéré comme une innovation. Bayer dépose donc en France et en Allemagne le nom de marque « Aspirin® », en 1899. (Figure 28). Le brevet est obtenu seulement aux Etats Unis, comme brevet d'invention déposé au nom de Félix Hoffmann en 1900. Le succès est international. Par la suite, Eichengrün reprochera à Hoffmann de l'avoir mis de côté. De religion juive, il sera déporté durant la Seconde Guerre Mondiale avant que sa contribution ne soit reconnue. (11) (52) (53)

Le nom Aspirin est décomposé comme ceci : a- pour acétyl spir- pour spirique (dû à sa similarité avec l'acide spirique) et le suffixe -in caractérisant les composés chimiques. (2) (8)



Figure 28: Aspirin Bayer en poudre (64)

En France, le laboratoire *Vicario* entre en collaboration avec *Bayer* et ils commercialisent tous deux la même molécule sous le nom de deux spécialités différentes, c'est le début du « **co-marketing** ». N'ayant pas de brevet, l'Aspirin peut être commercialisée que sous le nom de « Aspirin Vicario », (Figure 30) jusqu'à ce que

Bayer industries crée sa propre filiale française : « *Laboratoire des produits Bayer* ». (Figure 29) La direction est confiée à Marcel Savé, pharmacien français. La compétition est rude cependant, la « *Société chimique des Usines du Rhône* » (SCUR) obtient des droits d'exploitation et commercialise l'acide acétylsalicylique sous le nom de « *Rhodine* » (Figure 31). (63)



Figure 30 : Aspirine Vicario (64)



Figure 31 : Rhodine Usines du Rhône (64)

Laboratoire des Produits Bayer
 TÉLÉPHONE 908-51 52, Rue Sedaine — PARIS (XI^e) TÉLÉPHONE 908-51
Marcel SAVÉ, Pharmacien de 1^{re} classe
 Spécialités réglementées (Ticketistes). — Vente obligatoire aux Prix marqués

PRIX ET CONDITIONS DE VENTE

| DESIGNATION DES SPÉCIALITÉS | RIX AU PUBLIC | TICKET-PHARE |
|--------------------------------------------------------|---------------|--------------|
| Aspirine Bayer granulée..... Le flacon. | fr. c. 3 50 | 20 % |
| Cachets Aspirine Bayer..... La boîte de 10 à 0 gr. 25. | 1 » | 30 % |
| 10 à 0 gr. 50. | 1 50 | — |
| 20 à 0 gr. 50. | 3 » | — |
| 50 à 0 gr. 50. | 10 » | 50 % |
| en vrac..... 100 à 0 gr. 50. | 20 » | — |
| Citarine Bayer..... 10 à 1 gr..... 2 50 | 20 » | 50 % |
| Helmitol Bayer..... 10 à 1 gr..... 2 50 | 2 » | — |
| Bayer Sabromine..... 10 à 0 gr. 50. | 2 » | — |
| Bayer Salodine..... 10 à 0 gr. 50. | 3 » | — |
| Salophène Bayer..... 10 à 0 gr. 50. | 2 50 | — |
| Sulfonal Bayer..... 10 à 0 gr. 50. | 1 50 | — |
| Trional Bayer..... 10 à 0 gr. 25. | 1 50 | — |
| Bayer Véronal..... 10 à 0 gr. 50. | 2 50 | — |
| 10 à 0 gr. 25. | 2 50 | — |
| 10 à 0 gr. 50. | 4 50 | — |
| Comprimés Agurine Bayer..... Le tube de 10 à 0 gr. 50. | 3 » | 25 % |
| Aristochine Bayer..... 20 à 0 gr. 25. | 3 » | — |
| 10 à 0 gr. 50. | 3 » | — |
| Aspirine Bayer..... 20 à 0 gr. 50. | 1 50 | — |
| Citarine Bayer..... 10 à 2 gr..... 3 » | — | — |
| Helmitol Bayer..... 20 à 0 gr. 50. | 2 50 | — |
| Héroïne Bayer (chl.)..... 60 à 0 gr. 0025. | 2 50 | — |
| 60 à 0 gr. 005. | 3 » | — |
| Iodothyriine Bayer..... 30 à 0 gr. 25. | 5 » | — |
| Marétine Bayer..... 20 à 0 gr. 10. | 2 » | — |
| Bayer Sabromine..... 20 à 0 gr. 50. | 2 50 | — |
| Bayer Salodine..... 20 à 0 gr. 50. | 3 » | — |
| Salophène Bayer..... 20 à 0 gr. 50. | 3 » | — |

Figure 29 : Affiche des produits commercialisés par "Le Laboratoire des produits Bayer" (64)

b) Première Guerre Mondiale, perte pour Bayer

Puis, la Première Guerre Mondiale est déclarée. Le gouvernement français interdit toute transaction commerciale avec l'ennemi, et les usines Bayer sont réquisitionnées. La marque imposée par Bayer est balayée, le nom « Aspirin » est alors considéré comme une abréviation du nom acide acétylsalicylique et entre dans le langage commun. En France, les Usines du Rhône commercialisent une nouvelle spécialité en tant que « Aspirine Usine du Rhône », (Figure 32) et gardent le monopole jusqu'en 1919. Sa production en est multipliée par 20. De son côté, le Royaume Uni offre une belle récompense à qui développerait un protocole afin de produire industriellement l'acide acétylsalicylique. C'est George Nicholas qui encaisse les 20 000 livres sterling en présentant l'Aspro®. (11) (63)



Figure 32 : Aspirine "Usines du Rhône" (64)

Le traité de Versailles, signant la paix entre l'Allemagne, la France et ses alliés le 28 juin 1919, se voit comporter une mention qui engendre la liquidation des biens allemands en France et dans les pays alliés. Bayer perd définitivement sa marque déposée dans de nombreux pays comme la France et les Etats Unis. La France se voit multiplier le nombre de marques commerciales sur l'Aspirine, de plus ou moins bonnes qualités. On peut retrouver l' « Aspirine de France », l' « Aspirine du Dr Lucin » (Figure 33). Le boycott de l' « Aspirin Bayer » devient un acte de foi envers son pays (Figure 34). Revanchard, Bayer rachète les usines françaises en liquidation, en 1928, après que le gouvernement français ait ré-autorisé les échanges commerciaux Franco-Allemands (Figure 35). Aux Etats Unis et Grande Bretagne, les usines Bayer sont rachetées par Sterling. (11) (60) (65) (66) (63)



Figure 33 : Exemple de marques déposées en France au début du XXème siècle (64)



Figure 34 : Exemple de publicité des Usines du Rhône à la fin de la première guerre mondiale (64)



Figure 35 : Article publicitaire paru dans une revue pharmaceutique en France & après l'accord franco-allemand (64)

Quelques années de tranquillité vont s'écouler, durant lesquelles la SCUR fusionne avec le laboratoire *Poulenc* pour devenir *Rhône Poulenc*. En 1925, Bayer intègre *IG Farben* (avec *BASF* et *Agfa*), grande industrie chimique fondée en 1905, qui a permis la production d'une quantité d'armes chimiques redoutables lors de la Première Guerre Mondiale. (59) (63) (67)

c) France vaincue, Bayer reprends ses droits

Puis la Seconde Guerre Mondiale éclate et la France est vaincue en 1940. *IG Farben* déclare que *Rhône Poulenc* exploite de façon illégale sa propriété depuis les années 1900. Ce dernier doit alors verser un pourcentage de ses recettes à *IG Farben*. L'accord sera ensuite annulé après la capitulation de l'Allemagne, et ce n'est que vingt longues années plus tard qu'une entente sera passée afin d'autoriser la collaboration des deux entreprises sur des projets les impliquant. (63)

En 1989, le laboratoire *UPSA* décide d'entrer en lice dans le conflit franco-allemand : le mur de Berlin s'écroule et la possibilité d'exportation en pays soviétique s'offre aux usines occidentales. *UPSA* commercialise la très connue « Aspirine Vitamine C effervescente » (Voir Figure 37). *Bayer* défend sa propriété en déposant sa marque en Russie en 1992. Les deux entreprises tentent de régler le conflit en justice sans

succès, jusqu'à ce que *Bristol Meyers Squilbb* intègre *UPSA* à son entreprise et renomme le produit « Upsarin ». (Figure 36) (63)



Figure 37 : Aspirine UPSA vitamine C (69)



Figure 36 : Upsarin C (68)

Par la suite, aux Etats Unis et en Grande Bretagne, *Bayer* rachète l'Aspirine à *Smith Beecham Kline*. Elle était passée entre les mains de *Kodak* (aujourd'hui plus connu en France pour ses produits d'appareil photos) qui l'avait lui-même rachetée à *Sterling Winthrop*. (63) (70)

Enfin, en 1997, l'« Aspirine Usines du Rhône » devient la célèbre « Aspirine du Rhône Bayer » après un ultime rachat de *Bayer* (Figure 38). Ainsi s'achève presque cent ans de conflit entre la France et l'Allemagne pour obtenir l'Aspirine.



Figure 38 : Aspirine du Rhône (71)

5. Action sur l'hémostase

a) Une molécule mystérieuse

Très longtemps utilisée en tant qu'antipyrétique et anti-inflammatoire, son déclin commence avec l'apparition du paracétamol en 1956 et celle de l'ibuprofène en 1962, aujourd'hui très largement utilisés et avec moins d'effets secondaires. Mais l'Aspirine n'a pas dit son dernier mot, on lui découvre alors une nouvelle propriété : elle ralentirait la coagulation sanguine. (60) (59)

C'est Paul Gibson en 1949 qui attribue à l'Aspirine un mécanisme de protection des thromboses coronariennes. Sa propriété antiagrégante plaquettaire est établie par Weiss en 1967. (60)

Bien que ses propriétés soient des plus intéressantes, son mécanisme d'action est longtemps resté sans réponse. En 1966, le New York Times va jusqu'à nommer l'Aspirine "the wonder drug that nobody understands" soit « le médicament miracle que personne ne comprend ».

Pour comprendre son mécanisme, il faut remonter en 1935 quand Ulf Von Euler et Glodblatt tentent d'élucider le mystère de la cascade de l'inflammation. Ils découvrent que les prostaglandines sont un produit de l'acide arachidonique (qualifié plus tard comme tel par Bergström), et qu'elles sont intrinsèquement liées aux 3 principaux symptômes traités par l'Aspirine : l'inflammation, la douleur et la fièvre. En 1971, John Vane, avec l'aide de Prescilla Piper, démontre un lien entre l'inhibition de la synthèse des prostaglandines et la dose administrée d'anti-inflammatoires, comme l'Aspirine ou l'indométacine. Il recevra conjointement à Bengt Samuelsson et Sune Bergström un prix Nobel de médecine en 1982 pour cette découverte. (52) (60)

b) Mécanisme pharmacologique

L'enzyme responsable de la synthèse des prostaglandines, appelée Cyclo-oxygénase (COX), a été identifiée en 1976 par Hemler. Elle permet de produire des prostaglandines ayant une activité inflammatoire, à partir de l'acide arachidonique. En se fixant sur une extrémité de la COX et provoquant ainsi un encombrement stérique, l'Aspirine limite l'accès à l'acide arachidonique. L'inhibition est irréversible.

Outre les prostaglandines, une autre substance est inhibée par l'Aspirine. Identifiée comme une « substance contractante de l'aorte de lapin » par Vane, elle est nommée Thromboxane A2 par Samuelsson dans les années 70. En plus d'être vasoconstricteur puissant, il stimule l'agrégation plaquettaire, ce qui confère à son inhibiteur une activité antiagrégante.

Ce n'est qu'en 1991 que Dan Simmons découvre une 2^{ème} isoforme de la COX. La première identifiée comme COX 1 est qualifiée de constitutive, tandis que la seconde, COX 2, peut être induite par des éléments extérieurs à la cascade de l'inflammation. On distingue ainsi les prostaglandines (PG) produites par la COX 1, impliquées dans les processus tels que la protection de la muqueuse gastrique et l'agrégation plaquettaire et les PG produites par la COX 2 principalement retrouvées dans l'inflammation. De plus, une dose faible d'Aspirine (< 300 mg) inhibe préférentiellement la COX 1, donc l'agrégation plaquettaire, tandis que des doses plus importantes inhibent la COX 2 et agissent sur l'inflammation (*Figure 39*). Ainsi, l'Aspirine en petite quantité a pu commencer à être utilisée dans la prévention des maladies cardiovasculaires. (52)

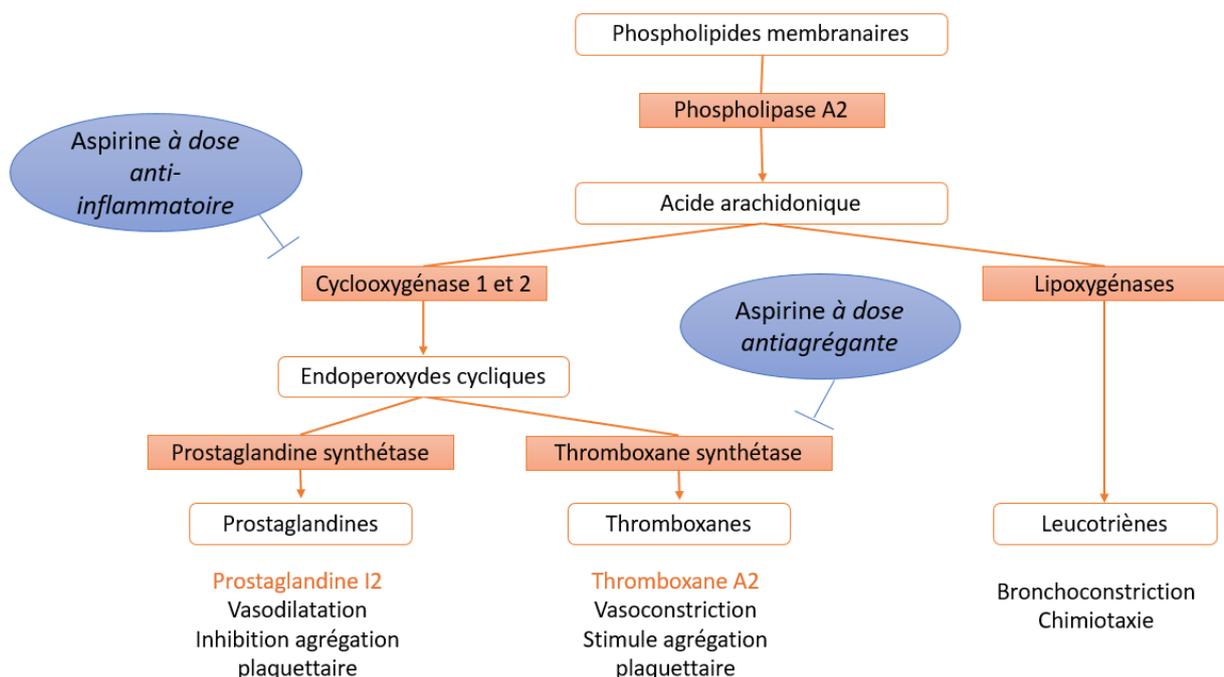


Figure 39 : Cascade de l'inflammation

c) Essais cliniques

Avant même la découverte de son mécanisme d'action antithrombotique, la molécule a été testée dans les années 50 en prévention primaire des maladies cardiovasculaires. Les premiers résultats semblent peu concluants : la réduction du risque de développer un AVC ou IDM paraît faible en regard du nombre d'effets indésirables.

Plus tard, le premier essai clinique à grande échelle implique des patients en post AVC : on évalue l'effet préventif secondaire. Réalisée en 1978 et publiée dans le « New England Journal of Medicine », l'étude montre une réduction significative de décès sous Aspirine. Un an plus tard, « The Lancet » publie l'étude d'Elwood *et al.* qui teste la molécule chez les patients ayant eu un IDM. Cette dernière montre des résultats moins significatifs, tandis que d'autres méta analyses ont prouvé plus tard son efficacité dans la prévention secondaire des IDM. (52) (60)

d) Vers une utilisation élargie

Dans les années 2010, l'idée d'utiliser l'Aspirine comme prévention du cancer colorectal fait la une des journaux. Cette nouvelle propriété miracle est portée par une étude britannique qui a pu établir son intérêt dans le cancer colorectal, cependant les effets indésirables semblent trop nombreux en regard du bénéfice apporté. (60) (72)

L'acide acétyl salicylique se retrouve souvent couplé à de nombreuses substances actives comme la caféine, la vitamine C ou la codéine. Une association des plus intéressantes obtient une AMM en 2010, il s'agit de la spécialité Duoplavin® associant l'acide acétylsalicylique et le clopidogrel. Elle constitue une place de choix dans la prévention secondaire des infarctus du myocarde. (73)

En 2011, 40 000 tonnes d'Aspirine étaient produites dans le monde, ce qui en fait un des médicaments les plus utilisés au monde. En France, la moyenne de consommation de comprimés serait de 60 par an et par français. Ce chiffre est bien sûr à temporer, car son indication principale est la prévention de la maladie cardiovasculaire, ce qui implique la prise d'un comprimé par jour pour un patient sous traitement. (60)

En 2020, l'étude TIPS-3 publiée dans le journal « The New England Journal of Medicine » montre un intérêt dans le projet de la polypilule. Cette dernière consiste à

administrer une seule gélule contenant des antihypertenseurs et un hypocholestérolémiant. Bien que la pandémie du COVID-19 ait été un frein à l'étude, l'ajout d'Aspirine à cette polypilule pourrait contribuer à une diminution du risque de maladie cardiovasculaire. (52) (74)

L'Aspirine semble ne jamais s'arrêter de nous surprendre...

6. Spécialités contenant de l'Aspirine

Le tableau 4 ci-après recense les spécialités contenant uniquement de l'acide acétylsalicylique. Parmi les nombreuses spécialités, seules 13 sont encore commercialisées.

Tableau 4 : Spécialités contenant de l'Aspirine seule, 2021

| Nom commercial | | Date AMM | Statut AMM | Laboratoire titulaire de l'AMM |
|------------------------------------------------|--------------------|----------|----------------|--------------------------------|
| Alka Seltzer® 324mg | | 1991 | Commercialisée | Bayer |
| Acide acétylsalicylique Actavis® tout dosage | | 2012 | Abrogée | Actavis |
| Acide acétyl salicylique Bayer® | 500mg comprimé | 1996 | Archivée | Bayer |
| | 500mg effervescent | 1992 | Archivée | |
| Acide acétylsalicylique EG labo conseil® 500mg | | 2019 | Commercialisée | EG |
| Acide acétylsalicylique Genevrier® 75mg | | 2011 | Valide | Genevrier |
| Acide acétylsalicylique KRKA® 100mg | | 2017 | Archivée | KRKA |
| Acide acétylsalicylique Mylan® 100mg | | 2019 | Commercialisée | Mylan |
| Acide acétylsalicylique Opening® tout dosage | | 2012 | Archivée | Opening pharma |
| Anacine® | | 1977 | Abrogée | Wyeth Santé familiale |
| Aspirine Inava® 100mg | | 1984 | Abrogée | Pierre Fabre médicament |
| Aspirine Arrow® 100mg | | 2020 | Commercialisée | Arrow génériques |
| Aspirine du Rhône® 500mg comprimé | | 1993 | Commercialisée | Bayer |
| Aspirine du Rhône® 500mg comprimé à croquer | | 1991 | Commercialisée | Bayer |
| Aspirine Lafran® 500mg | | 1995 | Valide | Lafran |

| | | | | |
|--------------------------------------------|--------------------------------|------|----------------|------------------------------------|
| Aspirine Merck Médication familiale® 500mg | | 1995 | Archivée | P&G Health France |
| Aspirine Oberlin® 500mg | | 1992 | Abrogée | UPSA |
| Aspirine pH 8® | | 1996 | Abrogée | Meda pharma |
| Aspirine Pierre Fabre® | | 1995 | Abrogée | Pierre Fabre |
| Aspirine Protect® 100mg | | 2013 | Commercialisée | Bayer |
| Aspirine Ratio® 500mg | | 1999 | Archivée | Ratiopharm |
| Aspirine Ratiopharma® 500mg | | 1998 | Archivée | Ratiopharm |
| Aspirine Richard® 500mg | | 1995 | Archivée | Richard |
| Aspirine Sauba® 500mg | | 1996 | Archivée | Glaxosmithkline Sante Grand Public |
| Aspirine Theraplix® 500mg | | 1997 | Abrogée | Sanofi Aventis |
| Aspirine UPSA® | 100mg poudre effervescente | 1992 | Abrogée | UPSA |
| | 250mg comprimé effervescent | 1988 | Abrogée | |
| | 325mg comprimé effervescent | 1988 | Abrogée | |
| | 325mg gélule | 1993 | Commercialisée | |
| | 500mg comprimé effervescent | 1992 | Commercialisée | |
| | Tamponnée effervescente 1000mg | 1992 | Commercialisée | |
| Aspiripharm® 500mg | | 1977 | Archivée | Bayer |

| | | | | |
|-----------------------------|-----------------------------|------|----------------|------------------------------------------------------------------------|
| Aspirisucré® 400mg | | 1996 | Archivée | L'homme de fer |
| Aspro® | 320mg comprimé | 1995 | Commercialisée | Bayer |
| | 500mg effervescent | 1976 | Commercialisée | |
| | 500mg comprimé | 1984 | Archivée | |
| | 320mg effervescent | 1995 | Archivée | |
| | AsproFlash® comprimé | 2014 | Valide | |
| Claragine® | 300mg comprimé | 1989 | Archivée | Bayer |
| | 300mg comprimé effervescent | 1995 | Archivée | |
| | 500mg effervescent | 1977 | Archivée | |
| Chronaspirine® 330mg gélule | | 1987 | Abrogée | Sanofi Aventis |
| Cospirine® | | 1997 | Abrogée | Sandoz |
| Dolean pH8® 500mg | | 1996 | Abrogée | Meda pharma |
| Gara spirine® 330mg | | 1997 | Abrogée | Institut pharmaceutique de recherche d'application et de développement |
| Resitune® 75mg et 160mg | | 2015 | Commercialisée | Pfizer |
| Togal® 300mg | | 1995 | Abrogée | Togal Werk AG |
| Upsalgin® 500mg | | 1986 | Abrogée | Bristol – Myers Squibb |

| | | | |
|-----------------|------|----------|------------------------|
| Usparine® 325mg | 1989 | Archivée | Bristol – Myers Squibb |
|-----------------|------|----------|------------------------|

Liste non exhaustive, ne prenant pas en compte les spécialités associant l'acide acétyl salicylique avec d'autres molécules.

Source : Répertoire de l'ANSM

7. Résumé du saule à l'Aspirine

Les Figures 40 et 41 ci-dessous résument l'histoire du saule à l'Aspirine.

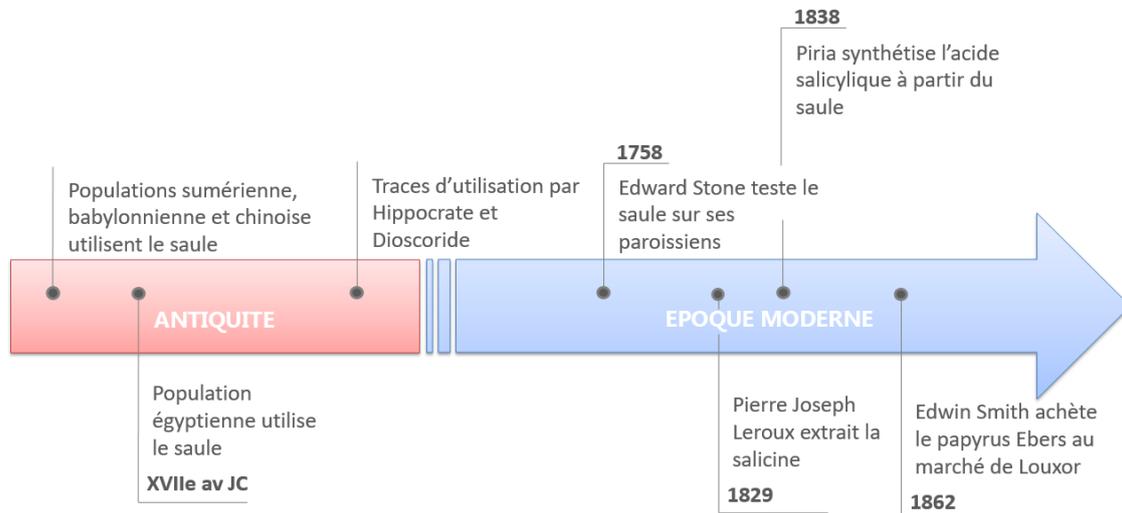


Figure 40 : Du saule à l'acide salicylique

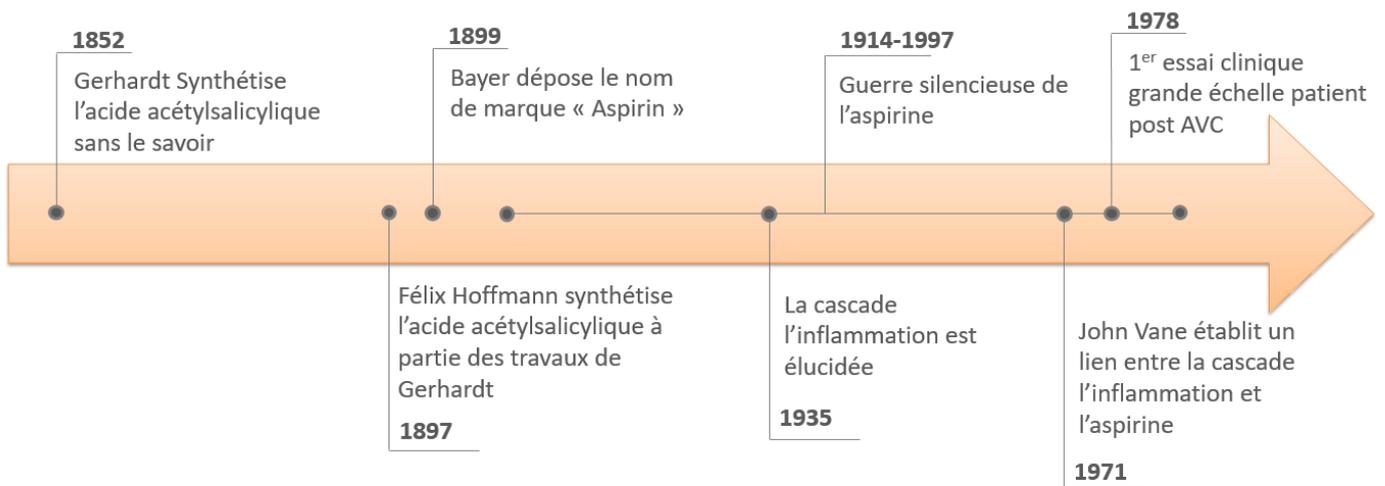


Figure 41 : Histoire condensée de l'Aspirine

VI. Hirudine et sangsue

(75)



La vipère et la sangsue : Fable de Jean-Pierre Claris de Florian (1792)

La vipère disait un jour à la sangsue :
Que notre sort est différent !
On vous cherche, on me fuit, si l'on peut on me tue ;
Et vous, aussitôt qu'on vous prend,
Loin de craindre votre blessure,
L'homme vous donne de son sang
Une ample et bonne nourriture :
Cependant vous et moi faisons même piqûre.
La citoyenne de l'étang
Répond : oh que nenni, ma chère ;
La vôtre fait du mal, la mienne est salutaire.
Par moi plus d'un malade obtient sa guérison,
Par vous tout homme sain trouve une mort cruelle.
Entre nous deux, je crois, la différence est belle :
Je suis remède, et vous poison.
Cette fable aisément s'explique :
C'est la satire et la critique.

Hirudo medicinalis c'est le joli nom d'un annélide aquatique ayant révolutionné les pratiques médicales au XVIIIème siècle. Derrière ce nom latin se cache la sangsue médicinale. Si ces animaux aquatiques sont peu utilisés de nos jours, on ne peut nier leur importance dans l'histoire des anticoagulants. En effet, d'un animal peu appétissant a été extraite une molécule devenue un espoir dans les thérapies anticoagulantes : l'hirudine. Hier un formidable instrument thérapeutique, mais aujourd'hui prescrite à titre exceptionnel.

1. La sangsue médicinale

a) *Physiologie*

Parlons tout d'abord de la sangsue. Il en existe une multitude d'espèces, cependant *Hirudo medicinalis* est la plus utilisée. Elle se distingue des autres par sa couleur qui va du rouge au vert (*Figure 42*).



Figure 42 : *Hirudo medicinalis* (76)

Une sangsue peut mesurer jusqu'à 15 centimètres de long et dispose de deux ventouses :

- *Antérieure* avec un organe de succion au niveau de la bouche. Ce dernier est séparé en trois mâchoires qui, ensemble, ne forment qu'une seule trace de morsure et ne provoquent pas de douleur lors de leur action.
- *Postérieure* qui prédomine lorsqu'elle doit se déplacer.

L'espèce aquatique peut vivre jusqu'à deux mois dans une atmosphère humide hors de l'eau. On la trouve en Europe dans les eaux douces où elle nage par ondulation. Cependant, l'assèchement des marais, la pollution des eaux, la modification des pratiques agricoles ainsi que son utilisation à visée médicale depuis l'Antiquité, a provoqué une chute de sa population en milieu naturel.

La sangsue est, comme son nom l'indique, hématophage. Le jeune spécimen pourra sucer le sang des petits poissons, gastéropodes ou se nourrir des insectes vivant dans l'eau, tandis que l'adulte s'attaquera à des mammifères plus gros venant se désaltérer dans leur habitat (chevaux, bœufs), elle est aussi prédatrice d'amphibiens tels que la grenouille.

L'espèce hermaphrodite peut pondre une dizaine d'œufs, la ponte doit avoir lieu près de l'eau, dans un endroit humide.

Bien que *Hirudo medicinalis* soit la principale espèce utilisée en médecine, il existe trois autres espèces de sangsues médicinales pouvant s'hybrider entre elles :

- *Hirudo verbana* la sangsue médicinale méditerranéenne
- *Hirudo orientalis* la sangsue médicinale caucasienne
- *Hirudo troctina* la sangsue médicinale nord-africaine

(77) (78)

b) Historique d'un annélide suceur de sang

i. De l'Antiquité au Moyen-Age

L'utilisation des sangsues à des fins médicales est très ancienne, bien qu'il semble irréalisable de situer avec exactitude le point de départ de son emploi. Depuis l'Antiquité les arabes, les chinois, les romains et les grecs, les ont utilisées en

thérapeutique pour les hémorroïdes, les phlébites ou les saignées au Moyen-Age. Le Pape Pie XI aurait été sauvé d'une phlébite par ces animaux considérés comme répugnants.

Leur emploi est aussi attribué aux égyptiens, en raison de la découverte d'une peinture murale dans un tombeau à Thèbes. Cette fresque murale est controversée, datant entre 1600 et 1300 av. J.C. elle a été interprétée comme représentant un homme appliquant une sangsue sur le visage d'un autre homme. Cependant, il peut tout aussi bien s'agir d'un homme se faisant tailler les cheveux avec une pince pour retenir les mèches. Les égyptiens considéraient les sangsues comme des êtres malfaisants se nourrissant de la chair humaine, les utiliser comme thérapeutique semble incohérent compte tenu de leurs croyances. (78) (79) (80) (81)

Ce qui est certain c'est que des espèces de sangsues ont bien été présentes en Égypte à un moment de l'Histoire. Elles sont notifiées dans le « Recueil des observations et des recherches qui ont été faites en Égypte pendant l'expédition de l'armée française » dédié au Roi, ces observations ont été faites par des soldats français lors d'expédition en terre égyptienne en 1823. Les soldats peu habitués à ce nouvel environnement voulurent se désaltérer dans un point d'eau douce et certains d'entre eux avalèrent des sangsues... Il fallut du temps pour comprendre que les « douleurs piquantes à la gorge », les hémorragies et la détérioration de l'état général subies par les soldats étaient dues aux sangsues. Pour les retirer, il fallait tantôt utiliser des gargarismes au vinaigre et sel, tantôt une pince à polype. (82)

ii. Apogée des saignées

La théorie des humeurs prônée par Hippocrate et reprise par Galien, va propulser les saignées comme moyen thérapeutique efficace, conférant ainsi une certaine popularité aux sangsues.

Cette théorie consiste à avancer qu'il y a quatre humeurs ou fluides (bile, sang, phlegme ou lymphe et mélancolie) correspondant aux quatre éléments (feu, air, eau et terre), se rapportant eux-mêmes à deux propriétés chacun (chaud et sec pour le feu par exemple). (*Figure 43*). Si une maladie survient, elle est due à un déséquilibre de ces humeurs et il faut donc les évacuer en pratiquant notamment la saignée. Il existe alors plusieurs moyens de pratiquer la saignée, via les sangsues ou par le biais d'un chirurgien utilisant un scarificateur pour inciser la peau (*Figure 44*). Cette dernière technique plus invasive n'était pas toujours appréciée des patients. Ainsi on pouvait

observer les médecins munis de bœux en verre remplis de sangsues allant à leurs rendez-vous médicaux, afin de retirer les mauvaises humeurs. (83) (84) (85)

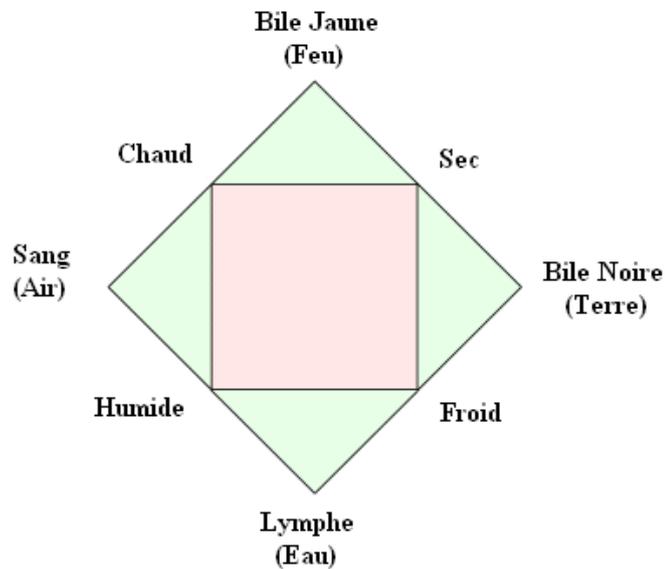


Figure 43 : Théorie des quatre humeurs (86)



Figure 44 : Palette de saignée effectuée par un chirurgien (87)

Entre le XVII^{ème} et XVIII^{ème}, l'amélioration de la technique des saignées à l'aide de lancettes va provoquer le déclin de son utilisation à des fins médicales. Cependant, le manque de chirurgiens pouvant pratiquer les saignées demande rapidement une

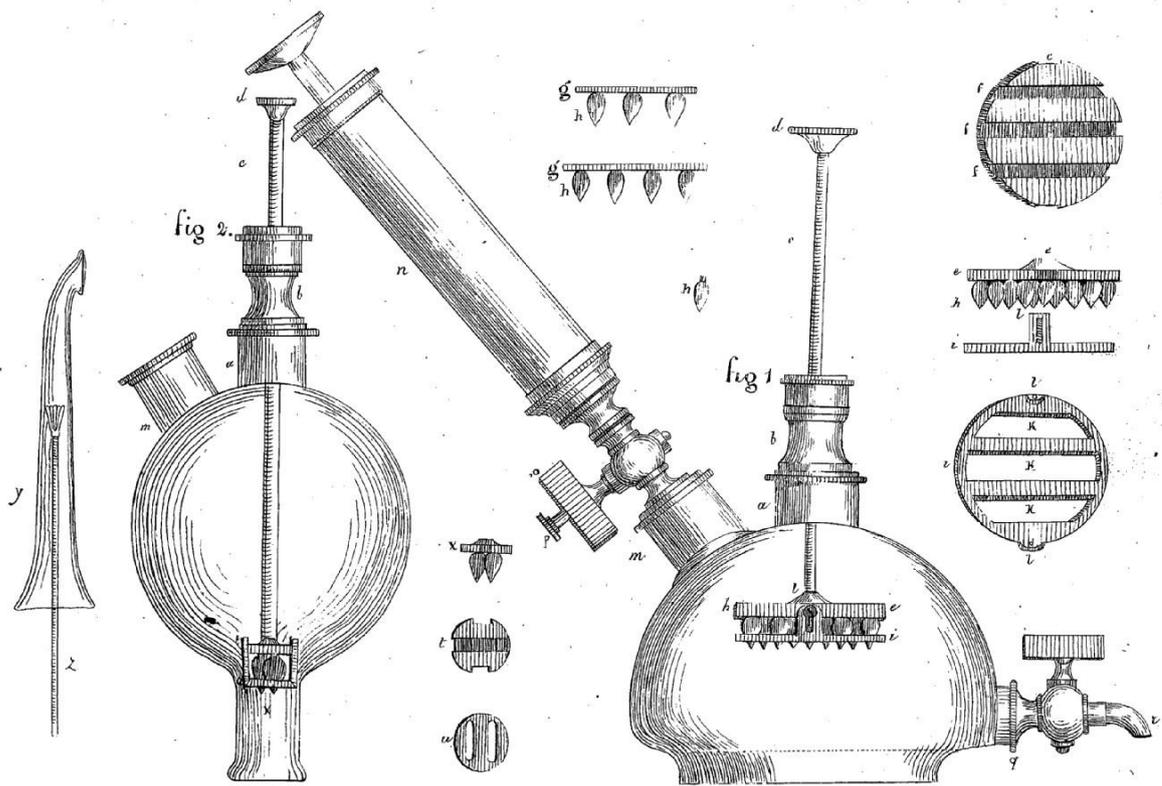
alternative. C'est ainsi que le Dr François Joseph Victor Broussais (1772-1838) va susciter un regain d'intérêt pour les sangsues.

La théorie de Broussais porte le nom de « médecine antiphlogistique ». Il considère que toute maladie est due à l'inflammation et préconise la diète et la saignée afin de diminuer l'accumulation de sang provoquant l'inflammation. Ceci est non sans rappeler la théorie des quatre humeurs. Broussais se plaît alors à prescrire les sangsues comme remède. L'enthousiasme est tel que les femmes portent des robes représentant des sangsues, elles sont appelées « Robes à la Broussais ».

Ce nouvel engouement pour les saignées va provoquer une pénurie de sangsues en France, obligeant les français à les importer des pays voisins puis plus lointains comme la Moldavie. De l'Europe à la Russie, les sangsues deviennent un véritable remède miracle contre « l'inflammation du cerveau », les rhumatismes ou encore les maladies hépatiques et rénales. Cela en fait une course à l'élevage et les primes pour la production de sangsues ne cessent de voir le jour. (79) (81) (85) (87) (88) (89)

iii. Le bdellomètre

En 1819, le docteur Jean-Baptiste Sarlandière présente le bdellomètre, un système mimant la sangsue de manière artificielle (*Figure 45*). Cet objet a pour but de proposer une alternative aux sangsues onéreuses et se raréfiant, tout en ayant l'avantage d'être accessible aux médecins de campagne et offrant la possibilité d'apprécier le volume de sang extrait et la vitesse de succion. (79) (81) (90)



Bdellemètre de Sarlandière.

Figure 45 : Bdellemètre de Sarlandière (90)

Explications de l'appareil : la ventouse formée par un globe de verre, doté d'un système permettant de faire le vide et ainsi de régler la pression. Un robinet est prévu afin d'évacuer le sang lorsque l'appareil est en marche. Des petites pointes permettent de mimer la morsure des sangsues, la profondeur peut être réglée avec une plaque destinée à arrêter les pointes.

Il en existe deux tailles : Fig 1 pour les grandes surfaces, Fig 2 pour les surfaces plus petites.

L'approvisionnement en sangsue représente une part grandissante des budgets des hôpitaux. En 1832 ce sont 57 millions de sangsues qui sont importées, entraînant un contrôle des prix en 1836 qui fixe les commandes en fonction du nombre et non du poids vendu. En 1840, les hôpitaux de Paris gonflent leur budget « droguerie » de 24%, qui passe en deuxième position après les « sirops, miels et oxymels ». La consommation de sangsue s'élève à 1 million par an pour les hôpitaux de Paris et 50 millions en France. (78) (81)

Peu codifiée au début, la réglementation de la vente et de l'utilisation de la sangsue se met en place petit à petit. Eugène Soubeiran publie en 1837 un rapport sur leur conservation pour la commission scientifique en charge du contrôle des annélides et aborde la question de la réutilisation des sangsues. Un an plus tard, le Conseil Général des Hospices propose l'utilisation de ventouses dotées d'un scarificateur proposées par un certain Monsieur Alexandre, pour remplacer les sangsues, notion qui avait déjà été évoquée avec le bdellomètre du Dr Sarlandière. (81) (91)

Enfin en 1843, les sangsues peuvent être dégorgées et réutilisées. Soubeiran et Apollinaire Bouchardat créent des « marais de repos ». Dans un premier temps, des économies sur l'achat des annélides sont réalisées, cependant la technique est abandonnée en 1868 car il devient trop cher de payer le personnel s'occupant du dégorgement. (81)

v. *Déclin*

L'âge d'or des sangsues se voit prendre fin à l'issue du XIX^{ème} siècle. De nombreux patients perdent la vie suite à une diminution trop importante du volume sanguin. Arrive aussi l'époque de la stérilisation avec Pasteur et la perte de confiance dans les théories de Broussais. Le risque de contracter une maladie infectieuse devient trop grand. Tout ceci provoque une sévère chute de l'utilisation des sangsues et de la pratique de la saignée.

Une quinzaine d'années plus tard un regain d'enthousiasme est observé avec la découverte d'une substance anticoagulante par Haycraft en 1884. Plus tard appelée hirudine, elle est la pièce maîtresse de l'utilisation des sangsues médicinales, et la raison pour laquelle les ventouses et le bdellomètre obtenaient un résultat moins satisfaisant. (81) (89)

En 1900, l'utilisation des annélides se fait toujours, mais à moindre ampleur. Leur indication est large, allant de la simple contusion, à l'hypertension et même en traitement de l'intoxication à *Amanita phalloides*, l'amanite phalloïde (pour la première fois en 1937). (79) (81)

Le corps médical favorisant l'emploi des extraits salivaires à celui de la sangsue, elle disparaît des Codex des officines en 1938, pour revenir quelques années plus tard. (79) (81) (89)

c) *Hirudothérapie*

Aujourd'hui la thérapie par la sangsue est connue sous le nom de « Hirudothérapie ». Son domaine d'application reste restreint : chirurgie réparatrice, plastique, stomatologie ou encore neurologie : elle permet d'activer le retour veineux et ainsi d'éviter la nécrose tissulaire. (79) (81)

Les deux espèces utilisées sont *Hirudo medicinalis* et *Hirudo verbana*. La salive des sangsues contient plus de 30 substances dans leur salive, l'hirudine est la plus connue par ses propriétés anticoagulante et anti-inflammatoire. On peut noter la présence de l'antistatine provoquant une inhibition du facteur Xa de la cascade de la coagulation, de l'orgelase, une hyaluronidase permettant à la salive de diffuser dans les tissus et l'hémentine ayant une activité fibrinolytique.

Pour pallier au risque infectieux, deux méthodes sont mises en place : une antibioprophylaxie, ou la désinfection dans une solution de chlorhexidine, le tout accompagné de protocoles très stricts. Outre le risque infectieux, elles sont aussi très allergènes, ce qui constitue un véritable obstacle dans son utilisation.

Aujourd'hui les sangsues sont à usage unique pour limiter le risque de transmission d'agents infectieux. Elles sont incinérées après utilisation.

On a pu trouver des spécialités à base d'extrait de salive de sangsue sous forme de crème, utilisée dans le traitement des phlébites et des hémorroïdes. (81) (92)

En 2013, la production de sangsue a été estimée à près de 110 000 par an en France. 80 000 seraient rétrocédées aux structures hospitalières américaines, tandis que seulement 20 000 seraient vendues aux structures françaises. Le reste de la production est acheté par le corps médical libéral et les particuliers. (77)

2. Hirudine

a) *Une production qui prend son temps*

C'est en 1884 que Haycraft découvre une substance anticoagulante dans les glandes péri-pharyngiennes des sangsues. En 1904 elle est nommée « hirudine » par C. Jacoby. Il s'agit d'un polypeptide de 65 acides aminés. C'est le premier anticoagulant possiblement utilisable, ce qui constitue une révolution dans leur histoire !

Cependant, elle n'est isolée par Markwardt qu'en 1955 et même si le produit obtenu est pur avec une bonne activité anticoagulante, la protéine n'est extraite qu'en petite quantité. Son faible rendement d'extraction constitue un frein pour son développement.

En 1976 la séquence peptidique complète est publiée par Magnusson, ce qui permet sa production plus facile par génie génétique (Figure 46). (79) (81) (93)

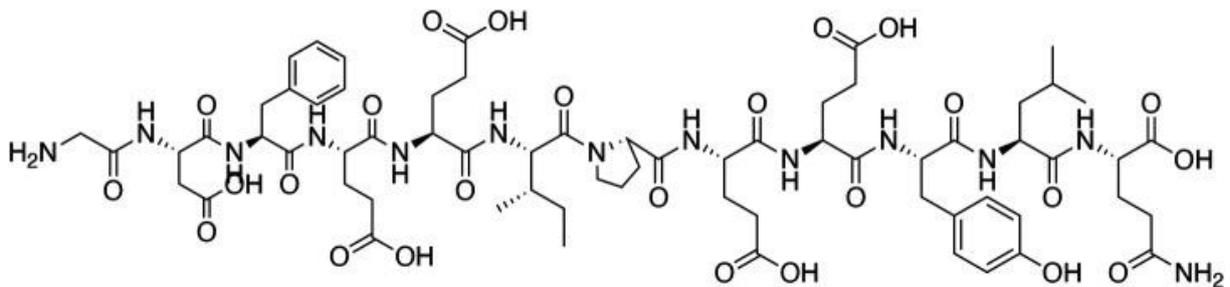


Figure 46 : Séquence de l'hirudine (94)

La synthèse se fait via l'intermédiaire d'un plasmide. Le principe consiste à insérer un brin d'ADN de sangsue (et codant l'hirudine) dans un fragment d'ADN bactérien ou fongique (appelé plasmide). Le tout est réintroduit dans la cellule dont est issu le plasmide pour le faire se reproduire et ainsi exprimer le peptide recombinant. (94)

Ainsi en 1986 c'est une cellule d'*Escherichia coli* qui permet au premier dérivé de voir le jour. Deux ans plus tard l'opération est répétée grâce à une levure *Saccharomyces cerevisiae*. De nombreux dérivés de l'hirudine ont ainsi vu le jour, néanmoins peu ont été commercialisés. De plus, avec l'arrivée des héparines à partir de 1916, le projet n'atteint pas la grandeur espérée. (93)

b) Intérêt dans la dialyse

En 1914, l'hirudine est utilisée dans la dialyse rénale en expérimentation animale par John Abel. Elle avait pour but d'empêcher la coagulation dans la circulation extra-rénale. Mais cette méthode était très coûteuse et ardue à préparer. Elle avait aussi l'inconvénient de déclencher des effets indésirables cardiovasculaires et pulmonaires, ainsi que de graves réactions allergiques, du fait de ses nombreuses impuretés. Fait amusant, Abel ne s'est pas procuré l'hirudine directement purifiée, mais a extrait lui-même la molécule des sangsues : une technique plus alambiquée, mais bien moins onéreuse.

d) Différentes spécialités

i. Des spécialités oubliées

La première spécialité ayant vu le jour est l'hirudinase®, elle était prescrite dans les années 1940, mais elle provoquait beaucoup d'hémorragies (Figure 48). (97)

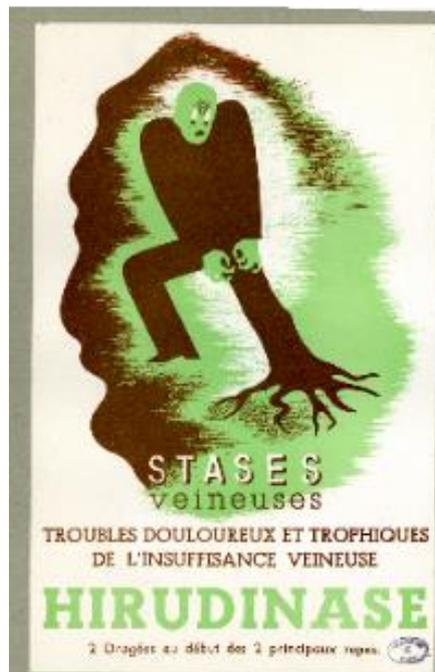


Figure 48 : Publicité pour l'hirudinase (99)

Les extraits salivaires de sangsue ont aussi été prescrits en homéopathie. Deux souches ont vu le jour : *Hirudo Medicinalis* et *Sanguisuga Officinalis*, toutes deux utilisées dans les saignements. Elles ne sont plus commercialisées aujourd'hui. (94)

L'hirudine est aussi retrouvée dans une spécialité topique nommée Hirucrème®. Ici elle n'est pas synthétisée par génie génétique mais c'est un extrait de la salive de sangsue qui en est le principe actif. Indiquée dans l'insuffisance veineuse et la crise hémorroïdaire, elle n'est plus utilisée dans la pratique courante. (98)

ii. *Les hirudines recombinantes*

Trois dérivés produits par génie génétique ont vu le jour en clinique : la bivalirudine Angiox[®], la désirudine Revasc[®] et la lépirudine Refludan[®]. Ces spécialités ne sont plus commercialisées depuis respectivement 2018, 2014 et 2012 car elles sont jugées trop onéreuses et pas assez rentables pour leurs fabricants. Une seule spécialité est encore disponible sur le marché en 2021 : le générique de la bivalirudine commercialisé par le laboratoire *Accord Healthcare*. De plus, elle reste réservée à un usage hospitalier, ce qui en fait un médicament peu connu et peu utilisé. Avec l'arrivée concomitante du fondaparinux en cas de TIH, elles ont été effacées de la pratique courante. Ces trois molécules sont qualifiées d'hirudine recombinante. (94)

Ses principaux inconvénients en clinique résultent de sa demi-vie courte, son coût important et les hémorragies provoquées (plus importantes que celles induites par les héparines).

Aujourd'hui ces molécules paraissent désuètes, cependant la structure est sans cesse modifiée pour s'affranchir des effets indésirables.

3. Vers de nouvelles applications

Les propriétés de l'hirudine ne se résument pas seulement à l'effet anticoagulant, elle offre un panel d'autres activités : antiallergique, lymphagogue, cicatrisant, antalgique et anti-inflammatoire. (79) (93)

En effet, comme dit précédemment, elle possède des qualités étonnantes dans la régénération des lambeaux cutanés. Elle améliore la microcirculation en stimulant l'angiogenèse, réduit l'inflammation des tissus (délétère pour la cicatrisation) et augmente la survie des lambeaux.

En plus de l'action régénérative, un effet qualifié « d'antidiabétique » pourrait être intéressant. Il est connu que les mécanismes d'inflammation, de stress oxydatif et de nécrose tissulaire jouent un rôle dans les complications du diabète. L'hirudine aurait un effet dans la prévention des complications telles que la néphropathie ou la neuropathie diabétique. (93)

Finalement les dérivés de l'hirudine, perçus comme un espoir d'avancée scientifique à la fin du XIX^{ème} siècle, ont rapidement été supplantés par les héparines et ne sont quasiment plus utilisés en tant qu'anticoagulant. Leur utilisation fut de

courte durée, on retiendra cependant que l'emploi de la sangsue (et indirectement de l'hirudine contribuant aux bienfaits de la succion) a perduré durant de nombreux siècles, et perdure encore aujourd'hui en chirurgie de reconstruction. On notera notamment la présence de sangsues dans les différents CHU de France. A Nantes, elles sont conservées dans de l'eau minérale en chambre froide pour les maintenir en sommeil, afin de pouvoir être utilisées dans les services nécessitant une chirurgie réparatrice (*Figure 49*).

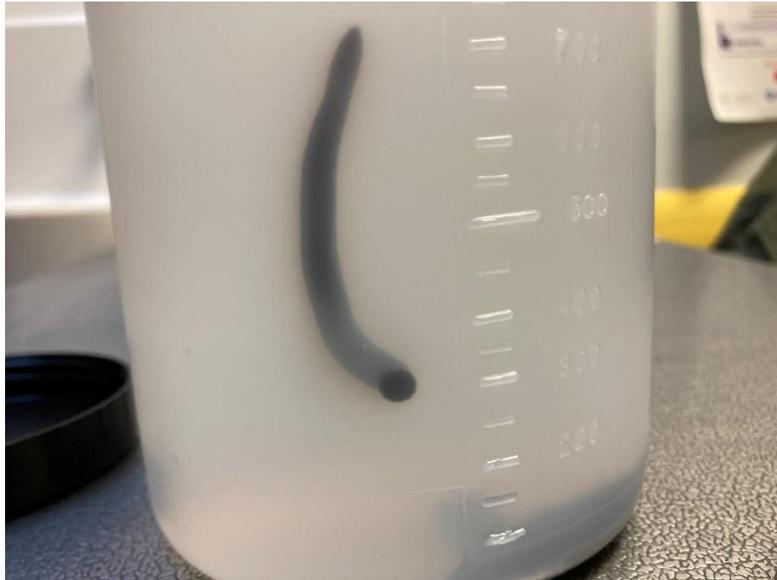


Figure 49 : Sangsue du CHU de Nantes, lors du nettoyage hebdomadaire de son bocal (76)

Bien que les nouveaux dérivés soient concentrés sur la réduction des effets hémorragiques, les propriétés découvertes ces dernières décennies pourraient leur conférer une place plus grande que celle qu'ils occupaient dans la famille des anticoagulants.

4. Spécialités contenant un dérivé de l'hirudine

Les spécialités contenant de l'hirudine sont résumées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Spécialités contenant un dérivé de l'hirudine

| Dérivé | Spécialité | Date AMM | Commercialisation |
|------------------------------|----------------------|----------|-------------------|
| Bivalirudine | Angiox® | 2004 | Arrêt en 2018 |
| | Bivalirudine ACCORD® | 2018 | Commercialisée |
| Lépirudine | Refludan® | 1997 | Arrêt en 2012 |
| Désirudine | Revasc® | 1997 | Arrêt en 2014 |
| Extrait salivaire de sangsue | Hirucrème® | 1990 | Arrêt en 2013 |

5. Résumé de l'histoire des hirudines

La frise chronologique de la Figure 50 retrace les grandes dates de l'histoire des hirudines.

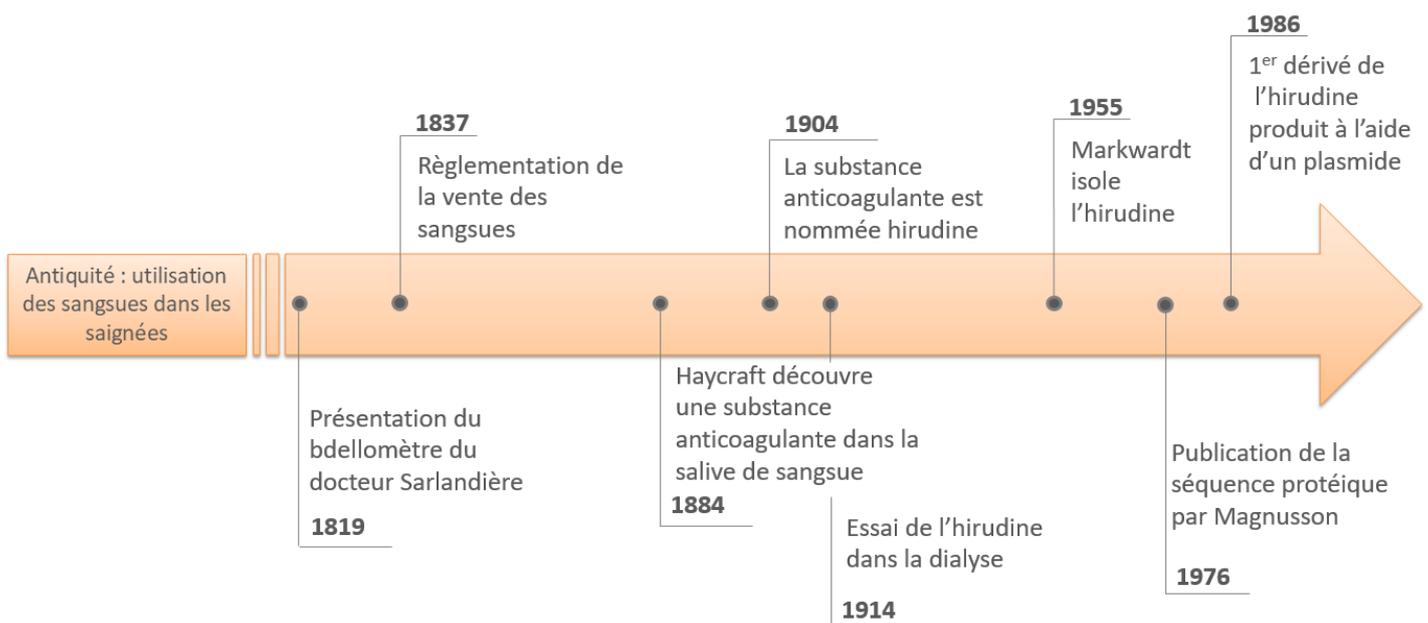


Figure 50 : Résumé de l'histoire des hirudines

VII. Les agents fibrinolytiques



Les classes médicamenteuses vues précédemment impliquent pour beaucoup un délai d'action important. Lorsque le pronostic vital est engagé, un traitement d'urgence est nécessaire, c'est pourquoi les chercheurs se sont tournés vers un mode d'action plus direct et plus rapide : agir au niveau du thrombus. Les agents fibrinolytiques ont vu le jour au XX^{ème} siècle. Bien que cette classe médicamenteuse semble théoriquement la plus efficace pour dissoudre l'amas de plaquettes responsable des accidents thromboembolique, nous allons voir que la pratique clinique est loin d'être aussi aisée.

Le retard sur la connaissance de la chaîne de fibrinolyse a inévitablement entraîné un délai sur la découverte de cette classe médicamenteuse. Peu utilisés aujourd'hui, ils constituent tout de même une classe intéressante par leur mode d'action et surtout leur découverte, encore une fois, inédite et hasardeuse.

1. La streptokinase, premier fibrinolytique

a) De la bactérie à la molécule

Leur histoire commence début des années 1930 quand William Tillett, bactériologiste enseignant à l'école de médecine de l'Université de New York, étudie le plasma de patients contaminés par des bactéries (*Figure 51*). Son projet se tourne sur les streptocoques : il soupçonne le fibrinogène d'être le médiateur de leur agglutination.

Partant de ce principe, il conjecture que si l'on ajoute un plasma contenant le fibrinogène sur la culture de bactéries, une fois retiré le plasma ne pourrait plus coaguler par consommation du fibrinogène. La déception est grande lorsque Tillett retire le plasma et que ce dernier coagule.

Encore une fois la magie du hasard opère et avant de jeter tous les tubes à essai, il observe que la culture bactérienne s'est liquéfiée, bien qu'elle ait initialement coagulée. Forts d'un esprit chercheur Tillett et son collaborateur Raymond Loraine Garner entreprennent d'élucider ce nouveau mystère. C'est ainsi qu'en 1933, lui et Garner rapportent que le streptocoque hémolytique du groupe C produit un agent fibrinolytique, qu'ils appellent « fibrinolysine ». (28) (99) (100)



Figure 51 : William S. Tillett (101)

Cette découverte fait écho à celle de Dastre en 1893, qui avait en effet observé que les caillots sanguins se liquéfiaient avec le temps (faisant ainsi référence à la fibrinolyse). (28)

En 1941, Milstone montre que la fibrinolysine nécessite un « facteur de lyse plasmatique ». Trois ans plus tard ce cofacteur protéique est nommé plasminogène par Christensen, et la fibrinolysine est renommée « streptokinase ». Christensen et MacLeod purifient le plasminogène, élément clé de la fibrinolyse, et la streptokinase. (28)

b) Expérimentations

De son côté, Tillett continue les recherches sur la streptokinase et, avec son équipe, ils administrent pour la première fois la streptokinase à un patient en 1947. Dès lors elle sera employée afin de provoquer une rupture de la cloison de fibrine lors d'épanchements pleuraux ou d'abcès chroniques, et ainsi aspirer le liquide plus aisément. Son emploi dans les accidents thromboemboliques ne sera développé que tardivement, car la place est déjà prise par les héparines. Aux Etats-Unis les essais commencent en 1952 par l'expérimentation sur des lapins, et aboutissent six ans plus tard par le traitement d'un patient présentant un infarctus du myocarde. Au Royaume Uni, cette expérimentation n'est un succès qu'en 1965 et l'utilisation dans l'embolie pulmonaire commence en 1967 avec des essais de grande envergure. (28) (100)

Jusqu'ici le mode d'administration se faisait par perfusion intraveineuse, une nouvelle approche par voie intra coronaire a vu le jour en 1979. Ainsi la repermeabilisation des vaisseaux serait plus efficace. Les deux principales études, GISSI et ISIS-2, se développent en 1986 et 1987. Elles montrent une amélioration du

pronostic vital dans les IDM. Cependant il existe un risque allergique important, ainsi qu'un risque hémorragique. Il est aussi nécessaire d'administrer les médicaments dans les 3 heures suivant l'accident thrombo-embolique pour un véritable bénéfice, ce qui signifie que cette administration doit se faire avant même l'arrivée à l'hôpital. (28) (99) (100) (102)

2. Successeurs

a) L'urokinase

En 1861 Von Brucke publie un rapport sur l'activité protéolytique de l'urine humaine et plus tard, en 1886, Sahli note que cette activité se déroule avec une affinité sur la fibrine. L'enzyme concernée n'est isolée qu'en 1947 par MacFarlane et Pilling, et est nommée « Urokinase ». Il est démontré par la suite qu'elle n'agit pas directement par lyse de la fibrine mais par l'intermédiaire d'un activateur du plasminogène, ce qui engendre sa transformation en plasmine et la consommation de la fibrine.(28)

Bien que la streptokinase ait été la première molécule à percer chez la famille des fibrinolytiques, l'urokinase lui a rapidement fait de l'ombre, notamment en France. Elle est commercialisée sous le nom d'Actosolv® en 1985 alors que la Streptase® n'arrivera qu'en 1988 et son AMM sera abrogée en 2016. De plus, en 2020, la spécialité Therasolv® se voit autoriser une extension de ses indications. Elle devient un traitement de première intention en cas de thrombose de cathéters veineux centraux et périphériques au même titre que les autres agents thrombolytiques actuellement disponibles dans cette indication. (103) (48)

D'autres thrombolytiques voient le jour à leurs côtés. On trouve notamment un dérivé de la streptokinase : l'acyl-streptokinase Anistréplase® également originaire de cultures bactériennes. Cependant le risque de contamination microbienne et le coût important de la molécule ont rapidement eu raison de son utilisation. (99)

b) Le t-PA

Le t-PA ou activateur tissulaire du plasminogène, a été identifié en 1947. Son extraction étant complexe, il ne sera isolé que 30 ans plus tard. Les premières études concernant son mécanisme d'action débutent dans les années 1980. Il intervient dans la phase de transformation du plasminogène en plasmine, lors de la fibrinolyse (*Figure 52*).

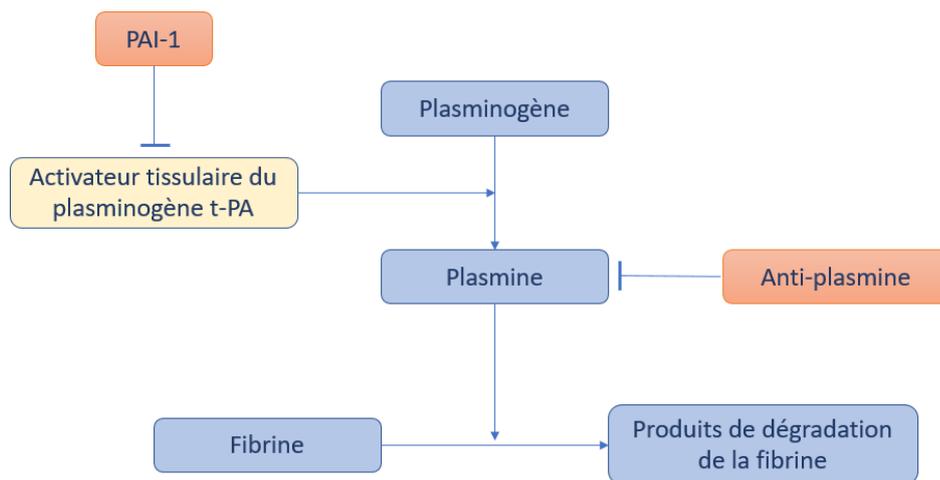


Figure 52 : Cascade de la fibrinolyse

La production de t-PA s'effectue sous forme d'une copie du t-PA, par génie génétique. On le nomme alors rt-PA pour « recombinaut tissule-plasminogen activator ». Médicament biotechnologique produit à partir d'ADN recombinant, il est d'abord exprimé par une souche d'*E. coli*. Afin d'augmenter son rendement, il est aujourd'hui transcrit sur une lignée eucaryote : des cellules de mélanome humain. Le rt-PA médicament est nommé altéplase et commercialisé sous le nom d'Actilyse®. Cependant, encore une fois, son coût important et sa difficulté à l'employer ainsi que son risque hémorragique important ont raison de sa diffusion dans le monde médical. (11) (102)

Etant acteur de la cascade de fibrinolyse, cette protéine de 527 acides aminés se trouve logiquement moins immunogène par rapport aux autres thrombolytiques d'origine naturelle (*Figure 53*). Outre cet intérêt non négligeable, elle présente une affinité plus forte pour la fibrine, en se fixant à la fois à la fibrine et au plasminogène

pour activer la thrombolyse. Cela augmente significativement le rendement de la transformation en plasmine. (102)

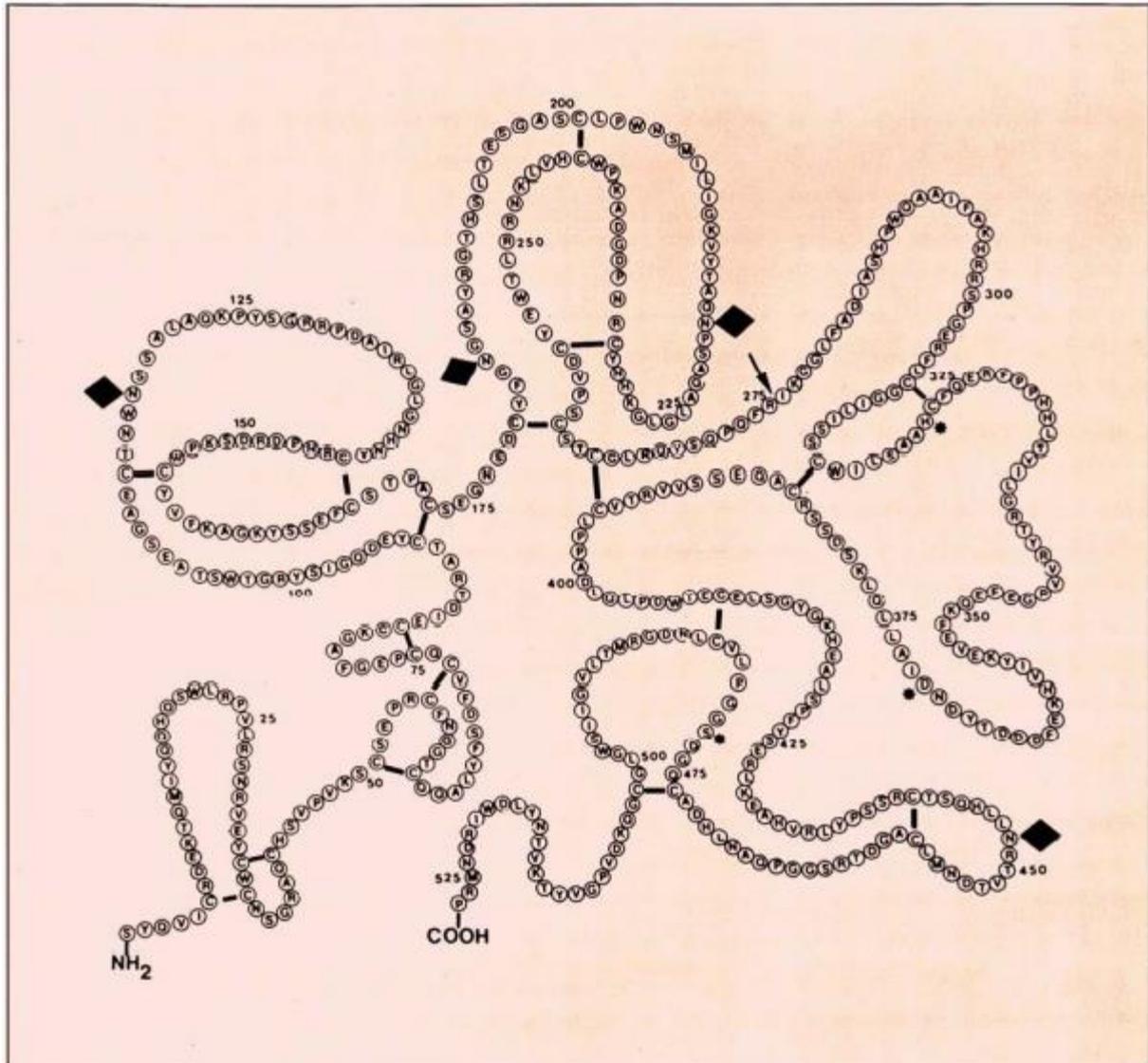


Figure 53 : Structure du t-PA humain (102)

Le ténecteplase, le rétéplase, la staphylokinase lui succèdent avec un intérêt supérieur pour le ténecteplase. Le principal avantage de ces agents fibrinolytiques est qu'ils peuvent être administrés au domicile du patient, ce qui rend la prise en charge plus rapide et augmente le bénéfice rendu par rapport à la perfusion IV. (11) (99)

Aujourd'hui l'emploi des agents fibrinolytiques comme la streptokinase, l'urokinase et l'altéplase se retrouve essentiellement dans le traitement des embolies pulmonaires à haut risque, c'est-à-dire avec instabilité hémodynamique. Cependant il

existe de nombreuses contre-indications, notamment le fait de présenter un risque hémorragique important, d'avoir subi un traumatisme important ou d'avoir présenté un AVC hémorragique, elles sont toutes liées au risque d'une perte importante de sang. (104)

Le rt-PA reste un des fibrinolytiques les plus employés, sa structure a été modulée via la substitution d'acides aminés pour obtenir une meilleure cinétique et renforcer son action.

3. Résumé des thrombolytiques

La Figure 54 permet d'illustrer quelques faits marquants de l'histoire de quelques thrombolytiques.

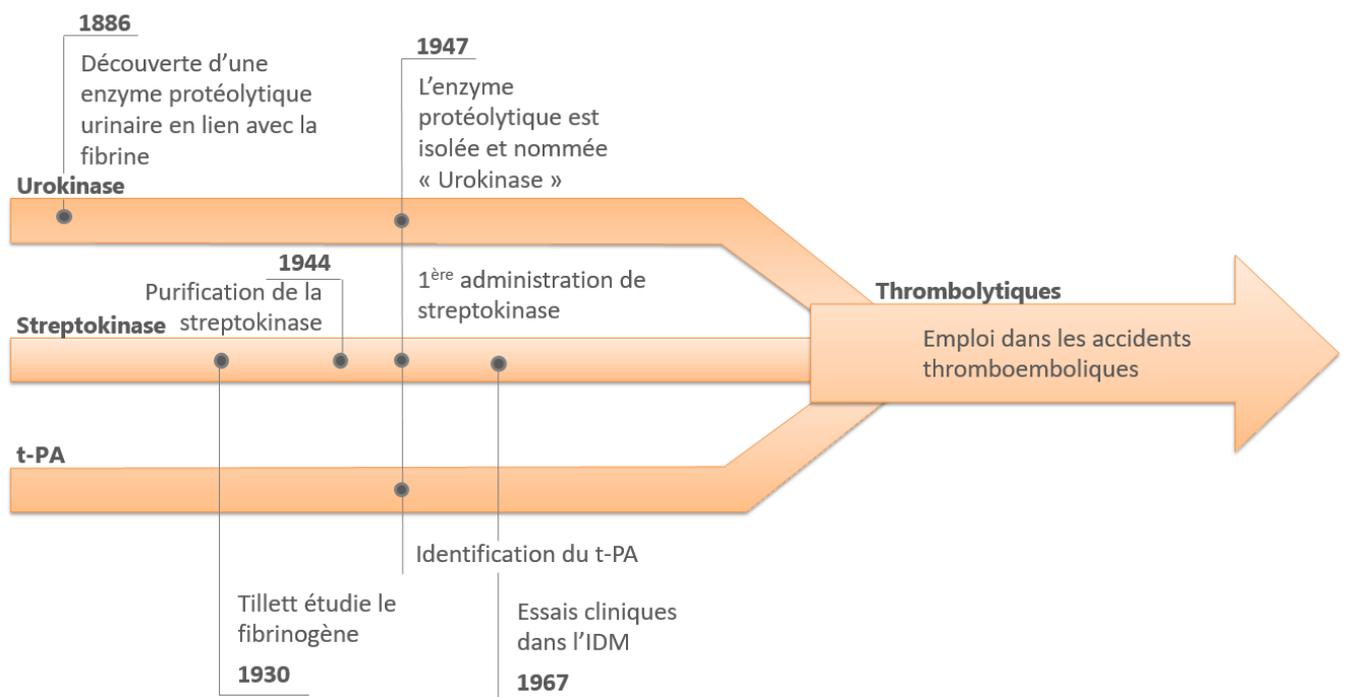


Figure 54 : Frise chronologique de l'histoire des thrombolytiques

VIII. Conclusion

Grâce à l'ensemble de ce travail bibliographique nous avons pu voyager à travers différentes époques, visualiser le travail de divers scientifiques et remarquer la multitude de choix que nous offrent les médicaments de l'hémostase.

Finalement on peut observer que les différentes familles d'anticoagulants ont des histoires très différentes. D'origine naturelle, biologique, ou synthétique, tous ont été une course contre le temps pour soigner des pathologies dont on découvrait les mécanismes en même temps que les moyens pour les soigner.

Parfois le hasard joue son rôle d'aiguillage, mais peut-on vraiment parler de hasard ? Finalement, c'est la curiosité humaine qui pousse le chercheur à trouver la réponse à un phénomène qui les interpelle. La capacité d'observation de ces chimistes, biologistes, pharmaciens, médecins a permis de mettre en lumière des molécules naturelles, des substances chimiques inconnues et d'en faire des médicaments qui sauvent des vies.

Aujourd'hui l'utilisation des anticoagulants continue de s'étendre que ce soit en curatif ou en préventif, de plus en plus de patients vont en consommer dans leur parcours de santé car, comme nous avons pu le voir, leur efficacité n'est plus à démontrer.

La figure 55 illustre l'histoire condensée des cinq familles de médicaments présentées dans cet écrit.

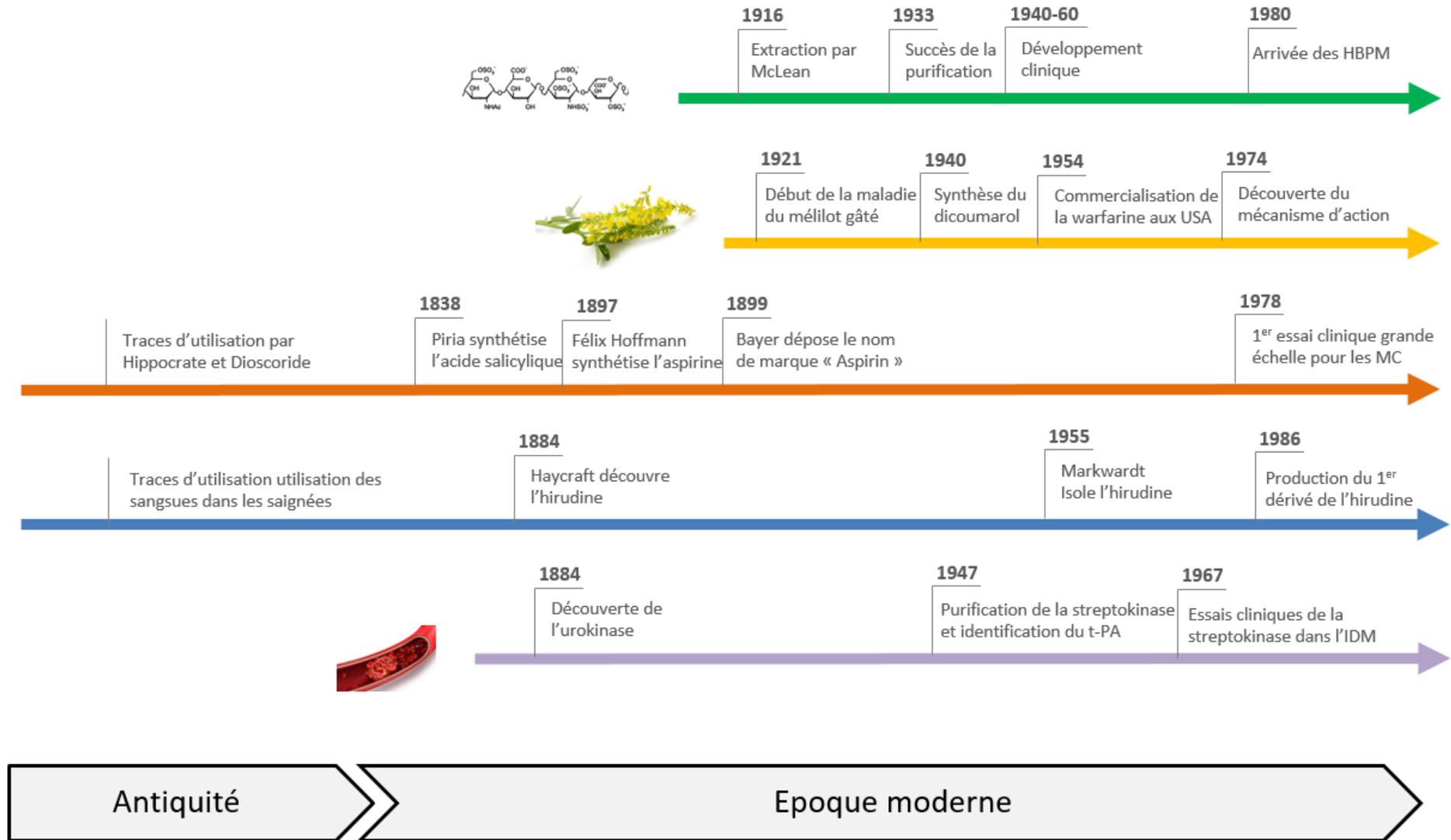
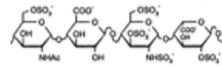


Figure 55 : Frise chronologique de l'histoire condensée des médicaments de l'hémostase

Serment de Galien

« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté et de mes condisciples:

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèles à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et les devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque. »

Liste des figures

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 : Vaisseau subissant une brèche vasculaire..... | 13 |
| Figure 2 : Adhésion des thrombocytes au sous endothélium | 14 |
| Figure 3 : Agrégation des thrombocytes via le fibrinogène | 14 |
| Figure 4 : Système de régulation de l'agrégation des thrombocytes..... | 15 |
| Figure 5 : Cascade de la coagulation..... | 16 |
| Figure 6 : Régulateurs de la cascade de coagulation..... | 17 |
| Figure 7 : Cascade de la fibrinolyse..... | 18 |
| Figure 8 : Structure de l'héparine | 22 |
| Figure 9 : Procédé d'extraction de l'héparine par Scott et Charles, 1933..... | 24 |
| Figure 10 : Publicités de l'héparine ; 1959, 1960..... | 28 |
| Figure 11 : Cible de l'antithrombine III | 29 |
| Figure 12 : Résultats des essais effectués par l'Institut Choay et les Laboratoires Pharmuka SA..... | 32 |
| Figure 13 : Action des héparines sur la cascade de coagulation | 34 |
| Figure 14 : Schéma d'une hémofiltration | 36 |
| Figure 15 : Découverte et développement des héparines | 38 |
| Figure 16 : Karl Paul Link travaillant dans son laboratoire, Wisconsin..... | 42 |
| Figure 17 : Transformation de la coumarine en dicoumarol..... | 43 |
| Figure 18 : Link promouvant la warfarine en tant que rodenticide | 47 |
| Figure 19 : Structure du dicoumarol et de la warfarine | 48 |
| Figure 20 : Le triangle de la thérapie par anticoagulant type dicoumarol..... | 48 |
| Figure 21 : Cascade de la coagulation..... | 51 |
| Figure 22 : Instruments utilisés pour effectuer un test de Quick..... | 52 |
| Figure 23 : Frise chronologique de la découverte des AVK | 56 |
| Figure 24 : Salix alba | 58 |
| Figure 25 : Papyrus Ebers..... | 59 |
| Figure 26: Structure de la salicine et de l'acide salicylique | 61 |
| Figure 27 : Couplage de l'acide salicylique et d'un phénol pour obtenir le salol..... | 63 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figure 28: Aspirin Bayer en poudre | 65 |
| Figure 29 : Affiche des produits commercialisés par "Le Laboratoire des produits Bayer" | 66 |
| Figure 30 : Aspirine Vicario | 66 |
| Figure 31 : Rhodine Usines du Rhône | 66 |
| Figure 32 : Aspirine "Usines du Rhône" | 67 |
| Figure 33 : Exemple de marques déposées en France au début du XXème siècle | 67 |
| Figure 34 : Exemple de publicité des Usines du Rhône à la fin de la première guerre mondiale | 67 |
| Figure 35 : Article publicitaire paru dans une revue pharmaceutique en France & après l'accord franco-allemand | 68 |
| Figure 36 : Upsarin C | 69 |
| Figure 37 : Aspirine UPSA vitamine C | 69 |
| Figure 38 : Aspirine du Rhône | 69 |
| Figure 39 : Cascade de l'inflammation | 71 |
| Figure 40 : Du saule à l'acide salicylique | 77 |
| Figure 41 : Histoire condensée de l'Aspirine | 78 |
| Figure 42 : Hirudo medicinalis | 80 |
| Figure 43 : Théorie des quatre humeurs | 83 |
| Figure 44 : Palette de saignée effectuée par un chirurgien | 83 |
| Figure 45 : Bdellomètre de Sarlandière | 85 |
| Figure 46 : Séquence de l'hirudine | 88 |
| Figure 47 : Cible pharmacologique des hirudines et de l'argatroban | 89 |
| Figure 48 : Publicité pour l'hirudinase | 90 |
| Figure 49 : Sangsue du CHU de Nantes, lors du nettoyage hebdomadaire de son bocal (76) | 92 |
| Figure 50 : Résumé de l'histoire des hirudines | 93 |
| Figure 51 : William S. Tillett | 96 |
| Figure 52 : Cascade de la fibrinolyse | 98 |
| Figure 53 : Structure du t-PA humain | 99 |
| Figure 54 : Frise chronologique de l'histoire des thrombolytiques | 100 |
| Figure 55 : Frise chronologique de l'histoire condensée des médicaments de l'hémostase | 102 |

Liste des tableaux

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Tableau 1 : Essais cliniques entre 1646 et 1959 | 27 |
| <i>Tableau 2 : Spécialités contenant des héparines ou assimilés commercialisés en France, 2021.....</i> | <i>37</i> |
| <i>Tableau 3 : Spécialités contenant un AVK commercialisés en France, 2021</i> | <i>55</i> |
| Tableau 4 : Spécialités contenant de l'Aspirine seule, 2021 | 74 |
| Tableau 5 : Spécialités contenant un dérivé de l'hirudine | 93 |

Bibliographie :

1. Monsuez JJ. L'héparine : de la découverte aux premiers traitements. Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux - Pratique. oct 2015;2015(241):28-30.
2. Monsuez JJ. La thrombose : des polypes de Malpighi à la fibrine de Fourcroy. Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux - Pratique [Internet]. janv 2008 [cité 12 mai 2022];18(204). Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/692666/resume/la-thrombose-des-polypes-de-malpighi-a-la-fibrine>
3. Gerald MC. Le beau livre des remèdes et des médicaments. Paris: Dunod; 2014. p 76,137,160.
4. Les anticoagulants en France en 2014: état des lieux, synthèse et surveillance. Paris: ANSM; 2014 avr p. 78.
5. Gabet A, Edouard Chatignoux, Grave C, Béjot Y, Olié V. Épidémiologie de la fibrillation atriale en France. Incidence des patients nouvellement traités par un anticoagulant oral, évolutions temporelles et disparités territoriales [Internet]. Santé Publique France - Article - Bulletin épidémiologique hebdomadaire. [cité 13 mai 2022]. Disponible sur: http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2021/5/2021_5_1.html
6. Thrombose veineuse (phlébite) - symptômes, causes, traitements et prévention [Internet]. VIDAL. [cité 29 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/>
7. Embolie pulmonaire - symptômes, causes, traitements et prévention [Internet]. VIDAL. [cité 29 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/>
8. Infarctus du myocarde - symptômes, causes, traitements et prévention - VIDAL [Internet]. [cité 29 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/coeur-circulation-veines/apres-infarctus-myocarde.html>
9. Accident vasculaire cérébral (AVC) - symptômes, causes, traitements et prévention - VIDAL [Internet]. [cité 29 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/coeur-circulation-veines/avc.html>
10. Masson E. À la recherche de la molécule idéale. Une brève histoire des anticoagulants [Internet]. EM-Consulte. [cité 20 mars 2021]. Disponible sur:

<https://www.em-consulte.com/article/671736/a-la-recherche-de-la-molecule-ideale-une-breve-his>

11. Chast F. Histoire contemporaine des médicaments. La découverte. Paris; 1995. 416 p.
12. Molho P, Tobelem G. L'héparine hier et aujourd'hui. Médecine-Sciences. iPubli INSERM. avr 1985;74-9.
13. Larousse É. Définitions : mucopolysaccharide - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 11 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/mucopolysaccharide/53086>
14. Charles AF. Studies on heparin. Connaught Laboratories, University of Toronto, Toronto, Canada. :5.
15. Petit K. Antithrombotiques : Héparines - Hirudines. Université de Nantes; 2018.
16. Les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ou maladies à prions | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 2 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/les-enc%C3%A9phalopathies-spongiformes-transmissibles-est-ou-maladies-%C3%A0-prions>
17. Botting J. Animals and Medicine: The Contribution of Animal Experiments to the Control of Disease [Internet]. Botting R, éditeur. Open Book Publishers; 2015 [cité 12 avr 2021]. Disponible sur: <http://www.openbookpublishers.com/product/327>
18. Petitou M. De l'héparine aux oligosaccharides antithrombotiques de synthèse. Bulletin de l'académie Nationale de médecine. 14 janv 2003;47-57.
19. Résumé des caractéristiques du produit - FLECTOR TISSUGEL HEPARINE 1 g/40 000 UI pour 100 g, emplâtre médicamenteux - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 26 avr 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60810368&typedoc=R#RcpPropPharmacologiques>
20. Petitou M, Herbert JM. Héparines de synthèse. Médecine-Sciences. iPubli INSERM. nov 1999;1325-8.
21. Résumé des caractéristiques du produit - CALCIPARINE 7 500 UI/0,3 ml, solution injectable en seringue préremplie (sous cutanée) - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 26 avr 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=62187140&typedoc=R#RcpPropPharmacodynamiques>

22. Harenberg J, Zimmermann R, Schwarz F, Kübler W. Treatment of heparin-induced thrombocytopenia with thrombosis by new heparinoid. *The Lancet*. 30 avr 1983;986-7.
23. Groupe d'Intérêt en Hémostase Périopératoire (GIHP), Groupe Français d'études sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT). Diagnostic et prise en charge d'une thrombopénie induite par l'héparine. France; 2019.
24. Résumé des caractéristiques du produit - VELETRI 1,5 mg, poudre et solvant pour solution pour perfusion - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 12 avr 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60181231&typedoc=R>
25. Journois D, Safran D, Castelain MH, Chanu D, Drévilion G, Barrier G. Comparaison des effets antithrombotiques de l'héparine, l'énoxaparine et la prostacycline au cours de l'hémodilution continue. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*. 1990;9(4):321-401.
26. Norn S, Permin H, Kruse E, Kruse PR. On the history of vitamin K, dicoumarol and warfarin. *Dan Medicinhist Arbog*. 2014;42:99-119.
27. Link KP. The Discovery of Dicumarol and Its Sequels. *Circulation*. 1 janv 1959;19(1):97-107.
28. Mueller RL, Scheidt S. History of Drugs for Thrombotic Disease Discovery, Development, and Directions for the Future. *Circulation*. 1 janv 1994;432-49.
29. Wardrop D, Keeling D. The story of the discovery of heparin and warfarin. *British Journal of Haematology*. 2008;141(6):757-63.
30. Copeland CE, Six CK. A Tale of Two Anticoagulants: Warfarin and Heparin. *Journal of Surgical Education*. 1 mai 2009;66(3):176-81.
31. Stago - Histoire de la Coagulation [Internet]. [cité 6 juill 2021]. Disponible sur: <https://www.stago.fr/l-hemostase/histoire-de-la-coagulation/>
32. Meyer OO. Historical Data Regarding the Experiences with Coumarin Anticoagulants at the University of Wisconsin Medical School. *Circulation*. 1 janv 1959;19(1):114-7.
33. Lehmann J. Historical Notes on the Early Development of Anticoagulant Therapy with Dicumarol in Sweden. *Circulation*. 1 janv 1959;19(1):122-6.
34. Drouet L, Ripoll L. Cibles des médicaments antithrombotiques. *Med Sci (Paris)*. 1 oct 2006;22(10):887-94.

35. intracto. Intoxication par raticide anticoagulant chez l'homme [Internet]. Centre Antipoisons Belge. [cité 27 juill 2021]. Disponible sur: <https://www.centreatipoisons.be/professionnels-de-la-sant/articles-pour-professionnels-de-la-sant/intoxication-par-raticide>
36. Faria MA. Stalin's mysterious death. *Surg Neurol Int.* 14 nov 2011;2:161.
37. Stenflo J, Fernlund P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K Dependent Modifications of Glutamic Acid Residues in Prothrombin. *Proc Nat Acad Sci.* 9 mai 1974;2730-3.
38. Résumé des caractéristiques du produit - COUMADINE 5 mg, comprimé sécable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 18 juill 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=63245753&typedoc=R#RcpPropPharmacodynamiques>
39. Manchester B, Rabkin B. The Control of Dicumarol Therapy in Myocardial Infarction by a Simple Blood Prothrombin Test. *Circulation.* 1 nov 1954;10(5):691-8.
40. Quick AJ. The Development and Use of the Prothrombin Tests. *Circulation.* 1 janv 1959;19(1):92-6.
41. Quick AJ. Clinical Interpretation of the One-Stage Prothrombin Time. *Circulation* [Internet]. déc 1961 [cité 30 juill 2021]; Disponible sur: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.24.6.1422>
42. Shoshkes M, Odze M, Lasser PJ. Comparison of the Thrombotest with the Modified Quick Test. *Circulation.* 1 juill 1963;28(1):58-62.
43. Le temps de prothrombine revisité 70 ans après [Internet]. *Revue Medicale Suisse.* [cité 7 août 2021]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/revue-medicale-suisse/2008/revue-medicale-suisse-143/le-temps-de-prothrombine-revisite-70-ans-apres>
44. Dam H. The antihaemorrhagic vitamin of the chick. *Biochem J.* juin 1935;29(6):1273-85.
45. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1943 [Internet]. *NobelPrize.org.* [cité 1 juill 2021]. Disponible sur: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1943/doisy/biographical/>
46. Résumé des caractéristiques du produit - VITAMINE K1 CHEPLAPHARM 2 mg/0,2 ml NOURRISSONS, solution buvable et injectable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 1 juill 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=64337140&typedoc=R>

47. Résumé des caractéristiques du produit - VITAMINE K1 CHEPLAPHARM 10 mg/1 ml, solution buvable et injectable - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cité 1 juill 2021]. Disponible sur: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60770621&typedoc=R>
48. Répertoire des spécialités pharmaceutiques [Internet]. [cité 14 févr 2022]. Disponible sur: <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/index.php>
49. Bordagaray M. L'aspirine indiquée dans les maladies chroniques cardiovasculaires : l'importance de ne pas en négliger la galénique. Bordeaux; 1991.
50. Boussonière J. Etude du genre Salix : de la découverte de l'aspirine aux utilisations actuelles de la drogue. Nantes; 2016.
51. Salix alba. In: Wikipédia [Internet]. 2021 [cité 17 oct 2021]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Salix_alba&oldid=185326417
52. Fuster V, Sweeny JM. Aspirin, a historical and contemporary therapeutic overview. *Circulation*. 22 févr 2011;123(7):768-78.
53. Universalis E. Réaction inflammatoire [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 26 août 2021]. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/reaction-inflammatoire/>
54. Universalis E. Découverte du papyrus Ebers [Internet]. Encyclopædia Universalis. [cité 26 août 2021]. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/decouverte-du-papyrus-ebers/>
55. Papyrus Ebers [Internet]. [cité 17 oct 2021]. Disponible sur: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/3d/G._Ebers_%28ed.%29%2C_Papyrus_Ebers%2C_1875_Wellcome_L0016592.jpg
56. Chast F. Histoire de l'aspirine. *Revue biologie médicale*. juill 2017;49-57.
57. Lafont O. Du saule à l'aspirine. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*. 2007;94(354):209-16.
58. Soubeiran E. Nouveau traité de pharmacie théorique et pratique. Vol. 2. Bruxelles: J-B de Wallens et compagnie; 1837. 580 p.
59. Dupont JC. L'invention du médicament. Une histoire des théories des remèdes. Hermann. Paris: Histoire des sciences; 2013. 284 p.
60. Dillinger JG. Histoire de l'aspirine, De sa découverte à son utilisation dans le monde moderne. *Cardiologie - Cardinale*. oct 2011;5(42).

61. Gerhardt Charles Frédéric [Internet]. Fédération des Sociétés d'Histoire et d'Archéologie d'Alsace. [cité 7 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.alsace-histoire.org/netdba/gerhardt-charles-frederic/>
62. Boussel P, Bonnemain H, Bové F. Histoire de la pharmacie et de l'industrie pharmaceutique. Editions de la porte verte. Paris; 1982. 287 p.
63. Frogerais A. L'Aspirine en France : un affrontement franco-allemand. Revue de l'histoire de la pharmacie. 2014;LXII(381):7-16.
64. Historique | Bayer France [Internet]. Bayer.fr. 2020 [cité 24 févr 2021]. Disponible sur: <https://www.bayer.fr/fr/historique>
65. Boucherle A. Histoires et légendes du médicament. Editions de santé. 1990;287.
66. Traité de Versailles. In: Wikipédia [Internet]. 2021 [cité 10 avr 2021]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Trait%C3%A9_de_Versailles&oldid=181732472
67. Javel P. Un scientifique aux compétences élargies face à l'arme chimique : Le Pharmacien, responsable sanitaire dans la Grande Guerre. [Nantes]: Nantes; 2020.
68. Upsarin C, 20 effervescent tablets [Internet]. A-Manada. [cité 24 sept 2021]. Disponible sur: <https://a-manada.pl/en/przeziebienie-goraczka/upsarin-c-20-tabletek-musujacych-dlugi-termin-waznosci>
69. Aspirine Upsa Vitamine C - 20 comprimés effervescents [Internet]. Mon pharmacien conseil. [cité 24 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.mon-pharmacien-conseil.com/rhume/736-aspirine-upsa-vitamine-c-20-comprimes-effervescents.html>
70. Bayer rachète son aspirine au groupe SmithKline Beecham [Internet]. Les Echos. 1994 [cité 24 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.lesechos.fr/1994/09/bayer-rachete-son-aspirine-au-groupe-smithkline-beecham-889243>
71. Anti-Douleur & Mal de Tête : Aspirine du Rhone 500mg Boite de 50 Comprimés à Avaler [Internet]. [cité 24 sept 2021]. Disponible sur: <https://chezpara.fr/pharmacie/douleurs-fievre/anti-douleur-mal-de-tete/aspirine-du-rhone-500mg-boite-de-50-comprimes-a-avalier.html>
72. Cancer colorectal : une vaste étude soulève à nouveau le possible rôle préventif de l'aspirine [Internet]. VIDAL. [cité 25 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/19330-cancer-colorectal-une-vaste-etude-souleve-a-nouveau-le-possible-role-preventif-de-l-aspirine.html>

73. DUOPLAVIN 75 mg/75 mg cp pellic [Internet]. VIDAL. [cité 26 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/duoplavin-75-mg-75-mg-cp-pellic-98660.html>
74. Yusuf S, Joseph P, Dans A, Gao P, Teo K, Xavier D, et al. Polypill with or without Aspirin in Persons without Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 21 janv 2021;384(3):216-28.
75. Limnatis nilotica movement - PICRYL Public Domain Image [Internet]. [cité 26 juill 2022]. Disponible sur: <https://jenikirbyhistory.getarchive.net/amp/media/limnatis-nilotica-movement-e8390a>
76. Petit K. Crédit photo. CHU de Nantes; 2022.
77. Hirudo medicinalis | DORIS [Internet]. [cité 11 nov 2021]. Disponible sur: <https://doris.ffessm.fr/Especes/Hirudo-medicinalis-Sangsue-medicinale-4138>
78. Noël P. La sangsue médicinale *Hirudo medicinalis* Linnaeus, 1758 [Internet]. Muséum national d'Histoire naturelle. Inventaire national du Patrimoine naturel; 2015 [cité 10 nov 2021]. Disponible sur: <http://inpn.mnhn.fr>
79. Romieux Y. La sangsue à travers les âges : Nathalie Guigne, La Sangsue : du bocal à l'hirudine. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*. 2000;88(327):416-7.
80. Mise au point :La sangsue en Egypte ancienne - Histoire de la médecine en Egypte ancienne [Internet]. 2014 [cité 11 nov 2021]. Disponible sur: <http://medecineegypte.canalblog.com/archives/2013/03/24/26724967.html>
81. Maugendre P, Poinssotte V, Brassier N, Chast F. De la sangsue à l'hirudine : une thérapeutique qui n'en démord pas. Utilisation à Paris du XVIIIe au XXe siècle. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*. 1996;(312):385-8.
82. Description de l'Égypte: ou, Recueil des observations et des recherches qui ont été faites en Égypte pendant l'expédition de l'armée française. C.L.F. Panckoucke; 1823. 590 p.
83. Jouanna J. La théorie des quatre humeurs et des quatre tempéraments dans la tradition latine (Vindicien, Pseudo-Soranos) et une source grecque retrouvée. *Revue des Études Grecques*. 2005;118(1):138-67.
84. Thivel A. Hippocrate et la théorie des humeurs. Centre de recherches d'histoire des idées CNRS; 1997.
85. Iain W. Historical Article: *Hirudo medicinalis*: ancient origins of, and trends in the use of medicinal leeches throughout history. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004;(42):133-7.

86. Théorie des humeurs image. In: Wikipédia [Internet]. 2021 [cité 21 nov 2021]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Th%C3%A9orie_des_humeurs&oldid=187773219
87. Julien P. Le cas Broussais : Michel Valentin, François Broussais, 1772-1838, empereur de la médecine. Jeunesse, correspondance, vie et oeuvre. Revue d'Histoire de la Pharmacie. 1988;76(277):211-3.
88. François-Joseph-Victor Broussais (1772 - 1838) [Internet]. [cité 16 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.medarus.org/Medecins/MedecinsTextes/broussais.html>
89. Duval C. Hirudo medicinalis : de sa physiologie à l'hirudothérapie. Rouen; 2013.
90. Sarlandière JB (1787 1838) A du texte. Bdellemètre du Dr Sarlandière [Internet]. [cité 15 nov 2021]. Disponible sur: <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k5809311j>
91. Malgaigne. Revue médico-chirurgicale. Paul Dupont. Vol. 5. France; 1849. 780 p.
92. Application de sangsues à usage médical ou hirudothérapie | HUG - Hôpitaux Universitaires de Genève [Internet]. [cité 11 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.hug.ch/procedures-de-soins/application-sangsues-usage-medical-ou>
93. Junren C, Xiaofang X, Huiqiong Z, Gangmin L, Yanpeng Y, Xiaoyu C, et al. Pharmacological Activities and Mechanisms of Hirudin and Its Derivatives - A Review. Front Pharmacol. 16 avr 2021;12:660757.
94. Prat S. Hirudo medicinalis : intérêts pharmaceutiques de l'Antiquité à nos jours. Limoges; 2013.
95. Jutzler GA. Die technisch-apparative Entwicklung der Dialyse. In: Psychonephrologie. Springer. Berlin; 1985. p. 3-12.
96. Fagnoni P, Boulin M. Traitement des thromboses veineuses profondes. In: Pharmacie Clinique et Thérapeutique [Internet]. Elsevier; 2018 [cité 3 déc 2021]. p. 421-436.e1. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9782294750779000268>
97. Association Française d'Urologie. Procès-verbaux, mémoires et discussions ... 1947. 462 p.
98. Notice HIRUCREME, crème [Internet]. [cité 2 déc 2021]. Disponible sur: <http://agence->

prd.anism.sante.fr/php/ecodex/frames.php?specid=61349454&typedoc=N&ref=N0201320.htm

99. Peccol S. Le délai d'intiation de la thrombolyse pré hospitalière et de l'angioplastie primaire des infarctus du myocarde pris en charge par le SMUR de Bordeaux de juillet 2001 à juillet 2002. 23 juin 2003;132.
100. Tillett W. A History of Streptokinase Use in Acute Myocardial Infarction [Internet]. 2007 [cité 14 févr 2022]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/A-History-of-Streptokinase-Use-in-Acute-Myocardial-Tillett/ff077c3f1f3d11d11a1b5ec5dd923a0909ed1f96>
101. The American Association of Immunologists - William S. Tillett [Internet]. [cité 20 oct 2022]. Disponible sur: <https://www.aai.org/About/History/Notable-Members/Lasker-Awardees/WilliamSTillett>
102. Desnoyers P, Michel PL, Vahanian A, Samama. Activateurs tissulaires du plasminogène (tPA) Leur avenir dans le traitement de l'infarctus du myocarde. Médecine/sciences. avr 1988;4(4):222-30.
103. THERASOLV (urokinase) [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 6 févr 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3152646/fr/therasolv-urokinase
104. Recommandations Embolie pulmonaire [Internet]. VIDAL. [cité 19 déc 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/embolie-pulmonaire-3581.html>

Nom - Prénom : DE LA ROCHE SAINT ANDRE Héloïse

Titre de la thèse :

Histoire des médicaments de l'hémostase, entre hasard et recherches.

Résumé de la thèse :

La famille des anticoagulants est vaste et ses origines sont variées, extraits de plantes ou d'animaux, synthétisés en chimie ou produits biologiquement, tous ont pour objectif d'agir sur la coagulation, à différents niveaux. Leur emploi devient de plus en plus courant et le pharmacien d'officine doit rester à l'écoute des patients pour mieux orienter le bon usage de ces molécules à risque.

Découvrez la multitude de protagonistes : étudiants comme éminents professeurs, médecins, pharmaciens, biologistes, scientifiques ou même fermiers, qui ont contribué à élaborer des médicaments aujourd'hui indispensables en cardiologie. Leurs histoires plus ou moins connues retracent des siècles de recherches, de croyances et surtout d'avancement.

MOTS CLÉS

ORIGINE, ANTICOAGULANTS, COAGULATION, RECHERCHES, SCIENTIFIQUES, PATIENTS

JURY

PRESIDENTE : Mme CARBONNELLE Delphine HDR, MCU de physiologie UFR Pharmacie Nantes

DIRECTRICE : Mme PETIT Karina : MCU de Pharmacognosie UFR Pharmacie Nantes

MEMBRE : M. JAVEL Pierre, Pharmacien d'officine, La Baule
