



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 295 021**

51 Int. Cl.:
A61L 31/14 (2006.01)
A61L 17/12 (2006.01)
A61L 27/18 (2006.01)
A61L 27/58 (2006.01)
A61L 31/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **00919621 .3**
86 Fecha de presentación : **24.03.2000**
87 Número de publicación de la solicitud: **1163019**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **19.12.2001**

54 Título: **Utilización y aplicaciones médicas de polímeros de poli(hidroxialcanoatos).**

30 Prioridad: **25.03.1999 US 126180 P**
02.07.1999 US 142238 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2008

73 Titular/es: **METABOLIX, Inc.**
21 Erie Street
Cambridge, Massachusetts 02139, US

72 Inventor/es: **Williams, Simon, F.;**
Martin, David, P. y
Skraly, Frank

74 Agente: **Urizar Anasagasti, José Antonio**

ES 2 295 021 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Utilización y aplicaciones médicas de polímeros de poli(hidroxialcanoatos).

5 **Campo de la invención**

La invención presente se refiere en general a implantes médicos que contienen biopolímeros de poli(hidroxialcanoatos) ("PHA"), así como a los usos médicos y los métodos para su preparación.

10 **Antecedentes de la invención**

En el área médica se ha desarrollado un número de polímeros degradables que se descomponen *in vivo* en sus monómeros respectivos en un plazo de semanas o de unos pocos meses. A pesar de la disponibilidad de estos polímeros sintéticos biodegradables, existe una necesidad de desarrollar polímeros degradables que puedan extender aún más el alcance de las propiedades disponibles, particularmente las propiedades mecánicas.

Los poli(hidroxialcanoatos) son poliésteres naturales termoplásticos y pueden procesarse mediante técnicas tradicionales de polímeros para su uso en una enorme gama de aplicaciones, incluyendo el empaque de bienes de consumo, el forro de los pañales desechables y las bolsas de basura, alimentos y productos médicos. Los esfuerzos iniciales se enfocaban en las aplicaciones de moldeado, en particular para el empaque de bienes de consumo tales como botellas, recipientes de cosméticos, plumas y soportes de pelotas de golf. Las Patentes de los EE.UU. números 4826493 y 4880592 describen la producción de películas de poli((R)-3-hidroxiбутирато) ("PHB") y poli((R)-3-hidroxiбутирато-co-(R)-3-hidroxiуалерато) ("PHBV") y su uso como refuerzo de la parte posterior de los pañales. La Patente de los EE.UU. n.º 5292860 describe la producción del copolímero poli(3-hidroxiбутирато-co-3-hidroxiуексаноато) y el uso de estos polímeros para fabricar la película del refuerzo de la parte posterior de pañales y otros elementos desechables. Los materiales del refuerzo de la parte posterior de los pañales y otros materiales para la confección de artículos de higiene personal, biodegradables o reciclables, a partir de copolímeros PHB diferentes del PHBV se describen en los documentos PCT WO 95/20 614, WO 95/20 621, WO 95/23 250, WO 95/20 615, WO 95/33 874, WO 96/08 535, y las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 502 116, 5 536 564 y 5 489 470.

Una de las propiedades más útiles de los PHAs que los distingue rápidamente de los polímeros derivados de la petroquímica es su biodegradabilidad. Producidos naturalmente a través de las bacterias del suelo, los PHAs se degradan mediante exposición subsiguiente a estas mismas bacterias en suelos, abonos o sedimentos marinos. La biodegradación de los PHAs depende de un número de factores, tales como la actividad microbiana del ambiente y el área superficial del elemento. También son factores importantes la temperatura, el pH, el peso molecular y la cristalinidad. La biodegradación comienza cuando los microorganismos comienzan a crecer sobre la superficie de las enzimas de excreción y plásticas que descomponen el polímero en unidades monoméricas de hidroxiácidos, que son entonces asimiladas por los microorganismos y utilizadas como fuentes de carbono para su crecimiento. En ambientes aeróbicos los polímeros se degradan a dióxido de carbono y agua, mientras que en ambientes anaeróbicos los productos de degradación son dióxido de carbono y metano (Williams & Peoples, CHEMTECH, 26:38-44 (1996)). Mientras que se considera ampliamente que el mecanismo para la degradación de PHAs en el ambiente es la vía del ataque enzimático y puede ser relativamente rápido, el mecanismo de degradación *in vivo* en general se entiende que involucra el ataque hidrolítico simple sobre los enlaces ésteres de los polímeros, en los que pueden o no mediar las proteínas. A diferencia de los polímeros que contienen 2-hidroxiácidos tales como el ácido poliglicólico y el ácido poliláctico, los poli(hidroxialcanoatos) normalmente están compuestos por 3-hidroxiácidos y, en ciertos casos 4-, 5-, y 6-hidroxiácidos. Los enlaces ésteres derivados de estos hidroxiácidos son menos susceptibles en general a la hidrólisis que los enlaces ésteres derivados de los 2-hidroxiácidos.

Los investigadores han desarrollado procesos para la producción de una gran variedad de PHAs y se han incorporado a polímeros alrededor de 100 monómeros diferentes en condiciones de fermentación controlada (Steinbüchel & Valentin, FEMS Microbiol. Lett., 128:219-28 (1995)). Actualmente hay sólo dos composiciones de PHA disponibles comercialmente: PHB y PHBV. Debido a la gran diversidad de sus composiciones, pueden producirse PHAs con una gama de propiedades físicas (Steinbüchel & Valentin, FEMS Microbiol. Lett., 128:219-28 (1995)). Los PHAs disponibles comercialmente, PHB y PHBV, representan sólo un pequeño componente de los conjuntos de propiedades disponibles en los PHAs. Por ejemplo, la elongación a ruptura de los PHBs se encuentra entre 4 y 42%, mientras que la misma propiedad en el caso del poli(4-hidroxiбутирато) ("P4HB") es de alrededor del 1000% (Saito & Doi, Int. J. Biol. Macromol. 16: 99-104 (1994)). De forma similar, los valores del módulo de Young y la fuerza de tracción para los PHB y PHBV son de 3,5 a 0,5 GPa y de 40 a 16 MPa respectivamente (para incrementar el contenido HV a 25% mol.), en comparación con 149 MPa y 104 Mpa respectivamente para P4HB (Saito & Doi, Int. J. Biol. Macromol. 16: 99-104 (1994)).

Los PHB y PHBV han sido estudiados extensamente para su uso en aplicaciones biomédicas, en adición a su uso comercial como un reemplazo biodegradable de resinas de productos sintéticos. Estos estudios abarcan desde usos potenciales en liberación sostenida (véanse e.g., Koosha, *et al.*, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 6:117-30 (1989) and Pouton & Akhtar, Adv. Drug Delivery Rev., 18:133-62 (1996)), al uso en la formulación de pastillas, suturas quirúrgicas, vendajes, polvos lubricantes, vasos sanguíneos, bastidores de apoyo de tejido, implantes quirúrgicos para unir partes tubulares del cuerpo, placas de fijación de fracturas óseas y otros usos ortopédicos, tal como se describen en el documento PCT WO 98/51 812. Los vendajes hechos de PHB se presentan en el documento G.B. 216 354 de Webb,

et al. El uso de PHB y PHBV para la preparación de una lámina porosa, flexible bioreabsorbible para la separación de tejidos y la estimulación de su regeneración en tejido blando dañado, constituye un avance del desarrollo médico descrito en el documento EP 754 467 A1 de Bowald *et. A.*, y en el documento EP 349 505 AD. También hay informes que describen el uso de PHBV para apoyar el crecimiento celular ((Rivard, *et al.*, J Appl. Biomat., 6:65-68 (1995)).

5 Además de la biocompatibilidad, también a menudo se desea que el dispositivo médico implantado se degrade luego que ha sido cumplida su función primaria. El PHB y PHBV son los únicos PHAs probados como implantes médicos hasta la fecha que han mostrado períodos de degradación *in vivo* muy prolongados, de más de un año para el PHB (Duvernoy, *et al.* Thorac. Cardiovasc. Surgeon 43:271-74 (1995); Malm, *et al.*, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 104:600-10
10 07 (1992). Para muchas aplicaciones, no es deseable este tiempo de degradación tan largo ya que la persistencia del polímero en el lugar de curación de la herida puede llevar a una respuesta inflamatoria crónica en el paciente. Se ha visto que los parches de PHB de degradación lenta utilizados para regenerar tejido arterial desarrollan una respuesta macrófaga a largo plazo (de más de dos años) (Malm, *et al.*, Eur. Surg. Res. 26:298-308 (1994). Se identificaron los macrófagos como involucrados en la degradación de los implantes de PHB y esta respuesta macrófaga a largo plazo
15 parece indicar la presencia de un material de partículas persistente, de lenta degradación, que se origina a partir del implante. Aunque un parche de PHB utilizado para la reparación del pericardio no pudo ser detectado bajo microscopía ligera regular luego de 12 meses de implantación, se observó un pequeño material residual de partículas mediante microscopía de luz polarizada (Malm, *et al.*, Scand. J. Thor. Cardiovasc. Surg. 26:9-14 (1992)). No queda claro si este material de partículas se queda colocado en el sitio del implante o si éste emigra a través del cuerpo, causando
20 posiblemente complicaciones imprevistas. La suerte biológica, o el impacto médico de este material de partículas, no pueden predecirse sin un estudio a largo plazo. Para minimizar los problemas potenciales asociados a los PHAs de degradación lenta, resulta ventajoso utilizar materiales reabsorbibles con capacidad de degradación *in vivo* más rápida.

25 Hay un solo reporte que describe la biocompatibilidad o la degradación *in vivo* de cualquier otro polímero de PHA en aplicaciones biomédicas (PCT WO 98/51 812). La Patente de los EE.UU. n° 5 334 698, otorgada a Witholt *et. al.*, expone artículos médicos fabricados con un poliéster activo desde el punto de vista óptico aislado a partir de células *Pseudomonas oleovorans*; sin embargo, no se muestran ejemplos o discusión alguna sobre pruebas realizadas a la fabricación o biocompatibilidad, y no se brindan métodos para obtener el polímero en una forma pura apropiada para
30 su uso médico *in vivo*. Como la bacteria apropiada para la producción de estos polímeros puede producir también una endotoxina, así como otros mediadores inflamatorios, es importante que el polímero sea procesado para eliminar estos contaminantes.

35 Para muchas aplicaciones, la velocidad de biodegradación del PHA es adecuada a la vida requerida del producto. Sin embargo, en ciertos casos sería deseable que pudiera ejercerse más control sobre la velocidad a la cual los polímeros se desintegran en el ambiente. Tal control extendería la gama de aplicaciones de esta clase de polímeros. Por ejemplo, una película de PHA puede tener propiedades mecánicas apropiadas para su uso como una película de abono, sin embargo no tener la velocidad de degradación óptima para la aplicación. La posibilidad de controlar la velocidad de degradación del polímero en el ambiente sería por tanto una ventaja distintiva.

40 La Patente de los EE.UU. n° 5 935 506 presenta una endoprótesis de PHB. La construcción de la endoprótesis que se reporta se bioreabsorbe rápidamente, contiene una gran cantidad de plastificador. Sin embargo, el enfoque de PHB plastificado no funciona, ya que se mostró una estenosis de la endoprótesis mayor del 90% después de cuatro semanas (véanse Behrend, American J. Cardiol. p. 45, TCT Abstracts (Oct. 1998); Unverdorben, *et al.*, American J. Cardiol. p. 46, TCT Abstracts (Oct. 1998)). Sería ventajoso aportar una endoprótesis bioreabsorbible con propiedades mecánicas mejoradas sin plastificador.

45 Por tanto, mientras los poli(hidroxialcanoatos) ofrecen un amplia gama de propiedades mecánicas que son potencialmente útiles en aplicaciones médicas, su uso particularmente *in vivo* como polímeros reabsorbibles se ha limitado debido a su hidrólisis lenta. Sería por tanto deseable el desarrollo de métodos para controlar la velocidad de degradación de los poli(hidroxialcanoatos).

55 El documento PCT WO98/51 812 expone métodos para fabricar una gama amplia de materiales biodegradables, biocompatibles de poliéster conocidos como poli(hidroxialcanoatos). Estos materiales se pueden producir con una alta pureza y son apropiados para su uso en aplicaciones médicas *in vivo*.

Es, por tanto, un objeto de esta invención brindar nuevos inventos y usos para composiciones compuestas por o derivadas de poli(hidroxialcanoatos) que se degraden con mayor rapidez en el ambiente *y/o in vivo*.

60 Otro objeto de esta invención radica en aportar métodos para la fabricación de artículos y medios a partir de estas composiciones.

Sumario de la invención

65 Según la presente invención se brinda un implante médico, biocompatible, para la fijación, afianzamiento, apoyo, reparación o refuerzo del tejido blando, conteniendo el implante una composición del homopolímero de poli(4-hidroxibutirato);

ES 2 295 021 T3

en el que la composición del homopolímero de poli(4-hidroxitirato) contiene aditivos que alteran la estabilidad química del polímero,

5 en el que el homopolímero de poli(4-hidroxitirato) tiene un peso molecular medio en el intervalo de 10 000 a 10 000 000 Daltons,

10 en el que el implante se selecciona entre el grupo que consta de fijadores de sutura; dispositivos de reparación de menisco; remaches, clavijas, tornillos de interferencia, mallas quirúrgicas para implantes de tejido blando para el refuerzo de tejido blando, para tirantes de defectos fasciales, para un parche de traquea u otro órgano, para recuperación de órganos, para material dural de injerto, para vendajes de heridas o quemaduras o para un tapón hemostático, cabestrillos, pasadores ortopédicos, barreras adhesivas, endoprótesis cardiovasculares, de gastroenterología o de uretra; dispositivos de reparación articular de cartílago; guías de nervios, dispositivos de reparación de tendones, dispositivos de reparación septal atrial, parches cardiovasculares para injertos vasculares, parcheo intracardiaco o cierre mediante parches después de endarterectomía; y parches de reparación para la reparación de defectos de paredes abdominales y torácicas, para hernias inguinales, ventrales, paraumbilicales, de escrotos o hernias femorales y de paracolostomías, para refuerzo de pliegues musculares, para refuerzo de incisiones largas y engrapados, para la reconstrucción de la pared pélvica, para la reparación de prolapso vaginal o rectal, para sostén de suturas y engrapados, para reparación urinaria o de vejiga o para vendajes.

20 Se brinda también un método para fabricar un implante médico biocompatible para la fijación, soporte, afianzamiento, reparación o refuerzo de tejido blando, conteniendo el implante una composición de homopolímero de poli(4-hidroxitirato),

25 en el que la composición del homopolímero de poli(4-hidroxitirato) contiene opcionalmente aditivos que alteran la estabilidad química del polímero,

en el que el homopolímero de poli(4-hidroxitirato) tiene un peso molecular medio en el intervalo de 100.00 a 10.000.000 Daltons, y comprende

30 el aporte de una composición de homopolímero de poli(4-hidroxitirato).

35 Las velocidades de degradación de los polímeros pueden manipularse mediante la adición de varios componentes a las composiciones poliméricas, así como la selección de la composición química, el peso molecular, las condiciones de procesamiento y la forma del producto polimérico final. La composición química puede alterarse a través de la selección de monómeros que puedan incorporarse al polímero, mediante alteración de sus enlaces, de la cadena principal química o de los grupos pendientes y/o mediante la manipulación del peso molecular. La composición de poli(hidroxiclcanoato) en el implante de la invención presente puede contener aditivos para alterar la velocidad de degradación. Puede incrementarse la porosidad, las sustancias hidrófilas incluidas y/o el área de exposición al agua, todo lo cual

40 en el que la composición del homopolímero de poli(4-hidroxitirato) contiene aditivos que alteran la estabilidad química del polímero,

45 en el que el homopolímero de poli(4-hidroxitirato) tiene un peso molecular medio en el intervalo de 10.000 a 10.000.000 Daltons,

50 formando o incorporando la composición del homopolímero de poli(4-hidroxitirato) en un implante seleccionado entre el grupo que consta de fijadores de sutura; dispositivos de reparación de menisco; remaches, clavijas, tornillos de interferencia, mallas quirúrgicas para implantes de tejido blando para el refuerzo de tejido blando, para tirantes de defectos fasciales, para un parche de traquea u otro órgano, para recuperación de órganos, para material dural de injerto, para vendajes de heridas o quemaduras o para un tapón hemostático, cabestrillos, pasadores ortopédicos, barreras adhesivas, stents cardiovasculares, de gastroenterología o de uretra; dispositivos de reparación articular de cartílago; guías de nervios, dispositivos de reparación de tendones, dispositivos de reparación septal atrial, parches cardiovasculares para injertos vasculares, parcheo intracardiaco o cierre mediante parches después de endarterectomía; y parches de reparación para la reparación de defectos de paredes abdominales y torácicas, para hernias inguinales, ventrales, paraumbilicales, de escrotos o hernias femorales y de paracolostomías, para refuerzo de pliegues musculares, para refuerzo de incisiones largas y engrapados, para la reconstrucción de la pared pélvica, para la reparación de prolapso vaginal o rectal, para sostén de suturas y engrapados, para reparación urinaria o de vejiga o para vendajes. > 55 aumentarán la velocidad de degradación. Los recubrimientos hidrófobos o la incorporación a, o mezcla con, sustancias hidrófobas con el polímero disminuirán la velocidad de degradación.

60 Los implantes preferidos incluyen fijadores de suturas, dispositivos de reparación de meniscos, remaches, clavijas, tornillos de interferencia, malla quirúrgica para los usos antes descritos, parches de reparación para los usos antes descritos, cabestrillos, parches cardiovasculares para los usos antes descritos, pasadores ortopédicos (incluyendo material para el aumento de relleno óseo), barreras de adhesión, los stents antes descritos, dispositivos de reparación articular de cartílagos, guías de nervios, dispositivos de reparación de tendones y dispositivos de reparación de defectos septales atriales. Las composiciones de poli(hidroxiclcanoatos) pueden utilizarse tanto en aplicaciones médicas existentes como en nuevas, incluyendo la administración de medicamentos y la liberación sostenida de medicamentos y otros

materiales bioactivos. Las composiciones de poli(hidroxicanoatos) pueden también utilizarse para hacer o conformar recubrimientos de una gran diversidad de dispositivos tales como, stents, catéteres y sensores. Sus ventajas en aplicaciones existentes o nuevas radican en el uso de un material sustituto biodegradable en la aplicación, o adición de cualquier otra característica o atributo deseado asociado con la aplicación o uso, tal como una propiedad mecánica o de superficie, propiedad física o química, técnica de esterilización, biocompatibilidad, mecanismo de degradación, preferencia de empaque y/o un tema de estabilidad.

Como demuestran los ejemplos, las composiciones de poli(hidroxicanoatos) que contienen poli(4HB) tienen propiedades mecánicas extremadamente favorables, así como el hecho de que son biocompatibles y se degradan dentro de marcos de tiempo apropiados bajo condiciones fisiológicas. Estos materiales de poli(hidroxicanoatos) brindan un intervalo más amplio de velocidades de degradación de poli(hidroxicanoatos) en comparación con los que actualmente están disponibles.

También se describen los métodos para el procesamiento de estos materiales para convertirlos en dispositivos que puedan ser implantados o inyectados.

Breve descripción de los diagramas

La Figura 1 es un esquema de biopolímeros de PHA divididos *grosso modo* en grupos de acuerdo a la longitud de sus grupos pendientes y de sus rutas biosintéticas respectivas.

La Figura 2a es un esquema de las rutas mediante las cuales se derivan los grupos pendientes cortos de PHAs. La Figura 2b es un esquema de las rutas mediante las cuales se derivan los grupos pendientes largos de PHAs.

La Figura 3 es un gráfico de la degradación *in vivo* del P4HB en el tiempo (semanas).

Descripción detallada de la invención

Se han desarrollado implantes médicos que contienen una composición biocompatible de poli(hidroxicanoatos) tal como se define en la Reivindicación 1 que se anexa

I. Definiciones

Un “polímero bioerosionable” es un polímero no soluble en agua que se convierte bajo condiciones fisiológicas en material soluble en agua sin tener en cuenta el mecanismo específico involucrado en el proceso de erosión. La “bioerosión” incluye tantos procesos físicos (tales como la disolución) como procesos químicos (tales como escisión de la cadena principal). El prefijo “bio” indica que la erosión ocurre bajo condiciones fisiológicas en oposición a otros procesos de erosión, causados, por ejemplo, por altas temperaturas, ácidos fuertes o bases, luz ultravioleta o condiciones atmosféricas. Los términos “bioreabsorción” y “bioabsorción” se utilizan indistintamente y a menudo implican que el polímero o sus productos de degradación son eliminados mediante actividad celular (e.g. fagocitosis) en un ambiente biológico.

Tal como se utiliza en la presente solicitud en referencia a los polímeros, el término “degradar” se refiere a escisión en la cadena del polímero, de tal manera que el peso molecular se mantenga aproximadamente constante al nivel de oligómero, manteniendo las partículas del polímero después de la degradación. El término “degradación completa” se refiere a la escisión del polímero a nivel molecular de manera que haya esencialmente pérdida total de masa. El término “degradación” tal como se utiliza en la presente solicitud incluye “degradación completa” a menos que se indique lo contrario.

Biocompatible se refiere a materiales que no generan una respuesta tóxica o inmunológica severa luego de su implantación o ingestión.

II. Composiciones de Poli(hidroxicanoatos) (“PHA”)

(1) Composiciones de Polímeros

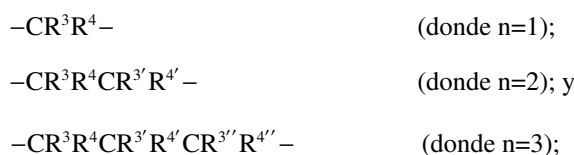
Los materiales de los PHAs contienen una o más unidades, por ejemplo entre 10 y 100.000 y preferiblemente entre 100 y 30.000 unidades de la siguiente fórmula I:



en la que n es un entero, por ejemplo entre 1 y 15, y en una realización preferida, entre 1 y 4; y en la que R¹, R², R³, y R⁴ pueden ser independientemente radicales de hidrocarburos que incluyen radicales de hidrocarburos de cadena larga; radicales halo e hidroxil sustituidos; radicales hidroxil; radicales halógenos; radicales sustituidos con nitrógeno; radicales sustituidos con oxígeno y/o átomos de hidrógeno.

ES 2 295 021 T3

La fórmula $-(CR^3R^4)_n-$ incluye las fórmulas siguientes:



10 en la que R^3 , R^4 , $R^{3'}$, $R^{4'}$, $R^{3''}$ y $R^{4''}$ pueden ser independientemente radicales de hidrocarburos incluyendo radicales de hidrocarburos de cadena larga; radicales halo e hidroxi sustituidos; radicales hidroxi; radicales halógeno; radicales sustituidos con nitrógeno; radicales sustituidos con oxígeno; y/o átomos de hidrógeno. Por tanto la fórmula I incluye unidades derivadas de 3-hidroxiácidos ($n=1$), 4-hidroxiácidos ($n=2$) y 5-hidroxiácidos ($n=3$).

15 Estas unidades pueden ser las mismas en un homopolímero o ser unidades más diferentes, como por ejemplo en un copolímero o terpolímero. Los polímeros típicamente tienen un peso molecular sobre 300, por ejemplo entre 300 y 10^7 , o, como los homopolímeros de poli(4-hidroxibutiratos) empleados en la presente invención, de 10.000 a 10.000.000 Daltons.

20 Los materiales de los PHAs pueden contener o ser modificados para incluir otras moléculas, tales como compuestos bioactivos y detectables, agentes superficiales activos, otros polímeros degradables o no degradables, así como materiales utilizados para modificar las propiedades mecánicas de los PHAs tales como plastificadores, rellenos, agentes nucleadores, colorantes, estabilizadores, modificadores y aglutinantes.

25 PHAs representativos se describen en Steinbüchel & Valentin, FEMS Microbiol. Lett., 128:219-28 (1995).

Los PHB y P4HB poseen propiedades físicas muy diferentes. Se conocen o pueden prepararse una gama de copolímeros PHA que contienen 4-hidroxibutirato con una gama de propiedades intermedias entre las de los PHB y las de los P4HB (Saito & Doi, Int. J. Biol. Macromol. 16:99-104 (1994)). Sin embargo, no se han reportado aplicaciones biomédicas, pruebas de biocompatibilidad ni degradación *in vivo* del P4HB y sus copolímeros. Los copolímeros PHA de 4HB y 3HB que varían en composición del 0 al 100% 4HB se han producido en *Alcaligenes eutrophus* (Nakamura, *et al.* Macromol. 25:4237-31 (1992)) y de 64 a 100% 4HB en *Comamonas acidovorans* (Saito & Doi, Int. J. Biol. Macromol. 16:99-104 (1994)). Sin embargo, estos polímeros eran de una masa molecular modesta (1×10^5 a 5×10^5 g/mol, por GPC) en comparación con la masa molecular producida en *E. coli* recombinante (mayor de 5×10^5 g/mol, GPC).

Los biopolímeros de PHAs pueden dividirse *grosso modo* en tres grupos según la longitud de sus grupos pendientes y sus rutas biosintéticas respectivas (Figura 1). Aquellos con grupos pendientes cortos, tales como un poli(hidroxibutirato) (PHB), unidades de un homopolímero de R-3-ácido hidroxibutírico (R-3HB), son materiales termoplásticos altamente cristalinos, y se conocen como los más largos (Lemoigne & Roukheldman, Annales des fermentations, 5:527-36 (1925)). Un segundo grupo de PHAs que contiene las unidades cortas R-3HB, polimerizadas aleatoriamente con unidades de grupos pendientes mucho más largos de ácidos hidroxi, se reportó primeramente a principios de los años setenta (Wallen & Rohwedder, Environ. Sci. Technol., 8:576-79 (1974)). También se conoce un número de microorganismos que producen específicamente copolímeros de R-3HB con estas unidades de grupos pendientes más largos de ácidos hidroxi y que pertenecen a este segundo grupo (Steinbüchel & Wiese, Appl. Microbiol. Biotechnol., 37:691-97 (1992)). A principios de los años ochenta, un grupo de investigación en los Países Bajos identificó un tercer grupo de PHAs que contenía ácidos hidroxi de grupos pendientes predominantemente más largos (De Smet, *et al.*, J. Bacteriol., 154:870-78 (1983)).

Los polímeros a base de PHAs pueden constituir hasta un 90% del peso en seco de las células de las bacterias y se encuentran como gránulos dentro de las células de las bacterias. Estos gránulos de PHA se acumulan en respuesta a la limitación de nutrientes y sirven como materiales de reserva de carbono y energía. Se utilizan rutas distintivas por parte de los microorganismos para producir cada tipo de estos polímeros. Una de estas rutas que llevan a los poli(hidroxialcanoatos) de grupos pendientes cortos (SPGPHAs) involucra a tres enzimas, a saber, la tiolasa, la reductasa y la sintasa PHB (también denominada polimerasa). Utilizando esta ruta, se sintetiza el homopolímero de PHB por condensación de dos moléculas de la acetil-Coenzima A para dar acetoacetil-Coenzima A, seguida de reducción de este intermediario a R-3-hidrobutirilo-Coenzima A y subsiguiente polimerización (Figura 2a). La última enzima en esta ruta, la sintasa, tiene una especificidad de sustrato que puede acomodar unidades monoméricas C3-C5 incluyendo unidades del ácido R-4-hidroxi y ácido R-5-hidroxi. La ruta biosintética se encuentra, por ejemplo, en las bacterias *Zoogloea ramigera* y *Alcaligenes eutrophus*. La ruta biosintética que se utiliza para alcanzar el tercer grupo de PHAs, los poli(hidroxialcanoatos) de grupos pendientes largos (LPGPHAs) todavía es parcialmente desconocida, no obstante, actualmente se piensa que las unidades monoméricas hidroxiacilo que llevan a los LPGPHAs se derivan mediante la oxidación β de ácidos grasos y la ruta del ácido graso (Figura 2b). Los sustratos de la R-3-hidroxiacilo-Coenzima resultante de estas rutas se polimerizan entonces mediante sintasas de PHA (también denominadas polimerasas) que tienen especificidades al sustrato que favorecen las unidades monoméricas más largas en el intervalo C6-C14. Los PHAs de grupos pendientes largos se producen, por ejemplo, por Pseudomonads.

ES 2 295 021 T3

Presumiblemente, el segundo grupo de PHAs que contienen tanto unidades cortas R-3HB como monómeros de grupos pendientes largos, utilizan ambas rutas mostradas en las Figuras 2a y 2b para aportar los monómeros de ácido hidroxil. Los últimos se polimerizan entonces mediante sintetas de PHAs capaces de aceptar estas unidades.

5 En general, se han incorporado alrededor de 100 tipos diferentes de ácidos hidroxil a los PHAs mediante métodos de fermentación (Steinbüchel & Valentin, FEMS Microbiol., Lett., 128:219-28 (1995)). Notablemente, estos incluyen PHAs que contienen grupos pendientes funcionalizados tales como grupos ésteres, enlaces dobles, alcoxi, aromáticos, halógenos e hidroxil.

10 Un poli(hidroxialcanoato) preferido para aplicaciones médicas es el poli(4-hidroxibutirato) (P4HB). El P4HB es biocompatible, reabsorbible, procesable, fuerte y dúctil. El mantenimiento de la resistencia a la ruptura es otro parámetro muy importante en el caso de materiales de suturas y presillas, especialmente los reabsorbibles. Como los materiales reabsorbibles se degradan *in vivo*, sus propiedades físicas y mecánicas cambian como resultado de esta degradación. Por ejemplo, una sutura reabsorbible perderá gran parte de su resistencia a la ruptura, y como tal su capacidad de fijación del tejido con mayor rapidez en comparación con el tiempo que demora su reabsorción completa. 15 Las suturas de ácido poliglicólico (PGA) por ejemplo, pierden la mayor parte de su resistencia *in vivo* en un período de tres semanas (Vet. Surg. 21; 192:355-61) pero no se reabsorben completamente antes de las seis semanas. Esta pérdida de su resistencia mecánica es el resultado de la disminución de la masa molecular del polímero. Es importante resaltar que un número de parámetros afectarán las velocidades de reabsorción y la resistencia a la ruptura *in vivo*, tales como el tipo de tejido, las tensiones mecánicas y la presencia de infección. 20

Los ejemplos demuestran que la velocidad de degradación del P4HB *in vivo* es rápida en relación con otros PHAs sin embargo, su velocidad de reabsorción es más lenta que la de muchos de los materiales utilizados como suturas reabsorbibles. Adicionalmente, tal como se muestra en la Tabla 7, los implantes de P4HB mantienen su masa molecular durante el proceso de reabsorción. Este mantenimiento de la masa molecular se considera beneficioso para el mantenimiento de las propiedades mecánicas y por ende para la resistencia a la ruptura de los PHAs utilizados como materiales para el cierre de heridas. Debido a sus excelentes propiedades mecánicas, mantenimiento de una alta masa molecular, su capacidad de procesamiento, su biocompatibilidad y capacidad de reabsorción, los P4HB y P4HB-co-HA son útiles en una diversidad de dispositivos médicos, incluyendo por ejemplo, materiales reabsorbibles para el cierre de heridas tales como materiales de sutura y engrapado. 30

(2) Fuentes de PHAs

Los materiales de los PHAs que pueden modificarse para alterar sus velocidades de degradación pueden derivarse de una fuente biológica, una fuente enzimática o una fuente química. La fuente biológica puede ser un microorganismo o un organismo superior tal como una planta y puede derivarse mediante ingeniería genética. 35

A mediados de los años 1980 algunos grupos de investigación estuvieron muy activos en la identificación y aislamiento de los genes y los productos genéticos responsables de la síntesis del PHA. Estos esfuerzos llevaron al desarrollo de sistemas transgénicos para la producción de PHAs tanto en microorganismos como en plantas, así como métodos enzimáticos para la síntesis del PHA. Tales rutas pueden incrementar aún más los tipos disponibles de PHAs. Estos avances han sido reseñados en Williams & Peoples, CHEMTECH, 26:38-44 (1996) and Williams & Peoples, Chem. Br. 33:29-32 (1997). 40

Los métodos que pueden utilizarse para la producción de polímeros de PHA apropiados para su modificación subsiguiente con el objeto de alterar sus velocidades de degradación se describen por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. No. 4910145 otorgada a Holmes, *et al.*; Byrom, "Miscellaneous Biomaterials" en Biomaterials (Byrom, Ed.), pp.333-59 (MacMillan Publishers, London 1991); Hocking & Marchessault, "Biopolyesters" en Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers (Griffin, Ed.), pp.48-96 (Chapman and Hall, London 1994); Holmes, "Biologically Produced (R)-3-hydroxyalkanoate Polymers and Copolymers", en Developments in Crystalline Polymers (Bassett Ed.), vol. 2, pp.1-65 (Elsevier, London 1988); Lafferty *et al.*; "Microbial Production of Poly-b-hydroxybutyric acid" en Biotechnology (Rehm & Reed, Eds.) vol. 66, pp. 135-76 (Verlagsgesellschaft, Weinheim 1988); Müller & Seebach, Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 32:477-502 (1993); Steinbüchel, "Polyhydroxyalkanoic Acids" en Biomaterials (Byrom, Ed.), pp. 123-213 (MacMillan Publishers, London 1991); Williams & Peoples, CHEMTECH, 26: 38-44, (1996); Steinbüchel & Wiese, Appl. Microbiol. Biotechnol., 37:691-697 (1992); las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 245 023; 5 250 430; 5 480 794; 5 512 669; y 5 534 432; Agostini, *et al.*, Polym. Sci., Part A-1, 9:2775-87 (1971); Gross, *et al.*, Macromolecules, 21:2657-68 (1988); Dubois, *et al.*, Macromolecules, 26:4407-12 (1993); Le Borgne & Spassky, Polymer, 30:2312-19 (1989); Tanahashi & Doi, Macromolecules, 24:5732-33 (1991); Hori, *et al.*, Macromolecules, 26:4388-90 (1993); Kemnitzer, *et al.*, Macromolecules, 26:1221-29 (1993); Hori, *et al.*, Macromolecules, 26:5533-34 (1993); Hocking, *et al.*, Polym. Bull., 30:163-70 (1993); Xie, *et al.*, Macromolecules, 30:6997-98 (1997); la Patente de los EE.UU. No. 5 563 239 otorgada a Hubbs; las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 489 470 y 5 520 116 otorgadas a Noda, *et al.* Los PHAs derivados de estos métodos pueden estar en cualquier forma, incluyendo una forma sólida o de látex. 50 55 60

La identificación, clonación y expresión de los genes involucrados en la biosíntesis de los PHAs a partir de numerosos microorganismos dentro de organismos recombinantes permite la producción de PHAs dentro de organismos que no son productores originales de PHA. Un ejemplo preferido es la *E. coli*, que es un anfitrión bien reconocido para la producción de biofarmacéuticos y PHAs para aplicaciones médicas. Tales organismos recombinantes les aportan 65

a los investigadores un mayor grado de control del proceso de producción del PHA porque están libres de las actividades enzimáticas de fondo para la biosíntesis de precursores de PHA indeseables o de la degradación del PHA. Adicionalmente, la selección adecuada de un organismo recombinante puede facilitar la producción de, o permitir la biocompatibilidad aumentada del PHA producido.

Los requerimientos mínimos para la síntesis del PHA en un organismo recombinante son una fuente de hidroxialcanoilo-CoA y una sintasa de PHA apropiada (Gerngross & Martin, Proc. Natl. Acad. Sci. 92:6279-83(1995)). Los productores recombinantes de PHA requieren por tanto una ruta biosintética para un monómero hidroxialcanoilo-CoA y una sintasa de PHA apropiada. La producción de un homopolímero requiere que el organismo produzca únicamente un sustrato apropiado para la sintasa de PHA, ya que la producción de sustratos múltiples resulta en la formación de un copolímero de PHA. Los organismos recombinantes que contienen un transgen que codifica a una sintasa de PHA son suficientes para la producción de P4HB.

En ausencia de las rutas de degradación del PHA, la masa molecular del PHA acumulada en los organismos recombinantes puede ser muy elevada. Se ha reportado que el PHB producido en la *E. coli* recombinante tiene una masa molecular de 4×10^6 g/mol (Sim, *et al.*, Nature Biotech. 15:63-67 (1997)). La masa molecular es importante para el control de las propiedades físicas de un PHA dado, porque la masa molecular incrementada de los PHAs producidos en organismos recombinantes puede llevar a propiedades materiales mejoradas, tales como una resistencia a la tracción incrementada y alargamiento a ruptura (Kusaka, *et al.*, J.M.S. Pure Appl. Chem. A35: 319-35 (1998)).

La biosíntesis del P3HB-co-4HB que contiene un nivel bajo de 4HB (1,5%) ha sido descrita en *E. coli* recombinante (Valentin, *et al.*, J. Biotech 58:33-38 (1997)). Es notable que las masas moleculares de estos PHAs eran muy elevadas (mayores de 1×10^6 g/mol). Adicionalmente, ha sido descrita la biosíntesis del P3HB-co-4HB y del homopolímero de P4HB en la *E. coli* recombinante (Hein, *et al.*, FEMS Microbiol. Lett., 153:411-18 (1997)).

En adición al uso de rutas biológicas para la síntesis del PHA, los polímeros de PHA pueden derivarse también mediante síntesis química. Un enfoque ampliamente utilizado involucra la polimerización en apertura de anillo de los monómeros de lactona- β utilizando varios catalizadores o iniciadores tales como aluminóxanos, di-estaño-oxanos o zinc-alcoxi y compuestos alcoxi-aluminio (véanse Agostini, *et al.*, Polym. Sci., Part A-1, 9:2775-87 (1971); Gross, *et al.*, Macromolecules, 21:2657-68 (1988); Dubois, *et al.*, Macromolecules, 26:4407-12 (1993); Le Borgne & Spassky, Polymer, 30:2312-19 (1989); Tanahashi & Doi, Macromolecules, 24:5732-33 (1991); Hori, *et al.*, Macromolecules, 26:4388-90 (1993); Kemnitzer, *et al.*, Macromolecules, 26: 1221-29 (1993); Hori, *et al.*, Macromolecules, 26:5533-34 (1993); Hocking & Marchessault, Polym. Bull. 30:163-70 (1993). Un segundo enfoque involucra la polimerización por condensación de ésteres y se describe en la Patente de los EE.UU. No 5 563 239 otorgada a Hubbs, *et al.* Los investigadores han desarrollado también métodos químico-enzimáticos para preparar los PHAs. Por ejemplo, Xie *et al.*, Macromolecules, 30:6997-98 (1997) expone una polimerización por apertura del anillo de beta-butirolactona mediante lipasas termofílicas para producir PHB.

La producción biológica de P4HB o P4HB-co-HA tiene ciertas ventajas sobre los métodos químicos sintéticos tradicionales. La síntesis química de P4HB de masa molecular elevada (mayor de 1×10^5 g/mol) es difícil debido a la tendencia del ácido libre a formar la lactona para formar el anillo de cinco miembros relativamente no restringido y cinéticamente favorecido. Por tanto, la policondensación del ácido 4-hidroxibutírico es difícil de lograr, a la vez que el material que resulta de las reacciones de polimerización de alta presión de apertura del anillo de γ -butirolactona es de muy baja masa molecular (Korte & Gelt, Polymer Lett., 4:685 (1966)) y tendría propiedades mecánicas pobres. Una estrategia sintética alterna para el P4HB, la polimerización por apertura del anillo del radical libre de 2-metileno dioxolano, resulta en un copolímero que contiene unidades de anillo abierto y no abierto (Bailey, *et al.* J Polym. Sci. Polym. Chem. 20:3021-30 (1982); Bailey, J. Polym. Preprints 25:210-11 (1984)). 4HB ha sido copolimerizado exitosamente con 3HB vía la polimerización del anillo abierto (Hori, *et al.*, Polymer 36:4703-05 (1996)). Sin embargo, el peso molecular de los copolímeros fue modesto (menos de 1×10^5 g/mol), especialmente para las composiciones con más del 80% de 4HB (menos de 2×10^4 g/mol). Adicionalmente muchos de los catalizadores utilizados para la síntesis química de los poliésteres contienen metales tóxicos. Estos contaminantes tóxicos pueden ser evitados utilizando un proceso biológico para producir los PHAs.

(3) Formulaciones de PHA que tienen velocidades de degradación alteradas

A. Aditivos que alteran las velocidades de degradación

La hidrólisis de los poli(hidroxialcanoatos) se acelera a pHs ácidos o básicos y por tanto la inclusión de aditivos ácidos o básicos o excipientes, puede utilizarse para modular la velocidad de degradación de los PHAs. Los excipientes pueden añadirse como partículas, pueden mezclarse con cualquier otro aditivo o agente incorporado o a ser incorporado, o pueden ser disueltos dentro del polímero. Los aditivos que mejoran la velocidad de degradación incluyen ácidos inorgánicos tales como sulfato de amonio y cloruro de amonio, ácidos orgánicos tales como ácido cítrico, ácidos benzoicos, péptidos, ácido ascórbico, bases inorgánicas tales como carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, carbonato de zinc e hidróxido de zinc, y bases orgánicas tales como sulfato de protamina, espermina, colina, etanolamina, dietanolamina y trietanolamina y tensioactivos tales como TWEENTM y PLURONICTM. Tales aditivos pueden utilizarse en concentraciones entre 0,1 y 30% por peso.

La velocidad de degradación puede mejorarse también mediante aditivos que forman poros o que también pueden incrementar el área de superficie en el polímero o que incrementan el contenido amorfo del polímero. Los agentes formadores de poros se añaden generalmente como partículas e incluyen compuestos solubles en agua tales como sales inorgánicas y azúcares que pueden ser eliminados mediante lixiviación. Las partículas apropiadas incluyen cristales de sales, proteínas tales como gelatina y azarosa, almidones, polisacáridos tales como alginato y otros polímeros. Los diámetros de las partículas pueden estar entre nanómetros y 500 micrones. También pueden ser liofilizables. Los agentes formadores de poros pueden añadirse en una cantidad entre 0,01% al 90% peso a volumen, tal como a un nivel entre uno y treinta por ciento (w/w, polímero), para aumentar la formación de poros. Por ejemplo, en secado mediante rociado o evaporación de solvente, un agente tal como una sal volátil, por ejemplo bicarbonato de amonio, acetato de amonio, cloruro de amonio o benzoato de amonio u otra sal liofilizable, se disuelve primero en agua. La solución que contiene el agente formador de poros se emulsiona entonces con la solución del polímero para crear gotas en el polímero del agente formador de poros. Esta emulsión se rocía en seco entonces o se lleva a través de un proceso de evaporación/extracción del solvente. Después que se precipita el polímero, las micropartículas endurecidas se congelan y liofilizan para eliminar los agentes formadores de poros. Los plastificadores, tales como los ésteres de citrato y otros polímeros como los poli(hidroxialcanoatos) atáxicos, pueden ser añadidos para incrementar el carácter amorfo del polímero.

Los recubrimientos hidrófobos o los materiales que pueden incorporarse para aumentar las velocidades de degradación incluyen compuestos hidrófobos tales como fosfolípidos, colesterol y otros polímeros, así como tensioactivos. Estos materiales y métodos para formar recubrimientos o la incorporación a materiales se describen en la WO 96/18 420 por Bracco Research SA, WO 92/18 164 por Delta Biotechnology, Ltd., WO 95/03 356 por el Massachusetts Institute of Technology, PCT/EE.UU.97/03 007 por Acusphere, Patente de los EE.UU. No. 5 271 961 otorgada a Mathiowitz, *et al.*, Patente de los EE.UU. No. 5 711 933 otorgada a Bichon, *et al.*, y Patente de los EE.UU. No. 5 705 187 otorgada a Unger. Los ejemplos específicos presentan ácidos grasos y fosfolípidos como emulsionantes para estabilizar la fase aceitosa en la fase acuosa durante el proceso de emulsión/encapsulado, con el resultado de que las microesferas están recubiertas con una capa externa del surfactante. El uso de aditivos tales como grasas, ceras e hidrocarburos de elevado peso molecular también se expone para hidrofobizar las paredes del polímero y para disminuir la velocidad de penetración del agua.

30 B. Modificación de los grupos pendientes de PHA

Un método alternativo para alterar la velocidad de degradación de los polímeros de PHA involucra la modificación de los grupos pendientes de poli(hidroxialcanoatos). Los grupos pendientes pueden modificarse total o parcialmente. Los grupos pendientes pueden, por ejemplo, convertirse a grupos ácidos o básicos, tales como ácidos carboxílicos y aminas. Estos tipos de grupos pueden mejorar la degradación alternando los valores locales del pH. Alternativamente, los grupos pendientes pueden ser convertidos a grupos reactivos, tales como alcoholes y aminas, que pueden escindir el cadena principal del polímero por reacción intramolecular o intermolecular. En adición a estas conversiones, los grupos pendientes pueden también convertirse a grupos hidrofílicos para aumentar la asimilación de agentes hidrolíticos tales como el agua, o pueden ser convertidos a grupos que pudieran aumentar la naturaleza amorfa de los polímeros. Los procedimientos requeridos para llevar a cabo la conversión de grupos funcionales de los grupos pendientes son bien conocidos por los expertos en la técnica. Un método apropiado que puede utilizarse para preparar un PHA que incorpora una unidad que altera la velocidad de degradación del polímero, se expone en la WO 98/39 453 otorgada a Hein, *et al.* Los grupos pendientes apropiados en los polímeros de PHA que alterarán la velocidad de degradación pueden derivarse también directamente mediante fermentación.

45 C. Modificación química de los PHAs

La velocidad de hidrólisis de un poli(hidroxialcanoato) depende de un número de factores. Un factor clave es la naturaleza química o reactividad de los enlaces de éster entre los monómeros. La velocidad de degradación de la cadena principal del PHA puede ser alterada por tanto incorporando dentro la cadena principal del polímero enlaces químicos que son más susceptibles a la hidrólisis o al ataque enzimático. Los ejemplos de monómeros que pueden incorporarse a la cadena principal de los poli(hidroxialcanoatos) para alterar la velocidad de degradación del polímero son ácidos 2-hidroxi, tales como ácido glicólico y ácido láctico, y otros hidroxiaácidos que modulan la reactividad del enlace éster, tales como el ácido acético 2-hidroxietoxi. Además de la incorporación de otros hidrácidos que producen ésteres que son más susceptibles al ataque hidrolítico o enzimático, pueden incorporarse otros tipos de funcionalidades dentro la cadena principal del polímero. Por ejemplo, uno o más enlaces éster pueden ser reemplazados por grupos tales como amidas, anhídridos, carbonatos o carbamatos. Los ejemplos de monómeros que pueden incorporarse a la cadena principal de poli(hidroxialcanoatos) son los aminoácidos y aminoalcoholes. Es más, los monómeros multifuncionales pueden incorporarse a la cadena principal de los poli(hidroxialcanoatos), por ejemplo, trioles o tetraoles. Estos tipos de unidades de monómeros pueden utilizarse también para aumentar o mantener el peso molecular del polímero mediante entrecruzamiento de cadenas internas o para modificar la cristalinidad de los polímeros.

Pueden utilizarse una diversidad de métodos para incorporar los enlaces químicos susceptibles a las cadenas principales de los alcanoatos. Por ejemplo, pueden añadirse coalimentaciones durante la fermentación de los PHAs que resultan en la incorporación de los monómeros deseados. Las coalimentaciones apropiadas incluyen ácidos hidroalcoxi acéticos. Estos tipos de monómeros pueden incorporarse también durante la síntesis química de monómeros hidroxiaácidos utilizando catalizadores y vía derivados de coenzimas A utilizando catalizadores enzimáticos tales como las sintasas de PHA.

Los enlaces químicos susceptibles pueden incorporarse también a las cadenas principales de los poli(hidroxicanoatos) después de su síntesis inicial. Los métodos para alcanzar esto incluyen transformaciones químicas tales como la inserción de reacciones, irradiación, esterificación, transesterificación (véanse e.g., Otera, *et al.*, Tetrahedron Lett., 27: 2383-86 (1986); Otera J. *et al.*, Org. Chem., 56: 5307-11 (1991), Otera, *et al.*, J. Org. Chem., 54: 4013-14 (1989); y Otera, *et al.*, J Chem. Soc.Chem. Commun. 1742-43 (1991)), reacciones de transposición de ésteres (véase e.g., Stanton & Gagné, J Am. Chem. Soc., 119: 5075-76 (1997) y la mezcla reactiva. En este último caso, las reacciones químicas pueden realizarse en fusión con un catalizador presente. Por ejemplo, los ésteres o poliésteres pueden derretirse con poli(hidroxicanoatos) en presencia de catalizadores apropiados para poder modificar químicamente al poli(hidroxicanoato).

D. Procesamiento de PHAs incluyendo enlaces susceptibles

Los poli(hidroxicanoatos) pueden manipularse aún más utilizando una gama amplia de técnicas de procesamiento de polímeros. Los métodos para el procesamiento de estos materiales incluyen vaciado con solventes, procesamiento en fusión, hilado/tejadura de las fibras, extrusión, moldeado por compresión e inyección, y laminación.

III. Dispositivos y métodos para producción de los mismos

Las composiciones de poli(4-hidroxibutirato) son útiles en la preparación de una diversidad de dispositivos médicos biodegradables y/o bioabsorbibles (implantes) o los recubrimientos de los mismos. Las composiciones biodegradables de polímeros exhiben preferiblemente una biodegradación relativamente lenta, por ejemplo, que tienen una vida media *in vivo* de entre tres y seis meses o menos. El polímero preferiblemente tiene una temperatura de transición relativamente baja del punto de fusión/transición vítrea, por ejemplo de menos de 136°C, y/o es soluble en un solvente no tóxico, no halogenado para facilitar su procesamiento.

Más adelante se describen los dispositivos y aplicaciones representativas. Los materiales de estado de la técnica en estos dispositivos y aplicaciones pueden ser reemplazados total o parcialmente con las composiciones biocompatibles de poli(4-hidroxibutirato) descritas en la presente solicitud para brindar las especificaciones del dispositivo, tales como velocidad de degradación y propiedades mecánicas.

(1) Dispositivos de fijación de suturas

Estos dispositivos se utilizan típicamente para reincorporar el tejido al hueso. A menudo los procedimientos incluyen la fijación del tendón, ligamento u otro tejido blando a los huesos en hombros, rodillas, codos, muñecas, manos y tobillos. En una variante, los anclajes de huesos se insertan dentro del hueso y entonces se sutura el tejido blando, tal como un ligamento o tendón, al punto de anclaje. El procedimiento puede realizarse de manera abierta o preferiblemente utilizando una técnica invasiva mínima (mínimo acceso) en la que el dispositivo se coloca mediante un dispositivo apropiado de colocación. Los ejemplos de fijadores de suturas actualmente en uso que son representativos de la técnica moderna incluyen el Anclaje Biodegradable Bionx (Bionx Implants, Bluebell, PA), el Fijador de Sutura al Hueso BioROC EZ™ (Innovasive Devices, Marlborough, MA), el Dispositivo Reabsorbible de Fijación de Tejido Blando (Zimmer, Warsaw, IN) y los Anclajes Bioabsorbibles Acufex TAG (Smith & Nephew Endoscopy, Mansfield, MA). Los dispositivos de fijación de suturas pueden ser fabricados según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU., Nos. 5 814 071; 5 797 963; 5 735 875; 5 725 529; 5 649 963; 5 643 321; 5 593 425; 5 423 821; 5 269 809; 5 268 001; 5 163 960; y 5 041 129.

(2) Dispositivos de reparación del menisco

Existe un número de dispositivos para la reparación de lesiones del menisco. En un procedimiento, estos dispositivos ortopédicos de fijación se utilizan para asegurar la fijación de lesiones longitudinales verticales del menisco (lesiones del asa del balde) situadas en el área vascularizada del menisco en combinación con una inmovilización apropiada. Los dispositivos se utilizan a menudo en la cirugía de mínimo acceso. Los ejemplos de dispositivos de reparación en uso representativos de la técnica moderna incluyen la Flecha del Menisco BIOFIX™ (Bioscience, Inc., Malvern, PA), la Barra de Fijación T de Sutura Bar (Acufex Microsurgical, Inc.), y el Dardo del Menisco (Innovasive Devices, Marlborough, MA). Los dispositivos de reparación de menisco a base de poli(hidroxicanoato) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos por de Goot, Biomaterials, 18: 613-22 (1997), y en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 855 619; 5 853 746; 5 725 556; 5 645 589; 5 059 206; 5 035 713; 4 976 715; 4 924 865; 4 895 148; y la 4 884 572.

(3) Remaches y clavijas

Los remaches y clavijas biodegradables pueden utilizarse en la reinsertión de tejidos blandos. Los usos particulares incluyen la reinsertión de tejido blando del hombro, incluyendo reparaciones de inestabilidad en el hombro (procedimientos Bankart), reparación de lesión SLAP, reparación de separación acromio-clavicular, reparación de la rotación del puño, cambio capsular o reconstrucciones capsulares, tenodesis de bíceps y reparación del deltoides. El LactoSorb Pop Rivet (Biomet, Inc., Warsaw, IN) es un ejemplo de dispositivo moderno de remache. Los dispositivos de remache y clavijas a base de poli(alcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos por Speer, *et al.*, Clin. Orthop. 291: 67-74 (1993), y las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 840 078; 4 895 148; 5 868 747; 5 843 084; 5 840 078; 5 827298; 5 807 292; 5 785 713; 5 730 744.

(4) *Tornillos de interferencia*

Los tornillos biodegradables de interferencia pueden utilizarse en la fijación de tejido blando. Tales tornillos pueden utilizarse por ejemplo, para fijar injertos de tejido blando durante cirugías cruciformes de reconstrucción de ligamentos de la rodilla. Como ejemplo de estado de la técnica en materia de tornillos se incluye el Tornillo RCI (Smith & Nephew, Carlsbad, CA) y el Tornillo Arthrex BIO-INTERFERENCE™ (Arthrex, Naples, FL). Los tornillos de poli(hidroxiclcanoato) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 275 601; 5 584 836; 5 364 400; 5 348 026; 5 876 455; 5 632 748; 5 496 326; 5 718 706; 5 690 222; 5 383 878; 5 425 733; 5 417 692; 4 927 421; 5 211 647; 5 116 337; y 4 927 421.

(5) *Malla quirúrgica*

La malla quirúrgica biodegradable puede utilizarse en cirugía general. Por ejemplo, las mallas quirúrgicas se utilizan en el tratamiento de hernias en las que el tejido conectivo se ha desprendido o como material para un cabestrillo para sostener el reposicionamiento y apoyo del cuello de la vejiga en el caso de incontinencia urinaria en la mujer. En la presente invención, tales mallas (tapones) se utilizan como implantes de tejido blando para el refuerzo del tejido blando; por ejemplo, en la reparación de aponeurosis abdominales y de la pared abdominal, para defectos fasciales y capsulares, como un parche de traquea u otro órgano, restauración de órganos, cabestrillos (incluyendo un cabestrillo intestinal), material de injerto dural, vendajes de heridas o quemaduras y como un tampón hemostático. Como ejemplo de estado de la técnica en materia de mallas se incluye la Matriz Biosintética de Malla Quirúrgica Brennan (Brennan Medical, St. Paul, MN), Parches GORE-TEX™ (Gore, Flagstaff, AZ), y SEPRAMESH™ (Genzyme Corporation, MA). Las mallas quirúrgicas de poli(hidroxiclcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos por Bupta, *Medical textile structures: an overview* Medical Plastics and Biomaterials, pp. 16-30 (Jan./Feb. 1998) y por los métodos descritos por las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 843 084; 5 836 961; 5 817 123; 5 747 390; 5 736 372; 5 679 723; 5 634 931; 5 626 611; 5 593 441; 5 578 046; 5 516 565; 5 397 332; 5 393 594; 5 368 602; 5 252 701; 4 838 884; 4 655 221; 4 633 873; 4 441 496; 4 052 988; 3 875 937; 3 797 499; y 3 739 773.

(6) *Parche de reparación*

Los parches biodegradables de reparación pueden utilizarse en la cirugía general. En la presente invención estos parches se utilizan para la reparación de defectos de paredes abdominales y torácicas, en hernias inguinales, en paracolostomías, ventrales, paraumbilicales, escrotales, femorales y otras hernias, como refuerzo de pliegues musculares, para reforzar líneas de engrampado e incisiones largas, para la reconstrucción de la pared pélvica, reparación de prolapso rectales y vaginales, apoyos de suturas y grapas, reparación de vejiga y urinaria o vendajes. Como ejemplo de estado de la técnica en materia de parches se incluye el producto TISSUEGUARD™ (Bio-Vascular Inc., St Paul, MN). Los parches de reparación a base de poli(hidroxiclcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 858 505; 5 795 584; 5 634 931; 5 614 284; 5 702 409; 5 690 675; 5 433 996; 5 326 355; 5 147 387; 4 052 988, y 3 875 937.

(7) *Cabestrillo*

Los cabestrillos biodegradables pueden utilizarse como implantes para reforzar el tejido blando donde exista debilidad. Los ejemplos de tales procedimientos incluyen el sostén pubouretral y de vejiga, la reparación del prolapso uretral y vaginal, la reconstrucción de la pared pélvica y la suspensión sacro-colpos. El dispositivo puede utilizarse para tratar la incontinencia urinaria en la mujer resultante de hipermovilidad uretral o deficiencia intrínseca del esfínter. Como ejemplos de estado de la técnica se incluye el Cabestrillo SUSPEND™ (Mentor Corporation, Minneapolis, MN). Los dispositivos de cabestrillo a base de poli(hidroxiclcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 700 479; 5 860 425; 5 836 315; 5 836 314; 5 813 408; 5 690 655; 5 611 515; 4 217 890.

(8) *Parche cardiovascular*

Los parches cardiovasculares biodegradables se utilizan, en la presente invención, para injerto de parche vascular (aumento de la arteria pulmonar), para parche intracardiaco, y para el cierre mediante parche luego de la endarterectomía. Como ejemplos de estado de la técnica de materiales similares de parches se incluyen los parches Sulzer Vascutek FLUOROPASSIC™ y géneros (Sulzer Carbomedics Inc., AUSTin, TX). Los parches cardiovasculares a base de poli(hidroxiclcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 716 395; 5 100 422, 5 104 400; y 5 700 287; y por Malm, *et al.*, Eur. Surg. Res., 26:298-308 (1994).

(9) *Pasadores Ortopédicos*

Los pasadores biodegradables se utilizan, en la presente invención, para la fijación de tejido blando. Tales dispositivos han sido utilizados por ejemplo, para estabilizar fracturas de muñeca, pie, tobillo, mano, codo, hombro y rodilla. Como ejemplo de estado de la técnica los dispositivos incluyen el Pasador Reabsorbible de Membrana RESOR-PIN™ (Geistlich-Pharma, Washington, DC). Los pasadores ortopédicos a base de poli(hidroxiclcanoatos) pueden fabricarse mediante técnicas convencionales de procesamiento tales como las técnicas de procesamiento en fusión, por moldeado mediante inyección y compresión, formación de fibras, así como técnicas basadas en solventes.

ES 2 295 021 T3

(10) Barreras de adhesión

Las barreras biodegradables de adhesión se utilizan en cirugía general para evitar adhesiones no deseadas, particularmente después de la cirugía. Como ejemplo de dispositivos de estado de la técnica utilizados con estos propósitos se incluye la Barrera Absorbible de Adhesión Endopath INTERCEED™ (Ethicon, Inc.), y SEPRAFILM™ (Genzyme, Cambridge, MA). Las barreras de adhesión a base de poli(hidroxialcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 824 658; 5 795 584; 5 791 352; 5 711 958; 5 639 468; 5 626 863; 5 626 622; 5 607 686; 5 580 923; 5 137 875, y 4 840 626.

10 (11) Endoprótesis

Las endoprótesis se utilizan actualmente en una gama de aplicaciones médicas para evitar normalmente la reoclusión de un vaso. En la presente invención, las endoprótesis son endoprótesis cardiovasculares, de gastroenterología o de uréter. Generalmente estas endoprótesis son no degradables. Las endoprótesis de uréter y de uretra se utilizan para aliviar la obstrucción en una variedad de condiciones benignas, malignas y post traumáticas tales como la presencia de piedras y/o fragmentos de piedras, u otras obstrucciones uretrales tales como las asociadas con la estrechez del uréter, el carcinoma de los órganos abdominales, la fibrosis retroperitoneal o el trauma de uréter, o en asociación con las ondas de choque de la litotricia extra corpórea. La endoprótesis puede colocarse utilizando técnicas de endoscopia quirúrgica o de manera percutánea. Como ejemplos de endoprótesis modernas se incluye la endoprótesis de doble coleta de uréter (C.R Bard, Inc., Covington, GA), SpiraStent (Urosurge, Coralville, IA), y las Endoprótesis Urológicas Uretrales y Uretrales Cook (Cook Urological, Spencer, IN).

Una ventaja de las endoprótesis de poli(hidroxialcanoatos) es su bioabsorbibilidad, que es particularmente deseada en aplicaciones tales como las urológicas, ya que no se requiere una segunda intervención para retirar la endoprótesis. Es más, uno de los problemas principales derivados del uso de endoprótesis metálicas en aplicaciones cardiovasculares es la restenosis subsiguiente causada por el crecimiento excesivo de la pared endotelial, que se cree se debe al menos en parte, a la irritación causada por la endoprótesis metálica sobre la pared del vaso (véanse Behrend, American J. Cardiol. p. 45, TCT Abstracts (Oct 1998); Unverdorben, *et al.*, American J. Cardiol. p. 46, TCT Abstracts (Oct. 1998)); Unverdorben, *et al.*, American J. Cardiol. p. 46, TCT Abstracts (Oct. 1998)). Un redactor bioabsorbible hecho de, o revestido con un poli(hidroxialcanoato) debe producir una irritación reducida o ninguna.

Las endoprótesis de poli(hidroxialcanoato) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 792 106; 5 769 883; 5 766 710; 5 670 161; 5 629 077; 5 551 954; 5 500 013; 5 464 450; 5 443 458; 5 306 286; 5 059 211 y 5 085 629. Véanse también Tanquay, *Cardiology Clinics*, 23:699-713 (1994), y Talja, J. *Endourology*, 11:391-97 (1997).

35 (12) Reparación articular de cartílago

Las matrices biodegradables de polímeros, por sí solas o incorporando células y/o factores de crecimiento molecular bioactivos se han utilizado para reparar defectos articulares de cartílagos. Como ejemplo de un material utilizado en tal procedimiento se destaca el ácido poliláctico (Schroder, *et al.*, J Biomed Mat. Res., 25:329-39 (1991)). Los dispositivos de reparación articular de cartílagos a base de poli(hidroxialcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 876 452; 5 736 372; 5 716 981; 5 700 774; 5 655 546; y 5 041138.

45 (13) Guías para nervios y reparación de tendón

Los dispositivos biodegradables pueden utilizarse como guías para facilitar el recrecimiento y reconexión de nervios y tendones dañados o cortados. Los dispositivos se fabrican generalmente en forma de tubos. Como ejemplo de una guía de nervio está el producto Neurotube™. Los dispositivos para reparación de tendones a base de poli(hidroxialcanoatos) pueden prepararse según los procedimientos descritos en la Patente de los EE.UU. No. 4 792 336. Las guías para nervios a base de poli(hidroxialcanoatos) pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 800 544; 5 735 863; 5 584 885; 5 514 181; 5 026 381; 5 019 087; y 4 955 893.

55 (14) Reparación de defectos septales atriales

Los grandes defectos septales atriales que no pueden cerrarse directamente con suturas pueden repararse con parches pericardiales o con materiales sintéticos no absorbibles. Los parches de reparación de defectos septales atriales a base de poli(hidroxialcanoatos) y los dispositivos pueden fabricarse según los métodos y procedimientos descritos en las Patentes de los EE.UU. Nos. 5 853 422; 5 634 936; 5 861 003; 5 855 614; y por Malm, T. *et al.*, *Scand. J. Thor. Cardiovasc. Surg.*, 26:9-14 (1992).

IV. Métodos de fabricación de los dispositivos (implantes)

65 Los métodos de fabricación de los dispositivos médicos incluyen el vaciado con solventes, procesamiento en fusión, extrusión, inyección y moldeado por compresión, afirmación de fibras y secado mediante rociado. Las partículas se preparan preferiblemente de manera directa a partir de un proceso basado en la fermentación, o mediante una técnica de evaporación de solventes, técnica de emulsión doble o mediante microfluidización, utilizando métodos disponibles

ES 2 295 021 T3

en la técnica. (Koosha, Ph.D. Dissertation, 1989, Univ. Nottingham, UK., Diss. Abstr. Int. B 51:1206 (1990); Bruhn & Müller, Proceed Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 18:668-69 (1991); Conti, *et al.*, J. Microencapsulation, 9: 153-66 (1992); Ogawa, *et al.*, Chem. Pharm. Bull., 36:1095-103 (1988); Mathiowitz & Langer, "Polyanhydride microspheres as drug delivery systems", in Microcapsules Nanopart. Med. Pharm. (Donbrow, Ed.) ch. 5, pp. 99-123 (CRC, Boca Raton, Florida 1992)).

Los PHAs pueden fabricarse en forma de dispositivos apropiados para la curación de heridas. Por ejemplo, los materiales fibrosos no tejidos con este objeto pueden prepararse a partir de tales polímeros produciendo primero fibras de polímeros, presionando los polímeros a través de un orificio perforado, utilizando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Las fibras pueden fabricarse entonces en forma de una membrana porosa (tela) dispersándolas sobre un soporte sólido y sujetándolas a moldeado por compresión. El espesor del dispositivo puede ser menor de 500 μm . También puede fabricarse un dispositivo de curación de heridas perforando una película o membrana utilizando un láser para lograr la porosidad, o utilizando una técnica de lixiviación para preparar un material poroso. El tamaño de los poros debe ser idealmente lo suficientemente pequeño como para cerrar el paso a las células y a otras materias de tejidos. Los dispositivos de curación de heridas pueden posicionarse *in vivo* para separar tejidos y estimular la regeneración de los mismos.

Los PHAs pueden utilizarse para encapsular células. Utilizando las técnicas conocidas por los expertos en la técnica, las células se precubren primeramente (véase Maysinger, Reviews in the Neurosciences, 6:15-33 (1995)). Utilizando un procedimiento de encapsulado de partículas tal como la técnica de emulsión doble, las células pueden entonces ser encapsuladas por los PHAs (Ogawa, *et al.*, Chem. Pharm. Bull., 36:1095-103 (1988)). Las células encapsuladas pueden entonces ser implantadas *in vivo*.

Los PHAs pueden fabricarse en forma de bastidores de apoyo en ingeniería de tejidos utilizando una amplia gama de técnicas de procesamiento de polímeros. Los métodos para la fabricación de bastidores de apoyo en la ingeniería de tejidos en base a los PHAs incluyen vaciado con solventes, procesamiento en fusión, hilado/tejido, u otros medios de formación de fibras, extrusión, inyección, moldeado por compresión, laminación y lixiviación/vaciado con solventes. Tales métodos son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Un método de fabricación de bastidores de apoyo en la ingeniería de tejido a base de PHAs incluye el uso de un extrusor, tal como un extrusor Brabender. Por ejemplo, esta técnica puede utilizarse para preparar tubos moldeados a presión apropiados para su implantación en una gama de longitudes y tamaños.

Otro método incluye la preparación de un bastidor de apoyo no tejido de fibras a base de PHA. Las fibras se producen a partir de la fusión o de la solución y se procesan en forma de material no tejido utilizando métodos conocidos por los expertos en la técnica. Las propiedades del material no tejido pueden adaptarse variando por ejemplo, el material del PHA, dimensión de las fibras, densidad de las fibras, espesor del material, orientación de las fibras y método de procesamiento de las fibras. Las membranas porosas pueden, si se desea, procesarse aún más. Por ejemplo, estas membranas pueden conformarse como tubos huecos.

Otro método incluye el procesamiento en fusión o mediante solventes de un PHA apropiado en un molde adecuado, y perforando el material utilizando un láser u otro medio para lograr la porosidad deseada. Otros métodos incluyen el enrollado en forma de lazo de una lámina de PHA moldeada a presión sellándola al calor. La lámina de PHA puede ser enrollada opcionalmente con otro material, tal como un segundo polímero biodegradable. Por ejemplo, éste último material puede ser un material no tejido de ácido poliglicólico, de ácido poliláctico o un copolímero de ácidos láctico y glicólico, que aporta por ejemplo, un tubo laminado apropiado para su uso en la ingeniería de nuevos vasos, conductos y tubos. Los PHAs pueden utilizarse también para recubrir otros bastidores de apoyo de ingeniería de tejidos. Tales materiales pudieran derivarse de otros polímeros degradables. El recubrimiento puede llevarse a cabo por ejemplo, con una solución basada en solventes o mediante técnicas de fusión, o utilizando un látex de PHA.

Los dispositivos de ingeniería de tejidos descritos en la presente solicitud pueden sembrarse con células antes de su implantación o después de la implantación. Las células pueden ser cosechadas a partir de una sección sana del tejido del donante, expandidas *in vitro* utilizando técnicas de cultivo de células y entonces sembradas en un bastidor de apoyo (o matriz) antes o después de la implantación. Alternativamente, las células pueden obtenerse de otros tejidos del donante o de líneas de células existentes.

Los PHAs pueden utilizarse para recubrir otros dispositivos y materiales. Tales recubrimientos pueden mejorar sus propiedades con vistas a la aplicación médica, por ejemplo, mejorando su biocompatibilidad, propiedades mecánicas y adaptando sus perfiles de degradación y de liberación sostenida. Los PHAs pueden recubrir otros dispositivos utilizando los procedimientos de fabricación antes descritos. El espesor del recubrimiento puede ajustarse a las necesidades de la aplicación en específico cambiando el peso de la capa de recubrimiento o la concentración aplicada, y/o mediante un sobrerrecubrimiento.

Los PHAs pueden fabricarse en forma de endoprótesis utilizando una amplia gama de técnicas de procesamiento de polímeros. Los métodos de fabricación de endoprótesis incluyen el vaciado con solventes, el procesamiento mediante fusión, hilado/tejido de fibras, extrusión, ablación mediante láser, moldeado por inyección y moldeado por compresión. Tales métodos son conocidos por los expertos en la técnica.

Los métodos de producción de los dispositivos que aumentan la porosidad o el área de la superficie de exposición pueden utilizarse para alterar la capacidad de degradación. Por ejemplo, como lo demuestran los ejemplos, el poli(4-hidroxibutirato) poroso puede fabricarse utilizando métodos que crean poros, huecos o intersticios, tales como una emulsión o técnica de secado mediante rociado o que incorporan partículas capaces de liofilización o lixiviación dentro del polímero.

Los métodos adicionales para la fabricación de dispositivos a base de poli(hidroxiclcanoatos) se describen en *Biomaterials Science* (Ratner, *et al.*, Eds.) Academic Press, San Diego, California 1996; *Biomedical Applications of Polymeric Materials* (Tsuruta, *et al.*, Eds.) CRC Press, Boca Raton, Florida, 1993; *Synthetic Biodegradable Polymer Scaffolds* (Atala, *et al.*, Eds.) BirhaUSer, Boston, 1997; *Wound Closure Biomaterials and Devices*, (Chu, J *et al.*, Eds.) CRC Press, Boca Raton, Florida, 1997; *Polyurethanes in Biomedical Applications* (Lamba, *et al.*, Eds.) CRC Press, Boca Raton, Florida, 1998; *Handbook of Biodegradable Polymers* (Domb, *et al.*, Eds.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 1997.

V. Utilización de los dispositivos

Los implantes de poli(hidroxiclcanoatos) (incluyendo los recubrimientos) pueden ser aplicados a partir de cualquier medio incluyendo cirugía abierta o por el método de mínimo acceso tal como ingestión, inyección o inserción. Es más, en dependencia de la aplicación, la composición puede modificarse aún más para incluir otros materiales, tales como agentes bioactivos como factores de crecimiento, medicamentos, agentes antimicrobianos, factores de angiogénesis o materiales que modifican las propiedades del dispositivo tales como otros polímeros, plastificadores, nucleadores y rellenos.

Cuando los PHAs depirogenados se implantan en el cuerpo, estos materiales muestran muy poca, si acaso alguna reacción inflamatoria o cualquier otra reacción adversa en el tejido. No hay respuesta inflamatoria significativa o formación de escara en el tejido. El reclutamiento de células inflamatorias es mínimo. El examen histológico de los dispositivos ex-plantados demuestra que los materiales son esencialmente inertes. En correspondencia, los dispositivos contruidos de PHAs pueden implantarse con un efecto adverso mínimo en el tejido circundante. La liberación de los productos de la degradación de ácidos hidroxis a partir de los materiales implantados es típicamente muy lenta y se tolera bien por el cuerpo. Por tanto, se espera que los PHAs mantengan sus propiedades materiales durante meses y que eventualmente se degraden a materiales no tóxicos.

Los dispositivos preparados a partir de PHAs pueden utilizarse en una amplia gama de aplicaciones médicas diferentes.

Los PHAs empleados en las composiciones de homopolímeros poli(4-hidroxibutirato) de la presente invención pueden encapsularse, ser mezclados con o acoplarse iónicamente o de forma covalente a cualquier variedad de agentes terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico. Pueden incorporarse o encapsularse una gran diversidad de materiales biológicamente activos, para entrega en un sitio mediante el poli(hidroxiclcanoato) o para impartir propiedades al polímero, tales como bioadhesión, fijación celular, mejoramiento del crecimiento celular, inhibición del crecimiento bacteriano y prevención de formación de coágulos.

Los ejemplos de agentes terapéuticos y profilácticos apropiados incluyen compuestos sintéticos inorgánicos y orgánicos, proteínas y péptidos, polisacáridos y otros azúcares, lípidos y secuencias de ácidos nucleicos de ADN y ARN que tengan actividades terapéuticas, profilácticas o diagnósticas. Las secuencias de ácido nucleico incluyen genes, moléculas de sentido inverso que enlazan a los ADN complementarios para inhibir la transcripción y ribozimas. Los compuestos con un amplio intervalo de peso molecular pueden ser encapsulados, por ejemplo, entre 100 y 500.000 gramos o más por mol. Los ejemplos de materiales apropiados incluyen proteínas tales como los anticuerpos, ligando de receptores y enzimas, péptidos tales como péptidos de adhesión, sacáridos y polisacáridos, medicamentos sintéticos orgánicos e inorgánicos y ácidos nucleicos. Los ejemplos de materiales que pueden ser encapsulados incluyen enzimas, factores de formación de coágulos, inhibidores o agentes disolventes de coágulos tales como la estreptocinasa y el activador plasminógeno de tejido; antígenos para inmunización; hormonas y factores de crecimiento; polisacáridos tales como la heparina; oligonucleótidos tales como los oligonucleótidos de sentido inverso y ribozimas y vectores retrovirales para uso en terapia de genes. El polímero puede utilizarse también para encapsular células y tejidos. Los agentes diagnóstico representativos son agentes detectables por rayos X, fluorescencia, resonancia magnética, radioactividad, ultrasonido, tomografía computarizada (CT) y tomografía por emisión de positrones (PET). Los agentes de diagnóstico mediante ultrasonido son típicamente un gas como el aire, el oxígeno o perfluorocarbonos.

En el caso de liberación sostenida, puede incorporarse una amplia gama de diferentes compuestos bioactivos a un dispositivo de liberación sostenida. Estos incluyen macromoléculas hidrófobas, hidrófilas y de alto peso molecular tales como las proteínas. El compuesto bioactivo puede incorporarse al P4HB en un porcentaje de carga de entre 0,1% y 70% por peso, más preferiblemente entre 5% y 50% por peso. Las composiciones de homopolímeros de poli(4-hidroxibutiratos) pueden ser empleadas en casi todas las formas físicas, tales como polvos, películas, elementos moldeados, partículas, esferas, látex y materiales cristalinos o amorfos. Pueden combinarse con materiales adicionales no PHAs por ejemplo, otros polímeros.

Antes de la implantación, el artículo polimérico bioabsorbible debe ser esterilizado para evitar enfermedad e infección del receptor. La esterilización se realiza antes de la siembra de un dispositivo polimérico con células. La

ES 2 295 021 T3

esterilización mediante calor de artículos que contienen PHA no es práctica ya que el tratamiento con calor puede deformar el artículo, especialmente si el PHA tiene una temperatura de fusión por debajo de la requerida para el tratamiento de esterilización. Este problema se resuelve utilizando gas de óxido de etileno en frío como agente esterilizador. La exposición de un artículo que contiene PHA a los vapores de óxido de etileno antes de la implantación esteriliza el artículo haciéndolo apropiado para su implantación. Durante la esterilización con gas de óxido de etileno en frío o radiación gamma, el artículo que contiene PHA mantiene su configuración. Este tipo de tratamiento es apropiado para la esterilización de artículos moldeados o preconformados en los que la configuración del artículo juega un papel importante en un funcionamiento apropiado del mismo.

Los dispositivos en la presente solicitud descritos pueden administrarse de manera sistémica o localmente. Los métodos de administración sistémica son mediante inyección, inhalación, administración oral e implantación.

Los implantes y métodos descritos en la presente solicitud se entenderán mejor si se refieren a los siguientes ejemplos:

Ejemplo 1

Producción de P4HB en E. coli recombinante

La cepa MBX1177 de *E. coli*, un derivado de la cepa DH5 α seleccionada por la capacidad de crecimiento con ácido 4-hidroxi-butírico (4HB) como la única fuente de carbono, se transformó con pFS30, un plásmido contentivo de los genes que codifican la sintasa PHA de la *Ralstonia eutropha*, 4-hidroxi-butirilo-CoA transferasa de *Clostridium kluyveri*, y β -lactamasa que le confieren resistencia a la ampicilina. La sintasa y transferasa están bajo el control del promotor trc, que es inducible mediante isopropil- β -D-tiogalactopiranosida (IPTG) en pF30. Estas células se cultivaron primeramente en 100 ml LB (Luria Broth, Difco, Detroit, Mich; 25 g/L) más 100 μ g/ml de ampicilina durante la noche en un frasco Erlenmeyer de 250 ml a 37°C removiendo a 200 r.p.m. Todo este cultivo se utilizó como un inóculo para la fermentación llevada a cabo en un recipiente de 7L. La primera etapa de la fermentación consistió en crecimiento de la biomasa en 5L de ampicilina LB a 37°C con remoción a 800 r.p.m y aireación a 1 volumen volumétrico de aire/min (vvm). Después de 17 horas el volumen se ajustó a 6L añadiendo un litro de medio, tal que el volumen total contuviera, por litro: 2,5 g de polvo LB, 5 g 4HB como sal de sodio, 2 g de glucosa, 50 mmol de fosfato de potasio (pH 7), 7 g de ácido fosfórico, 100 μ g de ampicilina y 0,1 mol de IPTG. En este momento, la temperatura se ajustó a 33°C, y la velocidad de remoción se redujo a 400 r.p.m. Las adiciones periódicas de glucosa y sodio 4HB se hicieron cuando el pH estaba significativamente por debajo o sobre 7, respectivamente, debido a que la adición de glucosa provocaba que el pH disminuyera lentamente y la adición de 4HB provocaba que el pH aumentara lentamente. El pH no se controló automáticamente. La fermentación procedió de esta forma durante otras 70 h, en cuyo momento se había añadido un total de 34 g/L de glucosa y 15 g/L de 4HB. Se permitió el asiento de las células a 4°C durante dos días, después de lo cual se expulsó mediante bombeo la fase líquida y la mezcla pastosa de células se fluidizó en un Microfluidizador EH M110 de Microfluidics Corporation (Newton, Mass.) a 18.000 psi. El material resultante se liofilizó y extrajo en tetrahidrofurano (THF, 3% p/v P4HB) con calentamiento (60°C) y remoción mecánica. El extracto THF resultante se filtró a presión a través de microfibras de vidrio (2,3 μ m) y filtros de profundidad de Teflón (2 μ m). El polímero se precipitó dentro de un volumen equivalente de agua y se liofilizó. El polímero se redisolvió en THF (3% p/v P4HB) con calentamiento (60°C) y la solución se filtró a través de micro fibra de vidrio (2,3 μ m) y filtros de profundidad de Teflón (2 μ m) y se precipitó en agua/THF (1:1). El precipitado se lavó con agua/THF (1:1) y se liofilizó para aportar una espuma de color blanco (20 g). Este material se identificó como poli(4-hidroxi-butirato) y se vio que no era citotóxico mediante un ensayo de difusión agar (ISO 10993, Toxicon Corp, Bedford, MA). El análisis elemental fue C 55,63%, H 7,41%, O 37,28%, N 41 ppm. El análisis GC muestra lípidos muy bajos en el polímero purificado. El análisis NMR muestra los picos esperados y no lípidos.

Ejemplo de Referencia 2

Producción de Poli((4HB-co-2HB) en E. coli recombinante

Las cepas de MBX1177/pFS30 y de MBX184 (CGSC6966)/pFS30 se precultivaron en 300 ml de ampicilina LB en un frasco Erlenmeyer de un litro a 30°C durante la noche con remoción a 200 rpm. Se centrifugaron dos alícuotas de 100 ml de cada precultivo (2 000 x g, 10 minutos) y las células obtenidas de cada una de estas alícuotas se resuspendieron en 100 ml en un medio que contenía, por litro: 6,25 g de polvo LB, 2 g de glucosa, 50 mmol de fosfato de potasio (pH 7), 100 μ g de ampicilina y 100 μ mol IPTG. El medio contenía también ácido 2-hidroxi-butírico (2HB) y 4HB; en un recipiente las concentraciones eran 8 g/L 2HB y 2 g/L 4HB y en el otro las concentraciones de los dos ácidos eran cada una 5 g/L. Ambos ácidos se añadieron a los recipientes como sales de sodio, las masas dadas para los ácidos no incluían la masa de sodio. Estos cuatro recipientes (dos para cada cepa) se incubaron a 30°C durante otras 48 horas con remoción a 200 rpm. Las células se retiraron del medio por centrifugado (2000 x g, 10 minutos) se lavaron una vez con agua, se centrifugaron de nuevo y liofilizaron. Se llevó a cabo el análisis por cromatografía gaseosa sobre la masa celular liofilizada para analizar el contenido y composición del polímero. Los contenidos celulares y composiciones de los PHAs producidos se muestran en la Tabla 2. Cuando la relación de 2HB a 4HB era de 4:1, el contenido de 2HB del polímero era superior al 19% para ambas cepas mediante análisis GC, mientras que a una relación de 1:1 de 2HB a 4HB, el contenido del polímero era de alrededor del 1%. El 4HB se incorporaba con mayor

ES 2 295 021 T3

rapidez al polímero que el 2HB; por tanto, cuando el 4HB estaba presente a 2 g/L el contenido total del polímero de las células era menor que cuando estaba presente a 5 g/L. Los polímeros producidos por el MBX184/pFS30 se extrajeron de las células y se analizaron. La masa celular liofilizada se incubó en 5 ml de cloroformo a 37°C durante 2 horas. Se retiró el desecho de las células por centrifugado (2000 x g, 5 minutos) y la solución del polímero resultante se añadió por goteo a 50 ml de etanol para precipitarla. El polímero precipitado se centrifugó a partir del etanol tal como se describió anteriormente. En el caso de la relación 4:1 2HB:4HB, el polímero fue difícil de centrifugar del etanol; formó una bruma cuando se añadió al etanol, pero no se pudo recuperar totalmente por centrifugado, probablemente porque el peso molecular de este polímero era algo bajo. El polímero aislado del recipiente 1:1 2HB:4HB se precipitó fácilmente a partir del etanol y se recuperó casi totalmente. El análisis GC de estas muestras extraídas (Tabla 2) muestra que el contenido de 2HB era ligeramente menor que cuando el análisis se realizaba en células enteras. Es posible que los residuos de 2HB en la cadena del polímero se hidrolicen durante la extracción, disminuyendo por tanto el contenido aparente de 2HB en las muestras extraídas. El hecho de que el peso molecular del polímero extraído sea aparentemente menor cuando el contenido de 2HB es mayor es consistente con esta explicación.

Se llevó a cabo un segundo experimento con MBX184/pFS30. Estas células se precultivaron en 400 ml de ampicilina B en un frasco Erlenmeyer de un litro a 30°C durante la noche con remoción a 200 rpm. Se hizo una adición de 20 ml de medio a cada frasco de manera que el volumen total contuviera, por litro: 2,5 adicionales de polvo LB, 2 g de 4HB como sal de sodio, 2 g de glucosa, 50 mmol de fosfato de potasio (pH 7), 100 µg de ampicilina, 50 µmol IPTG y 2, 4, 6 u 8 g de 2HB como sal de sodio. Los frascos se incubaron durante 48 horas adicionales a 30°C y 200 r.p.m. Las células se retiraron del medio por centrifugado (2000 x g, 10 minutos), lavadas una vez con agua, centrifugadas de nuevo y liofilizadas. La masa seca de células se sometió al análisis GC tal como se describió anteriormente. La Tabla 3 muestra el contenido celular y la composición de los polímeros así obtenidos. A relaciones bajas 2HB:4HB se incorporó poco o ningún 2HB al polímero, sin embargo, cuando esta relación era de 3:1 o 4:1, la incorporación de 2HB al polímero era significativa. El contenido total de polímero de todas las células fue bastante bajo, probablemente porque los ácidos no están presentes en concentraciones lo suficientemente altas para permitir que la asimilación y/o incorporación procediera a una velocidad mayor.

TABLA 2

Análisis GC de Poli(4HB-co-2HB) a partir de MBX1177/pFS30 y MBX184/pFS30

Cepa	4HB, g/L	2HB, g/L	PHA total, % pcs ^a	P4HB, % de PHA ^b	P2HB, % de PHA ^b
184/30	2	8	18,3	70,8	19,2 (14,2) ^c
184/30	5	5	47,1	98,8	1,2 (0,9) ^c
1177/30	2	8	13,0	62,3	27,7
1177/30	5	5	40,1	98,9	1,1

^a: pcs: peso célula seca.
^b: determinado por análisis GC. Alrededor de 20mg de masa celular liofilizada se sometió a butanlisis a 110°C durante 3 horas en 2 ml de una mezcla contentiva (por volumen) 90% 1-butanol y 10% ácido clorhídrico concentrado, con 2 mg/ml de ácido benzoico añadido como un estándar interno. Los componentes solubles en agua de la mezcla resultante se retiraron mediante extracción con 3ml de agua. La fase orgánica (1µ L a una relación de 1:50 a una velocidad total de flujo de 2 ml/min) se analizó sobre una columna capilar para GC de sílice fundida SPB-1 (30 m; 0,32 mm ID; una película 0,25 µm; Supelco; Bellefonte, Pa.) con el siguiente perfil de temperaturas: 80°C, 2 min; 10°C por min. hasta 250°C; 250°C, 2 min. El estándar utilizado para examinar la presencia de unidades de 4-hidroxibutirato en el polímero fue la γ-butirolactona. El estándar utilizado para examinar las unidades de 2-hidroxibutirato en el polímero fue sodio (2-hidroxibutirato).
^c: los porcentajes en paréntesis se determinaron mediante análisis GC al igual que el anterior, pero después de la extracción del polímero en cloroformo y la subsiguiente precipitación en etanol.

TABLA 3

Análisis GC de Poli(4HB-co-2HB) de MBX184/pFS30

Muestra	4HB, g/L	2HB, g/L	PHA total, % de pcs ^a	P4HB, % de PHA ^b	P2HB, % de PHA ^b
1	2	2	8,2	100	0
2	2	4	5,6	100	0
3	2	6	5,7	84,1	15,9
4	2	8	4,1	54,3	45,7

^a: pcs: peso célula seca.
^b: determinado por análisis GC. Véase Tabla 2 para los detalles

Ejemplo de Referencia 3

Producción de poli(4HB-co-3HB) en E Coli recombinante

5 La cepa MBX1177/pFS30 se precultivó en 100 ml de ampicilina LB en cuatro frascos Erlenmeyer de 250 ml a 30°C durante la noche con remoción a 200 pm. Se añadieron 20 ml de medio a cada frasco de manera tal que el volumen total contuviera, por litro: 2,5 g adicionales de polvo de LB, 4 g de 4HB como sal de sodio, 4 g de glucosa, 50 mmol de fosfato de potasio (pH 7), 100 µg de ampicilina, 50 µmol de IPTG y 0,25, 0,75 ó 1 g de 3-hidroxibutirato (3HB) como sal de sodio. Los frascos se incubaron durante 48 horas adicionales a 30°C y 200 pm. Las células se retiraron del medio mediante centrifugado (2000 x g, 10 minutos), lavadas una vez con agua, centrifugadas de nuevo y liofilizadas. El análisis cromatográfico de gas se llevó a cabo sobre la masa de células liofilizadas para analizar el contenido y composición del polímero. El estándar utilizado para examinar las unidades de 3-hidroxibutirato en el polímero fue el poli(3-hidroxibutirato). Los contenidos y composiciones celulares del PHA producidas se exponen en la Tabla 4. Al disminuir la relación de 4HB/3HB en el medio, el contenido de 3HB del polímero aumentaba de forma monotónica, mientras que el contenido total del polímero de las células era similar en todas las pruebas, lo que indica que la composición del medio puede utilizarse de manera predecible para controlar la composición del copolímero sin afectar significativamente la producción total del polímero. El polímero se extrajo del resto de la masa celular liofilizada. Para todas las muestras, la masa celular liofilizada se mezcló con alrededor de tres veces su propio volumen de 1,2-dicloroetano e incubó con una remoción ligera en un tubo cerrado a 37°C durante 6 horas. La materia de partículas se separó de la solución del polímero mediante centrifugado (2000 x g, 10 minutos). La solución resultante se añadió por goteo a unas 10 veces su propio volumen de etanol, y el polímero precipitado se asentó en la solución. Se descartaron los elementos flotantes y el polímero húmedo resultante se mantuvo en reposo hasta que pareciera seco. El polímero entonces se liofilizó para un secado total. Las propiedades térmicas de estas composiciones de P4HB-co-3HB se muestran en la Tabla 5.

TABLA 4

Análisis GC de Poli(4HB-co-3HB) de MBX1177/pFS30

Muestra	4hb, g/L	3HB, g/L	PHA total, % de pcs ^a	P4HB, % de PHA ^b	P3HB, % de PHA ^b
3a	4	0,25	49,3	98,0	2,0
3b	4	0,5	46,7	94,2	5,8
3c	4	0,75	56,6	91,7	8,3
3d	4	1	51,8	89,4	10,6

^a: pcs: peso célula seca.
^b: determinado por análisis GC. Véase Tabla 2 para los detalles. El estándar utilizado para examinar la presencia de unidades de 4-hidroxibutirato en el polímero fue γ -butirolactona. El estándar utilizado para examinar las unidades de 3-hidroxibutirato en el polímero fue poli(3-hidroxibutirato).

TABLA 5

Propiedades del P4HB y el P4HB-co-3HB de MBX1177/pFS30

Muestra	% ^a 4HB	% ^a 3HB	T _m ^b (°C)	dHTm1 ^b (J/g)	T _g ^b (°C)	T _x ^b (°C)	T _m 2 ^b (°C)	Mw ^c
P4HB	100	0	60	45	-51	-16	X	1.000.000
3b	94,2	5,8	47	36	-52	-4	44	1.500.000
3c	91,7	8,3	40	20	-53	nd	39	1.900.000
3d	89,4	10,6	39	17	-53	nd	nd	1.100.000

nd: no detectado
^a: determinado por análisis GC. Véase Tabla 2 para los detalles
^b: determinado por análisis DSC. Utilizando un calorímetro diferencial de barrido A Perkin Elmer Pyris 1. Las masas de las muestras eran de aproximadamente 4-8 mg. El programa térmico utilizado fue: 25°C, 2 min; calentar hasta 195°C a 10°C por min; mantener a 195°C; enfriar hasta -80°C a 300°C por min; mantener a -80°C por 2 min; calentar hasta 195°C a 10°C por min. La temperatura de fusión T_m y la entalpía de fusión de este pico de fusión (dHTm1) se determinaron en el primer ciclo de calentamiento. La temperatura de transición vítrea (T_g), la temperatura de cristalización (T_x) y la temperatura de fusión (T_m2) se determinaron durante el segundo ciclo de calentamiento.
^c: determinado por análisis GPC. Los polímeros aislados se disolvieron en cloroformo a aproximadamente 1 mg/ml y las muestras (50 µL) se cromatografiaron en una columna Water Stryagel HT6E a una velocidad de flujo de 1 ml de cloroformo por minuto a temperatura ambiente utilizando un detector de índice de refracción. Las masas moleculares se determinaron relativas a los estándares de poliestireno de una polidispersidad estrecha.

Ejemplo 4

Degradación de P4HB in vitro e in vivo

5 La degradación del P4HB se estudió *in vitro* e *in vivo*. Se examinaron tres configuraciones diferentes de diversa porosidad (0%, 50% y 80% de porosidad). Se poncharon discos pequeños (5 mm de diámetro) a partir de películas de P4HB de espesor uniforme moldeadas mediante compresión. Las muestras porosas de P4HB se produjeron utilizando la técnica de lixiviación mediante sal descrita a continuación. El comportamiento de la degradación *in vitro* se estudió incubando los discos en un búfer de fosfato estéril (8 mM de fosfato de sodio, 2 mM de fosfato de potasio, 140 mM de ClNa, 10 mM de KCl, pH 7,4, contenido de NaN₃ como preservante) a 37°C. El comportamiento de la degradación *in vivo* se estudió después de la implantación en bolsas subcutáneas en ratas.

Preparación de P4HB Poroso

15 Los cristales clasificados de cloruro de sodio (80-180 μ m) se mezclaron con P4HB fundido (debe notarse que la proporción de sal del polímero puede ajustarse para producir la porosidad deseada, mientras que el tamaño de la partícula puede ajustarse para producir poros de tamaño diverso). La mezcla de sal del polímero se comprimió hasta lograr una película fina. Después de permitir que el material se solidificara, la película se retiró del soporte mylar. La película se extrajo exhaustivamente con agua para retirar la sal, dejando una película porosa de P4HB.

Degradación acelerada de P4HB

25 Se estudió la degradación de P4HB *in vivo*. Se examinaron tres configuraciones diferentes de diversa porosidad (0%, 50% y 80% de porosidad). Se poncharon discos pequeños (5 mm de diámetro) a partir de películas de P4HB de espesor uniforme moldeadas mediante compresión. Las muestras porosas de P4HB se produjeron utilizando una técnica de lixiviación mediante sal. El comportamiento de la degradación *in vivo* se estudió después de la implantación en bolsas subcutáneas en ratas. Las muestras se retiraron en momentos diferentes. La masa molecular se midió mediante GPC y la pérdida de masa se midió por cuantificación del 4HB remanente mediante análisis CG. Los resultados se muestran en la Figura 3. Como muestra la Figura 3, la pérdida de masa de la muestra variaba con la porosidad. Las muestras de la película, de 50% y 80% de porosidad mostraron un 5%, 20% y 75% de pérdida de masa respectivamente en un período de seis semanas, mientras que la pérdida media de masa molecular de estas muestras también disminuyó significativamente (20 al 50%). Estos datos demuestran que la velocidad de degradación de los PHAs puede modificarse y controlarse alterando la porosidad y aumentando el área superficial.

Resultados

40 Los implantes de P4HB mostraron una respuesta inflamatoria muy mínima, mucho menor que para la de una malla no tejida de PGA. Esta es una buena indicación de la biocompatibilidad de estos materiales. Las muestras se retiraron en momentos diferentes y se evaluaron histológicamente tanto respecto a los implantes como al tejido circundante. La masa molecular se midió por GPC y la pérdida de masa se midió por cuantificación del 4HB remanente mediante análisis GC. Los resultados se muestran en las Tablas 6 y 7. Como muestra la Tabla 6, el P4HB no se degrada significativamente luego de un período de 10 semanas *in vitro*. Todas las muestras mantuvieron su peso inicial, y se produjo de un 20% a un 40% de disminución en la masa molecular media. Las muestras incubadas *in vivo* mostraron una degradación mucho más pronunciada. La pérdida de masa variaba con la porosidad. Las muestras de película, del 50% y del 80% de porosidad mostraron un 20%, 50% y 100% de pérdida de masa respectivamente en un período de más de 10 semanas, mientras que la pérdida media de masa molecular de estas muestras también disminuyó significativamente (20 al 50%).

55 El examen microscópico de luz y mediante microscopia electrónica por barrido ambiental (ESEM) de las muestras muestra cambios poco discernibles para las muestras *in vitro* en el período de diez semanas de incubación. En contraste, los implantes *in vivo* muestran señales distintivas de degradación. La superficie de estos materiales se degradaba progresivamente durante el período de implantación de 10 semanas. Después de una semana, las muestras de película mostraban algunas señales de ruptura que progresaban a erosión superficial y formación de agujeros en las nueve semanas siguientes.

60 Los datos de la degradación *in vitro* sugieren que el P4HB es relativamente estable a la hidrólisis simple, a diferencia de otros poliésteres utilizados en aplicaciones bioreabsorbibles, tales como el PGA, PLA y sus copolímeros. Sin embargo, la degradación de los implantes indicaba que el P4HB puede degradarse *in vivo*, sugiriendo un modo de degradación mediado biológicamente. Los datos muestran un incremento en la degradación con incremento de la porosidad, lo que indica que el área superficial del implante del polímero juega un papel en su degradación *in vivo*. Esto sugiere que la degradación de los polímeros de P4HB *in vivo* ocurre en la superficie del implante, a diferencia de los materiales PGA o PLA que se degradan a través del implante mediante hidrólisis, con disminución asociada de la masa molecular y pérdida de las propiedades mecánicas. Estos datos sugieren que la velocidad de degradación del P4HB puede modificarse y controlarse alterando su área superficial. También, se espera que este tipo de degradación superficial resulte en una pérdida de masa molecular relativamente lenta permitiendo el mante-

ES 2 295 021 T3

nimiento de las propiedades materiales del polímero por un tiempo mayor que en el caso de los poliésteres médicos absorbibles existentes. Los implantes de P4HB se toleraron bien y mostraron solo una reacción mínima como cuerpo extraño. Estos resultados muestran que estos materiales tienen ventajas significativas sobre los poliésteres médicos existentes.

TABLA 6

Degradación de P4HB In Vitro: Porcentaje de la Masa Original Remanente y de la Masa Molecular

Implantación (semanas)	Reman. ^a de película, % peso	Masa mol. de la película ^b	Reman. ^a al 50% en peso, %	Porcent. de masa molec. ^b al 50%	Reman. ^a al 80% en peso, %	Porcent. de masa molec. ^b al 80% por.
0	108	1 144 592	96	963 145	123	1 291 117
1	97	1 160 707	93	1 103 860	99	968 245
2	101	1 008 496	98	1 055 614	106	1 072 328
4	100	887 005	96	725 089	116	987 665
6	109	896 521	97	764 260	95	1 049 079
10	92	772 485	90	605 608	100	727 543

^a: determinado por análisis GC. Véase Tabla 3 para los detalles
^b: determinado por análisis cuantitativo GC. Véase Tabla 2 para los detalles

TABLA 7

Degradación de P4HB in Vivo. Porcentaje de la Masa Original Remanente y Masa Molecular

Implantación (semanas)	Reman. ^a de película, % peso	Masa mol. de la película ^b	Reman. ^a al 50% en peso, %	Porcent. de masa molec. ^b al 50%	Reman. ^a al 80% en peso, %	Porcent. de masa molec. ^b al 80% por.
0	108	1 144 592	96	963 145	123	1 291 117
1	103	1 091 107	109	1 026 821	88	1 132 492
2	95	1 054 873	94	973 830	35	943 960
4	92	1 007 736	73	989 629	39	881 919
6	90	797 170	74	901 330	28	689 157
10	80	716 296	48	647 175	0	nd

^a: determinado por análisis GPC. Véase Tabla 3 para los detalles
^b: determinado por análisis GC. Véase Tabla 2 para los detalles. Los explantes a menudo pesaban más que el implante original debido a la presencia de tejido adherente o sangre coagulada. Por tanto, la masa de P4HB en el explante se determinó por análisis GC cuantitativo. El porcentaje del peso del P4HB remanente se tomó como esta masa dividida por el implante original.

Ejemplo 5

Moldeado por compresión

El P4HB se comprimió hasta lograr una película fina utilizando una prensa hidráulica Carver. Las platinas se calentaron hasta 115°C. El P4HB se comprimió entre dos láminas de mylar utilizando espaciadores metálicos. El espesor del espaciador y la presión de la prensa se ajustaron para controlar el espesor de la película. La película se retiró de la prensa y se enfrió a temperatura ambiente. Después de la solidificación (en materia de segundos) la película se separó fácilmente del material de apoyo del mylar. Los datos mecánicos de este material se muestran en la Tabla 1. La rápida solidificación del P4HB demuestra su rápida cristalización.

ES 2 295 021 T3

TABLA 1

Propiedades térmicas y mecánicas de polímeros médicos seleccionados

Polímero	T _m (°C)	T _g (°C)	Res. Tracción (psi)	Módulo (psi)	Elongación (%)	Degradación
P4HB	60	-51	7500	9400	1000	Depende de conf.
^a pP4HB50	60	-51	895	2155	164	Depende de conf.
^b pP4HB80	60	-51	180	257	100	Depende de conf.
^b P4HB-3HB 10%	50	-42	9000	14.500	1080	No reportado
¹ PHB	175	0	4000	110.000	4	>52 semanas
² PGA	230	35	10000	1.000.000	17	8 semanas
³ PDLLA	Am	53	5000	300.000	5	<8 semanas
⁴ PLLA	175	55	10.000	500.000	8	>8 semanas
⁵ DLGLG 50/50	Am	48	7000	300.000	5	3-8 semanas
⁶ LDPE			2000		400-700	No degradable
⁶ HDPE			4000		100-1000	No degradable
⁶ UHMWPE			7250		450	No degradable
PP			4000	20.000	200-700	No degradable
PET			8500		50	No degradable
PTFE			3000 @ Rendimiento	50.000	300	No degradable

^apP4HB50, P4HB 50% poroso, véase ejemplo 7

^bpP4HB80, P4HB 80% poroso, véase ejemplo 7

Referencias de la tabla:

1. De este trabajo medido según la ASTM D638 a temperatura ambiente y a una velocidad de cepa de 0,05 o 0,1 cm./min.

2. Huttmacher et al. Int. Oral Max. Imp. 1996, 11:667-78.

3. Nobes et al. enviada.

4. Mark, Physical Properties of Polymers Handbook, American Inst. Of Physics, Woodbury, New York, 1996.

5. Schwartz S.S. and Goodman, S.H. Plastic Materials and Processes, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1982.

6. Saito Y. and Doi, Y. Intl. J. Biol. Macromol. (1994) 16:99-104.

40 Ejemplo 6

Moldeado por compresión de P4HB poroso

45 Cristales clasificados de cloruro de sodio (80-180 μm) se mezclaron con el P4HB fundido descrito en los Ejemplos 4 y 5. (La proporción de la sal del polímero puede ajustarse para producir la porosidad deseada, mientras que el tamaño de partículas puede ajustarse para producir poros de diverso tamaño). La mezcla de sal del polímero se comprimió hasta lograr una película fina utilizando las condiciones descritas en el Ejemplo 6. Después de permitir que el material solidificara, la película se retiró del apoyo del mylar. La película se extrajo exhaustivamente con agua para retirar la sal, dejando una película porosa de P4HB. La remoción de la sal se monitoreó mediante análisis de cloruros en el material flotante y se confirmó mediante análisis elemental de la película lixiviada (menos de 0,5% de cloruro). Los datos mecánicos para P4HB con 50% y 80% de porosidad (pP4HB50 y pP4HB80, respectivamente) se muestran en la Tabla 1.

55 Ejemplo 7

Siembra de célula en bastidores de apoyo de P4HB

60 El P4HB poroso, tal como lo describe el Ejemplo 6, se esterilizó mediante tratamiento en frío con óxido de etileno. Se sembró con células vasculares bovinas y se cultivó *in vitro*. Los datos preliminares indicaron buena sujeción de estas células al material. Esto es una demostración más de la biocompatibilidad de este material. El número de células que se fijaron al material se puede cuantificar utilizando un ensayo de ADN comparándolo con los estándares para los bastidores de apoyo de ingeniería de tejidos, malla PGA.

65

ES 2 295 021 T3

Ejemplo 8

Orientación de la fibra de P4HB

- 5 Las tiras de P4HB moldeadas mediante compresión se estiraron uniaxialmente. La muestra se volvió más estrecha y se aclaró, mostrando señales de adoptar forma de collarín. Después de este procesamiento de estiramiento, el polímero parecía más resistente y algo más flexible, demostrando una orientación uniaxial de la muestra.

10 Ejemplo 9

Producción de espuma de P4HB

- 15 Se utilizó un método térmico de separación por fases para lograr espuma de P4HB. Primeramente, se disolvió el P4HB en dioxano de 1 a 5% p/v. Esta solución de polímero se fundió como una película fina y se solidificó por enfriamiento en hielo por debajo del punto de fusión del dioxano. El solvente se evaporó a partir de este material sólido a baja presión para aportar una espuma porosa con las dimensiones aproximadas de la película gruesa inicial. El análisis ESEM de este material mostró una estructura altamente porosa de tipo esponjoso. La concentración de polímero y el proceso de enfriamiento pueden variarse para alterar la porosidad de la espuma. Antes de la congelación, la solución del polímero puede conformarse en una variedad de formas, desmenuzarse en material particulado o utilizarse como recubrimiento. Por tanto, esta técnica de separación térmica por fases puede utilizarse para producir una gran variedad de formas tridimensionales altamente porosas de P4HB.

25 Ejemplo 10

Recubrimiento con P4HB de una malla no tejida de PGA

- 30 El P4HB se disolvió en tetrahidrofurano al 1% p/v. Una malla de PGA no tejida de 1 mm de espesor (*Albany Internacional*, densidad bulto 52 mg/cc) se introdujo dentro de esta solución de manera tal que se eliminaran los huecos (vacíos) de aire. La malla recubierta se secó al aire y se repitió el procedimiento de recubrimiento. El análisis microscópico de luz y ESEM de la malla recubierta mostró que durante el proceso de secado el polímero emigró a las intersecciones de fibra y funcionó para unir las fibras. Esta técnica de unión de fibras mejoró sustancialmente la resistencia y maniobrabilidad de la malla de PGA. El análisis de tracción según la ASTM D638, mostró que la resistencia a la tracción, el módulo de Young y la elongación final de este material fueron 130 psi., 240 psi. y 171%, respectivamente. Esto constituye una mejora significativa con respecto al material no recubierto que era muy frágil para realizarle la prueba de estos parámetros.

40 Ejemplo 11

Recubrimiento con espuma de P4HB de una malla no tejida de PGA

- 45 El P4HB se disolvió en dioxano a 2,5% p/v. Una malla de PGA no tejida de 1 mm de espesor (*Albany Internacional*, densidad en bulto 52 mg/cc) se introdujo dentro de esta solución de manera tal que se eliminaran las vacuolas de aire. La malla recubierta se enfrió con hielo de manera que se solidificara la solución de recubrimiento. La malla se secó por congelación para eliminar el dioxano. El análisis microscópico de luz de la malla recubierta mostró que durante el proceso de secado mediante congelación el polímero formó una espuma en forma de red a lo largo de la malla PGA. Este material espumoso tiene buena maniobrabilidad. La elevada área superficial y las propiedades mecánicas incrementadas son atractivas con respecto a una gama de aplicaciones.

Ejemplo 12

Formación de microesferas de P4HB

- 55 El P4HB se disolvió en diclorometano al 1% p/v. Se mezcló un volumen de 1 ml de esta solución con 5 ml de una solución de dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0,5% p/v. La mezcla de dos fases se mezcló mecánicamente para dar una emulsión. Se burbujeó una corriente de nitrógeno a través de la mezcla durante una hora con agitación rápida para facilitar la eliminación del diclorometano. La mezcla se agitó al aire durante la noche para lograr la eliminación completa del diclorometano. La suspensión resultante contenía microesferas de P4HB de alrededor de 1-10 μm , según se determinó por un microscopio óptico de contraste de fases.

Conclusiones de los ejemplos

- 65 El homopolímero de P4HB tiene propiedades físicas y características de degradación que lo hacen muy atractivo como implante para su uso en aplicaciones médicas. Este polímero puede fabricarse en forma de fibras, láminas, espumas, recubrimientos, estructuras, filamentos y similares para su uso como material médico implantable.

Referencias citadas en la descripción

Este listado de referencias citadas por el solicitante tiene como único fin la conveniencia del lector. No forma parte del documento de la Patente Europea. Aunque se ha puesto gran cuidado en la compilación de las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP rechaza cualquier responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

10	• US 4826493 A	• US 4880592 A	• US 5292860 A	• WO 9520614 A
	• WO 9520621 A	• WO 9523250 A	• WO 9520615 A	• WO 9533874 A
	• WO 9608535 A	• US 5502116 A	• US 5536564 A	• US 5489470 A
	• WO 9851812 A	• GB 2166354 A	• EP 754467 A1, Bowald	• EP 349505 A2
15	• US 5334698 A	• US 5935506 A	• US 4910145 A, Holmes	• US 5245023 A
	• US 5250430 A	• US 5480794 A	• US 5512669 A	• US 5534432 A
	• US 5563239 A	• US 5520116 A	• WO 9618420 A	• WO 9218164 A
	• WO 9503356 A	• US 9703007 W	• US 5271961 A	• US 5711933 A
20	• US 5705187 A	• WO 9839453 A	• US 5814071 A	• US 5797963 A
	• US 5735875 A	• US 5725529 A	• US 5649963 A	• US 5643321 A
	• US 5593425 A	• US 5423821 A	• US 5269809 A	• US 5268001 A
	• US 5163960 A	• US 5041129 A	• US 5855619 A	• US 5853746 A
25	• US 5725556 A	• US 5645589 A	• US 5059206 A	• US 5035713 A
	• US 4976715 A	• US 4924865 A	• US 4895148 A	• US 4884572 A
	• US 5840078 A	• US 5868747 A	• US 5843084 A	• US 5827298 A
30	• US 5807292 A	• US 5785713 A	• US 5730744 A	• US 5275601 A
	• US 5584836 A	• US 5364400 A	• US 5348026 A	• US 5876455 A
	• US 5632748 A	• US 5496326 A	• US 5718706 A	• US 5690222 A
	• US 5383878 A	• US 5425733 A	• US 5417692 A	• US 4927421 A
35	• US 5211647 A	• US 5116337 A	• US 5836961 A	• US 5817123 A
	• US 5747390 A	• US 5736372 A	• US 5679723 A	• US 5634931 A
	• US 5626611 A	• US 5593441 A	• US 5578046 A	• US 5516565 A
	• US 5397332 A	• US 5393594 A	• US 5368602 A	• US 5252701 A
40	• US 4838884 A	• US 4655221 A	• US 4633873 A	• US 4441496 A
	• US 4052988 A	• US 3875937 A	• US 3797499 A	• US 3739773 A
	• US 5858505 A	• US 5795584 A	• US 5614284 A	• US 5702409 A
	• US 5690675 A	• US 5433996 A	• US 5326355 A	• US 5147387 A
45	• US 5700479 A	• US 5860425 A	• US 5836315 A	• US 5836314 A
	• US 5813408 A	• US 5690655 A	• US 5611515 A	• US 4217890 A
	• US 5716395 A	• US 5100422 A	• US 5104400 A	• US 5700287 A
	• US 5824658 A	• US 5791352 A	• US 5711958 A	• US 5639468 A
50	• US 5626863 A	• US 5626622 A	• US 5607686 A	• US 5580923 A
	• US 5137875 A	• US 4840626 A	• US 5792106 A	• US 5769883 A
	• US 5766710 A	• US 5670161 A	• US 5629077 A	• US 5551954 A
55	• US 5500013 A	• US 5464450 A	• US 5443458 A	• US 5306286 A
	• US 5059211 A	• US 5085629 A	• US 5876452 A	• US 5716981 A
	• US 5700774 A	• US 5655546 A	• US 5041138 A	• US 4792336 A
	• US 5800544 A	• US 5735863 A	• US 5584885 A	• US 5514181 A
60	• US 5026381 A	• US 5019087 A	• US 4955893 A	• US 5853422 A
	• US 5634936 A	• US 5861003 A	• US 5855614 A	

Literatura citada en la descripción no asociada a patentes

- 65
- WILLIAMS; PEOPLES. *CHEMTECH*, 1996, vol. 26,38-44
 - STEINBÜCHEL; VALENTIN. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1995, vol. 128, 219-28

ES 2 295 021 T3

- SAITO; DOI. *Int. J. Biol. Macromol.*, 1994, vol. 16, 99-104
- KOOSHA *et al. Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 1989, vol. 6, 117-30
- 5 • POUTON; AKHTAR. *Adv. Drug Delivery Rev.*, 1996, vol. 18, 133-62
- RIVARD *et al. J Appl. Biomat.*, 1995, vol. 6, 65-68
- DUVERNOY *et al. Thorac. Cardiovasc. Surgeon*, 1995, vol. 43, 271-74
- 10 • MALM *et al. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1992, vol. 104, 600-07
- MALM *et al. Eur. Surg. Res.*, 1994, vol. 26, 298-308
- 15 • MALM *et al. Scand. J. Thor. Cardiovasc. Surg.*, 1992, vol. 26, 9-14
- BEHREND. *American J. Cardiol.*, October 1998, 45
- UNVERDORBEN *et al. American J. Cardiol.*, October 1998, 46
- 20 • NAKAMURA *et al. Macromol.*, 1992, vol. 25, 4237-31
- LEMOIGNE; ROUKHELMAN. *Annales des fermentations*, 1925, vol. 5, 527-36
- 25 • WALLEN; ROHWEDDER. *Environ. Sci. Technol.*, 1974, vol. 8, 576-79
- STEINBÜCHEL; WIESE. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1992, vol. 37, 691-97
- 30 • DE SMET *et al. J. Bacteriol.*, 1983, vol. 154, 870-78
- STEINBÜCHEL; VALENTIN. *FEMS Microbiol., Lett.*, 1995, vol. 128, 219-28
- *Vet. Surg.* 21, vol. 192, 355-61
- 35 • WILLIAMS; PEOPLES. *Chem. Br.*, 1997, vol. 33,29-32
- MiscellaneoUS Biomaterials. BYROM. Biomaterials. MacMillan Publishers, 1991, 333-59
- 40 • Biopolyesters. HOCKING; MARCHESSAULT. Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers. Chapman and Hall, 1994, 48-96
- Biologically Produced (R)-3-hydroxyalkanoate Polymers and Copolymers. HOLMES. Developments in Crystalline Polymers. Elsevier, 1988, vol. 2, 1-65
- 45 • Microbial Production of Poly-b-hydroxybutyric acid.
- LAFFERTY *et al. Biotechnology.* 1988, vol. 66,135-76
- 50 • MÜLLER; SEEBACH. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1993, vol. 32, 477-502
- Polyhydroxyalkanoic Acids. STEINBÜCHEL. Biomaterials. MacMillan Publishers, 1991, 123-213
- 55 • STEINBÜCHEL; WIESE. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1992, vol. 37, 691-697
- AGOSTINI *et al. Polym. Sci.*, 1971, vol. 9, 2775-87
- GROSS *et al. Macromolecules*, 1988, vol. 21, 2657-68
- 60 • DUBOIS *et al. Macromolecules*, 1993, vol. 26, 4407-12
- LE BORGNE; SPASSKY. *Polymer*, 1989, vol. 30,2312-19
- 65 • TANAHASHI; DOI. *Macromolecules*, 1991, vol. 24,5732-33
- HORI *et al. Macromolecules*, 1993, vol. 26, 4388-90

ES 2 295 021 T3

- **KEMNITZER** *et al. Macromolecules*, 1993, vol. 26, 1221-29
- **HORI** *et al. Macromolecules*, 1993, vol. 26, 5533-34
- 5 • **HOCKING** *et al. Polym. Bull.*, 1993, vol. 30, 163-70
- **XIE** *et al. Macromolecules*, 1997, vol. 30, 6997-98
- **GERNGROSS; MARTIN**. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995, vol. 92, 6279-83
- 10 • **SIM** *et al. Nature Biotech.*, 1997, vol. 15, 63-67
- **KUSAKA** *et al. J.M.S. Pure Appl. Chem.*, 1998, vol. A35, 319-35
- 15 • **VALENTIN** *et al. J. Biotech*, 1997, vol. 58, 33-38
- **HEIN** *et al. FEMS Microbiol. Lett.*, 1997, vol. 153, 411-18
- **HOCKING; MARCHESSAULT**. *Polym. Bull.*, 1993, vol. 30, 163-70
- 20 • **KORTE; GELT**. *Polymer Lett.*, 1966, vol. 4, 685
- **BAILEY** *et al. J Polym. Sci. Polym. Chem.*, 1982, vol. 20, 3021-30
- 25 • **BAILEY**. *J. Polym. Preprints*, 1984, vol. 25, 210-11
- **HORI** *et al. Polymer*, 1996, vol. 36, 4703-05
- **OTERA** *et al. Tetrahedron Lett.*, 1986, vol. 27, 2383-86
- 30 • **OTERA** *et al. J. Org. Chem.*, 1991, vol. 56, 5307-11
- **OTERA** *et al. J. Org. Chem.*, 1989, vol. 54, 4013-14
- 35 • **OTERA** *et al. J Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1991, 1742-43
- **STANTON; GAGNÉ**. *J Am. Chem. Soc.*, 1997, vol. 119, 5075-76
- 40 • **DE GOOT**. *Biomaterials*, 1997, vol. 18, 613-22
- **SPEER** *et al. Clin. Orthop.*, 1993, vol. 291, 67-74
- **BUPTA**. Medical textile structures: an overview. *Medical Plastics and Biomaterials*, January 1998, 16-30
- 45 • **TANQUAY**. *Cardiology Clinics*, 1994, vol. 23, 699-713
- **TALJA**. *J. Endourology*, 1997, vol. 11, 391-97
- **SCHRODER** *et al. J Biomed Mat. Res.*, 1991, vol. 25, 329-39
- 50 • **MALM, T. et al.** *Scand. J. Thor. Cardiovasc. Surg.*, 1992, vol. 26, 9-14
- **KOOSHA**, PH.D. Dissertation. *Diss. Abstr. Int. B*, 1989, vol. 51, 1206
- 55 • **BRUHN; MÜELLER**. *Proceed Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 1991, vol. 18, 668-69
- **CONTI** *et al. J. Microencapsulation*, 1992, vol. 9, 153-66
- 60 • **OGAWA** *et al. Chem. Pharm. Bull.*, 1988, vol. 36, 1095-103
- Polyanhydride microspheres as drug delivery systems. **MATHIOWITZ; LANGER**. *Microcapsules Nanopart. Med. Pharm.* 1992, 99-123
- 65 • **MAYSINGER**. *Reviews in the Neurosciences*, 1995, vol. 6, 15-33
- Biomaterials Science. *Academic Press*, 1996

ES 2 295 021 T3

- Biomedical Applications of Polymeric Materials. *CRC Press*, 1993
- Synthetic Biodegradable Polymer Scaffolds. 1997
- 5 • Wound Closure Biomaterials and Devices. *CRC Press*, 1997
- Polyurethanes in Biomedical Applications. *CRC Press*, 1998
- Handbook of Biodegradable Polymers. *Harwood Academic Publishers*, 1997
- 10 • **HUTMACHER** *et al.* *Int. J. Oral Max. Imp.*, 1996, vol. 11, 667-78
- **MARK**. Physical Properties of Polymers Handbook. *American Inst. of Physics*, 1996
- 15 • **SCHWARTZ**, S.S.; **GOODMAN**, S. H. *Plastic Materials and Processes*, 1982
- **SAITO**, Y.; **DOI**, Y. *Int. J. Biol. Macromol.*, 1994, vol. 16,99-104

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Un implante médico biocompatible para la sujeción, fijación, apoyo, reparación o refuerzo del tejido blando, comprendiendo el implante una composición del homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato),

en el que la composición del homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) comprende opcionalmente aditivos que pueden alterar la estabilidad química del polímero,

10 en el que el homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) tiene un peso molecular medio ponderal en el intervalo entre 10.000 y 10.000.000 de Daltons,

15 en el que el implante se selecciona entre el grupo que consta de fijadores de suturas; dispositivos de reparación del menisco; remaches; clavijas; tornillos de interferencia; mallas quirúrgicas para implantes de tejido blando para el refuerzo del tejido blando; para tirantes de defectos fasciales; para un parche de traquea o de otro órgano; para recuperación de órganos; para material dural de injerto; para vendaje de heridas o quemaduras, o para un tapón hemostático, cabestrillos; pasadores ortopédicos, barreras de adhesión; stents cardiovasculares, de gastroenterología o uretéricos; dispositivos de reparación articular de cartílagos; guías de nervios; dispositivos de reparación de tendones; dispositivos de reparación de defectos septales atriales; parches cardiovasculares para injertos vasculares de parche; parche intracardiaco o para cierre mediante parches después de la endarterectomía; y parches de reparación para la
20 reparación de defectos de la pared abdominal y la torácica, para hernia inguinal, paracolostomía, defectos ventrales, paraumbilicales, escrotales o femorales, para refuerzo de pliegues musculares; para refuerzo de líneas de engrampado e incisiones largas, para reconstrucción de la pared pélvica, para reparación de prolapso rectal o vaginal, para sostén de suturas y engrampados, para reparación urinaria o de vejiga o para vendajes.

25 2. El implante de la Reivindicación 1 en el que la velocidad de degradación de la composición de homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) se controla mediante incremento de la porosidad de la composición de poli(4-hidroxi-
butirato).

30 3. El implante de la Reivindicación 1, en el que la composición del homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) contiene aditivos seleccionados entre el grupo que consta de sustancias hidrófilas, sustancias hidrófobas y recubrimientos que alteran la absorción de agua por parte de la composición.

4. El implante de la Reivindicación 1 que contiene aditivos que alteran la estabilidad química del polímero.

35 5. El implante de la Reivindicación 4 en el que los aditivos promueven escisión de la cadena.

6. El implante de la Reivindicación 4 en el que los aditivos se seleccionan entre el grupo que consta de ácidos, bases, electrófilos, nucleófilos, plastificadores, polímeros, agentes formadores de poros y agentes diseñados para reducir la cristalinidad del polímero.

40 7. El implante de la Reivindicación 1 que comprende agentes formadores de poros.

8. El implante de la Reivindicación 7 en el que los agentes formadores de poros son partículas liofilizables.

45 9. El implante de la Reivindicación 7 en el que los agentes formadores de poros absorben agua.

10. Un método para la fabricación de un implante médico biocompatible para la sujeción, fijación, apoyo, reparación o refuerzo del tejido blando, comprendiendo el implante una composición de homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato),

50 en el que la composición de homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) comprende opcionalmente aditivos que alteran la estabilidad química del polímero,

55 en el que el homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) tiene un peso molecular medio ponderal en el intervalo entre 10.000 y 10.000.000 Daltons,

que comprende

la provisión de una composición de homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato),

60 en el que opcionalmente la composición de homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) comprende aditivos que alteran la estabilidad química del polímero,

65 en el que el homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) tiene un peso molecular medio ponderal en el intervalo entre 10.000 y 10.000.000 de Daltons; y

que conforma o incorpora la composición del homopolímero de poli(4-hidroxi-
butirato) a un implante seleccionado entre el grupo que consta de fijadores de suturas; dispositivos de reparación del menisco; remaches; clavijas; tornillos

ES 2 295 021 T3

de interferencia; mallas quirúrgicas para implantes de tejidos blandos para el refuerzo del tejido blando, para tirantes de defectos faciales, para un parche de traquea o de otro órgano; para recuperación de órganos, para material dural de injerto, para vendaje de heridas o quemaduras o para un tapón hemostático, cabestrillos; pasadores ortopédicos; barreras de adhesión; stents cardiovasculares, de gastroenterología o uretéricos; dispositivos de reparación articular de cartílagos; guías de nervios; dispositivos de reparación de tendones; dispositivos de reparación de defectos septales atriales; parches cardiovasculares para injerto de parche vascular; parche intracardíaco o para cierre mediante parches después de la endarterectomía; y parches de reparación para la reparación de defectos de las paredes abdominal y torácica, para hernias inguinales, en paracolostomía, ventrales, paraumbilicales, escrotales o femorales; para refuerzo de pliegues musculares; para refuerzo de líneas de engrapado e incisiones largas, para reconstrucción de la pared pélvica, para reparación de prolapsos rectales o vaginales, para sostén de suturas y engrapados, para reparación urinaria o de vejiga o para vendajes.

11. El implante de la Reivindicación 1 o el método según la Reivindicación 10, en el que:

15 el remache o clavija es un dispositivo para reparación SLAP de lesiones, reparación de separación acromio-clavicular, reparación de la rotación del puño, cambio capsular o reconstrucciones capsulares, tenodesis de bíceps o reparación del deltoides;

20 siendo la malla quirúrgica para la reparación de aponeurosis abdominal, de la pared abdominal, de defectos faciales o capsulares, tendones de la rótula o de Aquiles o para el reemplazo de tendones infraespinales o ligamentos craneales cruciformes.

12. El implante según la Reivindicación 1, en el que el implante contiene además un agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

25 13. El implante según la Reivindicación 12, en el que el agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico se selecciona entre el grupo que comprende, genes, oligonucleótidos, ácidos nucleicos, moléculas de sentido inverso, ribozimas, vectores retrovirales para uso en terapia de genes, anticuerpos y sus fragmentos, factores de sujeción celular, ligandos de receptores, enzimas, péptidos de adhesión, sacáridos, medicamentos polisacáridos sintéticos orgánicos o inorgánicos, factores de coagulación sanguínea, inhibidores de coagulación sanguínea, agentes de disolución de coágulos, antígenos para inmunización, hormonas, factores de crecimiento y agentes de diagnóstico detectables mediante rayos X, fluorescencia, imágenes de resonancia magnética, radioactividad, ultrasonido, tomografía computarizada (CT) o tomografía por emisión de positrones (PET).

35 14. El implante según la Reivindicación 13, en el que: el agente de disolución de coágulos se selecciona entre la estreptocinasa y el activador plasminógeno de tejidos; el polisacárido es heparina; el oligonucleótido es un oligonucleótido de sentido inverso; el agente diagnóstico detectable por ultrasonido es un gas seleccionado entre aire, oxígeno y perfluorocarbonos.

40 15. El implante según la Reivindicación 1, en el que el polímero encapsula células o tejido.

45

50

55

60

65

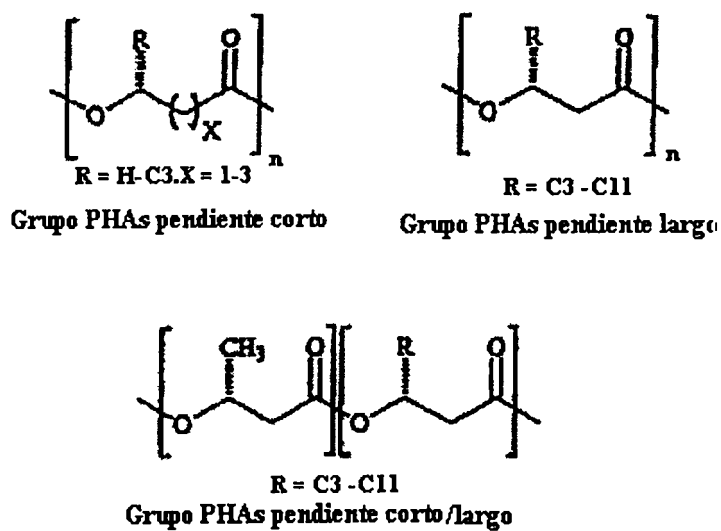


FIGURA 1

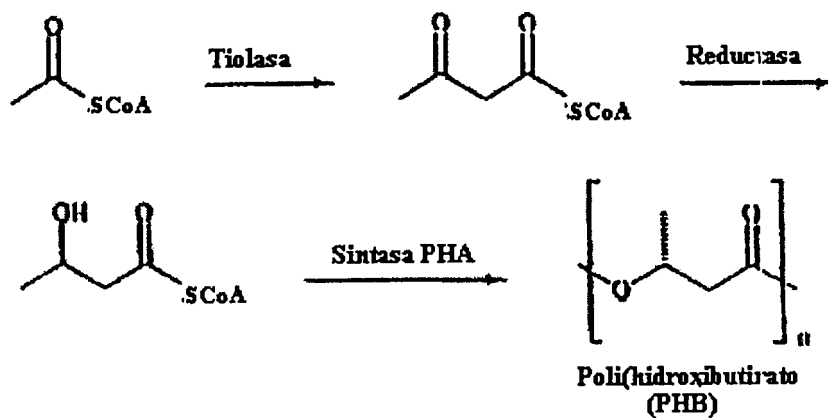


FIGURA 2a

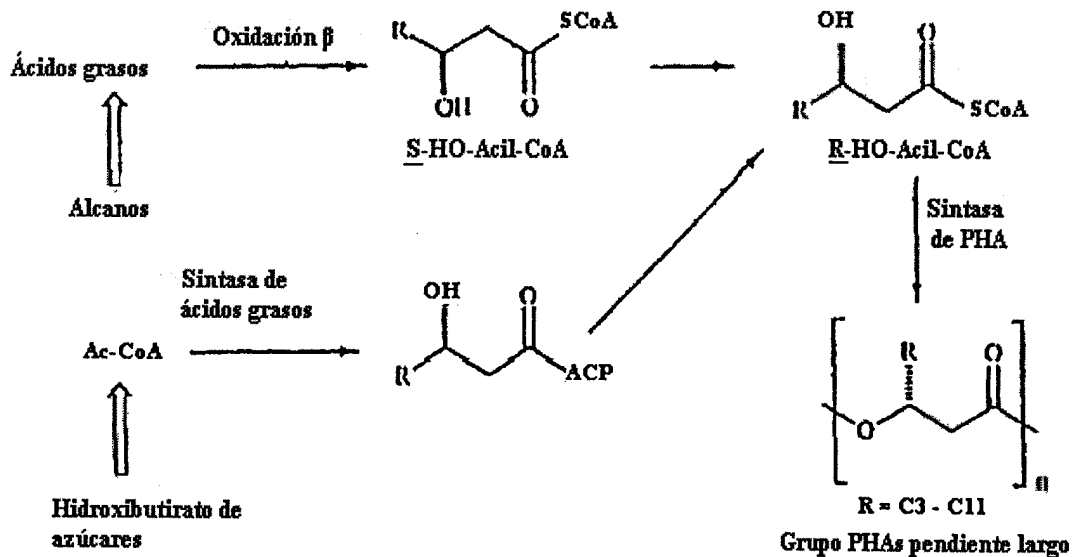


FIGURA 2b

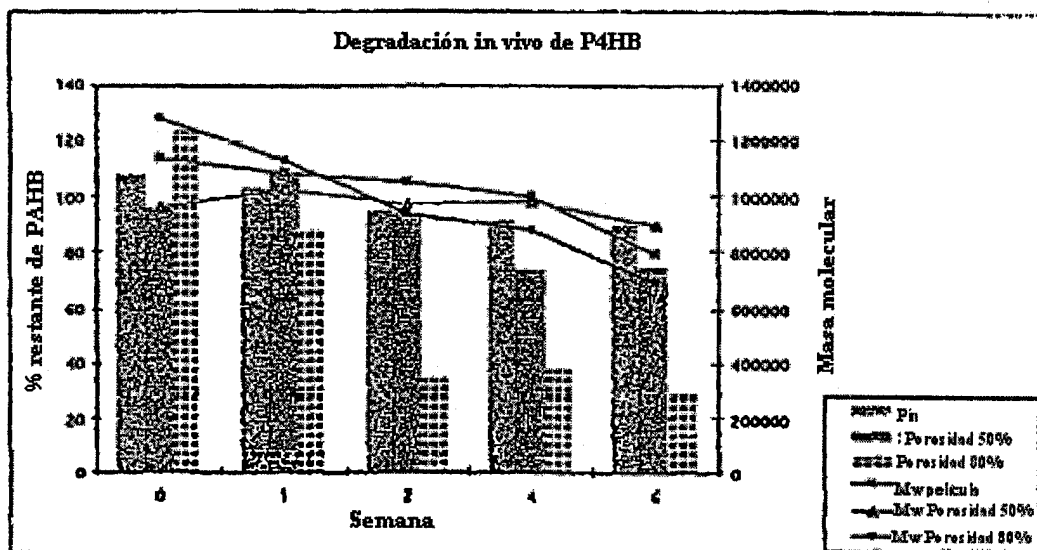


FIGURA 3