



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial



CARTA PATENTE N.º PI 9914258-9

Patente de Invenção

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito : PI 9914258-9

(22) Data do Depósito : 30/09/1999

(43) Data da Publicação do Pedido : 06/04/2000

(51) Classificação Internacional : C08G 63/91; C08L 67/00

(30) Prioridade Unionista : 01/10/1998 US 09/164,865; 15/09/1999 US 09/396,589

(54) Título : Polímero triboloco biodegradável e composição polimérica aquosa biodegradável

(73) Titular : Macromed, INC., Sociedade Norte Americana. Endereço: 9520 South State Street, Sandy, UT 84070, Estados Unidos (US).

(72) Inventor : Ramesh C. Rathi, Técnico(a). Endereço: 1032 E. 400 S, 401 B, Salt Lake City, UT 84102, Estados Unidos. Cidadania: Norte Americana.; Gaylen M. Zentner, Técnico(a). Endereço: 6312 S. Colleton Circle, Salt Lake City, UT 84121, Estados Unidos. Cidadania: Norte Americana.; Byeongmoon Jeong, Técnico(a). Endereço: 714 S. Arapeen Drive, Salt Lake City, UT 84108, Estados Unidos. Cidadania: Norte Americana.

Prazo de Validade : 10 (dez) anos contados a partir de 15/07/2014, observadas as condições legais.

Expedida em : 15 de Julho de 2014.

Assinado digitalmente por
Júlio César Castelo Branco Reis Moreira
Diretor de Patentes

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "POLÍMERO TRIBLOCO BIODEGRADÁVEL E COMPOSIÇÃO POLIMÉRICA AQUOSA BIODEGRADÁVEL".

A presente invenção refere-se a copolímeros em bloco biodegradáveis, solúveis em água, de baixo peso molecular, termossensíveis, tendo uma alta porcentagem de peso (pelo menos 50 por cento) de bloco(s) hidrófobo(s), e seu uso para administração de drogas por via parenteral, ocular, tópica, transdérmica, vaginal, bucal, transmucosal, pulmonar, transuretral, retal, nasal, oral e auricular. Esta invenção é tornada possível pelo uso de polímeros triblocos biodegradáveis termossensíveis com base em blocos de poliéster biodegradável e de polietilenoglicol (PEG), que são descritos em detalhe mais adiante. O sistema é baseado na descoberta de que apenas um subsistema seletivo de tais copolímeros em bloco com pesos moleculares relativamente baixos e teor de polímeros em bloco hidrófobos relativamente alto existem como solução clara a, ou a cerca de, 5°C até 25°C em água mas, quando a temperatura é aumentada até cerca da temperatura do corpo (tipicamente 37°C para os humanos), eles interagem espontaneamente para formar hidrogéis semi-sólidos (isto é, gel) que contêm uma alta porcentagem de água presa na rede de gel e ainda são substancialmente insolúveis em água.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO E SUMÁRIO DA TÉCNICA ANTERIOR

Recentemente muitos drogas peptídeo/proteína, eficazes para uma variedade de aplicações terapêuticas, tornaram-se disponíveis comercialmente através dos avanços em DNA recombinante e outras tecnologias. Entretanto, a degradação de polipeptídeos ou proteínas, com seu alto peso molecular, pelas enzimas do sistema gastrointestinal, e a curta meia-vida no corpo são limitadas à administração parenteral por vias tais como injeção intravenosa ou intramuscular ou subcutânea. Muitos drogas peptídeos são de solubilidade e/ou estabilidade limitada em transportadores líquidos convencionais e são portanto difíceis de se formular e administrar. Também, em muitos casos, são necessárias numerosas administrações para se atingir o

efeito terapêutico esperado por um período extenso de tempo. A entrega controlada e a longo prazo de tais polipeptídeos ou proteínas é essencial para preparar a aplicação prática destes medicamentos e para utilizar as drogas derivadas da biotecnologia avançada. Um outro problema é a obediência do paciente. É freqüentemente difícil conseguir que um paciente siga um regime de dosagem prescrito, particularmente quando a prescrição estiver em desordem crônica e o droga tem efeitos colaterais agudos. Portanto, seria altamente desejável fornecer um sistema para a distribuição de drogas, em particular drogas de polipeptídeos e proteína, a uma taxa controlada sobre um período de tempo prolongado sem os problemas acima mencionados de forma a otimizar a eficácia terapêutica, minimizar os efeitos colaterais e a toxicidade, e portanto aumentar a eficiência e aumentar a obediência do paciente.

Dispositivos poliméricos carregados de drogas e formas de dosagem foram investigados para tratamento terapêutico de longo prazo de diferentes doenças. Uma propriedade importante do polímero é sua biodegradação, significando que o polímero pode quebrar-se ou degradar-se dentro do corpo em componentes não tóxicos, quer concomitantemente com a liberação da droga, quer após toda a droga ter sido liberada. Além disto, técnicas, procedimentos, solventes et al. aditivos usados para fabricar o dispositivo e carregar a droga deveriam resultar em formas de dosagem que sejam seguras para o paciente, minimizar a irritação dos tecidos em volta e ser um meio compatível para a droga. Atualmente dispositivos de liberação controlada biodegradáveis implantáveis são fabricados de polímeros sólidos tais como ácido poliglicólico, ácido polilático ou copolímeros dos ácidos glicólico e lático. Devido às propriedades hidrófobas destes polímeros, o carregamento de drogas e a fabricação dos dispositivos usando-se estes materiais requer solventes orgânicos, por exemplo, cloreto de metileno, clorofórmio, ácido acético ou dimetil formamida. Devido à natureza tóxica de alguns solventes, a secagem extensa para remover o solvente em excesso é geralmente necessária após este processo. Em muitos casos o dispositivo polimérico final é fabricado em uma forma sólida distinta (por exemplo, esfera,

placa ou vara requerendo um procedimento de implantação que freqüentemente resulta em trauma para o tecido.

Atualmente há poucos materiais poliméricos sintéticos ou naturais que podem ser usados para a entrega controlada de drogas, incluindo 5 os peptídeos e proteínas, devido aos estritos requisitos reguladores de flexibilidade, tais como biocompatibilidade, tendo um caminho de degradação claramente definido, e segurança dos produtos de degradação. Os polímeros biodegradáveis mais amplamente investigados e avançados com relação 10 aos dados toxicológicos e clínicos disponíveis são os alifáticos poli (α -hidróxi-ácidos), tais como poli (D,L- ou L- ácido lático) (PLA) e poli (ácido glicólico) (PGA) e seus copolímeros (PLGA). Esses polímeros estão comercialmente disponíveis e estão presentemente sendo usados como suturas biabsorventes. Um sistema aprovado pela FDA para liberação controlada de 15 acetato de leuprolida, o Lupron Depot^{MR}, é também baseado em copolímeros PLGA. O Lupron Depot^{MR} consiste em micro esferas injetáveis, que liberam acetato de leuprolida por um período prolongado (por exemplo, cerca de 30 dias) para o tratamento de câncer da próstata. Com base nesta história de uso, os copolímeros PLGA têm sido o material de escolha no projeto inicial de sistema de entrega de drogas com liberação parenteral controlada 20 usando-se um transportador biodegradável.

Embora tenha havido algum sucesso limitado, estes polímeros têm problemas associados com suas propriedades psicoquímicas e métodos de fabricação. Macromoléculas hidrófilas, tais como polipeptídeos, não podem se difundir imediatamente das matrizes hidrófobas ou membranas de 25 polilactídeos. A carga de drogas e o dispositivo de fabricação usando o PLA e o PLGA freqüentemente necessitam de solventes orgânicos tóxicos, e a forma de dosagem sólida pode induzir mecanicamente a irritação dos tecidos.

A. S. Sawhney e J. A. Hubbel, J. Biomed. Mat. Res., 24, 1197-30 1411 (1990) sintetizaram terpolímeros de D,L-lactídeo, **glicolídeo** e ϵ -caprolactama que se degradam rapidamente *in vitro*. Por exemplo, uma composição terpolímero de 60% glicolídeo, 30% lactídeo e 10% ϵ -

caprolactona mostrou uma meia-vida de 17 dias. A hidrofilidade do material foi aumentada pela copolimerização com um tensoativo poloxâmero (Pluronic F-68). Este poloxamero é um copolímero em bloco compreendendo cerca de 80% em peso de um bloco de poli(oxipropileno) relativamente hidrófobo e 20% em peso de um bloco de poli(oxietileno) hidrófilo. A copolimerização com o poloxâmero resultou em um material mais forte e parcialmente cristalino que era mecanicamente estável a temperaturas fisiológicas (por exemplo, 37°C) em água. A meia-vida deste copolímero foi ligeiramente aumentada comparada com o polímero base. Entretanto, sabe-se que os tensoativos do tipo poloxâmero não são biodegradáveis.

Um material ótimo para uso como dispositivo de entrega de drogas poliméricos injetáveis ou implantáveis deveria ser biodegradável, compatível com drogas hidrofílos ou hidrófobos, e permitir a fabricação com solventes simples e seguros, tais como a água, e não necessite polimerização adicional ou outra ligação covalente formando reações seguida de administração.

Um sistema que pode ser fabricado em solução aquosa é uma classe de copolímeros em blocos referidos acima e comercializados sob o nome comercial de Pluronic®. Esses copolímeros são compostos de dois diferentes polímeros em blocos, isto é, blocos hidrofílos poli(oxietileno) e blocos hidrófobos poli(oxipropileno) para fazer um tribloco de poli(oxietileno)-poli(oxipropileno)-poli(oxietileno). Os copolímeros tribloco absorvem a água para formar gel que exibem comportamento de congelamento térmico inverso. Entretanto, o sistema Pluronic® não é biodegradável e as propriedades de gel (gel solúvel em água) e de cinética de liberação de drogas (muito rápida) daqueles géis não se mostraram úteis e necessitam de uma melhora substancial.

Há uma forte necessidade de materiais hidrofílos biodegradáveis que possam ser usados para incorporar drogas polipeptídeos solúveis em água em solução. A. S. Sawhney et al., *Macromolecules*, Vol. 26, Nº 4, 581-589 (1993) sintetizaram macrômeros tendo um bloco central de polietileno glicol, estendido com oligômeros de ácidos α -hidroxi tais como oligo(D,L-

ácido lático) ou oligo(ácido glicólico) e terminados com grupos acrilato. Usando-se fotoiniciadores não tóxicos, esses macrômeros podem ser rapidamente polimerizados com luz visível. Devido à multi funcionalidade dos macrômeros, a polimerização resulta na formação de géis de ligação cruzada. Os géis se degradam na hidrólise das regiões oligo(ácido α -hidroxi) em polietileno glicol, o ácido α -hidroxi, e oligo(ácido acrílico), e suas taxas de degradação podem ser modeladas pela escolha apropriada do oligo (ácido α -hidroxi) de menos de 1 dia até 4 meses. Entretanto, neste sistema, um componente adicional, um fotoiniciador, é empregado, bem como uma reação de ligação cruzada formadora de ligações covalente. Uma performance altamente variável de pessoa para pessoa resultaria nesta aproximação devido às diferenças entre as pessoas na espessura e opacidade da pele.

Okada et al., Patente japonesa 2-78629 (1990) sintetizaram materiais copolímeros em blocos biodegradáveis por transesterificação do poli (ácido lático) (PLA) ou do poli (ácido lático) ácido glicólico (PLGA) e do polietileno glicol (PEG). A faixa de peso molecular para o PLGA foi de 400 a 5.000 e para o PEG de 200 a 2.000. A mistura foi aquecida a 100°C até 250°C por 1 a 20 horas sob uma atmosfera de nitrogênio. O produto era miscível com água e formou um hidrogel; entretanto, ele precipitou na água acima da temperatura ambiente. Em outras palavras, a solubilidade na água e as interações da cadeia interpolímera mudaram com a temperatura. Este polímero é similar aos polímeros descritos nas patentes Churchill descritas abaixo e é utilizado como uma suspensão aquosa ou moldado em um bloco sólido para implantação. Não há indicação de que este polímero exibe propriedades de congelamento térmico inversas e portanto tem que ser injetado como uma solução ao invés de como uma solução coloidal de polímero.

T. Matsuda, ASAIO Journal, M512-M517 (1993) usou um gel polímero biodegradável para entregar um potente agente proliferativo peptidil, angiopeptina, para evitar a hiperplasia mioíntima que ocorre quando um vaso sanguíneo doente é substituído por um enxerto artificial ou tratado com um dispositivo intravascular. Um líquido altamente viscoso de um copolímero em bloco composto de segmentos de blocos de poli (ácido lático) e polietile-

no glicol (PLA-PEG) foi usado como um veículo revestível de drogas *in situ*. Os materiais foram fornecidos pela Taki Chemical Co, Ltd., Hyogo, Japão. Uma liberação lenta prolongada de angiopeptina do gel polímero, consistindo em 0,5 g PLA-PEG e 0,5mg de angiopeptina, foi observado *in vitro* após 5 algumas poucas semanas quando o gel foi mantido em uma solução tampão-nada mantida a 37°C. Não foi observada nenhuma liberação precoce de angiopeptina. Baseado nestes resultados, a liberação de angiopeptina sustentada local do gel polimérico biodegradável que foi revestido no vaso sanguíneo machucado *in vivo* foi teorizado como eficaz.

10 L. Martini et al., J. Chem. Soc., Faraday Trans., 90 (13), 1961-1966 (1994) sintetizou copolímeros tribloco do tipo ABA de peso molecular muito baixo incorporando poli (ϵ -caprolacona) hidrófilo, que é conhecido como sujeito à degradação *in vivo* pelo corte da cadeia hidrolítica envolvendo as ligações de ésteres, e informou as propriedades da solução dos copolímeros em bloco PCL-PEG-PCL. Uma nebulosidade foi observada visualmente quando uma solução aquosa do copolímero em bloco foi aquecida lentamente. Os pontos de nebulosidade de 2% em peso das soluções aquosas dos copolímeros estavam a 65°C e 55°C para PCL-PEG-PCL (450:4000:450) e PCL-PEG-PCL (680:4000:680), respectivamente. O congelamento inverso ao resfriar as soluções de PCL-PEG-PCL (680:4000:680) foi observado em concentrações críticas e temperaturas variando de 13 % a 25°C até 30% a 80°C. Nenhuma transição inferior gel/sol foi observada no posterior resfriamento da solução até 0°C. A taxa de degradação *in vitro* do PCL-PEG-PCL (680:4000:680) foi muito lenta. Apenas uma queda de cerca 15 de 20% na massa molar (do GPC) foi observada após um período de 16 semanas. Tal degradação lenta é insuficiente para um veículo prático de liberação de drogas.

Churchill et al., Patente U. S. 4,526,938 e 4,745,160 mostram copolímeros que ou são auto-dispersíveis ou podem ser tornados auto-dispersíveis em soluções aquosas. Esses copolímeros são copolímeros tribloco ABA ou em bloco AB compostos de blocos A hidrófobos, tais como polilactídeos (PLA) ou poli (lactídeo-co-glicolídeo) (PLGA), peso de menos 20

de 5000 é funcional. Além disso, não há exemplo de polímeros do tipo ABA diferente das altas moléculas sem o uso de solventes orgânicos e blocos B hidrófilos, tais como poliéster glicol (PEG) ou polivinil pirrolidona. Preferivelmente, para ser auto-dispersíveis em água sem o uso de solventes orgânicos, estes polímeros devem conter mais de 50% em peso de componente hidrófilo (bloco B) se comparado ao componente hidrófobo (bloco A) ou, são copolímeros onde o componente hidrófobo (bloco A) tem um peso molecular médio de menos de 5.000. Embora os polímeros que têm um peso molecular médio baixo como 1000 sejam mencionados, não há ensinamento direto do uso de tais polímeros, ou que os polímeros do tipo ABA tendo polímeros com peso molecular polímeros tendo um teor hidrófobo de pelo menos 50% em peso. Não há indicação de que sem o uso de solventes orgânicos estes copolímeros em bloco sejam solúveis em soluções aquosas a qualquer temperatura, nem há qualquer indicação que as drogas/polímeros possam ser administrados como uma solução. De preferência, a administração é descrita como uma suspensão coloidal do polímero, ou, dispersões drogas/polímero são secas a frio em um pó e processadas por moldagem de compressão para formar um sólido adequado para uso como uma fórmula de depósito implantável. Suspensões aquosas droga/polímero ou dispersões são dois sistemas de fases onde a fase polímero dispersada é suspensa na fase contínua aquosa. Tais dispersões não são adequadas para uso em situações onde processos de filtragem estreis são necessários para remover partículas bacterianas ou outras partículas tóxicas, como qualquer outro processo também removeria as partículas de droga/polímero e resultaria em doses sub-terapêuticas. Copolímeros em bloco do tipo ABA que sejam solúveis em água e que congelem termicamente não estão incluídos nas patentes de Churchill et al..

Das discussões acima deve ser observado que géis conhecidos que são termicamente reversíveis (por exemplo, Pluronics[®]) não são inherentemente úteis como sistemas de entrega de drogas. Embora haja copolímeros em bloco que possuem propriedades inversas de congelamento térmico, a estes géis faltam as características críticas necessárias para controle

da liberação das drogas por um período prolongado e a toxicidade presente ou as consequências da biocompatibilidade devido à sua não biodegradabilidade. Assim, enquanto a propriedade inversa de congelamento térmico é reconhecida universalmente como única e potencialmente altamente útil no campo da entrega de drogas, ainda tem que haver um sistema desenvolvido que possua as propriedades necessárias para um sistema viável.

OBJETIVOS E SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É um objetivo da presente invenção fornecer sistemas de entrega de drogas copolímeros tribloco com baixo peso molecular que sejam biodegradáveis, exibam comportamento inverso de congelamento térmico, a saber, exista como uma solução líquida a baixas temperaturas, forme géis reversivelmente a temperaturas fisiologicamente relevantes, e forneça boas características de distribuição de drogas.

Um outro objetivo da presente invenção é fornecer um sistema de distribuição de drogas para a administração parenteral de drogas hidrófílos e hidrófobos, drogas peptídeos e proteínas, hormônios, ácidos genes/nucleico, oligonucleotídeos e agentes anticâncer.

Ainda um outro objetivo desta invenção é fornecer um método para a administração parenteral de drogas em uma matriz polimérica biodegradável resultando na formação de um depósito de gel dentro do corpo, do qual os drogas são liberados a uma taxa controlada.

Estes et al. objetivos são executados por meio de um copolímero em bloco do tipo ABA - ou BAB - tendo um peso molecular médio de entre cerca de 2000 e 4990 consistindo em cerca de 51 a 83% em peso de um polímero em bloco hidrófilo A compreendendo um poliéster biodegradável e cerca de 17 a 49% em peso de um polímero em bloco hidrófilo B de polietíleno glicol (PEG). Preferivelmente, o poliéster biodegradável é sintetizado de monômeros selecionados do grupo consistindo em D,L-lactídeo, L-lactídeo, D,L-ácido lático, D-ácido lático, L-ácido lático, glicolídeo, ácido glicólico, ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexonóico, γ -butirolactona, γ -hidroxi ácido butírico, δ -valerolactona, δ -hidroxi ácido valérico, ácidos hidro-oxi-butírico, ácido málico, e seus copolímeros. Mais preferivelmente o poliéster biodegradável é

sintetizado dos monômeros selecionados do grupo consistindo em D,L-lactídeo, D-lactídeo, L-lactídeo, D,L-ácido lático, D-ácido lático, L-ácido lático, glicolídeo, ácido glicólico, ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexonóico e seus copolímeros. Mais preferivelmente, o poliéster biodegradável é sintetizado dos monômeros selecionados do grupo consistindo em D,L-lactídeo, D-lactídeo, L-lactídeo, D,L-ácido lático, D-ácido lático, L-ácido lático, glicolídeo, ácido glicólico, e seus copolímeros.

O polietileno glicol (PEG) é também algumas vezes referido como poli (etileno óxido) (PEO) ou poli(oxietileno) e os termos podem ser usados intercambiavelmente para os propósitos desta invenção.

No bloco A hidrófobo, o teor de lactato está entre cerca de 20 a 100, preferivelmente cerca de 20 a 80 moles por cento e mais preferivelmente entre cerca de 50 a 80 moles por cento. O teor de glicolato está entre 0 e 80 moles por cento, preferivelmente entre cerca de 20 a 80 moles por cento e mais preferivelmente entre cerca de 20 a 50 moles por cento.

Objetivos e vantagens adicionais desta invenção tornar-se-ão aparentes dos seguintes sumário e descrição detalhada das várias representações que constituem esta invenção.

Conforme usados aqui os seguintes termos deverão ter os significados designados:

"Parenteral" deverá significar intramuscular, intraperitoneal, intra-abdominal, subcutâneo, e, até a extensão possível, intravenosa e intra-arterial.

"Temperatura de congelamento" significa a temperatura na qual o copolímero em bloco biodegradável submete-se ao congelamento térmico inverso, isto é, a temperatura abaixo da qual o copolímero em bloco é solúvel em água e acima da qual o copolímero em bloco submete-se à transição de fase para aumentar em viscosidade ou para formar um gel semi sólido.

Os termos "temperatura de congelamento" e "temperatura de congelamento térmico inverso" ou similares deverão ser usadas intercambiavelmente ao referir-se à temperatura de congelamento.

"Solução polímera", "solução aquosa" e similares, quando usa-

das em referência a um copolímero em bloco biodegradável contido em tal solução, deverão significar uma solução com base de água tendo tal copolímero em bloco ali dissolvido a uma concentração funcional, e mantido a uma temperatura abaixo da temperatura de congelamento do copolímero em blo-
5 co.

"Congelamento térmico inverso" é o fenômeno onde uma solução de um copolímero em bloco aumenta a viscosidade espontaneamente, e em muitas instâncias se transforma em um gel sólido, à medida que a temperatura da solução é aumentada acima da temperatura de congelamento
10 do copolímero. Para o propósito da invenção, o termo "gel" inclui tanto o estado de gel semi-sólido quanto o estado de alta viscosidade que existe acima da temperatura de congelamento. Quando resfriado abaixo da temperatura de congelamento o gel reverte espontaneamente para corrigir a solução de baixa viscosidade. Estes ciclos entre a solução e o gel podem ser repeti-
15 dos *ad infinitum*, porque a transição sol/gel não envolve qualquer mudança na composição química do sistema polímero. Todas as interações para criar o gel são de natureza física e não envolvem a formação ou a quebra de liga-
ções covalentes.

"Líquido de entrega de drogas" ou "líquido de entrega de drogas
20 que têm propriedades inversas de congelamento térmico" deve significar uma solução polímera que contenha a droga (a droga *per se* pode ou ser dissolvido ou ser coloidal) adequado para a administração a um animal de sangue quente que forma um depósito de droga em forma de gel quando a temperatura for aumentada até ou acima da temperatura de congelamento
25 do copolímero em bloco.

"Depósito" significa a administração de um líquido de entrega de drogas a um animal de sangue quente que tenha formado um gel quando a temperatura foi aumentada até ou acima da temperatura de congelamento.

"Gel" significa a fase semi-sólida que ocorre espontaneamente à
30 medida que a temperatura da "solução polímera" ou "líquido de entrega da droga" é aumentada até ou acima da temperatura de congelamento do copolímero em bloco.

"Composição polímera aquosa" significa ou um líquido de entre-ga de drogas ou um gel compreendendo a fase de água tendo ali contido uniformemente uma droga e o copolímero em bloco biodegradável. A temperaturas abaixo da temperatura de congelamento o copolímero pode ser solú-5 vel na fase de água e a composição será uma solução. A temperaturas no nível ou acima da temperatura de congelamento o copolímero solidificará para formar um gel com a fase de água, e a composição será um gel ou semi-sólido.

"Biodegradável" significa que o copolímero em bloco pode se 10 decompor ou degradar dentro do corpo para formar componentes não tóxi- cos. A taxa de degradação pode ser a mesma ou diferente da taxa de libera- ção de droga.

"Droga" deve significar qualquer composto ou substância orgâni-15 ca ou inorgânica que tenha bioatividade e adaptada ou usada para propósito terapêutico. Proteínas, hormônios, agentes anti-câncer, oligonucleotídeos, DNA, RNA, e terapias de genes estão incluídas sob a ampla definição de droga.

"Peptídeo", "polipeptídeo", "oligopeptídeo" e "proteína" devem ser usadas intercambiavelmente quando referir-se a drogas peptídeos ou 20 proteínas e não devem ser limitados a qualquer peso molecular particular, seqüência de peptídeos ou comprimento, campo de bioatividade ou uso terapêutico a menos que declarado especificamente.

"Poli(lactídeo-co-glicolídeo)" ou "PLGA" deve significar um copo-25 límero derivado da copolimerização de condensação do ácido lático e do ácido glicólico, ou, pela polimerização da abertura do anel dos precursores ácidos α -hidroxi, tais como lactídeo ou glicolídeo. Os termos "lactídeo"; "lactato", "glicolídeo" e glicolato são usados intercambiavelmente.

"Poli(lactídeo)" ou "PLA" deve significar um polímero derivado da condensação do ácido lático ou pela polimerização da abertura do anel do 30 lactídeo. Os termos "lactídeo" e "lactato" são usados intercambiavelmente.

"Políesteres biodegradáveis" refere-se a quaisquer poliésteres biodegradáveis, que são preferivelmente sintetizados de monômeros seleci-

onados do grupo consistindo em D,L-lactídeo, D-lactídeo, L-lactídeo, D,L-ácido láctico, D-ácido láctico, L-ácido láctico, glicolídeo, ácido glicólico, ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexonóico, γ -butirolactona, γ -hidroxi ácido butírico, δ -valerolactona, δ -hidroxi ácido valérico, ácidos hidro-oxi-butíricos, ácidos do málico e seus copolímeros.

Portanto, a presente invenção é baseada na descoberta de copolímeros do tipo ABA ou BAB, onde os blocos A são polímeros em bloco A relativamente hidrófobos compreendendo um poliéster biodegradável e os blocos B são polímeros em bloco B relativamente hidrófilos compreendendo polietileno glicol (PEG), tendo um teor hidrófobo de entre cerca de 51 a 83% em peso e um peso molecular total do copolímero em bloco de entre cerca de 2000 e 4990, e que mostra solubilidade em água a baixa temperatura e que submete-se ao congelamento térmico inverso a temperaturas fisiológicas do corpo dos mamíferos. Com tão alto teor hidrófobo não é esperado que tais copolímeros em bloco fossem solúveis em água. Geralmente é ensinado que qualquer polímero que tenha um teor hidrófobo acima de 50% em peso é substancialmente insolúvel em água e pode apenas ser tornado apreciavelmente solúvel em sistemas aquosos, se isso for possível, quando uma certa quantidade de um co-solvente orgânico tiver sido adicionada.

Portanto, é básica para a presente invenção a utilização de um copolímero em bloco que tenha segmentos hidrófobos ou bloco A e segmentos hidrófilos ou bloco B. Geralmente os copolímeros em bloco serão copolímeros tribloco do tipo ABA ou BAB. Entretanto, o copolímero em bloco poderia também ser um copolímero multiblocos tendo unidades AB ou BA repetidas para fazer copolímeros A(BA)_n ou B(AB)_n onde n é um número inteiro de 2 a 5.

Ambos os copolímeros tribloco dos tipos ABA e BAB podem ser sintetizados pela polimerização da abertura do anel, ou polimerização por condensação conforme os esquemas de reação descritos na Patente U.S. 5,702,717, e pedido de Patente U.S. 08/943,167 co-pendente, arquivada em 10/3/97, e 09/164,865 arquivada em 10/1/98, e totalmente incorporadas aqui como referência.

Os copolímeros em bloco que têm utilidade como descrito nesta invenção obedecem aos critérios resumidos na Tabela 1, ou seja, têm constituição de composição dentro das faixas indicadas que resultam em copolímeros em bloco que demonstram o desejado comportamento de congelamento térmico inverso. Com o propósito da descrição dos parâmetros peso molecular, todos os valores de pesos moleculares informados estão baseados em medidas pelas técnicas analíticas de NMR ou GPC (cromatografia de penetração do gel). Os pesos moleculares médios informados e o número de pesos moleculares médios foram determinados pelo GPC e pelo NMR respectivamente. A razão lactídeo/glicolídeo informada foi calculada dos dados NMR. A análise GPC foi executada em uma coluna Styragel HR-3 calibrada com PEG usando detecção RI e clorofórmio como eluente, ou em uma combinação de Phenogel, leito misto e Fenogel, colunas 500 Å calibradas com PEG usando detecção RI e tetrahidrofurano como eluente. O espectro NMR foi tomado em CDCl_3 em um instrumento Bruker de 200 MHz.

Tabela 1

Peso molecular médio total:

Teor de PEG:	2000 até 4990
Teor total de poliéster:	17 até 49% em peso
20 Teor de lactato:	51 até 83% em peso
Teor de glicolato:	20 até 100 por cento em mol
Comportamento:	<ul style="list-style-type: none"> ► solúvel em água abaixo a temperatura de congelamento ► géis acima da temperatura de congelamento
25	

O polímero em bloco biodegradável hidrófobo A compreendendo um poliéster sintetizado dos monômeros selecionados do grupo consistindo em D, L-lactídeo, D-lactídeo, L-lactídeo, D,L ácido lático, D-ácido lático, L-ácido lático, glicolídeo, ácido glicólico, ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexônico, γ -butirolactona, γ -hidroxi ácido butírico, δ -valerolactona, δ -hidroxi ácido valérico, ácidos hidro-oxi-butíricos, ácido málico e seus copolímeros. Calculando-se dos valores o peso molecular total e a porcentagem em peso dos

polímeros em bloco A e B conforme dado na Tabela 1, e assumindo que o peso molecular médio de cada um dos blocos A em um copolímero tribloco ABA ou dos blocos B em um copolímero tribloco BAB são essencialmente os mesmos, o peso molecular médio do bloco polimérico A está entre 600 e 5 3000.

Por cálculos similares o segmento hidrófilo bloco B é preferivelmente polietileno glicol (PEG) tendo um peso molecular médio de entre cerca de 500 e 2200.

Tanto os copolímeros tribloco do tipo ABA quanto os do tipo BAB 10 podem ser sintetizados por polimerização da abertura do anel ou polimerização de condensação conforme os esquemas de reação descritos na Patente U.S. 5,702,717 e Pedido de Patente U.S. Nº 08/943,167, totalmente incorporadas aqui como referência. Por exemplo, os blocos B (PEG) podem ser acoplados aos blocos A (poliésteres) por ligações éster ou uretano e similares. 15 Os procedimentos de polimerização por condensação e a polimerização pela abertura do anel podem ser utilizados como o acoplamento de um bloco B hidrófilo monofuncional a qualquer extremidade de um bloco B hidrófobo difuncional na presença de agentes de acoplamento tais como isocianatos. Além disso, as reações de acoplamento podem seguir a ativação de grupos 20 funcionais com agentes de ativação tais como carbonil diimidazol, anidrido succínico, N-hidroxi succinimida e cloroformiato de p-nitrofenila e similares.

O bloco B hidrófilo é formado de PEG de pesos moleculares 25 apropriados. O PEG foi escolhido como bloco hidrófilo, solúvel em água devido a sua biocompatibilidade única, não toxicidade, hidrofilicidade, propriedades de solubilização, e liberação rápida de um corpo de um paciente.

Os blocos A hidrófilos são utilizados devido as suas propriedades biodegradáveis, biocompatíveis e de solubilização. A degradação *in vitro* e *in vivo* destes blocos A poliéster hidrófilos biodegradáveis é bem entendida e os produtos da degradação são compostos que ocorrem naturalmente que 30 são prontamente metabolizados e/ou eliminados pelo corpo do paciente.

Surpreendentemente, a percentagem do peso total do bloco A de poliéster hidrófobo relativo àquele do bloco B PEG hidrófilo é alto, por

exemplo, entre cerca de 51 e 83% em peso, e mais preferivelmente entre cerca de 65 e 78% em peso, apesar do polímero tribloco resultante reter a solubilidade em água desejada e as propriedades inversas de congelamento térmico. É uma descoberta inesperada que um bloco copolímero com tão grande proporção de um componente hidrófobo pudesse ser solúvel em água abaixo das temperaturas normais, tais como temperaturas de refrigeradores (5°C). Acredita-se que esta característica desejável de solubilidade é tornada possível mantendo-se um peso molecular total baixo de todo o copolímero tribloco de entre 2000 e 4990. Assim, os copolímeros em bloco biodegradáveis solúveis em água que possuam propriedades de congelamento termicamente reversíveis são preparados, onde o bloco ou blocos B hidrófilo respondem por cerca de 17 a 49% em peso do copolímero e os blocos ou bloco A hidrofóbicos respondem por cerca de 51 a 83% em peso do copolímero. Em uma modalidade preferida, os blocos A (poliésteres) podem compreender entre 65 a 78% em peso do copolímero e os blocos B (PEG) podem compreender entre cerca de 22 a 35% em peso do copolímero. Além disso, O peso molecular médio total preferido de todo o copolímero tribloco será de entre 2800 e 4990.

A concentração na qual os copolímeros em bloco são solúveis às temperaturas abaixo da temperatura de congelamento pode ser considerada com a concentração funcional. Geralmente falando, baixas concentrações de copolímeros em bloco de 3% até 50% em peso podem ser usadas e ainda serem funcionais. Entretanto, concentrações na faixa de cerca de 5 a 40% são preferidas e concentrações na faixa de cerca de 10 a 30% em peso são mais preferidas. De forma a obter uma transição viável da fase gel com o copolímero, uma certa concentração mínima, por exemplo, 3% em peso, é necessária. Às menores faixas de concentração funcionais, a transição de fase pode resultar na formação de um gel fraco. Em concentrações mais altas, uma rede de gel forte é formada.

A mistura do copolímero biodegradável e das drogas peptídeo/proteína, e/ou outros tipos de drogas, pode ser preparada como uma solução aquosa do copolímero abaixo da temperatura de congelamento para

formar um líquido de entrega de droga onde o droga pode ser ou parcialmente ou completamente dissolvido. Quando o droga é parcialmente dissolvido, ou quando o droga é essencialmente insolúvel, o droga existe em um estado coloidal tal como uma suspensão ou emulsão. O líquido de entrega do droga é então administrado parenteralmente, topicamente, transdermamente, transmucosamente, inalado ou inserido em uma cavidade tal como por administração ocular, vaginal, transuretal, retal, nasal, oral, bucal, pulmonar ou aural a um paciente, onde será submetido a um congelamento térmico inverso uma vez que a temperatura do corpo estará acima da temperatura de congelamento.

O sistema causará uma toxicidade mínima e uma irritação mecânica mínima aos tecidos em volta devido à biocompatibilidade dos materiais e à flexibilidade do gel, e será completamente biodegradado para ácido láctico, ácido glicólico et al. monômeros correspondentes dentro de um intervalo de tempo específico. A liberação da droga, a resistência do gel, a temperatura de congelamento e a taxa de degradação podem ser controladas pelo projeto e preparação adequados dos vários copolímeros em blocos, a saber, através de modificações do peso percentual dos blocos A e dos blocos B, as porcentagens em mol de lactato e de glicolato, e o peso molecular e a polidispersibilidade dos copolímeros tribloco ABA ou BAB. A liberação da droga é também controlável através do ajuste da concentração do polímero no líquido de entrega da droga.

Uma forma de dosagem compreendendo uma solução do copolímero em bloco que contém ou a droga dissolvido ou o droga como uma suspensão ou emulsão é administrada ao corpo. Esta fórmula se transforma espontaneamente em gel, devido às propriedades inversas de congelamento térmico do copolímero em bloco, para formar um depósito de droga à medida que a temperatura da fórmula aumenta até a temperatura do corpo. A única limitação a quanto droga pode ser carregado na fórmula é a de funcionalidade, a saber, o carregamento de droga pode ser aumentado até que as propriedades de congelamento térmico do copolímero sejam afetadas adversamente até um grau inaceitável, ou até que as propriedades da fórmula

sejam afetadas adversamente a um grau que torne a administração da fórmula inaceitavelmente difícil. Geralmente falando, é antecipado que em muitas instâncias o droga completará entre 0,01 até 20% em peso da fórmula, com faixas entre cerca de 0,01 a 10% sendo altamente comum. Estas 5 faixas de carga de droga não são limitativas da invenção. Desde que a funcionalidade seja mantida, as cargas de droga fora destas faixas caem dentro do escopo da invenção.

Uma vantagem distinta para as composições do assunto desta invenção está na capacidade do copolímero em bloco em aumentar a solubilidade de muitas substâncias de drogas. A combinação de bloco(s) A hidrófobo(s) e bloco(s) B hidrófilo(s) tornam o copolímero em bloco anfifílico na natureza. Neste aspecto funciona mais como um sabão ou tensoativo de superfície por ter ambas as propriedades hidrófilas e hidrófobas. Isto é particularmente vantajoso na solubilização de drogas hidrófobos ou pobremente 10 solúveis em água tais como ciclosporina e paclitaxel. O que é surpreendente é o grau de solubilização de droga da maioria, se não de todos os drogas uma vez que o maior componente do copolímero em bloco é o teor do bloco A hidrófilo. Entretanto, conforme já discutido, embora o(s) bloco(s) polímero(s) hidrófobo(s) seja(m) o(s) maior(es) componente(s), o copolímero em 15 bloco é solúvel em água e foi descoberto que há um aumento adicional na solubilidade da droga quando combinado em uma fase aquosa do copolímero em bloco.

Uma outra vantagem da composição da invenção está na capacidade do copolímero em bloco para aumentar a estabilidade química de 20 muitas substâncias de drogas. Vários mecanismos para a degradação das drogas, que levam a uma instabilidade química da droga, observou-se que foram inibidos quando a droga está em presença do copolímero em bloco. Por exemplo, paclitaxel e ciclosporina A são substancialmente estabilizados na composição aquosa do polímero da presente invenção relativa a certas 25 soluções aquosas destas mesmas drogas na presença de co-solventes orgânicos. Este efeito de estabilização no paclitaxel e ciclosporina A é apenas ilustrativo do efeito que pode ser alcançado com muitas outras substâncias

de drogas.

Em certas situações a droga polímero carregado pode ser administrado no estado de gel em vez de uma solução. O congelamento pode ser o resultado do aumento da temperatura de uma solução polímera carregada de drogas até acima da temperatura de congelamento do polímero antes da administração, ou pode ser causado pelo aumento da concentração do polímero na solução até acima da concentração de saturação na temperatura de administração, ou pode ser causado pela adição de aditivos para a solução polímera que faz a solução tornar-se gel. Em qualquer evento, o gel assim formado pode ser administrado parenteralmente, topicalmente, transdermicalemente, transmucosamente, inalado ou inserido em uma cavidade tal como ocular, vaginal, bucal, transuretal, retal, nasal, oral, pulmonar ou administração aural.

Esta invenção é aplicável a agentes bioativos e drogas de todos os tipos incluindo ácidos nucléicos, hormônios, agentes anti-câncer, e oferece uma forma não usualmente eficaz de entregar polipeptídeos e proteínas. Muitos peptídeos instáveis e drogas proteína são influenciáveis até a fórmula dos copolímeros em bloco da invenção e podem se beneficiar do processo de congelamento térmico inverso aqui descrito. Enquanto não especificamente limitado ao que se segue, exemplos de polipeptídeos e proteínas farmaceuticamente úteis podem ser selecionados do grupo consistindo em eritropoietina, oxitocina, vasopressina, hormônio adrenocorticotrópico, fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento de derivado de plaqueta (PDGF), prolactina, luliberina, liberação de hormônio luteinizante (LHRH), agonista de LHRH, antagonista de LHRH, hormônio de crescimento (humano, suíno, bovino, etc.), fator de liberação de hormônio de crescimento, insulina, somatostatina, glucagon, interleucina-2 (IL-2), interferon- α , β ou γ , gastrina, tetragastrins, pentagastrins, urogastrona, secretina, calcitonina, encefalina, endorfinas, angiotensinas, hormônio de liberação de tireotrofina (TRH), fator de necrose de tumor (NGF), fator de estímulo de colônia de macrófago de granulócito (GM-CSF), fator de estímulo de colônia de macrófago (M-CSF), heparinase, proteína morfogênica óssea (BMP), hANP, peptídeos

tipo glucagon (GLP-1), interleucina-11 (IL-11), renina, bradocomoma, bacitracinas, polimixinas, colistinas, tirocidina, gramicidinas, ciclosporinas e sintéticos análogos, modificações e seus fragmentos farmacologicamente ativos, enzimas, citocinas, anticorpos e vacinas.

5 A única limitação à droga polipeptídeo ou proteína que deve ser utilizado é a de funcionalidade. Em algumas instâncias a funcionalidade ou estabilidade física dos polipeptídeos e proteínas pode também ser aumentada pela adição de vários aditivos às soluções aquosas ou suspensões da droga polipeptídeo ou proteína. Aditivos tais como polióis (inclusive açúcares), aminoácidos, tensoativos, polímeros, outras proteínas e certos sais podem ser usados. Esses aditivos podem ser prontamente incorporados aos copolímeros em bloco que então se submeterão ao processo de congelamento térmico inverso da presente invenção.

Desenvolvimentos da engenharia de proteínas podem fornecer a 15 possibilidade de aumento da estabilidade inerente aos peptídeos e proteínas. Enquanto tais proteínas resultantes projetadas ou modificadas podem ser consideradas como novas entidades com relação às implicações regulares, isto não altera sua adequabilidade para o uso na presente invenção. Um dos exemplos típicos de modificação é PEGilação onde a estabilidade das 20 drogas de polipeptídeos pode ser melhorada significativamente conjugando-se polivalentemente polímeros solúveis em água, tais como polietileno glicol, com o polipeptídeo. Um outro exemplo é a modificação da seqüência do aminoácido em termos da identidade ou localização de um ou mais resíduos aminoácidos por adição, cancelamento ou substituição terminal e/ou interna.

25 Qualquer melhoria na estabilidade permite que um polipeptídeo ou proteína terapeuticamente eficaz seja continuamente liberado por um período prolongado de tempo seguindo uma simples administração do líquido de entrega da droga ao paciente.

Em aditamento às drogas com base em peptídeos ou proteínas, 30 outras drogas de todas as categorias úteis médica e terapeuticamente podem ser utilizados. Essas drogas estão descritos nas referências da literatura bem conhecida como o Merck Index, o Physicians Desk Reference, e o

The Pharmacological Basis of Therapeutics. Uma breve listagem dos agentes específicos é fornecida para propósitos de ilustração apenas, e não deve ser considerada como limitativa: agentes anti-cancerígenos tais como, mitomicina, bleomicina, BCNU, carboplatina, doxorubicina, daunorubicina, 5 metotrexato, paclitaxel, taxotere, actinomicina D e camptotecina; antipsicóticos tais como olanzapina e ziprasidona; anti-bacterianos tais como cefoxitina; antitelmíntos tais como ivermectina; anti-viróticos tais como aciclovir; imunossupressores tais como ciclosporina A (agente tipo polipeptídeo cíclico), esteróides e prostaglandinas.

10 **BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS**

Os objetivos acima et al. objetivos, características e vantagens da invenção tornar-se-ão aparentes a partir da consideração das seguintes descrições detalhadas apresentadas em conexão com os desenhos anexos nos quais:

15 A FIG. 1 é um diagrama de fase ilustrando o comportamento de congelamento das soluções aquosas de um copolímero tribloco PLGA-PEG-PLGA, estudado em diferentes concentrações e temperaturas.

As FIGs. 2a - 2c são perfis de degradação ilustrando a degradação *in vitro* de um copolímero tribloco PLGA-PEG-PLGA incubado e diferentes temperaturas e pH's.

20 A FIG. 3 é um gráfico ilustrando a liberação contínua de insulina por um período prolongado de um gel térmico de copolímero tribloco PLGA-PEG-PLGA.

A FIG. 4 é um perfil de liberação de paclitaxel de uma fórmula de 25 gel térmico de copolímero tribloco PLGA-PEG-PLGA mostrando a liberação cumulativa controlada do paclitaxel por aproximadamente 50 dias.

DESCRIÇÃO DETALHADA DAS MODALIDADES PREFERIDAS DA INVENÇÃO

De forma a ilustrar as modalidades preferidas desta invenção, 30 uma síntese de vários copolímeros em bloco ABA de baixo peso molecular consistindo em 51 a 83% em peso de blocos A hidrófobos (poliésteres), e 17 a 49% em peso de blocos B hidrófilos (polietileno glicol PEG) foi completada.

O objetivo era a preparação de copolímeros tribloco ABA ou BAB tendo pesos moleculares médios de cerca de 2000 a 4990, compostos por dois blocos A cada um com peso molecular médio de cerca de 600 a 2000, e um bloco B tendo um peso molecular médio de 600 a 2200. Cada bloco A consiste em cerca de 20 a 100 moles por cento de lactato e 0 a 80 moles por cento de glicolato.

A seguir temos exemplos, que ilustram representações preferidas da invenção, mas que pretendem ser apenas ilustrativas.

EXEMPLOS

10 Exemplo 1

Síntese do Copolímero Tribloco PLGA-PEG-PLGA por Copolimerização de Abertura de Anel

Seguindo o esquema de reação dado acima, o PEG (Mw=1000) foram secos por destilação azeotrópica em um frasco com tolueno (2 x 75 ml) sob uma atmosfera de nitrogênio seguido pela secagem a 130°C sob vácuo (5 mm Hg). Monômeros lactídeo e glicolídeo (em razões molares de 3:1 respectivamente) foram adicionados ao frasco seguido pela adição de octoato estanhoso (0,1% em peso) e a mistura da reação foi aquecida a 150°C sob vácuo (5 mm Hg). O progresso da reação foi acompanhado pela GPC (cromatografia de penetração do gel). Após um tempo apropriado, a reação foi interrompida e o frasco foi resfriado até a temperatura ambiente. O resíduo foi dissolvido em água fria e aquecido até 70-80°C para precipitar o polímero formado. A suspensão foi decantada e o polímero resíduo foi novamente dissolvido em água fria e aquecido para induzir a precipitação. Este processo de dissolução seguido pela precipitação foi repetido três vezes. Finalmente, o polímero foi dissolvido em uma quantidade mínima de água e lyophilizado.

O copolímero resultante PLGA-PEG-PLGA tem um peso molecular médio (Mw) de 3737, um número médio de peso molecular (Mn) de 2928 e uma razão Mw/Mn de 1,3. Este copolímero mostrou propriedades de congelamento térmico invertido como mais completamente detalhado no Exemplo 4.

Exemplo 2

Seguindo o procedimento básico esquematizado no Exemplo 1, outros copolímeros tribloco foram sintetizados usando-se o mesmo PEG ($M_w=1000$) mas variando-se o teor de lactídeo e/ou de glicolídeo. As propriedades destes copolímeros tribloco estão listadas na seguinte tabela:

Exemplos de Copolímeros em Bloco ABA com PropriedadesInversas de Congelamento Térmico

GPC Peso molecular médio	Peso dos blocos A (%)	LA:GA (razão molar)	Congelamento térmico inverso
2052	67	75:25	sim
2800	64	30:70	sim
3672	73	75:25	sim
4000	75	100:0	sim
4133	76	75:25	sim
4323	77	50:50	sim
4920	80	75:25	sim
5990	80	40:40	sim

Deve ser notado que todos os polímeros listados na tabela acima possuíram propriedades inversas de congelamento mesmo quando o teor de lactídeo (LA) variou de 30 a 100 moles % e o teor de glicolídeo (GA) variou de 0 a 70% em mol. Portanto, tanto o tribloco PLGA-PEG-PLGA quanto o PLA-PEG-PLA são mostrados neste exemplo.

Exemplo 3Síntese do Copolímero Tribloco PLGA-PEG-PLGA por Copolimerização por Condensação

Em três frascos com pescoço, equipados com uma entrada de nitrogênio, termômetro e cabeçote de destilação para remoção da água, foram colocados DL-ácido lático e ácido glicólico (razão molar 3:1, respectivamente). A mistura da reação foi aquecida a 160°C sob nitrogênio, com agitação, à pressão atmosférica por três horas e então sob pressão reduzida (5 mm Hg). O progresso da reação foi seguido pela GPC. A reação foi interrompida no tempo apropriado e o polímero formado foi purificado por precipitação.

pitação de uma solução de dicloro metano em um grande excesso de metanol. O resíduo foi triturado com metanol e seco sob vácuo (0,05 mm Hg) a 23°C. O oligômero PLGA foi caracterizado pelo GPC, IV e RMN. O oligômero PLGA resultante tinha um peso molecular médio (Mw) de 9900, um número médio de peso molecular (Mn) de 5500 e uma razão Mw/Mn de 1,8.

O PLGA foi misturado com PEG (Mw=1000) e foi aquecido em um frasco a 160°C sob uma atmosfera de nitrogênio. O progresso da reação foi acompanhado pela GPC. Após um tempo adequado, a reação foi interrompida e o frasco foi resfriado até a temperatura ambiente. O resíduo foi dissolvido em água fria e então aquecido a 70-80°C para precipitar o copolímero. O sobrenadante foi decantado e o resíduo foi novamente dissolvido em água fria e aquecido para precipitar o polímero. Este processo de dissolução e precipitação foi repetido três vezes. Finalmente, o polímero foi dissolvido em uma quantidade mínima de água e lyophilizado.

O bloco copolímero PLGA-PEG-PLGA resultante tinha um peso molecular médio (Mw) de 4043, um número médio de peso molecular (Mn) de 2905 e uma razão Mw/Mn de 1,4. Os pesos moleculares médios e os números médios de peso molecular foram determinados pela GPC e NMR, respectivamente. A razão lactídeo/glicolídeo foi calculada dos dados do NMR. A análise da GPC foi realizada em uma coluna Styragel HR-3 calibrada com PEG usando detecção RI e clorofórmio como eluente. O espectro NMR foi tomado em CDCl_3 em um instrumento Bruker 200 MHZ. As medidas de pico do NMR confirmaram a estrutura tribloco ABA.

Exemplo 4

O comportamento de congelamento da solução aquosa do copolímero tribloco ABA do Exemplo 1 foi estudado em diferentes concentrações. As soluções polímeras de 9-30% em peso foram preparadas em água e a mudança na viscosidade foi observada a temperaturas variando entre 10 e 60°C. O congelamento foi definido como o estado físico onde a solução polímera não flui prontamente quando se inverte um frasco da solução polímera. O diagrama de fase (Fig. 1) do polímero do Exemplo 1 em função da temperatura e da concentração do copolímero em bloco foi gerado. O novo

comportamento de congelamento térmico inverso estava claramente aparente, e ocorreu à medida que as soluções de copolímeros triblocos foram aquecidas. O congelamento a temperaturas fisiologicamente relevantes (por exemplo, 37 °C) foram particularmente predominantes e formaram a base 5 para a utilidade substancial dos sistemas para propósitos médicos e de entrega de drogas.

Exemplo 5

A degradação *in vitro* do copolímero tribloco PLGA-PEG-PLGA do exemplo 1 foi determinada para uma solução a 23% em peso ou gel (1 10 ml) de copolímero incubado a diferentes temperaturas (-10°C, 5°C, 23°C e 37°C) e a diferentes pH's iniciais (3,0, 5,0 e 7,4) por um período de 30 semanas. A degradação e a biodegradação deste copolímero tribloco foram causadas pela hidrólise e resultaram em ácido lático, ácido glicólico e PEG 15 como produtos finais da degradação.

Amostras (50 µl) foram tomadas semanalmente. As amostras 15 foram lyophilizadas, dissolvidas em clorofórmio, e os pesos moleculares dos resíduos polímeros foram determinados pelo GPC conforme descrito previamente. A degradação do polímero foi substancialmente independente do pH inicial sobre a faixa de pH 3,0 até pH 7,4 o que pode ser atribuído à acidificação do meio uma vez que o polímero hidrolizou-se para formar ácido 20 lático e ácido glicólico. O comportamento de congelamento térmico foi também independente do pH sobre a mesma faixa de pH. A degradação foi mais rápida a temperaturas mais altas. Os perfis da degradação que foram gerados estão mostrados nas Figs. 2a, 2b e 2c.

Exemplo 6

A biodegradação *in vitro* do polímero do Exemplo 1 foi determinada sobre um período de quatro semanas. Uma amostra de 0,40 a 0,45 ml 30 de uma solução aquosa fria contendo 23% em peso de um copolímero tribloco foi injetada subcutaneamente em ratos. Após atingir a temperatura do corpo, que era acima da temperatura de congelamento do polímero, formou-se imediatamente um pedaço de gel que era visivelmente aparente. Foram salvas cirurgicamente amostras e indicaram que o gel tornou-se progressi-

vamente menor em função do tempo acima do período de duas semanas. Entre duas semanas e quatro semanas o estado físico do copolímero tribloco injetado mudou de um gel para uma mistura de gel em um líquido viscoso, e finalmente para um líquido viscoso que não contém gel. Este líquido foi 5 gradualmente completamente reabsorvido. No final do período de quatro semanas nenhuma fórmula era visível no lugar da injeção. Microscopicamente, pequenas bolsas de líquido viscoso foram observadas que também reabsorveram completamente sobre o período seguinte de duas semanas.

Exemplo 7

10 Paclitaxel e ciclosporina A são drogas hidrófobos que são altamente insolúveis em água (as solubilidades foram aproximadamente 4µg/ml). Entretanto, estes drogas mostraram solubilidades significativamente maiores quando dissolvidos em soluções aquosas de copolímeros tribloco PLGA-PEG-PLGA. Por exemplo, em uma solução copolímera aquosa de 15 20% em peso (polímero do Exemplo 3), o paclitaxel foi solúvel até 5 mg/ml e o ciclosporina A foi solúvel até 2 mg/ml.

O paclitaxel e o ciclosporina A foram altamente instáveis em soluções co-solventes aquosas (por exemplo, em soluções água/acetonitrila). O paclitaxel contido em soluções copolímeras tribloco aquosas PLGA-PEG- 20 PLGA a 20% em peso (isto é, abaixo da temperatura de congelamento do copolímero) ou géis (isto é, acima da temperatura de congelamento do copolímero) estava 85% intacto após 120 dias em armazenagem (5°C e 37°C), enquanto que o ciclosporina A estava estável acima de 100 dias (5°C).

Exemplo 8

25 Uma solução aquosa a 28% em peso do copolímero tribloco PLGA-PEG-PLGA do Exemplo 1 foi preparada. Insulina (livre de zinco), uma proteína administrada parenteralmente com efeitos benéficos provados no tratamento da diabetes mellitus, foi suspensa nesta solução aquosa de copolímero tribloco até uma concentração final de 5 mg/ml. Aproximadamente 30 2 ml desta composição foram colocadas em uma ampulheta equilibrada a 37°C. A composição congelou imediatamente e aderiu à ampulheta, e em seguida foi colocada em 10 mM de fosfato salino buffered, pH 7,4, 37°C, e a

liberação cinética da insulina do gel foi monitorada pela fase invertida HPLC usando detecção UV e precipitação gradiente (TFA/acetronitrila/fase variável de água). Os dados foram resumidos graficamente na Fig. 3. A insulina foi liberada de forma contínua por aproximadamente uma semana. A utilidade 5 do gel térmico do copolímero tribloco na entrega controlada de proteínas e peptídeos por um período substancial foi claramente estabelecida e ilustrada neste exemplo.

Exemplo 9

À solução aquosa 23% em peso do copolímero tribloco PLGA-10 PEG-PLGA do Exemplo 1 foi adicionado paclitaxel suficiente para fornecer aproximadamente 2.0 mg/ml da droga. Uma amostra de 2 ml desta solução foi colocada em uma ampulheta e equilibrada a 37°C. Uma vez que a temperatura era maior que a temperatura de congelamento do copolímero, formou-se um gel na ampulheta. A ampulheta foi colocada em um bêquer de 200 ml 15 contendo um meio de liberação compreendendo 150 ml de PBS (pH 7,4) contendo 2,4% em peso de Tween-80 e 4% em peso de Cremophor EL equilibrados a 37°C. A solução no bêquer foi agitada. O topo do bêquer foi selado para evitar evaporação. O conjunto total foi colocado em uma incubadora a 37°C. O estudo de liberação foi executado em triplicata. A diferentes 20 períodos de tempo uma alíquota de 5 ml do meio de liberação foi tomado e analisado para o paclitaxel. A solução PBS foi recolocada com PBS novo após cada remoção de alíquota. As amostras foram coletadas a 1, 2, 4, 8, 18 e 24 horas, e a partir de então a intervalos de 24 horas, e analisados por HPLC. O perfil de liberação do paclitaxel do gel é mostrado na Fig. 4. A fórmula do gel forneceu excelente controle sobre a liberação do paclitaxel por 25 aproximadamente 50 dias.

Exemplo 10

Copolímeros tribloco BAB foram sintetizados usando-se o mesmo bloco B PEG a cada extremidade (Mw=550) mas variando o teor de 30 poli(lactídeo) e/ou poli(glicolídeo). O PEG e o PLGA foram acoplados um ao outro através de éster, uretano ou uma combinação de ligações éster e uretano. As propriedades desses copolímeros tribloco estão listadas na se-

guinte tabela:

Exemplos de Copolímeros em Bloco BAB com Propriedades

Inversas de Congelamento Térmico

GPC Peso molecular médio	Peso dos blocos A (%)	PLA:PGA (razão molar)	Congelamento térmico inverso
4140	70	78:22	sim
4270	72	78:22	sim
4580	73	78:22	sim
4510	73	72:28	sim

Todos os copolímeros tribloco PLGA-PEG-PLGA listados na tabela acima possuíram propriedades de congelamento térmico inverso. As temperaturas de transição sol/gel para os polímeros tribloco acima foram 36, 34, 30 e 26°C respectivamente.

A descrição acima permitirá àquele que é versado na técnica fazer copolímeros tribloco do tipo ABA (por exemplo, PLGA-PEG-PLGA e PLA-PEG-PLA) ou BAB (por exemplo, PEG-PLAG-PEG e PEG-PLA-PEG) que formam soluções aquosas tendo propriedades de congelamento térmico inversas e para utilizar a mesma no campo da entrega de drogas. Embora a entrega controlada tanto de uma droga convencional (paclitaxel) e uma droga proteína (insulina) estejam ilustrados nos exemplos para mostrar a funcionalidade dos hidrogéis formados das soluções aquosas dos copolímeros tribloco, estas descrições não pretendem ser um enunciado exaustivo de todos os drogas que podem ser utilizados e carregados em copolímeros em bloco biodegradáveis. Certamente, numerosos outras drogas de várias classes de agentes terapêuticos são bem adequados para entrega de composições aquosas de copolímeros tribloco conforme descrito na descrição da invenção. Nem todos os copolímeros em bloco que podem ser preparados, e que demonstram a propriedade de congelamento térmico inverso crítica são mostrados especificamente. Entretanto, estarão imediatamente aparentes para aqueles versados na técnica, que várias modificações podem ser feitas sem sair do escopo da invenção que é limitada apenas pelas seguintes reivindicações e seus equivalentes funcionais.

REIVINDICAÇÕES

1. Polímero tribloco biodegradável do tipo ABA ou BAB caracterizado pelo fato de que o mencionado tribloco compreende:
 - i) cerca de 51 a 83% em peso de um polímero em bloco hidrófobo A, biodegradável, compreendendo um poliéster biodegradável que é sintetizado a partir de monômeros selecionados do grupo consistindo em ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexonóico, γ -butirolactona, γ -hidroxi ácido butírico, δ -valerolactona, δ -hidroxi ácido valérico, ácidos hidro-oxi-butíricos, ácido mágico, e seus copolímeros, e
 - 10 ii) cerca de 17 a 49% em peso de um polímero em bloco hidrófilo B, biodegradável, compreendendo um polietileno glicol (PEG), onde o mencionado copolímero tribloco tem um peso molecular médio de entre cerca de 2000 a 4990 e possui propriedades de congelamento térmico invertido.
- 15 2. Polímero tribloco de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o mencionado polímero é do tipo BAB.
3. Polímero tribloco de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o mencionado polímero é do tipo ABA.
4. Polímero tribloco de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o poliéster biodegradável é sintetizado de monômeros selecionados do grupo consistindo em ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexonóico e seus copolímeros.
- 20 5. Polímero tribloco de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que o poliéster biodegradável é sintetizado de monômeros selecionados do grupo consistindo em ϵ -caprolactona, ϵ -hidroxi ácido hexonóico e seus copolímeros.
- 25 6. Polímero tribloco de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que, no polímero tribloco, cada polímero em bloco hidrófobo A tem um peso molecular médio de entre cerca de 600 e 3000 e cada polímero em bloco hidrófilo B tem um peso molecular médio de entre cerca de 500 e 2200.
- 30 7. Polímero tribloco de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que, no polímero tribloco, cada polímero em bloco hidrófobo A tem um peso molecular médio de entre cerca de 600 e 3000 e cada polímero em bloco hidrófilo B tem um peso molecular médio de entre cerca de 500 e 2200.

zado pelo fato de que, no polímero tribloco, cada polímero em bloco hidrófobo A tem um peso molecular médio de entre cerca de 600 e 3000 e cada polímero em bloco hidrófilo B tem um peso molecular médio de entre cerca de 500 e 2200.

5 8. Composição polimérica aquosa biodegradável de entrega de drogas possuindo propriedades de congelamento térmico inverso, caracterizada pelo fato de que compreende uma fase aquosa tendo uniformemente contida ali uma quantidade eficaz de um droga; e um polímero tribloco biodegradável do tipo ABA ou BAB como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 7.

10 9. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 8, caracterizada pelo fato de que o teor da mencionada composição no polímero tribloco está entre 3 e 50% em peso.

15 10. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que a mencionada droga é um polipeptídeo ou proteína, ácido nucléico ou gene, hormônio, agentes anticancerígeno ou anti proliferação de células.

20 11. Composição polimérica aquosa conforme a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que a mencionada droga é um polipeptídeo ou proteína selecionado do grupo consistindo em oxitocina, vasopressina, hormônio adrenocorticotrópico, fator de crescimento epidérmico, fator de crescimento de derivado de plaqueta (PDGF), prolactina, luliberina, hormônio liberador de hormônio luteinizante (LHRH), LHRH agonistas, LHRH antagonistas, hormônio de crescimento (humano, suíno, bovino, etc.), fator de liberação do hormônio de crescimento, insulina, eritropoietina, somatostatina, glucagona, interleucina-2 (IL-2), interferona- α , β ou γ , gastrina, tetragastrina, pentagastrina, urogastrona, secretina, calcitonina, encefalinas, endorfinas, angiotensinas, hormônio liberador de tirotropina (TRH), fator de necrose de tumores (TNF), fator de crescimento dos nervos (NGF), fator de estímulo de 25 colônia de granulócito (G-CSF), fator de estímulo de colônia de macrófago de granulócito (GM-CSF), fator de estímulo de colônia de macrófago (M-CSF), heparinase, proteína morfogênica dos ossos (BMP), hANP, peptídeo

glucagona-like (GLP-1), interleucina-11 (IL-11), renina, bradicinina, bacitracinas, polimixinas, colistinas, tirocidina, gramicidinas, ciclosporinas e sintéticos análogos, modificações e seus fragmentos farmacologicamente ativos, enzimas, citocinas, anticorpos e vacinas.

5 12. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que o teor de droga da mencionada composição está entre cerca de 0,01 e 20% em peso.

10 13. Composição polimérica aquosa conforme a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que o mencionado peptídeo ou proteína é um membro selecionado do grupo consistindo em eritropoetina, liberação de hormônio luteinizante (LHRH), LHRH agonistas, LHRH antagonistas, hormônios de crescimento (humano, suíno, bovino, etc.), fator de necrose de tumores (TNF), fator de crescimento dos nervos (NGF), fator de estímulo de colônia de granulócito (G-CSF), fator de estímulo de colônia de macrófago de 15 granulócito (GM-CSF), fator de estímulo de colônia de macrófago (M-CSF), peptídeo tipo glucagon (GLP-1), interleucina-11 (IL-11), ciclosporinas e sintéticos análogos, modificações e seus fragmentos farmacologicamente ativos.

20 14. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 11, caracterizada pelo fato de que o mencionado polipeptídeo ou proteína é uma vacina de hepatite, incluindo sintéticos análogos, modificações e seus fragmentos farmacologicamente ativos.

25 15. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que a mencionada droga é um hormônio selecionado do grupo consistindo em testosterona, estradiol, progesterona, prostaglandinas, e sintéticos análogos, e suas modificações farmaceuticamente equivalentes.

30 16. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de que a mencionada droga é um agente anti-cancerígeno selecionado do grupo consistindo em mitomicina, bleomicina, BCNU, carboplatin, doxorubicina, daunorubicina, metotrexato, paclitaxel, actinomicina D, camptotecina, e sintéticos análogos, e suas modificações farmaceuticamente equivalentes.

17. Composição polimérica aquosa de acordo com a reivindicação 16, caracterizada pelo fato de que o teor de droga da mencionada composição está entre cerca de 001 e 20% em peso.

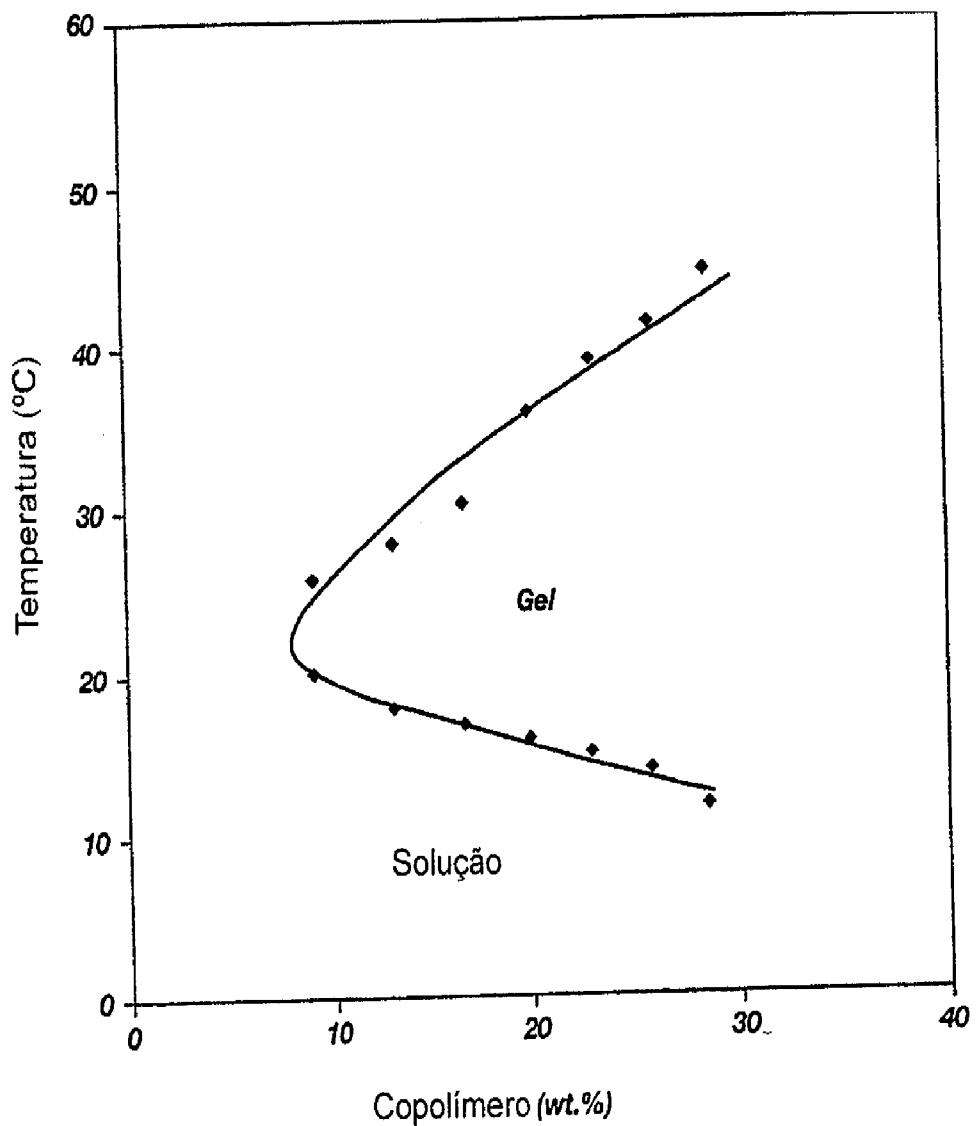


Fig. 1

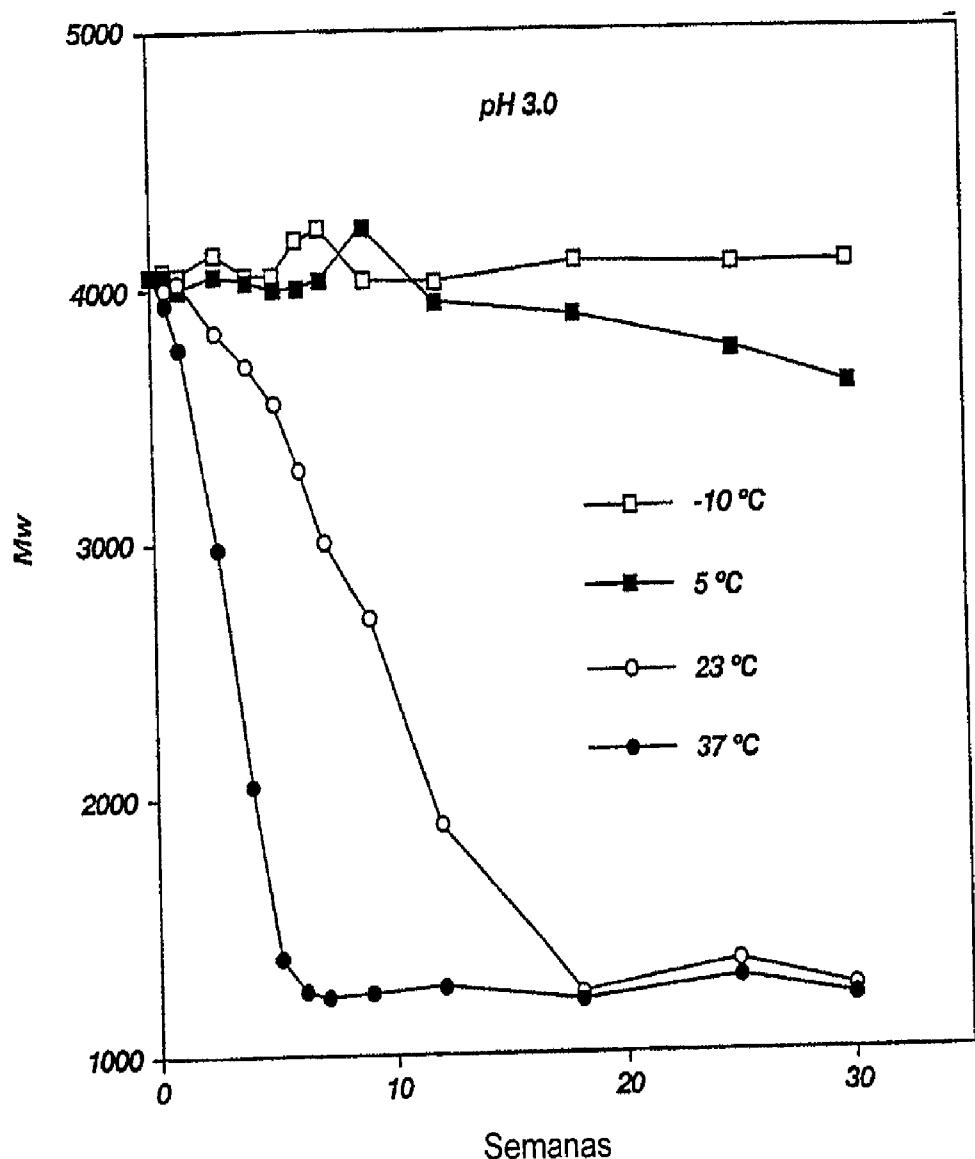


Fig. 2a

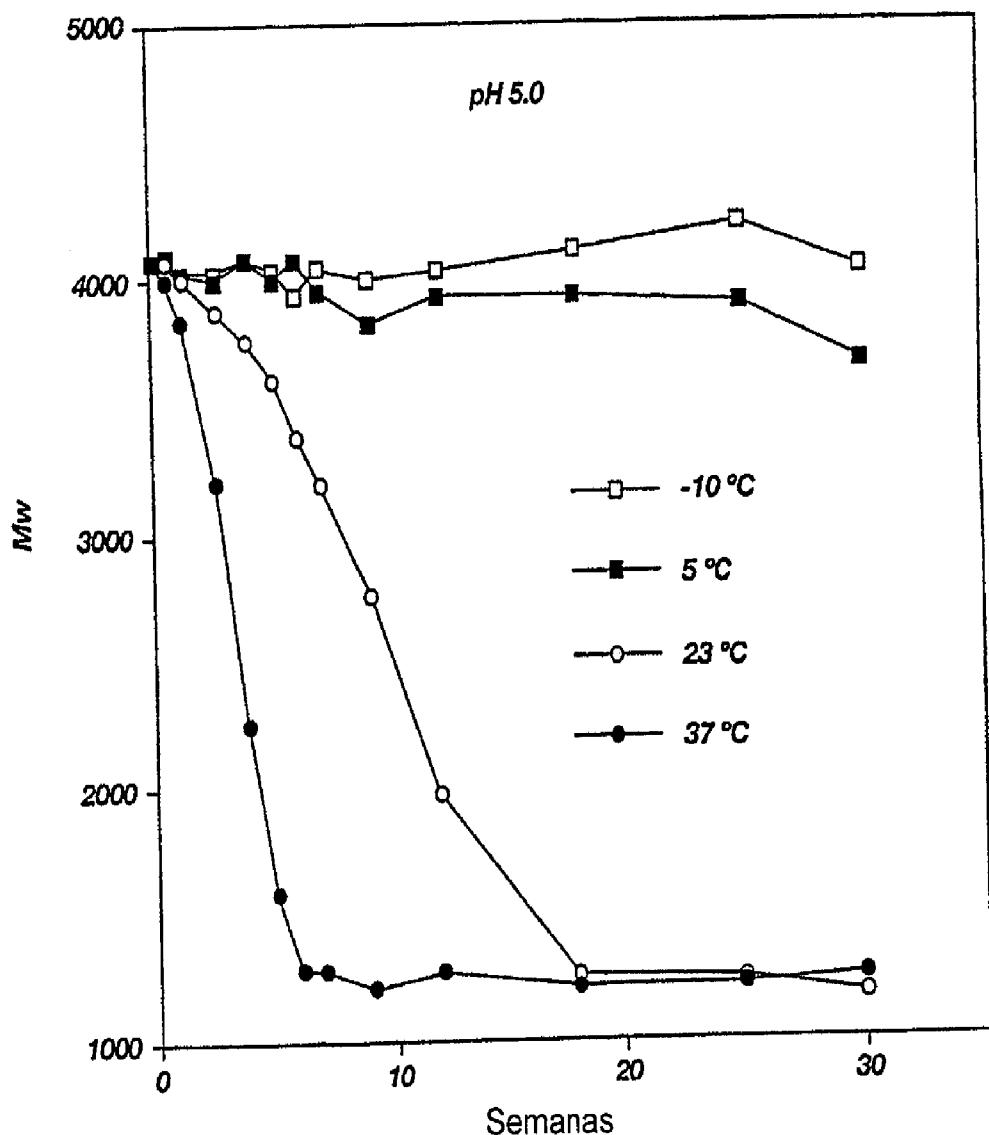


Fig. 2b

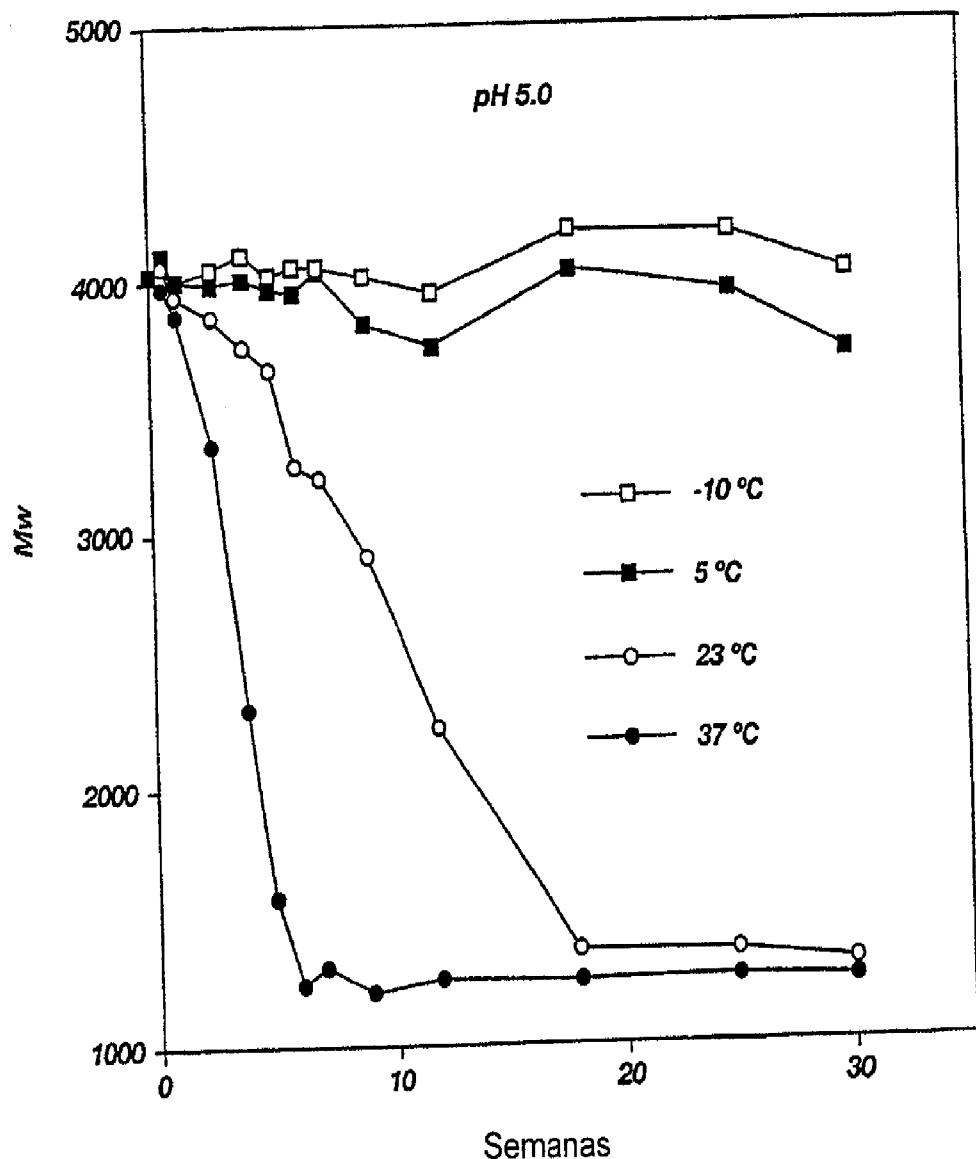


Fig. 2c

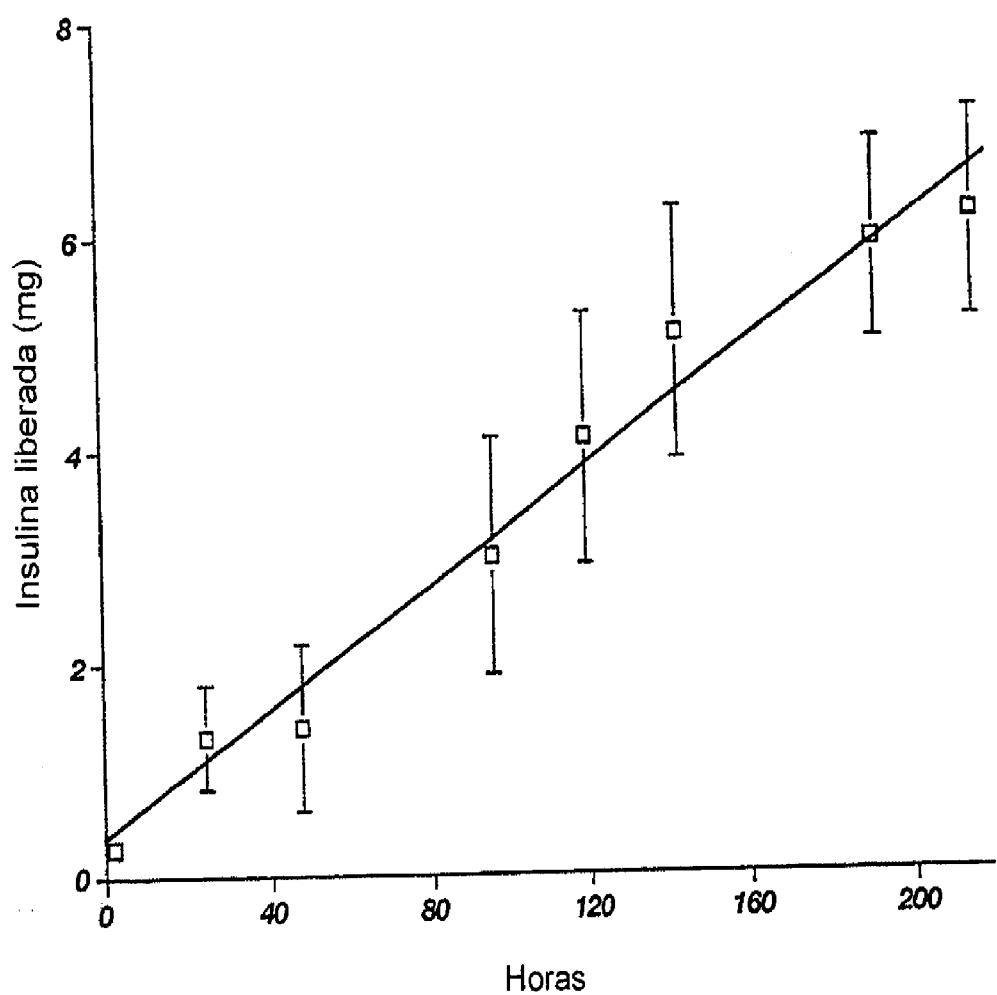


Fig. 3

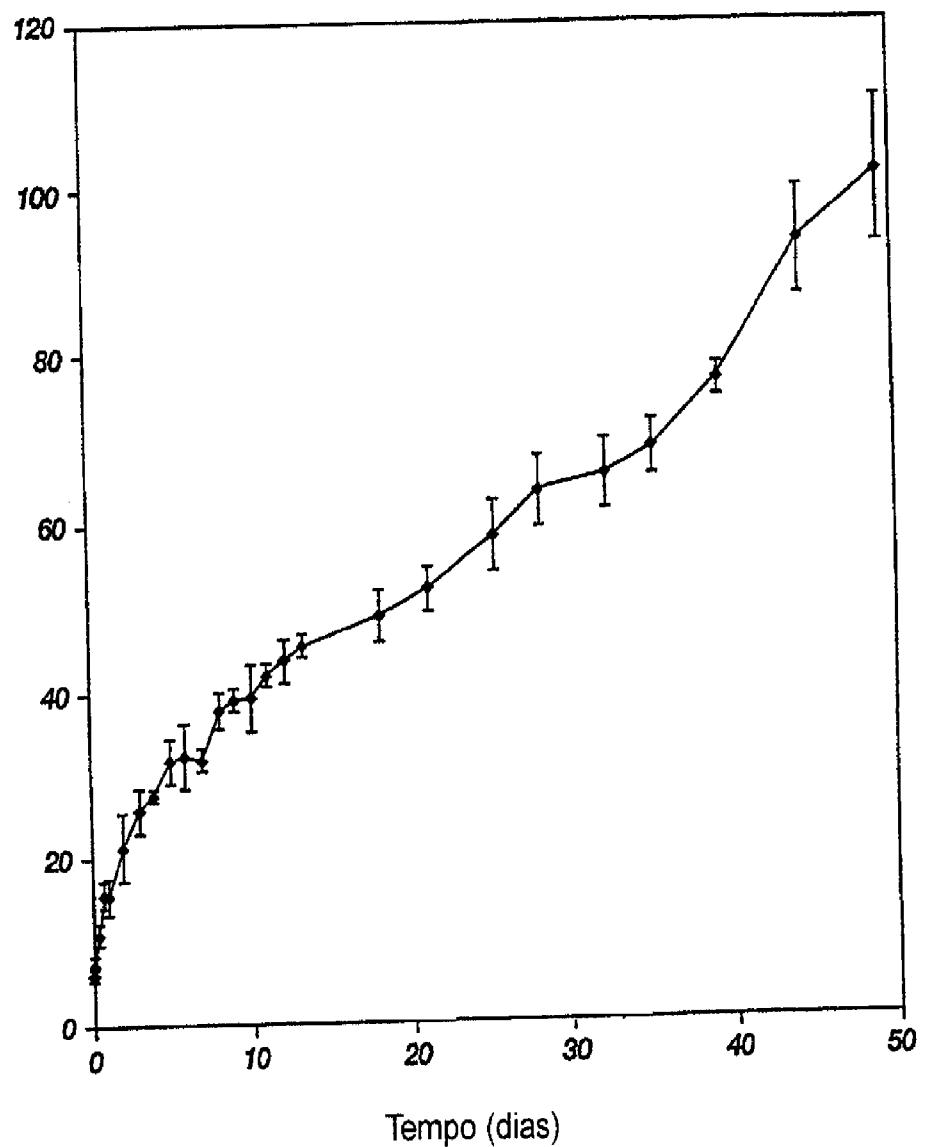


Fig. 4

RESUMO

Patente de Invenção: "POLÍMERO TRIBLOCO BIODEGRADÁVEL E COMPOSIÇÃO POLIMÉRICA AQUOSA BIODEGRADÁVEL".

Um polímero tribloco solúvel em água, biodegradável, do tipo ABA - ou BAB - é descrito como sendo feito de uma quantidade maior de um polímero em bloco A hidrófobo feito de um poliéster biodegradável e uma quantidade menor de um copolímero em bloco B polietileno glicol (PEG) hidrófilo, tendo um peso molecular médio total de entre 2000 e 4990, e que possui propriedades de congelamento térmico inversas. Concentrações eficazes do polímero tribloco e de uma droga devem ser contidas uniformemente em uma fase aquosa para formar uma composição de entrega de droga. A temperaturas abaixo da temperatura de congelamento do polímero tribloco a composição é um líquido e à temperatura de congelamento ou a temperaturas acima desta a composição é um gel ou um semi-sólido. A composição pode ser administrada a um animal de sangue quente como um líquido por meios de entrega parenteral, ocular, tópico, inalação, transdérmica, vaginal, transuretral, retal, nasal, oral, pulmonar ou aural e é um gel à temperatura do corpo. A composição pode também ser administrada como um gel. A droga é liberado a uma taxa controlada do gel que se biodegrada em produtos não tóxicos. A taxa de liberação da droga pode ser ajustada mudando-se vários parâmetros tais como teor do componente hidrófobo/hidrófilo, concentração do polímero, peso molecular e polidispersividade do polímero tribloco. Como o polímero tribloco é anfifílico, funciona para aumentar a solubilidade e/ou estabilidade das drogas na composição.