

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2007.10.11	(73) Titular(es): TOLMAR THERAPEUTICS, INC. 701 CENTRE AVENUE FORT COLLINS, CO 80526 US
(30) Prioridade(s): 2006.10.11 US 850744 P	
(43) Data de publicação do pedido: 2009.07.22	
(45) Data e BPI da concessão: 2014.08.27 192/2014	(72) Inventor(es): LESTER MOORE RICHARD L. NORTON US US
	(74) Mandatário: NUNO MIGUEL OLIVEIRA LOURENÇO RUA CASTILHO, Nº 50 - 9º 1269-163 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **PREPARAÇÃO DE POLIÉSTERES BIODEGRADÁVEIS COM PROPRIEDADES DE BAIXA ROTURA POR EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO**

(57) Resumo:

INVENÇÃO PROPORCIONA MÉTODOS PARA EXTRAIR UM POLÍMERO BIODEGRADÁVEL COM UM FLUIDO SUPERCRÍTICO EFICAZ PARA OBTER UM POLIÉSTER BIODEGRADÁVEL PURIFICADO, TAL COMO UM POLI(LÁTIDO-GLICÓLIDO) (PLG) BIODEGRADÁVEL. O FLUIDO SUPERCRÍTICO PODE SER DIÓXIDO DE CARBONO A UMA PRESSÃO ELEVADA, OU PODE SER DIÓXIDO DE CARBONO COM UM OU MAIS COSSOLVENTES. SÃO TAMBÉM PROPORCIONADOS MÉTODOS PARA REALIZAR A PURIFICAÇÃO GRADUAL DO POLIÉSTER BIODEGRADÁVEL A VÁRIAS PRESSÕES E VÁRIAS TEMPERATURAS, OU AMBAS. QUANDO O POLIÉSTER É UM PLG, É OBTIDO UM COPOLÍMERO DE PLG PURIFICADO COM DISTRIBUIÇÃO DE PESO MOLECULAR ESTREITA EM RELAÇÃO AO POLIÉSTER NÃO PURIFICADO. O COPOLÍMERO DE PLG PURIFICADO PODE TER UM ÍNDICE DE POLIDISPERSIVIDADE DE MENOS DE CERCA DE 1,7, MENOS DE CERCA DE 2% DE MONÓMEROS E MENOS DE CERCA DE 10% DE OLIGÓMEROS. O COPOLÍMERO DE PLG PURIFICADO PODE EXIBIR UM EFEITO DE ROTURA INICIAL REDUZIDO QUANDO INCORPORADO NUMA FORMULAÇÃO DE LIBERTAÇÃO CONTROLADA, TAL COMO UM IMPLANTE FLUIDO ADAPTADO PARA SER INJETADO EM TECIDOS CORPORAIS.

RESUMO

"PREPARAÇÃO DE POLIÉSTERES BIODEGRADÁVEIS COM PROPRIEDADES DE BAIXA ROTURA POR EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO"

A invenção proporciona métodos para extrair um polímero biodegradável com um fluido supercrítico eficaz para obter um poliéster biodegradável purificado, tal como um poli(látido-glicólido) (PLG) biodegradável. O fluido supercrítico pode ser dióxido de carbono a uma pressão elevada, ou pode ser dióxido de carbono com um ou mais cossolventes. São também proporcionados métodos para realizar a purificação gradual do poliéster biodegradável a várias pressões e várias temperaturas, ou ambas. Quando o poliéster é um PLG, é obtido um copolímero de PLG purificado com distribuição de peso molecular estreita em relação ao poliéster não purificado. O copolímero de PLG purificado pode ter um índice de polidispersividade de menos de cerca de 1,7, menos de cerca de 2% de monómeros e menos de cerca de 10% de oligómeros. O copolímero de PLG purificado pode exibir um efeito de rotura inicial reduzido quando incorporado numa formulação de libertação controlada, tal como um implante fluido adaptado para ser injetado em tecidos corporais.

DESCRIÇÃO

"PREPARAÇÃO DE POLIÉSTERES BIODEGRADÁVEIS COM PROPRIEDADES DE BAIXA ROTURA POR EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO"

Referência Cruzada a Pedidos Relacionados

Este pedido reivindica a prioridade do Pedido Provisório U.S. N° de Série 60/850,744, apresentado a 11 de outubro de 2006.

Antecedentes

Métodos tais como extração com solvente e precipitação são atualmente empregues para purificar vários tipos de polímeros, tais como aqueles poliésteres biodegradáveis utilizados em formulações de libertação controlada para implantação no interior de tecidos corporais. A dissolução de uma amostra de um poliéster num solvente e a precipitação de certas frações com um não solvente miscível foi utilizada para preparar materiais com propriedades vantajosas. Por exemplo, verificou-se que certos métodos de purificação, incluindo precipitação seletiva de solvente pode fornecer poliésteres biodegradáveis, em que o "efeito de rotura inicial", uma taxa inicial de libertação excessivamente alta de um composto medicinal incorporado no poliéster depois de implantação em tecidos do corpo, é reduzida em relação à observada usando o poliéster não purificado.

Por exemplo, a patente U.S. N° 4,728,721 discute a presença de monómeros não reagidos solúveis em água e oligómeros de baixo peso molecular solúveis em água dentro

dos copolímeros que são usados para formar microcápsulas dentro das quais os agentes bioativos são incorporados. De acordo com os inventores da referida patente, a presença dessas impurezas tendem a aumentar o efeito de rotura inicial. A patente proporciona métodos para a remoção de algumas destas impurezas por lavagem de uma forma sólida do poliéster com água, ou por dissolução do poliéster num solvente orgânico solúvel em água e adição da solução à água.

A Patente U.S. N° 5,585,460 discute o tratamento de poliésteres utilizados para a preparação de microcápsulas, em que os poliésteres são dissolvidos num solvente orgânico solúvel em água e precipitados em água para proporcionar os poliésteres que se declara terem componentes com pesos moleculares inferiores a 1.000 (1 kDa) inferiores a cerca de 3%.

A Patente U.S. N° 4,810,775 descreve um processo para a purificação de poliésteres parcialmente cristalinos ou amorfos, em que forças de cisalhamento elevadas são aplicadas na altura de pôr o poliéster em contacto com um agente de precipitação, tal como água, de modo que são obtidas partículas de poliéster minúsculas. Esta patente descreve que esse tratamento resulta na remoção de monómeros residuais e catalisadores do poliéster.

A Patente US N° 7,019,106 discute um processo para a produção de um poliéster de ácido láctico de 15.000 a 50.000 em peso molecular médio ponderado, o teor de materiais poliestéricos tendo não mais do que cerca de 5.000 em peso molecular médio ponderado no mesmo sendo não mais do que cerca de 5% em peso. O processo é

caracterizado por hidrólise de um poliéster de ácido láctico de alto peso molecular e a precipitação do produto hidrolisado, que é indicado para proporcionar um efeito de rotura reduzido.

O pedido de patente U.S. N° de Série 60/901,435, apresentado em 15 fevereiro de 2007 pelos inventores do presente documento, discute um processo de precipitação de solvente para produzir uma fração de poliéster poli(láctico-glicólido) ("PLGp") que é vantajosa em termos de redução do efeito inicial de rotura.

Um inconveniente dos processos de extração por solvente ou precipitação é que os mesmos normalmente necessitam de quantidades relativamente grandes de solventes orgânicos que são perigosos, difíceis de manusear, ou difíceis de eliminar. Os solventes orgânicos típicos, que incluem cloreto de metileno e clorofórmio, são perigosos para os seres humanos (isto é, são tóxicos ou carcinogénicos) e são perigosos para o meio ambiente. Tendo em vista a escala industrial que os processos de extração teriam de ser realizados a fim de proporcionar quantidades industriais (por exemplo, quilogramas ou toneladas) de polímeros, seriam necessárias grandes quantidades de solventes orgânicos. O elevado custo da eliminação dos solventes orgânicos é uma desvantagem adicional dos processos de extração da atualidade.

Extração com fluido supercrítico refere-se a uma extração em que é utilizado um fluido a uma temperatura e pressão acima do seu ponto crítico; ou é utilizado um fluido acima da sua temperatura crítica, independentemente da pressão. Abaixo do ponto crítico, o fluido pode coexistir tanto na

fase gasosa como líquida, mas acima do ponto crítico, há apenas uma fase. Equipamentos, técnicas, procedimentos, solventes e condições (por exemplo, tempo, temperatura e pressão) para levar a cabo a extração com fluido supercrítico são conhecidos dos especialistas na técnica. Ver, por exemplo, *Supercritical Fluid Science and Technology*, ACS Symposium Series:406, K.P., Johnston et al., Editor, American Chemical Society, (1989), pp. 1-550; *Supercritical Fluid Extraction-Principals and Practice*, segunda edição, M.A. McHugh, et al., Editores, Butterworth-Heinemann, (1994), pp. 1-512; Johnston, K.P. et al., "Super Critical Fluid Science and Technology", ACS Symposium Series 406, American Chemical Society, (1989), 1-550; McHugh, Mark J., *Super Critical Fluid Science and Technology*, ACS Symposium Series: 406, K.P., Johnston et al., Editor, American Chemical Society, (1989), pp. 1-550; McHugh, M., et al., *Supercritical Fluid Extraction-Principals and Practice*, segunda edição, M.A. McHugh, et al., editores, Butterworth-Heinemann, (1994), pp. 1-512; McHugh, M., et al., *Supercritical Fluid Extraction*, segunda Edição, (1994); Taylor, L.T., "Properties of Supercritical Fluids", *Supercritical Fluid Extraction*. Capítulo 2, John Wiley & Sons, Nova Iorque, (1996), pp 7-27.; e Vilegas, J.H. et al., "Extraction of Low-polarity Compounds with Emphasis on Coumarin and Kaurenoic Acid from *Mikania glomerata* (Guaco) Leaves", *Phytochem. Anal*, 8, Sumário Obtido de CAPLUS, Documento N° 127:316461, (1997), pp. 266-270.

Solventes adequados úteis na extração com fluido supercrítico são divulgados, por exemplo, *Super Critical Fluid Science and Technology*, ACS Symposium Series: 406, K.P., Johnston et al., Editor, American Chemical Society,

(1989), pp. 1-550; *Supercritical Fluid Extraction-Principals and Practice*, segunda edição, MA McHugh, et al., Editores, Butterworth-Heiriemann, (1994), pp. 1-512; Johnston, K.P. et al., "Supercritical Fluid Science and Technology", ACS Symposium Series 406, American Chemical Society, (1989), 1-550; McHugh, Mark J., *Super Critical Fluid Science and Technology*, ACS Symposium Series: 406, K.P., Johnston et al., Editor, American Chemical Society, (1989), pp. 1-550; McHugh, M., et al., Editores *Supercritical Fluid Extraction-Principals and Practice*, segunda edição, M.A. McHugh, et al., editores, Butterworth-Heinemann, (1994), pp. 1-512; McHugh, M., et al., *Supercritical Fluid Extraction*, 2ª Edição, (1994); Taylor, L.T., "Properties of Supercritical Fluids", *Supercritical Fluid Extraction*. Capítulo 2, John Wiley & Sons, Nova Iorque, (1996), pp 7-27.; e Vilegas, J.H. et al., "Extraction of Low-polarity Compounds with Emphasis on Coumarin and Kaurenoic Acid from *Mikania glomerata* (Guaco) Leaves", *Phytochem. Anal.*, 8, Sumário Obtido de CAPLUS, Documento N° 127: 316461, (1997), pp. 266-270. Um dos fluidos supercríticos, que não está disponível para utilização como solvente em condições padrão de temperatura e pressão, é o dióxido de carbono. O dióxido de carbono é um componente que ocorre naturalmente na atmosfera, produzido por organismos vivos, e, embora possa haver preocupação sobre os níveis excessivos na atmosfera em relação ao aquecimento global, de modo algum é o dióxido de carbono geralmente considerado como tóxico ou prejudicial ao ambiente da maneira que é, por exemplo, o clorofórmio. Desse modo, existe uma necessidade de processos industriais que possam substituir o dióxido de carbono relativamente não tóxico como solvente de extração para os hidrocarbonetos halogenados mais tóxicos e

similares em processos de purificação de polímero tal como poliésteres biodegradáveis, que forneçam um produto com propriedades desejáveis.

O documento U.S. 6,966,990 B2 divulga um método para a produção de partículas compósitas utilizando uma técnica de extração com fluido supercrítico numa emulsão. O primeiro e o segundo materiais (por exemplo, um polímero e um material biologicamente ativo) são dissolvidos ou suspensos num solvente preferencial para formar uma solução ou dispersão. A solução ou dispersão é emulsionada num solvente polar para formar uma emulsão óleo-em-água ou água-em-óleo. A emulsão é posta em contacto com um fluido supercrítico para extrair o solvente. A remoção do solvente pelo fluido supercrítico da emulsão supersatura pelo menos o primeiro material na solução fazendo com que o primeiro material se precipite da solução como partículas compósitas que incluem tanto o primeiro como o segundo material.

Yeo *et al.*, *Formation of polymer particles with supercritical fluids: A review. J. of Supercritical Fluids* 2005, 34:pp 287-308 descrevem desenvolvimentos em formação de partícula a partir de polímeros que utilizam fluidos supercríticos com ênfase em artigos publicados durante 2000-2003. Em primeiro lugar, é apresentada uma breve descrição dos princípios básicos de operação dos vários processos de formação de partícula. Estes incluem a expansão rápida de soluções supercríticas (RESS, do inglês *Rapid Expansion of Supercritical Solutions*), o processo gás antissolvente (GAS, do inglês *Gas Anti-Solvent*), o processo antissolvente supercrítico (SAS, do inglês *Supercritical Anti-Solvent*) e suas várias modificações, e

os processos de partículas de solução saturada com gás (PGSS, do inglês *Particles From Gas Saturated Solution*). É então fornecido um relato dos artigos de análise geral que foram publicados nos anos anteriores. As publicações que apareceram durante os últimos 4 anos foram revistas sob dois agrupamentos, um envolvendo a produção de partículas a partir de polímeros puros, e o outro envolvendo a produção de partículas de polímeros que contêm ingredientes ativos, especialmente aqueles que são relativos a produtos farmacêuticos. A maior parte dos esforços na tecnologia de formação de partícula supercrítica atual é, realmente, sobre a produção de partículas de polímeros que são de importância farmacêutica. Em cada agrupamento, as publicações foram adicionalmente categorizadas de acordo com o papel principal desempenhado pelo fluido supercrítico no processo, ou seja, se o mesmo foi utilizado como solvente, ou como antissolvente, ou como um soluto.

O documento U.S. 2006/0074010 A1 divulga um método e um aparelho para remover impurezas de polímeros biodegradáveis e/ou compostos farmacêuticos. De acordo com o método, um fluxo de fluido supercrítico e, opcionalmente, um cossolvente modificador, é utilizado para dissolver as impurezas. A pressão e a temperatura do fluido supercrítico ou mistura de fluido supercrítico/solvente é controlada de tal modo que o fluido supercrítico ou mistura atua como solvente para as impurezas, mas não para os polímeros biodegradáveis e/ou compostos farmacêuticos.

O documento U.S. 5,981,694 A divulga uma composição de polímero lático que combina limitações de composição e

pureza e otimização de catalisador ou adição de agentes estabilizantes que resulta num polímero estável à fusão. O polímero de lático estável à fusão compreende uma pluralidade de cadeias de polímero polilático, lático residual em concentração inferior a 2 por cento e água em concentração inferior a 1000 partes por milhão. Um agente estabilizante numa quantidade suficiente para reduzir a despolimerização do polímero lático durante o processamento de fusão ou, alternativamente, controlo do nível do catalisador numa proporção molar de monómero para catalisador superior a 3000:1 é também incluída na composição estável à fusão. Um processo para a preparação de uma composição de polímero lático estável à fusão inclui a polimerização de uma mistura lática e a adição de agentes estabilizantes suficientes para reduzir a despolimerização do polilático durante o processo de fusão, seguido pela desvolatilização do polilático para remover o monómero e a água.

O documento U.S. 5,478,921 A divulga um método para purificação de um material que contém um polímero bioabsorvível que envolve pôr o polímero em contacto com um extrator em condições supercríticas de temperatura e pressão para extrair as impurezas residuais do polímero e depois recuperar o polímero purificado. O método reduz acentuadamente os níveis de monómeros residuais em polímeros bioabsorvíveis sem alterar a viscosidade ou o ponto de fusão do polímero.

Sumário da Invenção

Uma forma de realização de acordo com a presente invenção é dirigida a um método para a preparação de um poliéster

biodegradável, por exemplo, um poli(látido-glicólido) purificado, referido daqui por diante como um copolímero de PLG, por extração do poliéster com um fluido supercrítico compreendendo dióxido de carbono. O poliéster biodegradável purificado obtido dessa maneira tem uma distribuição de peso molecular mais estreita do que a amostra de partida. Quando incorporados numa formulação de libertação controlada de uma substância bioativa, o copolímero purificado pode proporcionar um efeito de rotura inicial reduzido da substância bioativa.

Explicitamente, a invenção proporciona um método para a obtenção de um poliéster biodegradável purificado, o método compreendendo a extração de um poliéster biodegradável com um fluido supercrítico que compreende dióxido de carbono para se obter o poliéster biodegradável purificado, em que o poliéster biodegradável purificado dissolve-se no fluido supercrítico e é recuperado por evaporação do fluido supercrítico, e em que o poliéster é fracionado por uma série de extrações sucessivas com o fluido supercrítico, em que cada extração sucessiva é realizada a uma pressão mais alta.

Uma forma de realização da invenção proporciona um método em que o poliéster biodegradável é poli(DL-látido-glicólido) (PLG) e o poliéster biodegradável purificado é um copolímero PLG purificado. O poliéster biodegradável, também pode ser um PLG previamente purificado por um processo de precipitação de solvente, tal como um PLGp.

Numa forma de realização da invenção, a extração pode ser realizada várias vezes a diferentes temperaturas ou

pressões para fracionar o poliéster biodegradável tal como PLG.

Uma forma de realização da invenção proporciona um método para a obtenção de poli(DL-látido-glicólido) (PLG) purificado por extração de um material de poli(DL-látido-glicólido) com um peso molecular (Mw) médio de cerca de 15 kDa a cerca de 45 kDa com um fluido supercrítico que compreende dióxido de carbono a uma temperatura superior a cerca de 40 °C e a uma pressão superior a cerca de $68.947 \cdot 10^5$ Pa (1.000 psi), para se obter um copolímero de PLG purificado, em que o copolímero de PLG purificado tem uma distribuição de peso molecular (índice de polidispersividade) mais estreita do que o PLG. O índice de polidispersividade do copolímero de PLG purificado pode ser inferior a cerca de 1,7.

Outra forma de realização proporciona um poliéster purificado obtido pelo método da invenção, ou, mais especificamente, um copolímero de PLG purificado de acordo com o método da invenção. O copolímero de PLG purificado com SFE pode ter uma distribuição mais estreita de pesos moleculares de cadeia polimérica individual, um teor de oligómero reduzido, e um teor de monómero reduzido.

Outra forma de realização da invenção proporciona uma formulação de libertação controlada que compreende uma composição fluida que compreende o copolímero ou poliéster de PLG biodegradável purificado com SFE, um solvente orgânico com pelo menos alguma solubilidade em fluidos corporais, e uma substância bioativa. A substância bioativa pode ser, por exemplo, octreotida, GHRP-1, ou risperidona.

Breve Descrição dos Desenhos

As formas de realização da invenção podem ser melhor compreendidas com referência à seguinte descrição e desenhos associados que ilustram estas formas de realização. O esquema de numeração para as Figuras aqui incluídas é tal que o número inicial para um dado número de referência numa Figura está associado com o número da Figura. Nos desenhos:

A FIG. 1 é um diagrama esquemático de um aparelho adequado para extração com fluido supercrítico de acordo com o método da invenção.

A FIG. 2 mostra um gráfico de temperaturas de transição vítrea para Extração Fracionada com Fluido Supercrítico (SFE) frações de poli(DL-lático-glicólico).

A FIG. 3 representa um gráfico de um perfil de libertação em 24 horas de acetato de octreotida em ratos de uma formulação de libertação controlada que compreende um copolímero de PLG não purificado (PLGH), um copolímero de PLG purificado por precipitação do solvente (PLGHp), e as frações 5 e 6 (da Tabela 1) do copolímero de PLG purificado por extração com fluido supercrítico (SFE) de acordo com o método da invenção.

Descrição Detalhada da Invenção

Referência será agora feita, em detalhe, a certas reivindicações da invenção, exemplos das quais são ilustrados nas estruturas e fórmulas que a acompanham. Embora a invenção seja descrita juntamente com as

reivindicações enumeradas, deve ser entendido que as mesmas não se destinam a limitar a invenção a estas reivindicações. Pelo contrário, a invenção destina-se a abranger todas as alternativas, modificações e equivalentes que podem ser incluídos dentro do âmbito da presente invenção tal como definido pelas reivindicações.

Referências na especificação de "forma de realização", "uma forma de realização", "uma forma de realização de exemplo", etc., indicam que a forma de realização descrita pode incluir um atributo, estrutura ou característica particular, mas cada forma de realização não necessariamente inclui o atributo, estrutura, ou característica particular. Além disso, tais expressões não se referem necessariamente à mesma forma de realização. Além disso, quando um determinado atributo, estrutura, ou característica é descrito em relação a uma forma de realização, alega-se que está dentro do conhecimento de um especialista na técnica atingir tal atributo, estrutura, ou característica em relação a outras formas de realização que estão ou não explicitamente descritas. A presente invenção refere-se a métodos de purificação de poliésteres. Quando são descritos os métodos de purificação de poliésteres, os seguintes termos têm os seguintes significados, a menos que indicado de outra forma.

Definições

A menos que indicado de outra forma, os seguintes termos e frases tal como aqui utilizados destinam-se a ter os seguintes significados:

"Extração com fluido supercrítico" refere-se a uma extração em que é utilizado um fluido a uma temperatura e pressão acima do seu "ponto crítico"; ou é utilizado um fluido acima da sua temperatura crítica, independentemente da pressão. O "ponto crítico" de um fluido é o ponto definido pela temperatura, ou uma combinação de temperatura e pressão, em que abaixo do ponto crítico, o fluido pode coexistir tanto na fase gasosa como líquida, mas acima do ponto crítico, há apenas uma fase. Numa extração com fluido supercrítico, as propriedades termodinâmicas e de transporte do fluido supercrítico são uma função da densidade, que depende fortemente da pressão e da temperatura do fluido. A densidade pode ser ajustada de um valor semelhante ao gás de 0,1 g/mL a um valor semelhante ao líquido de até 1,2 g/mL. Além disso, à medida que as condições se aproximam do ponto crítico, o efeito da temperatura e da pressão sobre a densidade torna-se muito mais significativo. Por exemplo, o aumento da densidade do solvente supercrítico (por exemplo, dióxido de carbono) de 0,2 para 0,5 g/mL requer elevar a pressão de 85 atm para 140 atm (8,6 MPa para 14,2 MPa) a 70 °C (158 °F), mas a 35 °C (95 °F) a mudança necessária é de apenas de 65 atm para 80 atm (6,61 MPa para 8,1 MPa).

Tal como aqui utilizado, extração com fluido supercrítico inclui a extração fraccionada com fluido supercrítico. Tal como aqui utilizado, "extração fraccionada com fluido supercrítico" (daqui por diante "FSFE", do inglês *Fractional Supercritical Fluid Extraction*) refere-se a um processo de múltiplas etapas em que a extração com fluido supercrítico é realizada a uma temperatura e pressão durante um dado período de tempo e, em seguida, é realizada a uma ou mais outras temperaturas e/ou uma ou

mais pressões. Estas temperaturas e/ou pressões podem ser aumentadas progressivamente para uma série de extrações sequenciais. Por "sequencial" entende-se que o poliéster é extraído sob um conjunto de condições, a solução da fração de soluto no fluido supercrítico é removida, por exemplo, por filtração ou centrifugação, em seguida, o poliéster residual é extraído sob um segundo, terceiro, etc. conjunto de condições, repetindo a operação. Quando temperaturas e/ou pressões crescentes são utilizadas em extrações sequenciais, tipicamente, são recuperadas diferentes frações de poliéster dos vários extractos sequenciais, as quais podem ser mantidas separadas umas das outras para este fim.

Tal como aqui utilizado, um "cossolvente" refere-se a qualquer solvente (por exemplo, solução aquosa, solvente orgânico ou gás), para além do dióxido de carbono, que pode ser empregue na extração com fluido supercrítico (SFE). Exemplos de cossolventes incluem hidrocarbonetos, álcoois, gases inertes, e outros compostos relativamente voláteis como é discutido em maior detalhe adiante.

Uma "formulação de libertação controlada", tal como o termo é aqui utilizado, refere-se a uma formulação adaptada para libertar uma substância bioativa contida nos tecidos do corpo, durante um período de tempo. Um exemplo de uma formulação de libertação controlada de acordo com significado neste documento é o "sistema de libertação líquido" ou um "sistema de libertação fluido", uma combinação de um poliéster biodegradável, um agente bioativo e um solvente orgânico, tal como no sistema Atrigel®. O solvente orgânico tem pelo menos alguma solubilidade em água e em fluidos corporais. Um exemplo é

a N-metilpirrolidona (NMP). Após a injeção do material fluido no tecido, o solvente dispersa-se dentro do tecido e o fluido corporal difunde-se no bolus injetado, causando assim a coagulação do poliéster numa massa sólida ou semissólida. Os solventes que podem ser utilizados com os poliésteres da invenção para um sistema de libertação líquido ou fluido incluem N-metilpirrolidona, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, sulfóxido de dimetilo, triacetina, polietileno glicol 200, polietileno glicol 300, ou metoxipolietileno glicol 350, todos os quais têm pelo menos alguma solubilidade em água e em fluidos corporais. Ver, por exemplo, as Patentes U.S. Nos. 6,773,714; 6,630,155; 6,565,874; 6,528,080; RE37,950; 6,461,631; 6,395,293; 6,261,583; 6,143,314; 5,990,194; 5,744,153; 5,702,716; 5,324,519; 4,938,763 e referências nelas citadas.

Muitas vezes, uma dispersão inicial do solvente para fora da massa irá transportar consigo o agente bioativo para dentro dos tecidos circundantes, produzindo assim um efeito de rotura. Um implante sólido, do tipo monolítico ou de micropartículas, também apresenta um efeito de rotura devido à presença do agente bioativo sobre e próximo da superfície do implante, e devido à presença de agente bioativo facilmente lixiviado dentro dos microcanais e mesoporos que se formam no interior do implante, como resultado da sua interação inicial com o fluido corporal.

Os termos "poliéster" ou "copolímero" tal como aqui utilizados referem-se a poliésteres substancialmente lineares, também aqui referidos como "copolímeros de PLG", predominantemente formados de lactato monomérico e

hidroxiácidos de glicolato, ou hidroxiácidos diméricos de látido e glicólido, e incluem composições que são referidas na técnica como poli(lactato-glicolato), poli(lactato(co)glicolato), poli(lático-glicólico), poli(lático(co)glicólico), PLG, PLGH, e semelhantes, com o entendimento de que porções adicionais podem ser incluídas, tais como grupos de núcleo/iniciador (por exemplo, dióis, trióis, polióis, hidroxiácidos e similares), grupos terminais (por exemplo, ésteres de grupos terminais carboxilo, e semelhantes) e outros grupos pendentes ou grupos de extensão de cadeia, ligados de forma covalente, ou dentro de um esqueleto de poliéster, incluindo os grupos que reticulam as cadeias moleculares de poliéster substancialmente lineares, sem se afastar do significado aqui designado. Copolímeros de PLG, como o termo é aqui usado, inclui cadeias moleculares com grupos terminais hidroxilo, grupos carboxilo terminais (isto é, terminados com ácido, por vezes denominados PLGH) e grupos terminais éster (isto é, terminais).

Tal como aqui utilizado, o termo "material de poliéster" ou "material de copolímero" refere-se à montagem física ou à massa combinada de uma pluralidade de poliésteres individuais ou moléculas de copolímero de PLG (cadeias moleculares) numa dada amostra, respectivamente, cada uma de cujas moléculas (cadeias moleculares) tem o seu próprio peso molecular definido, no sentido químico habitual do termo. Um "material de poliéster" ou "material de copolímero de PLG", como aqui utilizado, normalmente é composto por um conjunto de poliésteres individuais ou moléculas de copolímero de PLG com vários pesos moleculares individuais diferentes. Desse modo, quando é referido o peso molecular de um material de poliéster ou

um material de copolímero, trata-se de um peso molecular médio. Sem caracterização adicional, este peso molecular médio é um peso molecular médio ponderado tal como aqui utilizado. A descrição completa, peso molecular médio ponderado, podem ser usados como sinónimos. Se o peso molecular médio a ser referido é o peso molecular médio em número, o mesmo será explicitamente declarado nesta memória descritiva. Quando os pesos moleculares individuais das moléculas individuais do componente (cadeias moleculares) são referidos, o termo "peso molecular individual" é utilizado nesta memória descritiva. Os pesos moleculares médios ponderados são determinados através da utilização de cromatografia de permeação em gel (GPC), com referência a padrões de poliestireno, tal como é bem conhecido na técnica.

O termo "índice de polidispersividade" como utilizado aqui é definido como o peso molecular médio ponderado de uma amostra de um material de poliéster, dividido pelo peso molecular médio em número da amostra do material de poliéster. As definições dos termos "peso molecular médio ponderado" e "peso molecular médio em número" são bem conhecidas dos especialistas na técnica. O índice de polidispersividade é bem conhecido para caracterizar a distribuição de pesos moleculares num poliéster. Quanto maior for o valor do índice de polidispersividade, mais ampla será a propagação dos pesos moleculares individuais das cadeias moleculares de poliéster que constituem o material de poliéster. Quanto menor for o valor do índice de polidispersividade, mais uniforme e mais estreitamente agrupados são os pesos moleculares individuais das moléculas de poliéster individuais que constituem o material de poliéster em questão. No caso improvável de

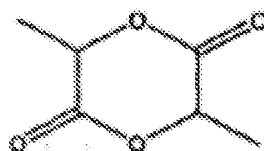
que todas as moléculas de poliéster no material de poliéster sejam idênticas, o peso molecular médio ponderado e o peso molecular médio em número seriam idênticos, e, desse modo, o índice de polidispersividade ("PDI") seria a unidade.

Os termos "lactato" e "glicolato", tal como aqui utilizados, dependendo do contexto, referem-se aos hidroxíácidos, ácido láctico e ácido glicólico, respectivamente, ou os seus sais (lactatos e glicolatos) que são utilizados como reagentes na preparação de copolímeros da invenção, ou referem-se às porções de resíduos incorporados através de ligações éster nas cadeias moleculares de poliéster da invenção. Quando um copolímero é formado por polimerização de ácido láctico (lactato) e ácido glicólico (glicolato), cada cadeia molecular consiste em unidades monoméricas individuais de lactato e glicolato incorporadas na cadeia molecular do copolímero. Os termos "látido" e "glicólido", tal como aqui utilizados, dependendo do contexto, referem-se aos ésteres cíclicos diméricos de lactato e glicolato, respectivamente, quando se referem a reagentes usados na preparação de copolímeros da invenção, ou referem-se a esses segmentos como dímeros de anel aberto incorporados das cadeias moleculares de poliéster formadas. Deste modo, uma indicação sobre a polimerização de látido e glicólido refere-se a uma reação de polimerização dos ésteres cíclicos diméricos, enquanto que uma indicação sobre um resíduo de látido ou glicólido dentro de uma cadeia molecular de copolímero refere-se a esse agrupamento de átomos, de anel aberto, e incorporado na cadeia do copolímero. Quando um copolímero é formado por polimerização de látido e glicólido, acredita-se que cada

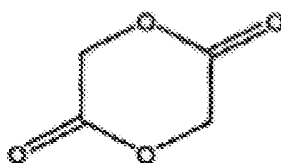
resíduo de látido e glicólido incorporado consiste num par de unidades monoméricas de lactato ou glicolato, respectivamente. Entende-se que, quando um resíduo de látido e glicólido numa cadeia molecular de copolímero é referido, os termos significam unidades duplas (diméricas) de dois resíduos de lactato (LL), ou dois resíduos de glicolato (GG) na cadeia molecular, respectivamente, tal como acredita-se que resulta da polimerização de látido e glicólido. Quando um resíduo de lactato (L) ou de glicolato (G) numa cadeia molecular de copolímero é referido, os termos significam resíduos únicos de lactato (L) ou glicolato (G) na cadeia molecular, respectivamente, que podem estar dentro de um resíduo de látido (LL) ou de glicólido (GG) se o dado lactato ou glicolato estiver adjacente a um outro resíduo de lactato ou glicolato, respectivamente, independentemente do método utilizado para preparar a cadeia molecular de copolímero. Como a maioria dos sistemas poliméricos, este arranjo de resíduos não é tudo ou nada. Em vez disso, o arranjo é uma predominância. Desse modo, para os copolímeros de látido e glicólido, uma predominância de resíduos de LL e GG estará presente com alguns resíduos de L e G (individuais) também presentes. A razão química subjacente a esta caracterização é o processo de polimerização. Durante a polimerização, cadeias de poliéster em crescimento são partidas e reformadas. Esta cisão pode dividir resíduos de dímero e recombinar resíduos individuais. Para os copolímeros de lactato e glicolato, uma predominância de resíduos de L e G (individuais) estarão presentes. Este tipo de poliéster terá relativamente poucas sequências incluindo repetições de resíduos de dímeros devido a fatores de entropia.

Entende-se que quando os termos "ácido láctico", "lactato," ou "látido" são aqui utilizados, quaisquer e todas as formas quirais dos compostos estão incluídas no âmbito dos termos. Desse modo, "ácido láctico" inclui ácido D-lático, ácido L-lático, ácido DL-lático, ou qualquer combinação dos mesmos; "látido" inclui DD-látido, DL-látido, DL-látido, LL-látido, ou qualquer combinação dos mesmos.

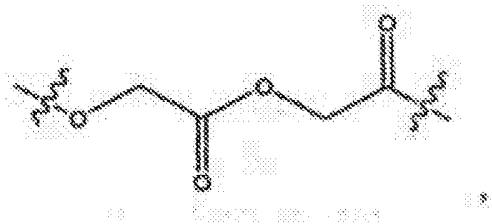
"Látido", tal como o termo é aqui utilizado, quando se refere a um reagente monomérico, é um dímero cíclico de ácido láctico, como mostrado:



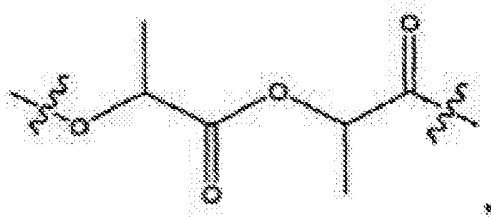
"Glicólido", como o termo é aqui utilizado, quando se refere a um reagente monomérico, é um dímero cíclico de ácido glicólico, como mostrado:



Ao referir-se aos poliésteres como "poli(látido-glicólido)" ou "copolímeros de PLG", um copolímero que compreende tanto unidades de látido linear como glicólido linear incorporadas numa cadeia linear de poliéster através de reações de abertura de anel contém domínios que incluem as duas estruturas que se seguem:



um segmento de poliglicólido, e



um segmento de polilático. Estes segmentos podem ser distribuídos aleatoriamente ao longo do comprimento da cadeia de copolímero de PLG. É também entendido que o copolímero de PLG pode ser preparado por polimerização de ácido láctico e ácido glicólico, em cujo caso as unidades de lactato e glicolato individuais podem ser distribuídas aleatoriamente ao longo da cadeia. No entanto, um copolímero de PLG preparado por copolimerização de abertura do anel de látido e glicólido de dímeros cíclicos é preferido para a realização do método da invenção.

Um copolímero de PLG de acordo com a utilização na presente invenção tem um peso molecular médio ponderado, como é bem conhecido na técnica, de cerca de 5 kDa a cerca de 55 kDa. Cadeias de poliéster de menos de cerca de 5 kDa de peso molecular, são aqui referidas como "oligómeros". O termo "monómeros" engloba tanto o ácido láctico como o ácido glicólico, e látido e glicólido, os dímeros cíclicos como mostrado acima.

No presente pedido, os termos "efeito de rotura" ou "efeito de rotura inicial" são utilizados para referir-se aos efeitos de rotura em que uma taxa mais elevada do que óptima da difusão de um agente bioativo para fora de uma formulação de libertação controlada ocorre durante a solidificação de um sistema de libertação líquido e/ou durante o período inicial após a implantação de um implante sólido preformado tal como um implante monolítico ou de micropartículas. Os copolímeros de acordo com a presente invenção são particularmente apropriados para controlar esta libertação inicial.

O termo "baixa rotura" como aqui utilizado, tal como um "material de copolímero de baixa rotura", refere-se a um fenómeno, em que este efeito de rotura é minimizado ou reduzido em relação ao observado de uma composição comparável de copolímero da técnica, ao mesmo tempo que mantém um perfil de libertação de longo prazo desejável. Quando as expressões "reduzido efeito de rotura inicial" ou "a rotura inicial da substância bioativa mediante implantação dentro dos tecidos do corpo é reduzida" são usadas, as mesmas referem-se ao efeito de rotura inicial de uma formulação de libertação controlada que compreende uma composição fluida compreendendo um poliéster purificado com SFE ou um copolímero de PLG purificado com SFE após a implantação em tecidos do corpo como sendo reduzido no que diz respeito à formulação comparável utilizando um poliéster não purificado ou copolímero de PLG.

Pelo termo "biodegradável" entende-se aqui a propriedade que um poliéster da invenção, quando implantado em tecido corporal, exposto aos fluidos corporais de um organismo

vivo, ou atuado por enzimas normalmente presentes no corpo vivo de um mamífero, sofre hidrólise e despolimerização de tal forma que uma massa do poliéster, eventualmente, ao longo do tempo, erode, dissolve-se, dissipa-se e desmaterializa-se. De preferência, os produtos de degradação são não tóxicos e solúveis em água.

Métodos de Purificação de Poliésteres Empregando SFE

Com referência à Figura 1, é mostrado um aparelho adequado para a prática dos métodos da invenção para purificar um poliéster biodegradável por meio de extração com fluido supercrítico (SFE). O poliéster de partida, tal como PLG, pode ser introduzido num tanque de alimentação, também referido como um recipiente de extração, (1), através da tampa aberta na parte superior. O poliéster é aquecido a uma pressão elevada num solvente em condições supercríticas (por exemplo, dióxido de carbono, ou um solvente que inclui o dióxido de carbono). A solução da fração de poliéster dissolvida no fluido é transferida para um reservatório de produto (2). O líquido é removido da solução, tal como por evaporação, deixando a fração de poliéster extraída, que pode ser recuperada. O fluido evaporado é passado através de um condensador (3) e, subsequentemente, reciclado para o recipiente de extração (1) através de um reciclador (4). O poliéster sólido não dissolvido deixado no vaso de extração pode então opcionalmente ser extraído mais uma vez, por exemplo, com um fluido supercrítico a uma pressão mais elevada, mantido a uma temperatura mais elevada, ou ambos, num conjunto sequencial de extrações. Mais uma vez, a fração de poliéster em dissolução pode ser transferida em solução para o reservatório do produto, onde o fluido pode ser

removido por evaporação como anteriormente, fornecendo um poliéster que pode ter propriedades diferentes, tais como peso molecular médio ponderado (Mw), e índice de polidispersividade, da primeira fração de poliéster obtida na extração de temperatura/pressão mais baixas. Este processo pode ser repetido iterativamente, proporcionando uma série de frações do poliéster biodegradável, por exemplo, copolímero de PLG. Cada fração pode ter propriedades únicas, devido aos pesos moleculares médios, índices de polidispersividade, e composições moleculares diferentes de cada fração obtida de várias extrações sequenciais.

Qualquer poliéster biodegradável pode ser purificado como aqui descrito. Exemplos de poliésteres biodegradáveis adequados encontram-se, por exemplo, nas Patentes U.S. Nos. 6,773,714; 6,630,155; 6,565,874; 6,528,080; RE37,950; 6,461,631; 6,395,293; 6,261,583; 6,143,314; 5,990,194; 5,744,153; 5,702,716; 5,324,519; 4,938,763 e as referências nelas citadas.

Um poliéster biodegradável, que pode ser purificado, tal como aqui descrito pode ser um PLG que foi purificado por meio de uma etapa de precipitação de solvente antes de se realizar a extração com fluido supercrítico da invenção. Por exemplo, um PLG que foi purificado por dissolução num solvente e precipitação com um não solvente, tal como está descrito no pedido de patente U.S. Série N° 60/901435, apresentado em 15 de fevereiro de 2007 pelos inventores desta invenção, referido daqui em diante como um "PLG(p)" ou um "PLGp", pode ser adicionalmente purificado pelo método da presente invenção. A purificação pode incluir a

remoção de resíduos de solvente de solvente e/ou de não solventes.

Um poliéster pode ser purificado de acordo com o método da invenção utilizando a extração com fluido supercrítico. A extração com fluido supercrítico utiliza um fluido num estado supercrítico, como é definido para a composição de fluido particular, em termos de pressão e temperatura. Todo material fluido tem uma combinação característica de pressão e temperatura denominada um "ponto crítico", tal como definido acima, e uma vez que estes parâmetros são excedidos, o fluido existe no estado supercrítico. O fluido ou solvente utilizado na extração com fluido supercrítico pode ser um composto único ou pode ser uma mistura de compostos. Os cossolventes exemplificativos adequados incluem xénon (Xe), Freon-23, etano, N_2O , SF_6 , propano, amoníaco, etileno, $n-C_4H_{10}$, cloreto de metileno, clorofórmio, $C_6H_5CF_3$, $p-Cl-C_6H_4CF_3$, álcoois inferiores (por exemplo, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, e 1-hexanol), 2-metoxietanol, éteres (por exemplo, éter dietílico, tetra-hidrofurano e 1,4-dioxano), hidrocarbonetos substituídos (por exemplo, acetonitrilo), carbonato de propileno, N,N-dimetilacetamida, sulfóxido de dimetilo, N-metil-pirrolidona, ácidos carboxílicos (por exemplo, ácido fórmico), água, dissulfureto de carbono, cetonas inferiores (por exemplo, acetona), hidrocarbonetos não substituídos (por exemplo, hexanos e pentanos) aromáticos não substituídos (benzeno), e aromáticos substituídos (por exemplo, tolueno). O cossolvente pode estar presente em qualquer quantidade adequada. Tipicamente, o cossolvente pode estar presente em, pelo menos, cerca de 1% em peso, em cerca de 1% em peso a cerca de 50% em peso, em cerca de 1% em peso a cerca de 30% em

peso, ou em cerca de 1% em peso a cerca de 10% em peso do sistema solvente.

As propriedades físicas do dióxido de carbono tornam o mesmo particularmente atrativo como solvente para a extração com fluido supercrítico. O dióxido de carbono é um dos principais componentes da atmosfera e, por conseguinte, é relativamente seguro e abundante. Além disso, o dióxido de carbono é relativamente barato. Em comparação com a maioria dos outros solventes adequados, o dióxido de carbono é ambientalmente compatível, uma vez que não irá prejudicar a atmosfera nas quantidades utilizadas nos métodos da invenção. Além disso, o dióxido de carbono é não inflamável e não explosivo. Além disso, o dióxido de carbono não deixa qualquer resíduo substancial ou remanescente após a evaporação.

O dióxido de carbono, também possui propriedades físicas que permitem a alteração da polaridade ao longo da gama de temperatura e de pressão, normalmente empregue na extração com fluido supercrítico. Como resultado, o dióxido de carbono pode atuar como um solvente não polar a uma temperatura e pressão, mas pode atuar como um solvente polar, a uma outra temperatura e pressão. Através da variação da temperatura e da pressão, as propriedades do solvente podem ser modificadas. Isto permite o isolamento de mais de um composto utilizando um único sistema de solvente, por exemplo, utilizando múltiplas extrações sequenciais, a temperaturas e/ou pressões crescentes.

O cossolvente pode ser utilizado por várias razões práticas. O cossolvente pode modificar as propriedades físicas do solvente. Por exemplo, um cossolvente pode ser

útil para modificar a polaridade, a temperatura crítica, a pressão crítica, etc., do solvente. O cossolvente pode diminuir o tempo necessário para a extração, o que diminui os custos incorridos com o processo de extração e aumenta a eficiência do processo de extração. Além disso, o uso de pelo menos um cossolvente pode diminuir a probabilidade de que o poliéster desejado irá cristalizar ou virar goma após a evaporação do solvente altamente volátil tal como o dióxido de carbono. Quando o aparelho de extração com fluido supercrítico é desmontado e o poliéster desejado é obtido, o solvente (por exemplo, dióxido de carbono) normalmente evapora rapidamente, deixando o poliéster desejado na forma de um sólido ou alcatrão tipo goma. Como tal, a utilização do cossolvente permite que o poliéster desejado permaneça solúvel num sistema de solventes para subsequente recuperação ou manipulação.

Numa forma de realização da invenção, o poliéster biodegradável purificado é um resíduo sólido que permanece após uma extração com um fluido supercrítico. A extração com fluido supercrítico pode remover frações do poliéster de partida não purificado, que tendem a ser prejudiciais à baixa rotura inicial, isto é, que causam alta rotura inicial. O poliéster que não se dissolve no fluido supercrítico pode ter teores mais baixos destes componentes indesejáveis e, por conseguinte, uma distribuição mais estreita de pesos moleculares.

Numa outra forma de realização da invenção, o poliéster biodegradável purificado dissolve-se no fluido supercrítico e é recuperado do mesmo. Por exemplo, numa série de múltiplas extrações sequenciais, certas frações obtidas na sequência podem ter propriedades desejáveis em

termos de baixa rotura, tendo, por exemplo, uma distribuição de peso molecular reduzida. Mais especificamente, as frações obtidas após uma ou mais extrações iniciais, mais tarde na sequência de várias extrações, podem ter excelentes propriedades em termos de baixa rotura inicial, quando incorporadas em formulações de libertação controlada, tais como sistemas de libertação fluidos como Atrigel®. Estas frações obtidas mais tarde na sequência de múltiplas extrações, em virtude da sua dissolução no fluido supercrítico, podem também ter baixos teores de componentes de peso molecular excessivamente elevado, tais como moléculas de polímero que têm pesos moleculares individuais em excesso de cerca de 55 kDa, que se mantêm como um resíduo insolúvel e estão, portanto, ausentes nas frações contendo moléculas de poliéster com as propriedades desejadas de pesos moleculares.

Desta forma, os poliésteres biodegradáveis purificados desejados podem ser obtidos a partir de materiais que dissolvem no meio de extração com fluido supercrítico em certas condições definidas ("frações"), ou podem ser obtidos a partir de materiais que não se dissolvem no meio de extração com fluido supercrítico ("resíduos") em outras certas condições definidas.

Pressão

Para os métodos de purificação de poliésteres aqui descritos, a extração com fluido supercrítico pode ser convenientemente realizada a uma pressão de cerca de $51.710 \cdot 10^5$ Pa (750 psi) a cerca de $827.364 \cdot 10^5$ Pa (12.000 psi). Entende-se que os especialistas na técnica compreendem que pressões mais elevadas podem permitir uma

extração mais rápida ou mais completa. Além disso, as pressões mais elevadas podem permitir uma extração de poliéster que tem uma gama de peso molecular definida e relativamente estreita. Especificamente, a extração com fluido supercrítico pode ser convenientemente realizada a uma pressão de cerca de $68.947 \cdot 10^5$ Pa (1.000 psi) a cerca de $689.470 \cdot 10^5$ Pa (10.000 psi). Mais especificamente, a extração de fluido supercrítico pode ser convenientemente realizada a uma pressão de cerca de $275.788 \cdot 10^5$ Pa (4.000 psi) a cerca $620.523 \cdot 10^5$ Pa (9.000 psi).

Uma vez que a extração com fluido supercrítico (SFE) do método da invenção é uma extração fraccionada com fluido supercrítico (FSFE), tal como efectuada por várias extrações sequenciais, cada uma das extrações individuais com fluido supercrítico pode ser independentemente realizada a pressões de cerca de $51.710 \cdot 10^5$ Pa (750 psi) a cerca de $827.364 \cdot 10^5$ Pa (12.000 psi); cerca de $68.947 \cdot 10^5$ Pa (1.000 psi) a cerca de $689.470 \cdot 10^5$ Pa (10.000 psi); ou cerca de $275.788 \cdot 10^5$ Pa (4.000 psi) a cerca de $620.523 \cdot 10^5$ Pa (9.000 psi). Realizar a extração fraccionada com fluido supercrítico (FSFE) em várias pressões pode permitir o isolamento ou a purificação de um ou mais poliésteres, cada um, independentemente, tendo uma gama de peso molecular definida e relativamente estreita. Cada extração na sequência de extrações sequenciais pode ser realizada com uma amostra sucessiva do fluido supercrítico, isto é, uma nova amostra do fluido supercrítico. Alternativamente, as extrações sequenciais podem ser realizadas utilizando amostras do fluido supercrítico de composições diferentes. Por exemplo, uma série de extrações sequenciais pode ser realizada com dióxido de carbono supercrítico, em que cada

uma das extrações sucessivas contém um teor regularmente crescente de um cossolvente.

Temperatura

Para os métodos de purificação de poliésteres aqui descritos, a extração com fluido supercrítico pode ser convenientemente levada a cabo a qualquer temperatura adequada. Entende-se que os especialistas na técnica compreendem que temperaturas mais elevadas podem permitir uma extração mais rápida ou mais completa. Além disso, temperaturas mais elevadas podem permitir uma extração de poliéster tendo uma gama de peso molecular definida e relativamente estreita. Por exemplo, a extração com fluido supercrítico pode ser realizada a uma temperatura de pelo menos cerca de 25 °C. Especificamente, a extração com fluido supercrítico pode ser convenientemente realizada a uma temperatura de cerca de 40 °C a cerca de 200 °C. Mais especificamente, a extração com fluido supercrítico pode ser convenientemente realizada a uma temperatura de cerca de 50 °C a cerca de 100 °C.

Cada extração na sequência de extrações sequenciais pode ser realizada com uma amostra sucessiva do fluido supercrítico, isto é, uma nova amostra de fluido supercrítico. Alternativamente, as extrações sequenciais podem ser realizadas utilizando amostras de fluido supercrítico de composições diferentes. Por exemplo, uma série de extrações sequenciais pode ser levada a cabo com dióxido de carbono supercrítico, em que cada uma das extrações sucessivas contém um teor regularmente crescente de um cossolvente.

Uma vez que a extração com fluido supercrítico (SFE) é uma extração fraccionada com fluido supercrítico (FSFE), cada uma das extrações sequenciais individuais com fluido supercrítico, pode ser independentemente realizada a qualquer temperatura adequada. Por exemplo, cada uma das extrações individuais com fluidos supercríticos pode ser independentemente realizada a uma temperatura de pelo menos cerca de 25 °C; cerca de 40 °C a cerca de 200 °C; ou cerca de 50 °C a cerca de 100 °C. Realizar a extração fraccionada com fluido supercrítico (FSFE) em várias temperaturas pode permitir o isolamento ou purificação de um ou mais poliésteres, tendo cada um, independentemente, uma gama de peso molecular definida e relativamente estreita.

Formulação de Libertação Controlada

Um poliéster, tal como um copolímero de PLG, purificado pelo presente processo SFE, pode ser utilizado na preparação de uma formulação de libertação controlada tal como uma composição fluida do tipo Atrigel®, compreendendo o copolímero de PLG, um solvente orgânico que tenha pelo menos alguma solubilidade em água ou fluidos corporais, e uma substância bioativa. Exemplos de tais composições e os polímeros que tenham sido utilizados nas mesmas estão descritos, por exemplo, nas Patentes U.S. Nos. 6,773,714; 6,630,155; 6,565,874; 6,528,080; RE37,950; 6,461,631; 6,395,293; 6,261,583; 6,143,314; 5,990,194; 5,744,153; 5,702,716; 5,324,519; 4,938,763 e as referências nelas citadas.

A utilização de um copolímero de PLG purificado pelo método da invenção pode servir para proporcionar uma

formulação de libertação controlada, tal como do tipo Atrigel®, que apresenta um reduzido efeito de rotura inicial, em que uma quantidade indesejavelmente elevada da substância bioativa é libertada nos tecidos do corpo aproximadamente nas primeiras 24 horas após o implante, em relação a uma formulação de libertação controlada que utiliza um copolímero de PLG que não tenha sido submetido a tal purificação.

Um solvente orgânico, que tem, pelo menos, alguma solubilidade em água ou fluidos corporais pode ser, por exemplo, N-metilpirrolidona (NMP), N,N-dimetilformamida (DMF), N,N-dimetilacetamida (DMA) ou sulfóxido de dimetilo (DMSO).

Uma substância bioativa que é contida na composição fluida adaptada para implantação em tecidos corporais pode ser, por exemplo, octreotida, GHRP-1 ou risperidona.

Intervalos, valores e formas de realização específicas

Numa forma de realização, o polímero de poliéster é biodegradável.

Numa outra forma de realização, o poliéster é um polímero fabricado a partir de um ou mais de D-látido, L-látido, DL-látido, ácido láctico, glicólido, ácido glicólico, e ε-caprolactona.

Numa outra forma de realização, o poliéster é pelo menos substancialmente insolúvel em meio aquoso ou fluido corporal.

Numa outra forma de realização, o poliéster é termoplástico, isto é, amolece ou funde-se com o aumento da temperatura.

Numa outra forma de realização, o poliéster inclui um ou mais grupos funcionais em pelo menos uma extremidade da cadeia molecular, em que o grupo funcional é selecionado de ácido carboxílico, hidroxilo, alquilo, acrilóilo, éster, polietileno glicol (PEG), maleato, succinato, e citrato.

Numa outra forma de realização, o poliéster inclui um ou mais grupos funcionais ligados à cadeia da molécula de poliéster, em que o grupo funcional é selecionado de ácido carboxílico, hidroxilo, alquilo, o acrilóilo, éster, polietileno glicol (PEG), maleato, o succinato, e citrato.

Numa outra forma de realização, o poliéster é um homopolímero de látido, glicólido, ou caprolactona, ou um copolímero de qualquer combinação de látido, glicólido e caprolactona.

Numa outra forma de realização, o poliéster é poli(DL-látido-co-glicólido) (PLG).

Numa outra forma de realização, o poliéster é PLG que tem uma proporção molar de ácido láctico para ácido glicólico de cerca de 50/50 a cerca de 99/1.

Numa outra forma de realização, o poliéster é 100% PLA.

Numa outra forma de realização, o poliéster é 50/50 poli(DL-látido-co-glicólido) que um grupo terminal carboxi.

Numa outra forma de realização, o poliéster é 75/25 poli(DL-látido-co-glicólido) sem um grupo terminal carboxi.

Numa outra forma de realização, os grupos terminais de poli(DL-látido-co-glicólido) podem ser hidroxilo, carboxilo, ou éster.

Numa outra forma de realização, o poliéster tem um peso molecular (Mw) médio de cerca de 15 kDa a cerca de 45 kDa.

De acordo com a invenção o fluido supercrítico inclui dióxido de carbono.

Numa outra forma de realização, o fluido supercrítico inclui, pelo menos, 99% em peso de dióxido de carbono.

Numa outra forma de realização, o fluido supercrítico é dióxido de carbono substancialmente puro.

Numa outra forma de realização, o fluido supercrítico é dióxido de carbono, que é, pelo menos, cerca de 99% em peso puro.

Numa outra forma de realização, o fluido supercrítico é dióxido de carbono que inclui, pelo menos, cerca de 1% em peso de cossolvente.

Numa outra forma de realização, o fluido supercrítico é dióxido de carbono que inclui, pelo menos, cerca de % em peso de um co-solvente.

Numa outra forma de realização, o fluido supercrítico é dióxido de carbono que inclui, pelo menos, um de Xenon (Xe), Freon-23, etano, N_2O , SF_6 , propano, amoníaco, etileno, $n-C_4H_{10}$, $(C_2H_5)_2O$, THF, cloreto de metileno, clorofórmio, $C_6H_5CF_3$, $P-Cl-C_6H_4CF_3$, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-hexanol, 2-metoxi etanol, tetra-hidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo, carbonato de propileno, N,N-dimetilacetamida, sulfóxido de dimetilo, N-metilpirrolidona, ácido fórmico, água, dissulfureto de carbono, acetona, propano, tolueno, hexanos, e pentanos; como cossolvente.

Numa forma de realização, o poliéster é extraído com o fluido supercrítico a aproximadamente à temperatura ambiente.

Numa outra forma de realização, o poliéster é extraído com o fluido supercrítico abaixo da temperatura ambiente.

Numa outra forma de realização, o poliéster é extraído com um solvente a uma temperatura elevada (isto é, acima da temperatura ambiente).

Numa outra forma de realização, o poliéster é extraído com o fluido supercrítico a uma única temperatura elevada.

Numa outra forma de realização, o poliéster é extraído sequencialmente com o fluido supercrítico em múltiplas

temperaturas elevadas, tais como extrações a uma série de temperaturas crescentes.

Numa forma de realização, a temperatura elevada é, pelo menos, acima de cerca de 50 °C.

De acordo com a invenção, o poliéster é sequencialmente extraído com o fluido supercrítico a múltiplas pressões elevadas, isto é, extrações a uma série de pressões crescentes.

Numa forma de realização, o poliéster biodegradável purificado tem uma distribuição de peso molecular mais estreita do que o poliéster antes da extração com o fluido supercrítico.

Numa forma de realização, o poliéster biodegradável purificado tem um índice de polidispersividade inferior a cerca de 1,7.

Numa forma de realização, o poliéster purificado inclui menos de cerca de 10% em peso de oligómeros que têm um peso molecular de até cerca de 5 kDa.

Numa forma de realização, o poliéster purificado inclui menos de cerca de 2% em peso de monómeros.

Numa forma de realização, uma formulação de libertação controlada adaptada para implantação no interior de tecidos corporais compreende um copolímero de PLG purificado com SFE de acordo com a invenção, um solvente orgânico, que tem, pelo menos, alguma solubilidade em água ou fluidos corporais, e uma substância bioativa. O

solvente orgânico pode ser NMP. A substância bioativa pode ser octreotida, ou GHRP-1, ou risperidona. A formulação de libertação controlada está adaptada para libertar a respectiva substância bioativa durante um período de tempo a uma taxa substancialmente constante. A utilização de um copolímero de PLG da invenção numa formulação de libertação controlada deste tipo pode reduzir o efeito de rotura inicial da substância bioativa em relação a uma formulação de libertação controlada que utiliza um polímero biodegradável que não tenha sido submetido ao processo de purificação da invenção.

A presente invenção pode ser ilustrada pelos seguintes exemplos não limitativos.

Exemplos

Exemplo 1: Procedimento de Fracionamento e Resultados

O fracionamento por extração com fluido supercrítico (SFE) de um copolímero de PLG foi examinado como um método para reduzir a distribuição de peso molecular deste poliéster para obter frações de copolímeros de PLG com um efeito de rotura inicial reduzido em formulações de libertação controlada, tais como Atrigel®. Um único lote de poliéster foi fracionado utilizando condições de processamento de SFE genéricas, sem desenvolvimento ou otimização do processo. O poliéster examinado na experiência foi um PLG de látido/glicólido 85:15 (Part N° 01280, lote 2137), com um peso molecular médio ponderado (Mw) de 25 kDa, utilizando um aparelho tal como ilustrado na Figura 1.

Uma amostra de 20,4 g do poliéster de PLG foi carregada no recipiente de extração e processada por várias extrações sequenciais de dióxido de carbono supercrítico puro, utilizando um perfil de pressão de CO₂ para fraccionar o poliéster em sete frações sequenciais (ver Tabela 1, adiante). A primeira fração que foi colhida resultou da extração supercrítica a uma pressão relativamente baixa, e cada fração subsequente que foi colhida resultou da extração supercrítica a pressões sucessivamente mais elevadas. Cada fração solúvel foi precipitada e colhida num tubo de vidro em forma de U a jusante de uma válvula de redução de pressão onde o CO₂ foi evaporado à pressão atmosférica. Todo o poliéster carregado no vaso de extração foi recuperado nas sete frações, com 103% de recuperação de massa, com a maior parte da massa recuperada nas frações número 5 e 6.

A Tabela 1 mostra o peso M_w por GPC do PLG obtido de cada fração, e o teor de copolímeros e monómeros derivados por ressonância magnética nuclear (RMN), para cada uma das sete frações de SFE e para o material de controlo original e o material de controlo depois de uma purificação padrão por precipitação de solvente. A Tabela 2 e a Figura 2 mostram o início da temperatura de transição vítrea do DSC (T_g), o ponto médio, e as temperaturas finais para o controlo (lote 2137), cinco das sete frações SFE, e o controlo após purificação padrão por precipitação do solvente (lote 2137A). A Tabela 3 mostra o peso molecular médio ponderado, o índice de polidispersividade, % em peso de polímero (oligómero) que tem pesos moleculares médios ponderado de <1 kDa, <3 kDa, <5 kDa e <10 kDa, a soma destes valores, % em peso dos monómeros, e a % molar de látido e de glicólido.

Os dados mostram que o poliéster foi fraccionado com sucesso de acordo com o peso molecular e as frações tinham geralmente uma distribuição de peso molecular mais estreita do que o material de partida de controlo. As frações também continham menos monómero residual de látido e glicólido que o material de controlo original com níveis semelhantes aos do material purificado por precipitação do solvente. A proporção molar de ácido láctico para ácido glicólico no poliéster não foi significativamente alterada pelo fraccionamento, no entanto, como mostrado na Figura 2, a T_g das frações foram significativamente diferentes dos controlos.

A Tabela 3 mostra de forma inesperada que um teor de oligómero reduzido não é suficiente para explicar as propriedades melhoradas das duas frações purificadas 5 e 6 no que diz respeito ao PLG não purificado. Por exemplo, a fração 5 parece ter aproximadamente o mesmo teor de oligómero, isto é, a % em peso de polímeros de <3 kDa, <5 kDa, e <10 kDa, assim como o polímero não purificado, embora a fração 6 tenha menores teores destes materiais de oligómero. No entanto, ambas as frações 5 e 6 apresentam melhores propriedades em termos de rotura inicial. Isto parece estar em contradição com os documentos descritos na secção Antecedentes, em que propriedades melhoradas de rotura inicial de vários copolímeros de PLG purificados são atribuídas à redução do conteúdo de oligómero. As razões para as propriedades melhoradas de rotura inicial destas frações 5 e 6 não são completamente compreendidas, mas podem estar relacionadas com a sua distribuição de peso molecular (índice de polidispersividade) mais estreita.

Tabela 1 - Resultados de Peso Molecular para PLGH Fracionado por SFE

	Resultados por GPC			Resultados por RMN			
Fração	Mw (kDa)	Mw/Mn	% de Massa Total	% p/p de Látido	% p/p de Glicólido	% Molar de PLA	% Molar de PGA
Controlo	25	1,84	n.d.	2,36%	0,10%	83,88%	16,12%
1	0	1,23	1,5%	0,00%	0,00%	76,48%	23,52%
2	1	1,15	2,5%	0,00%	0,00%	71,12%	28,88%
3	8	2,28	7,0%	0,71%	0,00%	85,57%	14,43%
4	12	2,11	12,0%	1,35%	0,03%	85,06%	14,94%
5	20	1,65	39,0%	0,61%	0,05%	84,31%	15,69%
6	35	1,44	36,0%	0,32%	0,00%	83,46%	16,54%
7	36	1,43	5,0%	0,54%	0,06%	83,19%	16,81%
Precip.	25	1,76	n.d.	0,6%	0,0%	-	-

Tabela 2 - Temperaturas de transição vítrea para PLGH fracionado por SFE

ID da Amostra	Início	Ponto médio	Final	Intervalo
2137 Controlo	44,26	44,98	45,67	1,41
2137A Controlo	36,81	39,04	41,30	4,49
QLT-1-3	23,62	32,35	41,01	17,39
QLT-1-4	36,07	40,94	45,79	9,72
QLT-1-5	51,99	52,49	52,99	1,00
QLT-1-6	54,75	55,00	55,29	0,54
QLT-1-7	53,04	53,61	54,16	1,12

Ver também a Figura 2 para uma representação gráfica destes resultados.

Tabela 3 - Composições de PLG fraccionado por SFE

Fração	Mw (kDa)	Mw/Mn	% Poli <1kDa	% Poli <3kDa	% Poli <5kDa	% Poli <10kDa	% em Peso total	% p/p de látido	% p/p de glicólido	% Molar de PLA	% Molar de PGA
Controlo	25	1,84	0,0%	2,2%	6,0%	19,0%	n.d.	2,36%	0,10%	83,88%	16,12%
1	0	1,23	96,9%	98,8%	98,8%	100,0%	1,5%	0,00%	0,00%	76,48%	23,52%
2	1	1,15	30,0%	99,0%	100,0%	100,0%	2,5%	0,00%	0,00%	71,12%	28,88%
3	8	2,28	4,1%	25,2%	43,7%	72,2%	7,0%	0,71%	0,00%	85,57%	14,43%
4	12	2,11	1,6%	10,9%	22,8%	52,0%	12,0%	1,35%	0,03%	85,06%	14,94%
5	20	1,65	0,0%	2,1%	6,7%	24,4%	39,0%	0,61%	0,05%	84,31%	15,69%
6	35	1,44	0,0%	0,1%	0,7%	4,5%	36,0%	0,32%	0,00%	83,46%	18,54%
7	36	1,43	0,0%	0,0%	0,6%	4,2%	5,0%	0,54%	0,06%	83,19%	16,81%

Exemplo 2: Método para medir os pesos moleculares (Mw) de poliésteres.

1. Preparar os A e B de poliestiremo de intervalo estreito da Polyester Laboratories PS-2 EasiCal por dissolução das espátulas A e B padrão preformadas em frascos separados com 5,0 mL de THF.
2. Preparar todos os controlos necessários dissolvendo cada poliéster bruto em THF para se obter soluções de aproximadamente 0,5% p/v de cada controlo.
3. Preparar todas as amostras de matérias-primas de poliéster através por dissolução de cada uma em THF para se obter soluções de aproximadamente 0,5% p/v de cada amostra.
4. Transferir cada padrão, controlo, solução da amostra, e algum THF em branco em frascos do amostrador automático separados para análise.
5. Condicionar um sistema de HPLC para conseguir uma linha de base estável com os seguintes parâmetros:

Coluna - Polyester Laboratories PLgel MIXED-D, 5 micrómetros x 30 cm x 7,5 mm, ou pré-coluna equivalente - pré-coluna PLgel 5 micrómetros, ou equivalente

HPLC - equipado com detetor de índice de refração diferencial com temperatura controlada, compartimento de coluna de temperatura controlada, e software capaz de avaliação de GPC, ou equivalente

Fase móvel - THF

Caudal - 1,0 mL/min

Temperatura da coluna - 40 °C

Detetor de temperatura - 40 °C

6. Criar uma sequência de análise para executar os frascos na seguinte ordem usando os parâmetros listados abaixo: branco, padrão A e B, controles, amostras (reanalisar o branco e os controles após cada 20 amostras e, ao final da sequência) Volume de injeção - 50 microlitros

Tempo de execução - 15 minutos

7. Calibrar com padrão A e B por meio de regressão de terceira ordem e processar os controles e amostras utilizando um software de avaliação de GPC para determinar o peso médio e pesos médios moleculares de número (M_w e M_n , respectivamente) e polidispersividade (M_w/M_n).

Dissolver cada padrão de poliestireno em 5,0 mL de THF. Dissolver todos os controles e amostras em THF a uma concentração de aproximadamente 0,5% p/v.

Transferir padrões, controles, amostras e THF em branco em frascos separados do amostrador automático.

Condicionar um sistema de HPLC configurado de acordo com os parâmetros acima mencionados para conseguir uma linha de base estável.

Criar uma sequência de análise para executar os frascos na seguinte ordem, utilizando os parâmetros acima mencionados: branco, padrões, controles, amostras (reanalisar o branco e os controles após cada 20 amostras e, ao final da sequência).

Calibrar com os padrões utilizando regressão de terceira ordem e processar os controlos e amostras utilizando um software de avaliação de GPC para determinar o peso médio e pesos médios moleculares de número (M_w e M_n , respectivamente) e polidispersividade (M_w/M_n).

Nota, os Padrões A e B foram preparados para serem de 0,1% p/v do material total para cada padrão. Cada um destes padrões tem cinco picos de peso molecular diferente, o que significa que cada um dos picos individuais é de 0,02% p/v (ou seja 200 ppm), em concentração.

Nota, um dos controlos que foi executado é um padrão de poliestireno Mid-Range Broad-Range (MRBR) feito pela mesma empresa que faz os padrões A e B. Este controlo particular está a uma concentração de 0,1% p/v, enquanto os outros controlos fabricados internamente são executados a 0,5% p/v.

Exemplo 3: Redução do Efeito de Rotura Inicial de Composições de Libertação Controlada Fluidas de PLG Biodegradável Purificado em Ratos

A Tabela 4, adiante, e a Figura 3 mostram os resultados de um estudo em ratos libertação em 24 horas de octreotida a partir de formulações de libertação controlada fluidas que contêm todas a mesma percentagem em peso de 85/15 de amostras purificadas e não purificadas de látido/glicólido de PLG. Cada sistema de libertação é de 50% de polímero e 50% de N-metilpirrolidona (NMP) e foi irradiado com raios gama a 18-28 kGray. Imediatamente antes da injeção o sistema de libertação foi misturado com o conteúdo de uma seringa de fármaco. Cada seringa de fármaco continha o

produto de liofilização de uma solução aquosa de acetato de octreotida e ácido cítrico, tal como descrito no pedido de patente U.S. Série N° 11/667443, depositado em 9 de maio de 2007. Neste estudo, composições fluidas contendo octreotida foram implantadas em ratos, e foi determinada a quantidade da octreotida contida libertada nas primeiras 24 horas após a implantação. Desse modo, percentuais mais elevados de libertação inicial neste período de tempo indicam um efeito rotura inicial elevado, ao passo que percentagens mais baixas indicam um efeito de rotura inicial mais baixo desejável. O Grupo I, usando o padrão de copolímero PLG lote 2137, não purificado, foi injetado em cinco indivíduos, e constatou-se que a percentagem de libertação média de octreotida nas primeiras 24 horas de implantação foi de 41,9%, com um desvio padrão de 8,0%. O Grupo II, utilizando PLG purificado por precipitação do solvente (PLG lote 2137 foi dissolvido em diclorometano e precipitado com metanol) mostrou uma libertação inicial média da octreotida de 30,8% com um desvio padrão de 8,6%. Os Grupos III e IV, duas amostras adicionais de PLG purificado por precipitação de solvente, mostrou percentagens iniciais de libertação de 22,7% (DP de 3,5%) e 28,2% (DP de 7,7%), respectivamente. O Grupo V, fração 5, um poliéster de PLG purificado por SFE preparado como descrito no Exemplo 1, mostrou uma libertação inicial de 19,5% (DP de 4,6%), e o Grupo VI, fração 6 do procedimento de SFE sequencial do Exemplo 1, mostrou uma libertação inicial de 26,8% (DP de 5,8%).

Na Figura 3, o quadrado sólido mostra o peso molecular pós-irradiação e a percentagem de libertação de octreotida em 24 horas do PLG lote 2137 ("PLGH"), o losango sólido mostra o peso molecular e a percentagem de libertação de octreotida em 24 horas do PLG lote 2137 purificado por

precipitação do solvente, e o triângulo sólido e círculo sólido mostram os pesos moleculares e as percentagens de libertação de octreotida em 24 horas das frações 5 e 6, respectivamente, do Exemplo 1 (acima) do PLG lote 2137 purificado com SFE. O triângulo aberto e o círculo aberto mostram o peso molecular e a libertação de octreotida em 24 horas de duas outras amostras de PLG 85/15 purificadas por precipitação de solvente.

TABELA 4. Perfil de libertação em 24 horas de acetato de octreotida em ratos

Grupo	Lote de Polímero	Peso Molecular Pós-Radiação	Amostra	Libertação cumulativa	Média	Desvio Padrão
I	2137	22	S-001	37,6%	41,9%	8,0%
			S-002	51,9%		
			S-003	48,7%		
			S-004	32,7%		
			S-005	38,8%		
II	2137a (solvente purificado)	22	S-006	28,4%	30,8%	8,6%
			S-007	42,6%		
			S-008	30,8%		
			S-009	33,4%		
			S-010	18,9%		
III	1826-58 (solvente purificado)	18	S-011	26,7%	22,7%	3,5%
			S-012	21,8%		
			S-013	22,1%		
			S-014	17,7%		
			S-015	25,1%		
IV	2190-28a (solvente purificado)	24	S-016	41,9%	28,2%	7,7%
			S-017	23,2%		
			S-018	25,4%		
			S-019	25,6%		
			S-020	24,9%		
V	Fração 5 (da purificação por SFE do lote 2137)	19	S-021	19,6%	19,5%	4,6%
			S-022	23,6%		
			S-023	24,7%		
			S-024	14,8%		
			S-025	15,0%		
VI	Fração 6 (da purificação por SFE do lote 2137)	28	S-026	33,7%	26,8%	5,8%
			S-027	32,0%		
			S-028	22,2%		
			S-029	25,4%		
			S-030	20,8%		

Exemplo 4: Redução do Efeito de Rotura Inicial de Composições de Liberação Controlada Fluidas de PLG Biodegradável Purificado Incorporando GHRP-1 ou Risperidona

Uma composição fluida é preparado a partir de um copolímero de PLG de látido/glicólido 85/15 que é purificado com SFE é dissolvido num peso igual de N-metil-pirrolidona e esterilizado por radiação numa seringa, conforme descrito no Exemplo 3. Uma seringa de fármaco contendo uma amostra liofilizada de GHRP-1 (péptido-1 de libertação de hormona do crescimento) ou uma amostra liofilizada de risperidona, respectivamente, é misturada com a solução do copolímero de PLG purificado com SFE em N-metilpirrolidona pela troca recíproca dos conteúdos das duas seringas. A formulação de libertação controlada é então injetada no tecido do corpo de um mamífero vivo, em que o GHRP-1 ou a risperidona é libertado a uma taxa substancialmente constante ao longo de um período de tempo, tal como durante cerca de 30 dias, ou cerca de 60 dias, ou cerca de 90 dias. É observado um efeito de rotura inicial reduzido, isto é, uma quantidade reduzida de libertação imediata, dentro de aproximadamente as primeiras 24 horas após a implantação, em relação a uma formulação de libertação controlada que incorpora um copolímero de PLG não purificado.

Lisboa, 30 de setembro de 2014.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para obter um poliéster biodegradável purificado, o método compreendendo extrair um poliéster com um fluido supercrítico que compreende dióxido de carbono para obter o poliéster biodegradável purificado, em que o poliéster biodegradável purificado dissolve-se no fluido supercrítico e é recuperado por evaporação do fluido supercrítico, e em que o poliéster é fracionado por uma série de extrações sucessivas com o fluido supercrítico, em que cada extração sucessiva é realizada a uma pressão mais alta.
2. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster compreende como unidades monoméricas, D-Látido, L-látido, DL-lático, ácido lático, glicólido, ácido glicólico, ou ϵ -caprolactona, ou qualquer combinação destes.
3. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster é poli(DL-látido-glicólico) (PLG) e o poliéster biodegradável purificado é um copolímero de PLG purificado.
4. Método de acordo com a reivindicação 3, em que o poli(DL-látido-glicólico) foi previamente purificado pelo uma etapa de precipitação de solvente.
5. Método de acordo com a reivindicação 3, em que o copolímero de PLG purificado tem uma proporção molar de ácido lático para ácido glicólico de 50/50 a 99/1.

6. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster biodegradável purificado compreende um ou mais grupos funcionais em pelo menos uma extremidade da cadeia molecular, ou um ou mais grupos funcionais ligados à cadeia molecular de poliéster, ou ambos, em que o grupo funcional é um ácido carboxílico, um grupo hidroxilo, alquilo, acrilóilo, éster, polietileno glicol (PEG), maleato, succinato, ou citrato ou qualquer combinação destes.
7. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster tem um peso molecular (Mw) médio de 15 kDa a 45 kDa.
8. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o dióxido de carbono compreende pelo menos 1% em peso de um co-solvente.
9. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o fluido supercrítico compreende ainda um co-solvente que compreende pelo menos um de Xenon (Xe), Freon-23, etano, N₂O, SF₆, propano, amoníaco, etileno, n-C₄H₁₀, (C₂H₅)₂O, THF, cloreto de metileno, clorofórmio, C₆H₅CF₃, P-Cl-C₆H₄CF₃, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-hexanol, 2-metoxi etanol, tetra-hidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo, carbonato de propileno, N,N-dimetilacetamida, sulfóxido de dimetilo, N-metilpirrolidona, ácido fórmico, água, dissulfureto de carbono, acetona, propano, tolueno, hexanos, ou pentanos e qualquer combinação destes.

10. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster é extraído com o fluido supercrítico a uma temperatura única, em que a temperatura é pelo menos superior a 50 °C.
11. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster é extraído sequencialmente a várias temperaturas crescentes com amostras sucessivas do fluido supercrítico, em que as várias temperaturas variam de 50 °C a 100 °C.
12. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster é extraído sequencialmente a várias pressões crescentes com amostras sucessivas do fluido supercrítico, em que as várias pressões variam de $68.947 \cdot 10^5$ Pa (1.000 psi) a $827.364 \cdot 10^5$ Pa (12.000 psi).
13. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster biodegradável purificado tem uma distribuição de peso molecular mais estreita do que o poliéster.
14. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster biodegradável purificado tem um índice de polidispersividade inferior a 1,7.
15. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster biodegradável purificado, quando incorporado numa formulação de libertação controlada, proporciona um efeito de rotura inicial reduzido.
16. Método de acordo com a reivindicação 1, em que o poliéster biodegradável purificado compreende menos de

10% em peso de oligómeros que têm um peso molecular de até 5 kDa, menos de 2% em peso de monómeros, ou ambos.

17. Copolímero de PLG biodegradável purificado, preparado de acordo com o método da reivindicação 3.
18. Formulação de libertação controlada que compreende uma composição fluida com compreende o poliéster biodegradável purificado de acordo com a reivindicação 1, um solvente orgânico com pelo menos alguma solubilidade em fluidos corporais, e uma substância bioativa.
19. Formulação de libertação controlada de acordo com a reivindicação 18, em que a substância bioativa compreende octreotida, GHRP-1, ou risperidona.

Lisboa, 30 de setembro de 2014.

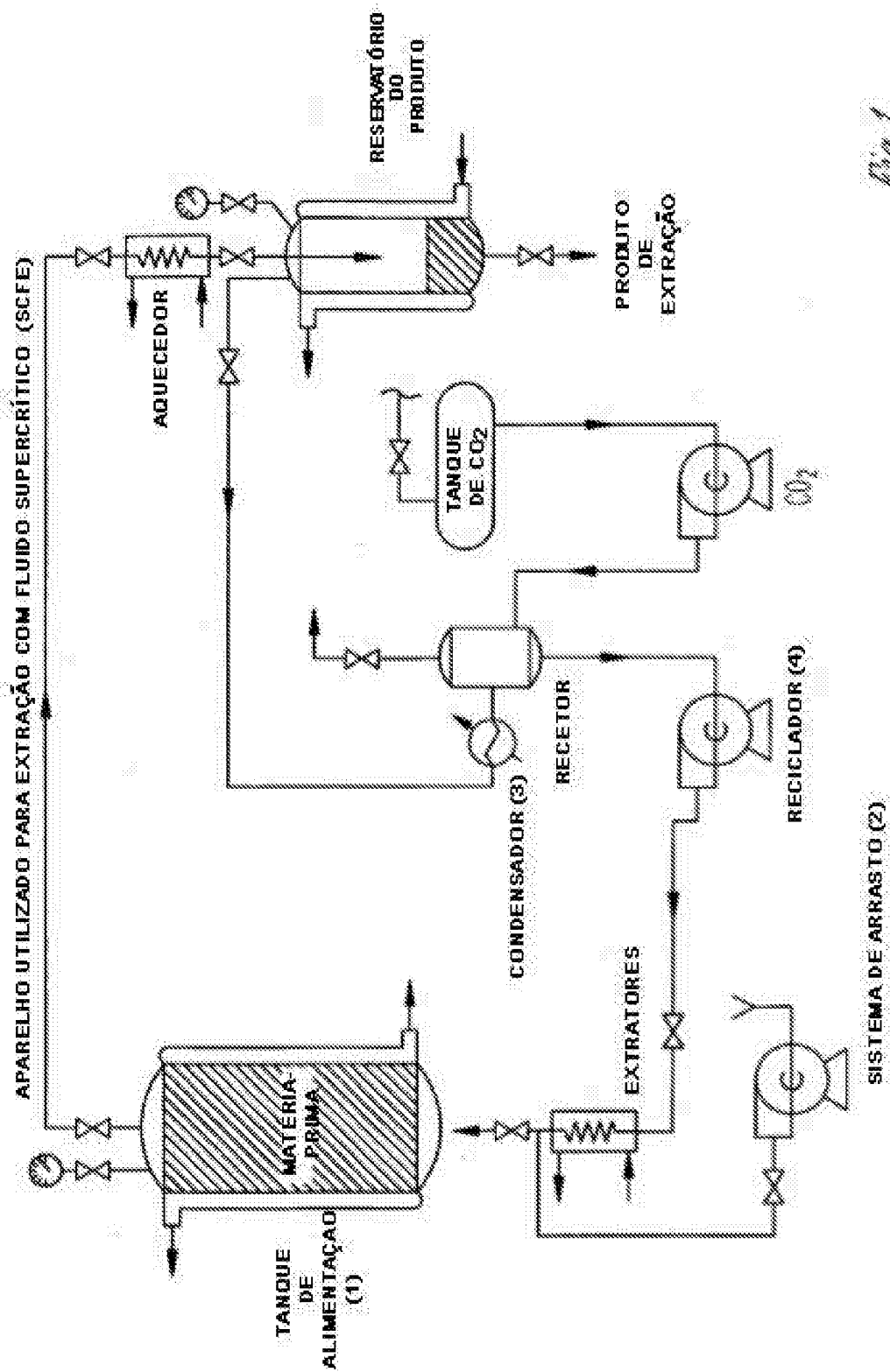
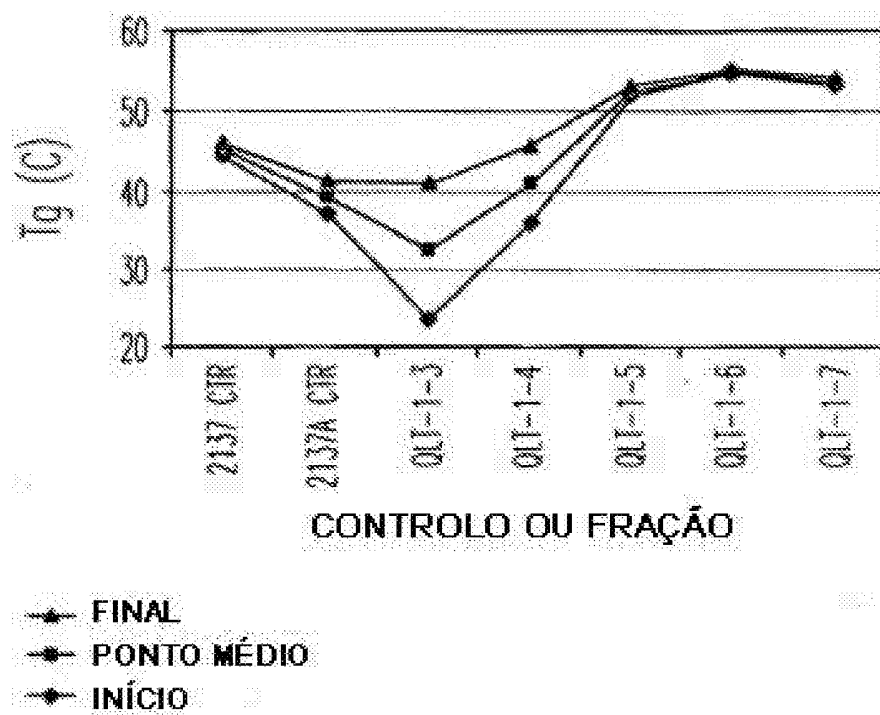
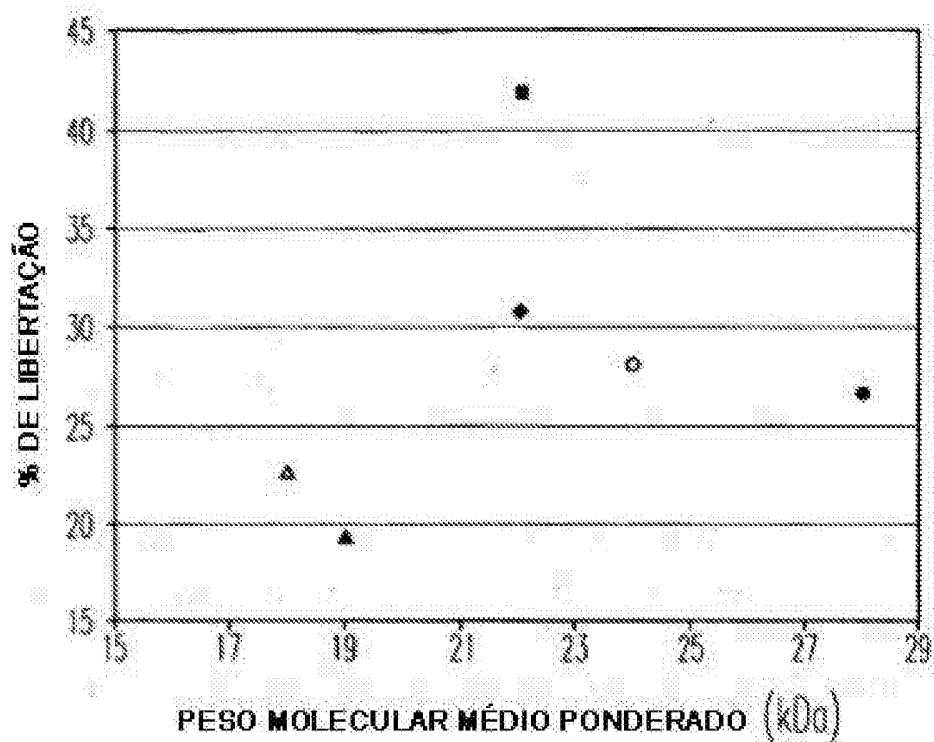


Fig. 1

*Fig.2*



- GRUPO I, PADRÃO PLG, LOTE 2137
- GRUPO II, SOLVENTE PRECIPITADO PLG LOTE 2137
- ▲ GRUPO III, SOLVENTE PRECIPITADO PLG LOTE 1826-58
- GRUPO IV, SOLVENTE PRECIPITADO PLG LOTE 2190-28A
- ▲ GRUPO V, FRAÇÃO 5 PLG PURIFICADO COM SCF LOTE 2137
- GRUPO VI, FRAÇÃO 6 PLG PURIFICADO COM SCF LOTE 2137

Fig. 3