

RESUMO**"MATERIAL POLIMÉRICO BIODEGRADÁVEL PARA APLICAÇÕES
BIOMÉDICAS"**

A invenção relaciona-se com um material que é um copolímero em multibloco de poli(éter-éster) baseado numa combinação de um componente poli(alquilenoglicol), um diol de cadeia curta, um ácido dicarboxílico aromático ou seu derivado e pelo menos um tipo de ácido dicarboxílico não aromático ou seu derivado. A invenção relaciona-se também com um processo para a preparação do material polimérico, com um dispositivo medicinal compreendendo o dito material polimérico e com a utilização do dispositivo medicinal para a preparação de um medicamento para a regeneração guiada de tecidos, como uma armação para a engenharia de tecidos *in vitro*, ou como uma matriz para a libertação controlada de uma substância (bio)activa.

DESCRIÇÃO**"MATERIAL POLIMÉRICO BIODEGRADÁVEL PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS"**

A invenção relaciona-se com um dispositivo medicinal compreendendo um material polimérico e com a utilização do dispositivo medicinal para a preparação de um medicamento para a regeneração guiada de tecidos, como uma armação para a engenharia de tecidos *in vitro*, ou como uma matriz para a libertação controlada de uma substância (bio)activa.

Existe correntemente um interesse continuamente crescente sobre novos materiais que sejam úteis como veículos para agentes biologicamente activos e que possam ser utilizados para a libertação *in vivo* de tais agentes. Em particular, tem sido dedicada muita investigação ao desenho de tais veículos que apresentem um perfil específico de degradabilidade *in vivo*, pelo qual seja obtido um padrão de libertação desejado do agente biologicamente activo incorporado.

Uma das ideias por detrás desta investigação é o desejo de desenvolver sistemas de libertação que prolonguem o tempo de libertação de fármacos existentes (isto é, libertação prolongada). Uma outra ideia é o desejo de

desenvolver sistemas que evitem ou mitiguem os fracos perfis farmacocinéticos de alguns fármacos. Em particular, os péptidos e as proteínas causam dificuldades farmacocinéticas. Tais substâncias devem frequentemente ser administradas parentericamente quando é necessária uma acção sistémica. Muitos fármacos têm, também, semi-vidas curtas, o que implica a necessidade de calendarizações com injeções frequentes. A adaptação do paciente e os custos elevados associados aos protocolos com uma administração frequente proporcionam um forte estímulo para se encontrarem novas vias de administração, e concorrentemente novas formas de dosagem para tais fármacos. Ainda uma outra ideia por detrás da investigação sobre novos veículos para a libertação de fármacos, é o desejo de conseguir que um agente biologicamente activo administrado, tal como um fármaco, seja libertado numa localização específica no paciente. Por exemplo, quando administrado oralmente, pode ser necessário desenhar um veículo de libertação que seja capaz de suportar as severas condições encontradas no estômago, e que passe de uma forma intacta para os intestinos para apenas aí libertar um fármaco incorporado (isto é, libertação retardada).

Os sistemas poliméricos que estão presentemente sob investigação como matrizes para a libertação de fármacos incluem uma larga variedade de compostos biodegradáveis. Um sistema frequentemente utilizado é baseado no ácido poliláctico (PLA), ou em copolímeros de ácido poliláctico e ácido glicólico. Tais copolímeros são

conhecidos por polímeros PLGA. No passado, têm sido preparadas microesferas de polímeros PLGA encapsulando um agente biologicamente activo. No entanto, estão associadas a estes sistemas numerosas desvantagens graves. De entre estas estão as fracas possibilidades de manipulação da libertação de uma proteína encapsulada por microesferas de PLGA. A difusão, que desempenha um papel crucial a este respeito, de proteínas em matrizes de PLGA é muito limitada. A libertação das proteínas incorporadas está concordantemente completamente dependente da difusão da proteína através dos poros da matriz (se presentes), e da degradação ou dissolução *in vivo* do PLGA. A degradação da matriz de PLGA origina uma relativamente aguda diminuição do pH na matriz polimérica, o qual pode ser prejudicial para muitas proteínas.

O Pedido de Patente Europeia N.º 0 830 859 divulga um sistema de libertação de fármacos baseado num copolímero de um polialquilenoglicol, preferivelmente polietilenoglicol, e um poliéster aromático, preferivelmente tereftalato de polibutileno. Este material polimérico tem propriedades semelhantes a um hidrogel e permite de uma forma vantajosa a difusão de até mesmo moléculas grandes, tais como proteínas, através da matriz polimérica. Além disso, a biocompatibilidade deste material polimérico tem sido estabelecida como sendo muito boa.

Para alguns propósitos, no entanto, tem-se verificado que a degradação do polímero é relativamente

lenta. Como consequência, vestígios ou partículas da matriz polimérica podem permanecer intactas durante algum tempo após estar completada a libertação de um fármaco incorporado. Concordantemente, há um desejo de provisão de um material polimérico, apropriado para utilização como veículo de libertação para agentes biologicamente activos tais como fármacos e proteínas, em que as características de degradabilidade do polímero possam ser substancialmente alteradas enquanto de mantêm substancialmente as excelentes características biológicas do copolímero que serve como ponto de partida.

Uma outra tendência no desenvolvimento de biomateriais é impelida pelo campo relativamente novo da engenharia de tecidos. Tipicamente, em engenharia de tecidos, uma matriz, frequentemente referida como armação, é disponibilizada com células *in vitro* e o sistema combinado de células e armação é implantado no organismo de um paciente com necessidade de reparação de tecidos. No início, após a implantação, a armação tem a intenção de proporcionar as propriedades mecânicas e a integridade para manter o implante reunido. Uma vez as células terem começado a desenvolver-se e a formarem o novo tecido, há a intenção de a armação se degradar para que o novo tecido possa iniciar a sua função. Por vezes, as células são sujeitas a um protocolo de cultura *in vivo* para acelerar *in vivo* o processo de formação do novo tecido.

O material ideal para servir como armação a ser

disponibilizada com as células em engenharia de tecidos, tem propriedades que se assemelham de perto, em particular as propriedades mecânicas, às do tecido que tem necessidade de reparação. Porque alguns tipos de tecidos necessitam de propriedades mecânicas com maior robustez e rigidez do que outros, é desejável ter um material biodegradável e biocompatível cujas propriedades mecânicas possam ser, de forma vantajosa, ajustadas às necessidades da situação na engenharia de tecidos. Também, dependendo do tipo de tecido a ser reparado, pode ser desejável uma mais lenta ou mais rápida degradação da armação.

É portanto um objectivo da presente invenção proporcionar um dispositivo medicinal compreendendo um biomaterial que se degrade ao longo de um favorável curto período de tempo, mantendo ao mesmo tempo excelentes características no que respeita à biocompatibilidade.

Um outro objectivo da presente invenção é de proporcionar um dispositivo medicinal compreendendo um material que tem uma composição que permite o ajustamento das características de degradação, mantendo as características de biocompatibilidade e outras características relacionadas com a utilização do material, por exemplo como veículo para a libertação de fármacos, não afectadas negativamente de forma substancial pelo dito ajustamento.

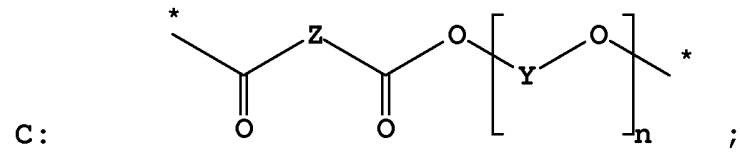
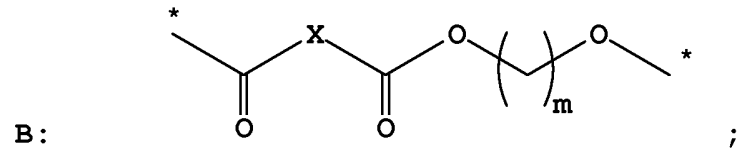
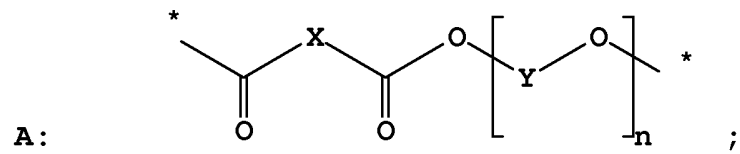
É também um objectivo da presente invenção chegar

a um material que exprima não apenas as características acima mencionadas no que respeita a biocompatibilidade e biodegradabilidade ajustável, mas que também satisfaça os requisitos no que respeita à aplicação do material nos dispositivos medicinais referidos.

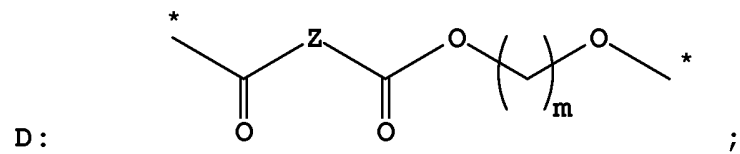
É para além disso um objectivo da invenção proporcionar um material que possa servir como uma matriz para a libertação controlada de substâncias (bio)activas, tais como fármacos ou factores de crescimento.

Os inventores descobriram actualmente um material polimérico no qual certos componentes tinham sido incorporados para proporcionar estas desejadas características e para satisfazer os requisitos acima. Este material polimérico é baseado numa combinação de um componente poliéter, um diol de cadeia curta e uma mistura de ácidos dicarboxílicos aromáticos e não aromáticos ou seus derivados.

A invenção é, concordantemente, dirigida para um dispositivo medicinal compreendendo um copolímero aleatório compreendendo unidades monoméricas



e



em que

* representa uma ligação a outra unidade monomérica;

X representa uma espécie contendo um grupo aromático;

Y é uma espécie alquileno;

Z representa uma espécie alquileno ou alcenileno;

n é um inteiro na gama de 1-250, preferivelmente 8-100; e

m é um inteiro na gama de 2-16.

Um material polimérico de acordo com a invenção tem mostrado possuir excelentes características no que respeita à biodegradabilidade e biocompatibilidade. Variando a razão entre os diferentes componentes do copolímero em multibloco, podem ser ajustados de forma conveniente o perfil de biodegradabilidade, bem como as propriedades mecânicas do material polimérico. Vantajosamente, foi descoberto que sob certas condições o produto de degradação do componente poliéster, o ácido dicarboxílico, pode catalisar a degradação dos outros componentes do presente material polimérico.

No contexto da presente invenção, o termo biocompatível tem a intenção de se referir a materiais que possam ser incorporados no organismo de um humano ou animal, por exemplo, na forma de um implante medicinal, substancialmente sem respostas inaceitáveis do humano ou animal. O termo biodegradável refere-se a materiais que, após um certo período de tempo num ambiente biológico, são decompostos. Preferivelmente, a taxa de decomposição é escolhida de modo a ser similar ou idêntica à taxa à qual o organismo produz tecido autogéneo para substituir um implante fabricado a partir do tal material biodegradável.

O termo copolímero aleatório tem a intenção de mostrar que um material polimérico da invenção compreende unidades monoméricas A, B, C, e D em qualquer ordem e em qualquer razão. A razão entre o número a de unidades monoméricas A e o número b de unidades monoméricas B (a/b) será tipicamente igual à razão entre o número c de unidades monoméricas C e o número d de unidades monoméricas D (c/d). É preferível que um copolímero de acordo com a invenção não contenha quaisquer outras unidades monoméricas diferentes das unidades A, B, C, e/ou D.

Como tal, o material polimérico compreende fragmentos tanto duros como moles. A fracção em peso dos fragmentos moles pode ser definida como x e ser determinada pela fracção combinada do peso das unidades monoméricas A e C no material polimérico. A fracção em peso dos fragmentos duros é então definida como 1-x e é determinada pela fracção combinada do peso das unidades monoméricas B e D no material polimérico. A fracção em peso dos fragmentos moles x está preferivelmente na gama de 0,1 a 1, mais preferivelmente de 0,4 a 1, ainda mais preferivelmente de 0,5 a 0,9. Além disso, a fracção da soma do número de unidades monoméricas C e do número de unidades monoméricas D (c + d) é preferivelmente de 0,01 a 1, mais preferivelmente de 0,05 a 0,99.

Conforme mencionado, X é uma espécie compreendendo um grupo aromático. O grupo aromático pode em princípio ser qualquer grupo aromático, tal como os grupos

fenilo, naftilo, ou ciclopentadienilo. Preferivelmente, o grupo aromático é um grupo fenilo. Será entendido que o grupo aromático pode conter um ou mais substituintes, tais como cloreto, brometo, iodeto, fluoreto, nitro, grupos metoxilo ou grupos alquilo contendo 1-3 átomos de carbono. É adicionalmente possível que a espécie X compreenda outros grupos atômicos, tais como grupos metileno. Exemplos de tais possibilidades incluem $-(CH_2)_p$ -grupo aromático- $(CH_2)_q$, em que p e q são independentemente escolhidos a partir do grupo de inteiros na gama de 0-3. Preferivelmente, tanto p como q são 0.

A espécie Y é um grupo alquileno. Os termos alquileno e polialquileno, como aqui se utilizam, referem-se geralmente a qualquer estrutura isomérica, isto é, propileno compreende tanto 1,2-propileno como 1,3-propileno, butileno compreende 1,2-butileno, 1,3-butileno, 2,3-butileno, 1,2-isobutileno, 1,3-isobutileno e 1,4-isobutileno (tetrametileno) e similarmente para homólogos alquileno superiores. Preferivelmente, este grupo alquileno é escolhido a partir do grupo de etileno, propileno, butileno e combinações deles. Conjuntamente com o oxigénio a que está ligado, a espécie Y forma uma unidade de repetição que ocorre n vezes nas unidades monoméricas A e C. Esta unidade de repetição é derivada preferivelmente a partir de um poli(alquilenoglicol). O poli(alquilenoglicol) é escolhido preferivelmente a partir do grupo de poli(etilenoglicol), poli(propilenoglicol), e poli(butilenoglicol) e copolímeros

deles, tais como poloxâmeros. Um poli(alquilenoglicol) altamente preferido é o poli(etilenoglicol). O poli(alquilenoglicol) pode ter um peso molecular médio de cerca de 200 até cerca de 10 000 g/mol. Preferivelmente, o poli(alquilenoglicol) tem peso molecular médio de 300 a 4000 g/mol. Concordantemente, o inteiro n é escolhido preferivelmente na gama de 1-250, mais preferivelmente 8-100.

Um peso molecular médio, como aqui se refere, pode apropriadamente ser determinado por Cromatografia de Permeação por Gel (GPC). Esta técnica, que é conhecida *per se*, pode por exemplo ser realizada utilizando clorofórmio, hexafluoroisopropanol ou *m*-cresol como solvente e poliestireno ou poli(metacrilato de metilo) como padrão externo. Alternativamente, pode ser obtida uma medida do peso molecular médio utilizando a viscometria (ver NEN-EN-ISO 1628-1). Esta técnica pode, por exemplo, ser realizada a 25 °C utilizando clorofórmio, hexafluoroisopropanol ou uma mistura de ambos como solvente. Preferivelmente, a viscosidade intrínseca do copolímero situa-se entre 0,2 e 2,0 dL/g. As gamas mais preferidas para o peso molecular médio determinado por GPC mencionada acima pode também ser expressa em termos de viscosidade intrínseca, quando são conhecidos os dados físicos apropriados dos polímeros.

A espécie Z é um grupo alquileno ou alcenileno. Tal como o termo grupo alquileno, o termo grupo alcenileno

tem a intenção de se referir a qualquer estrutura isomérica. Desta forma, por exemplo, um grupo propenileno pode ser um grupo 1,2-propenileno, um grupo 2,3-propenileno, ou um grupo isopropenileno. Tipicamente, a espécie Z, conjuntamente com os dois grupos carbonilo a que está ligada serão derivados a partir de um ácido dicarboxílico ou de um seu derivado. Preferivelmente, o ácido dicarboxílico é um ácido alcanodióico tendo de 4 a 18 átomos de carbono. É preferido adicionalmente que o ácido dicarboxílico seja um ácido dicarboxílico não ramificado, dado que tem sido descoberto que isto conduz a um copolímero tendo uma processabilidade superior, em que um agente biologicamente activo pode ser incorporado de uma forma conveniente. Particularmente preferidos são os ácidos dicarboxílicos escolhidos a partir do grupo de ácido maleico, ácido succínico, ácido adípico, ácido sebácico, ácido glutárico, e ácido subérico. Desta forma, Z é escolhido preferivelmente a partir do grupo de etenileno, propileno, butilenos, hexileno, e octileno. Adicionalmente, foi descoberto que é obtido um copolímero tendo um comportamento de intumescimento aumentado quando a quantidade de ácido dicarboxílico (alifático) utilizada para preparar o copolímero é aumentada.

Em vez de se utilizar na realidade um ácido dicarboxílico, é também possível utilizar um derivado de um ácido dicarboxílico que será incorporado na estrutura do copolímero por via das mesmas funcionalidades carboxílicas. Exemplos de tais derivados podem facilmente ser imaginados

por uma pessoa competente e incluem anidridos, mono- e diésteres, cloretos mono- e diácidos, e semelhantes. No caso de ser utilizado um mono- ou diéster do ácido dicarboxílico, o grupo ácido carboxílico é preferivelmente esterificado para um grupo alquilo tendo de 1 a 4 átomos de carbono. Os derivados preferidos são os ésteres dimetílicos.

O inteiro m é escolhido na gama de 2-16. Os grupos metileno repetidos 2 a 16 vezes são derivados preferivelmente a partir de um diol. Numa forma de realização preferida, o diol é escolhido a partir do grupo de di-hidroxietano, di-hidroxipropano ou di-hidroxibutano. Um diol de cadeia curta altamente preferido é o di-hidroxibutano.

O peso molecular médio de um copolímero aleatório de acordo com a invenção situa-se preferivelmente entre 10 000 e 500 000 g/mol, mais preferivelmente entre 40 000 e 300 000 g/mol.

A invenção relaciona-se adicionalmente com um processo para preparar um copolímero como descrito acima compreendendo os passos de

a) fazer reagir um ácido dicarboxílico aromático ou um seu derivado, um ácido dicarboxílico não aromático ou um seu derivado com um poli(alquilenoglicol) e um alcanodiol; e

b) levar a cabo uma policondensação sob a remoção do alcanodiol.

O ácido dicarboxílico aromático ou o seu derivado é escolhido de forma a que ele origine a espécie X descrita acima. Um exemplo preferido do ácido dicarboxílico aromático é o ácido tereftálico ou um seu derivado. Exemplos de tais derivados podem ser facilmente imaginados por uma pessoa competente e incluem anidridos, mono- e diésteres, cloretos mono- e diácidos, e semelhantes. No caso de ser utilizado um mono- ou diéster do ácido dicarboxílico⁴, o grupo ácido carboxílico é preferivelmente esterificado para um grupo alquilo tendo de 1 a 4 átomos de carbono. Os derivados preferidos são os ésteres dimetílicos.

O ácido dicarboxílico não aromático ou o seu derivado, conforme foi discutido acima, é escolhido de forma a que ele origine a espécie Z no copolímero. Preferivelmente, o não aromático é escolhido a partir do grupo de ácido maleico, ácido succínico, ácido adípico, ácido sebácico, ácido glutárico, e ácido subérico. Exemplos de derivados apropriados podem ser facilmente imaginados por uma pessoa competente e incluem anidridos, mono- e diésteres, cloretos mono- e diácidos, e semelhantes. No caso de ser utilizado um mono- ou diéster do ácido dicarboxílico, o grupo ácido carboxílico é preferivelmente esterificado para um grupo alquilo tendo de 1 a 4 átomos de

carbono. Os derivados preferidos são os ésteres dimetílicos.

O poli(alquilenoglicol) é escolhido de forma a que ele origine a espécie Y no copolímero. O poli(alquilenoglicol) é escolhido preferivelmente a partir do grupo de poli(etilenoglicol), poli(propilenoglicol), e poli(butilenoglicol) e seus copolímeros, tais como poloxâmeros. Um poli(alquilenoglicol) altamente preferido é o poli(etilenoglicol). O poli(alquilenoglicol) pode ter um peso molecular médio de cerca de 200 até cerca de 10 000 g/mol. Preferivelmente, o poli(alquilenoglicol) tem um peso molecular médio de 300 a 4 000 g/mol.

O alcanodiol é preferivelmente um diol de cadeia curta e é escolhido de forma a que ele origine o grupo contendo o índice m nas fórmulas acima. Numa forma de realização preferida, o diol é escolhido a partir do grupo de di-hidroxietano, di-hidroxiopropano ou di-hidroxiбутano. Um diol de cadeia curta altamente preferido é o di-hidroxiбутano.

Uma preparação preferida de um copolímero em multibloco de acordo com a invenção será agora explicada por via de exemplo para um copolímero em multibloco sintetizado a partir de poli(etilenoglicol), butanodiol, tereftalato de dimetilo, e succinato de dimetilo. Com base nesta descrição, a pessoa competente será capaz de preparar qualquer copolímero em multibloco desejado dentro da classe

acima descrita.

Um copolímero em multibloco de poli(éter-éster) típico pode ser sintetizado a partir de uma mistura de tereftalato de dimetilo, um alcanodiol tal como o 1,4-butanodiol (em excesso), poli(etilenoglicol), succinato de dimetilo, um antioxidante e um catalisador. Um exemplo de um catalisador apropriado é o tetrabutíloxítânio. A mistura é colocada num frasco de reacção e é preferivelmente aquecida até pelo menos cerca de 160 °C, e o metanol é preferivelmente destilado à medida que a transesterificação prossegue.

Após a transesterificação, a temperatura é preferivelmente elevada lentamente até cerca de 245 °C, e é preferivelmente obtido um vácuo (no final, menos do que 0,1 mbar). O excesso de alcanodiol pode ser retirado por destilação e é formado o copolímero em multibloco pretendido num passo de policondensação.

Devido às suas propriedades vantajosas um material polimérico de acordo com a invenção pode ser utilizado para o fabrico de vários dispositivos medicinais, tais como armações para pele artificial, implantes ósseos, restritores de cimentação, ou para engenharia de tecidos de cartilagem ou de músculo.

A invenção também abrange, portanto, um dispositivo medicinal compreendendo um material polimérico

como descrito acima. Preferivelmente, o dispositivo medicinal pode ser utilizado para a reparação de tecidos ou para a libertação controlada de fármacos. As formas preferidas do dispositivo medicinal incluem uma armação para a engenharia de tecidos *in vitro*, uma matriz para a libertação controlada de fármacos, um substituto para a reparação de tecidos, uma sutura, um parafuso ósseo, uma âncora para suturas, um perno cónico ou não cónico, ou um grampo.

É feito notar que, com base na descrição acima de um material polimérico de acordo com a invenção, da sua composição e da sua preparação, a pessoa competente pode ajustar as propriedades do material para que se adapte às suas necessidades particulares no contexto de uma aplicação ou dispositivo específicos. Por exemplo, pode ser desejado um material mais flexível para armações para a engenharia de tecidos da pele ou para suturas, propriedade essa que é positivamente afectada aumentando a quantidade do componente de poli(alquilenoglicol) no copolímero em multibloco. Para outros propósitos tais como a libertação controlada de agentes (bio)activos, é desejado um perfil de degradação ainda mais rápido, caso em que podem ser incorporadas quantidades mais elevadas do ácido dicarboxílico não aromático ou do seu derivado. A este respeito, é para ser notado que uma dada percentagem em peso do componente poli(alquilenoglicol) no copolímero em bloco pode ser incorporada de duas formas diferentes. Uma possibilidade é utilizar um número mais baixo de blocos

maiores, isto é, poli(alquilenoglicol) de um peso molecular médio mais elevado; uma outra é incorporar mais blocos com um peso molecular médio mais baixo.

De forma a se obter um dispositivo medicinal apropriado para aplicação, o material polimérico é preparado por passos de processamento convencionais tais como extrusão, moldagem por injeção, moldagem por sopro, moldagem em solução e outras técnicas para a modelação e processamento de materiais poliméricos.

Para melhorar ainda mais o desempenho do dispositivo medicinal de acordo com a invenção, é possível incluir componentes farmacêuticos ou farmacêuticamente activos na composição polimérica. O dispositivo pode ser utilizado para a libertação controlada de medicamentos. Isto pode ser realizado em conjunção com as outras funções da composição polimérica da presente invenção, mas pode também ser o único propósito desta forma específica de realização.

Para além de um dispositivo, o polímero da presente invenção pode também ser utilizado para preparar formulações de libertação controlada para a libertação de agentes biologicamente activos, incluindo proteínas e péptidos. Tais sistemas de libertação podem ser formulados em microesferas, geles injectáveis, folhas, etc., por métodos conhecidos pelos peritos na arte.

O termo "agente biologicamente activo", como aqui se utiliza, significa um agente que proporciona um efeito terapêutico ou profilático. Tais agentes incluem, mas não estão limitados a, agentes antimicrobianos (incluindo agentes antibacterianos e antifúngicos), agentes antivirais, agentes antitumorais, hormonas, agentes imunogénicos, factores de crescimento, lípidos, e lipopolissacarídeos.

Os acima mencionados agentes biologicamente activos que podem ser incorporados no material polimérico podem variar largamente na sua natureza; em princípio, qualquer tipo de aditivo pode ser incorporado. Como o material polimérico é biodegradável *in vivo*, e permite a difusão de moléculas, os aditivos serão libertados para as vizinhanças do material de uma forma controlada. Estes aditivos podem ser adicionados à solução em quantidades variando de 0% a 50% em peso, preferivelmente de 1% a 20% em peso.

Os agentes biologicamente activos que podem ser incorporados incluem, mas não estão limitados a, fármacos não péptidos, não proteínas, de pequena dimensão. Eles têm um peso molecular que em geral é menor que 1500, e em particular menor que 500. Um segundo grupo importante de agentes biologicamente activos é o dos péptidos e proteínas biologicamente activas.

Um agente biologicamente activo pode ser

incorporado no material polimérico dissolvendo-o numa solução do material polimérico. Os solventes apropriados são o clorofórmio, o diclorometano, a N-metil-2-pirrolidona, o dimetilsulfóxido, a acetona, o hexafluoroisopropanol e semelhantes. A selecção de um solvente apropriado será dependente da composição do copolímero escolhido. Por este motivo, é formada uma solução homogénea ou é formada uma suspensão por dispersão. Alternativamente, uma solução de um agente biologicamente activo pode ser misturada com a solução de copolímero para formar uma mistura homogénea, ou uma emulsão. Da mesma forma, pode ser incorporado um agente biologicamente activo misturando-o fisicamente com o copolímero, por exemplo por extrusão. Dado que no último caso é aplicado calor, deve ser tomado cuidado para não prejudicar a estabilidade e/ou a actividade do agente biologicamente activo.

Se é desejado que seja formado um material poroso, pode ser incluído um agente formador de poros na solução ou suspensão do copolímero. Os agentes formadores de poros podem incluir solventes orgânicos, água, sais (cloreto de sódio, citrato de sódio, e semelhantes), açúcares e polímeros sintéticos solúveis em água. Utilizando tais agentes formadores de poros, os poros podem ser criados por lixiviação do agente, ou por separação de fases.

A invenção será agora elucidada adicionalmente pelos seguintes exemplos não restritivos.

Exemplo 1.

O copolímero em multibloco de poli(éter-éster) descrito no exemplo seguinte é composto a partir de poli(etilenoglicol), butanodiol, tereftalato de dimetilo como o derivado do ácido dicarboxílico aromático e succinato de dimetilo como ácido dicarboxílico não aromático. É preparado um polímero (1-A) que contém aproximadamente 60% em peso de poli(etilenoglicol) e tereftalato e succinato numa razão molar de 50/50 colocando os seguintes materiais num reactor apropriado para realizar tanto destilações atmosféricas como destilações sob pressão reduzida:

Quadro 1: Materiais em bruto utilizados para preparar o poli(éter-éster) 1-A

| Materiais em bruto | Reactor de 1 kg (g) |
|---------------------------------------|------------------------|
| Poli(etilenoglicol) (PM = 1000 g/mol) | 531 |
| Succinato de dimetilo | 172 |
| Tereftalato de dimetilo | 228 |
| 1,4-Butanodiol | 409 |
| α -Tocoferol | 6,3 |
| Ortotitanato de tetrabutilo | 0,91 |

O reactor foi equipado com um agitador mecânico com leitura de torque, um tubo de entrada de azoto, um

sensor de temperatura PT 100 ligado a um dispositivo de leitura digital e um condensador, o qual podia ser aquecido por um banho termostático de água. O reactor foi aquecido por um banho termostático de óleo.

A reacção de transesterificação iniciou-se entre 140 °C e 145 °C. O metanol foi retirado por destilação durante aproximadamente uma hora. Após isto, a temperatura foi aumentada lentamente até 240 °C. Assim que a temperatura da mistura reaccional atingiu entre 230 °C e 240 °C, a pressão foi gradualmente reduzida até 0,5-1,5 mbar em aproximadamente 30 minutos. Durante 3-4 horas, até a mistura reaccional ter atingido a viscosidade desejada, o produto de condensação, 1,4-butanodiol, foi retirado por destilação. O polímero foi então extrudido e a reacção foi parada em água fria seguida de secagem e trituração.

A viscosidade intrínseca do produto medida em clorofórmio a 25 °C foi de 0,990 dL/g. Foram utilizadas medições por RMN-H para calcular a percentagem em peso de poliéter e a razão diácido (T/S). Para o exemplo 1-A o conteúdo em poli(etilenoglicol) era de 58,3 % em peso. A razão diácido (T/S) era de 55/45 de percentagem molar.

Exemplo 2.

Para comparação, foi sintetizado um copolímero em multibloco (1-B) que continha aproximadamente o mesmo

conteúdo em poliéter do 1-A. O diácido utilizado foi apenas succinato, não foi incorporado diácido aromático. Foi preparado da mesma forma como descrito no Exemplo 1, colocando os seguintes materiais no reactor:

Quadro 2. Materiais em bruto utilizados para preparar o poli(éter-éster) 1-B

| Materiais em bruto | Reactor de 1 kg (g) |
|---------------------------------------|------------------------|
| Poli(etilenoglicol) (PM = 1000 g/mol) | 563 |
| Succinato de dimetilo | 414 |
| 1,4-Butanodiol | 511 |
| α -Tocoferol | 6,3 |
| Ortotitanato de tetrabutilo | 0,98 |

A viscosidade intrínseca do produto medida em clorofórmio a 25 °C foi de 1,666 dL/g. Medições por RMN-H mostraram que estava incorporado 63,5% em peso de poli(etilenoglicol).

Exemplo 3.

Uma solução a 10% em peso dos polímeros descritos nos Exemplos 1 e 2 foi utilizada para vazar películas para serem utilizadas em estudos de degradação *in vitro*. As películas secas (aproximadamente 0,5 gramas, 50-100 μ m de espessura) foram imersas em 50 mL de solução tampão salina de fosfato (PBS, pH 7,4, contendo KH_2PO_4 a 1,06 mM, NaCl a

155,17 mM, e $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ a 2,96 mM) a 37 °C num banho sob sacudidura durante 1, 2, 4 e 8 semanas. A cada semana, o tampão foi renovado. As películas foram liofilizadas e analisadas subsequentemente por Cromatografia de Permeação por Gel (GPC). As amostras foram eluídas em trifluoroacetato de sódio (NaF_3Ac) a 0,02 M em hexafluoroisopropanol (HFIP) através de uma coluna de protecção para HFIP de gel Polymer Labs (50 x 7,5 mm) e duas colunas analíticas de gel PL HFIP (300 x 7,5 mm). A razão de fluxo foi de 1 mL/min e foi utilizado um detector de Índice de Refracção (RI). A temperatura da coluna era de 40 °C e a concentração da amostra era de 20 mg/mL. Os pesos moleculares (M_n e M_w) foram determinados em relação a padrões de polimetilmetacrilato (PMMA).

Como uma referência, está incluída a degradação de um copolímero em multibloco de poli(éter-éster) contendo aproximadamente o mesmo conteúdo em poliéter do 1-A (dados a partir da Patente dos Estados Unidos N.º 5 980 948). O diácido utilizado no polímero de referência foi apenas tereftalato, não foi incorporado diácido não aromático. Ele foi preparado da mesma forma como descrito no Exemplo 1.

Quadro 3. Peso molecular de copolímeros em multibloco de poli(éter-éster) após degradação em solução tampão salina de fosfato (pH = 7,4).

| Tempo [semanas] | Polímero 1-B | | Polímero 1-A | | Referência | |
|-----------------|--------------|------------|--------------|------------|------------|------------|
| | Mw[D] | % relativa | Mw[D] | % relativa | Mw[D] | % relativa |
| 0 | 158541 | 100 | 143470 | 100 | 102000 | 100 |
| 1 | 102471 | 65 | 118022 | 82 | 89300 | 87 |
| 2 | 72546 | 46 | 99565 | 69 | 84000 | 82 |
| 4 | 44554 | 28 | 73482 | 51 | 70600 | 69 |
| 8 | 36513 | 23 | 53702 | 37 | 60000 | 59 |

A partir dos resultados apresentados no Quadro 3 é óbvio que um aumento na quantidade de diácidos não aromáticos incorporados nos copolímeros em multibloco de poli(éter-éster) resulta numa razão de degradação acrescida.

Exemplo 4: Libertação de proteína a partir de películas de poli(éter-éster) alifático/aromático

I. Introdução.

Para avaliar os copolímeros PEG(T/S)/PB(T/S) (em que PEG significa polietilenoglicol, PB significa polibutileno, T significa tereftalato, e S significa succinato) como matrizes para a libertação controlada de proteínas, foi estudada *in vitro* a libertação a partir de películas. O efeito da composição da matriz foi estudado

variando o peso molecular do PEG e a percentagem de succinato. Adicionalmente, foram investigadas proteínas modelo com diferentes dimensões.

II. Materiais e Métodos.

Está apresentada uma visão geral das experiências do Exemplo 4 no Apêndice 1 em anexo.

Quadro 4. Materiais e aparelhos utilizados para o estudo das películas.

| Descrição | Fabricante |
|---------------------------------------|----------------------|
| 300PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 T/S=50/50 | Iso Tis N.Y. |
| 600PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 T/S=50/50 | Iso Tis N.Y. |
| 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 T/S=50/50 | Iso Tis N.Y. |
| 4000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 T/S=50/50 | Iso Tis N.Y. |
| 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 T/S=90/10 | Iso Tis N.Y. |
| 1000PEGS60PBS40 | Iso Tis N.Y. |
| 1000PEGT65PBT35 | Iso Tis N.Y. |
| Lisozima | Sigma, USA |
| Albumina do Soro Bovino | Sigma, USA |
| Anidrase Carbónica | Sigma, USA |
| Clorofórmio | Fluka chemica, Suíça |
| Diclorometano | Fluka chemica, Suíça |

| Descrição | Fabricante |
|--|-------------------------------------|
| Micro BCA | Omnilabo |
| Estojo de reagentes para dosagem de proteínas Coomassie Plus | Omnilabo Eppendorf, Alemanha |
| Tubos com tampa de segurança de 1,5 mL | |
| Eppendorf 10-100 µL | |
| Multipipeta Epp 30-300 µL | |
| Eppendorf 20-200 µL | |
| Eppendorf 100-1000 µL | |
| Eppendorf 500-5000 µL | |
| Aplicador de película | 411/220, Erichsen, Alemanha |
| Microplacas de 96 poços | Laboratórios Greiner, Holanda |
| Ultra Turrax | T25, IKA labortechnik, Holanda |
| Liofilizador | Alpha 1-4, CHRIST, Alemanha |
| Banho de água | OLS 200, Laboratórios GRANT |
| Espectrofotômetro | EL 312e, BioTek Instruments, USA |

1. Preparação de películas.

As películas foram preparadas a partir de uma emulsão água-em-óleo (a/o). A fase oleosa era constituída por 1 grama de polímero dissolvido em pelo menos 5 mL de diclorometano (para as quantidades exactas, ver o Apêndice

1). A fase aquosa consistia da proteína dissolvida em PBS (55 mg/mL). As três proteínas diferentes utilizadas foram Lisozima, Anidrase Carbónica e Albumina do Soro Bovino (BSA). Foram adicionados 0,6 mL desta solução de proteínas à solução do polímero e agitou-se durante alguns segundos com uma placa de agitação. Depois, a mistura foi colocada num tubo de centrifugadora de 50 mL e a emulsão foi preparada utilizando o Ultra Turrax durante 30 segundos a 19 000 rpm.

A emulsão foi vazada utilizando um aplicador de películas ajustável (ajuste: 700 μm) sobre uma placa de vidro. Após a evaporação do diclorometano, as películas foram arrancadas da placa de vidro e secadas adicionalmente ao ar durante algumas horas. Subsequentemente, as películas foram secadas no liofilizador durante pelo menos 10 horas.

2. Determinação da libertação.

Para cada película, foram pesadas e incubadas três peças (+/- 1,77 cm^2) em 1 mL do tampão de libertação (solução tampão salina de fosfato, pH 7,4, PBS) a 37 °C num banho de água, sob sacudidura constante (26/min). A vários intervalos (dependendo da razão de libertação), foi substituído o meio de libertação.

Para determinar a quantidade de proteína que tinha sido libertada, foi utilizado um espectrofotómetro: primeiro foi efectuada uma curva de calibração de

concentrações diferentes (desde 0 até 25 µg/mL) em PBS, utilizando a dosagem de proteína Micro BCA (comprimento de onda de detecção 570 nm).

Esta curva padrão foi utilizada para determinar a concentração de proteína no meio de libertação.

3. Experiências realizadas.

Todas as diferentes películas carregadas com proteínas preparadas e caracterizadas durante este estudo estão enumeradas no Apêndice 1. A razão T/S foi de aproximadamente 50/50 em percentagem molar, a menos que indicado de outra forma.

III. Resultados e Discussão.

A. Efeito da percentagem de succinato na composição do copolímero sobre a libertação.

As experiências foram realizadas com diferentes percentagens de succinato nos copolímeros (razão T/S) ao passo que o peso molecular do PEG (1000 g/mol), a percentagem em peso PEG(T/S) (60), e a percentagem em peso PB(T/S) (40) foram mantidas constantes. Foi utilizado o copolímero PEGT/PBT 1000PEGT65PBT35 como referência, e foi escolhida a Lisozima como proteína modelo para este estudo de libertação.

Foi necessário efectuar uma correcção para as curvas de libertação devido a que algumas das películas tinham uma libertação aparente maior do que 100%. A correcção foi efectuada considerando a maior libertação obtida como 100%. Isto pode ter sido devido à dificuldade em remover a totalidade do meio de libertação quando o tampão era renovado. A evaporação da água e a condensação na tampa pode também ter afectado as concentrações.

Gráficos 1A e B: Libertação acumulada (%) de Lisozima a partir do 1000PEG(T/S)60PB(T/S)40 quando a percentagem de succinato era de 10%, 50%, 100% e da "referência" 1000PEGT65PBT35.

O copolímero que continha 100% de succinato apresentou uma libertação muito rápida de Lisozima (Gráfico 1A): estava libertada 100% da proteína dentro de 20 minutos. Quando a percentagem de succinato era de apenas 50%, a libertação estava terminada após 5 horas. Eram claramente visíveis dois comportamentos de libertação sobre a globalidade do gráfico da experiência (Gráfico 1B): contrastando com a libertação rápida a partir dos polímeros com 50% ou 100% de succinato, a libertação a partir dos polímeros com 0% ou 10% de succinato continuou durante mais de 30 dias. Para as composições contendo 50% e 100% de succinato, a libertação rápida é devida ao intumescimento dos copolímeros. Quanto mais succinato estava presente, maior era o intumescimento da matriz (ver o Exemplo 6) e consequentemente, mais rapidamente a proteína podia passar

através dela. Para as composições com 0% e 10% de succinato, a degradação da matriz estava também envolvida porque a libertação demora mais tempo. Além disso, a degradação das composições com 0% e 10% de succinato tinham o mesmo perfil o que explica também o perfil similar da sua libertação. A combinação da degradação e da difusão explica o perfil de ordem zero observado para as composições com 0% e 10% de succinato. Para matrizes altamente intumescidas, nas quais a difusão é rápida em comparação com a degradação, não pode ser esperado nenhum efeito da degradação do polímero e é observado um perfil de libertação de primeira ordem.

Em conclusão, o comportamento de libertação depende fortemente da percentagem de succinato no copolímero.

Determinação do Coeficiente de Difusão:

Dado que a libertação é muito sensível à percentagem de succinato, a determinação do coeficiente de difusão de cada copolímero é interessante. O coeficiente de difusão exprime a capacidade da molécula aprisionada para se difundir através da matriz de polímero para o meio de libertação. De modo a quantificar o efeito da percentagem de succinato no copolímero na libertação e calcular o coeficiente de difusão, a libertação foi traçada como uma função de t (tempo em segundos). Os coeficientes de difusão foram calculados utilizando as equações 2 e 3, após

rearranjo.

Equações 2 e 3:

$$\text{Se } M_t / M_i > 0,4 : \frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \times \exp\left(-\frac{\pi^2 Dt}{l^2}\right)$$

$$\text{e se } M_t / M_i < 0,6 : \frac{M_t}{M_\infty} = \sqrt[4]{\frac{Dt}{\pi l^2}}$$

(no qual M_t / M_i é a libertação, D é o coeficiente de difusão, e l é a espessura da película).

Os coeficientes de difusão calculados para as várias composições de copolímeros estão dados no Quadro 5 abaixo. No Gráfico 2, é apresentado o efeito da percentagem de succinato no coeficiente de difusão. Foram utilizadas películas a partir da composição 1000PEG(T/S)60PB(T/S)40 carregadas com Lisozima.

Quadro 5.

| Succinato (%) no copolímero | Coeficiente de Difusão (D , cm^2/s) |
|-----------------------------|--|
| 0 | $(0.01360.026) \times 10^{-10}$ |
| 10 | $(0.1660.018) \times 10^{-10}$ |
| 50 | $(23.863) \times 10^{-10}$ |
| 100 | $(290626) \times 10^{-10}$ |

Quanto mais succinato estiver presente no

copolímero, mais elevado será o coeficiente de difusão. Isto é ainda mais visível no Gráfico 2. Portanto, se houver 100% de succinato no copolímero, a Lisozima pode passar através da matriz relativamente sem dificuldades.

Para uma composição de um copolímero PEGT/PBT que tenha aproximadamente o mesmo coeficiente de intumescimento, os copolímeros de succinato têm um coeficiente de difusão mais elevado [Bezemer J. M., Protein Release Systems based on Biodegradable Amphiphilic Multiblock Copolymers, Thesis University of Twente; 1992 p. 65].

B. Efeito do comprimento do segmento PEG do copolímero sobre a libertação.

As experiências foram realizadas com copolímeros de PEG com quatro diferentes pesos moleculares, mas todos tinham aproximadamente a mesma razão T/S: à volta de 50/50 mol/mol. Foram utilizadas três proteínas de diferentes dimensões para caracterizar as propriedades de libertação dos copolímeros:

- Lisozima: 14,5 kD

- Anidrase Carbónica: 29 kD

- BSA (Albumina do Soro Bovino): 67 kD.

No Gráfico 4 é dada a libertação de Lisozima.

A libertação de Lisozima estava completa dentro de apenas 5 horas para o 1000PEG(T/S)60PB(T/S)40 (Gráfico 3), e dentro de 1 hora para o 4000PEG(T/S)60PB(T/S)40. O 600PEG(T/S)60PB(T/S)40 necessitou de 10 dias para libertar toda a Lisozima aprisionada, enquanto que apenas 5% da proteína é libertada em 25 dias a partir do 300PEG(T/S). A Lisozima deve ser retida no interior da matriz do 300PEG(T/S). Dado que a libertação é rápida para os copolímeros contendo segmentos de PEG de 1000 e 4000 g/mol, a libertação é determinada predominantemente pelo intumescimento da matriz em vez de pela degradação. O 4000PEG apresentou a libertação mais rápida devido a ele intumescer mais do que as outras composições (Apêndice 1), resultando no coeficiente de difusão mais elevado.

A BSA é a maior proteína (67 kD) utilizada para este estudo da libertação (Gráfico 4). O polímero 1000PEG tinha uma libertação completada em 80 dias e o 4000PEG em 100 dias, enquanto que a libertação da BSA a partir do polímero 600PEG não estava ainda completada no dia 125.

A grande dimensão da proteína induz um retardamento no início: não há difusão inicial para fora da matriz. Se a libertação fosse determinada principalmente pelo intumescimento da matriz, seria esperada uma razão de libertação aumentada com o aumento do comprimento dos

segmentos de PEG. Surpreendentemente, a libertação a partir da composição 1000 é a mais rápida e está portanto ligada ao esquema de degradação. À volta de 40-50 dias, a matriz está mais aberta para a difusão da proteína, devido à degradação. Além disso, a libertação da composição 4000 é mais rápida do que a da composição 600 ao passo que os perfis de degradação são os mesmos. Isto é devido a uma combinação dos efeitos de intumescimento e de degradação.

C. Efeito da natureza/dimensão da proteína sobre a libertação.

As experiências foram realizadas com os mesmos 3 comprimentos de PEG como anteriormente (600, 1000 e 4000) e com a mesma percentagem de succinato (50%). Foram também utilizadas da mesma forma as proteínas Lisozima, Anidrase Carbónica e BSA.

Como um exemplo, as libertações de BSA, Lisozima e de Anidrase Carbónica a partir da composição 1000PEG(T/S) são dadas abaixo no Gráfico 5.

Podem ser observados dois perfis de libertação no Gráfico 5. As proteínas mais pequenas como a Lisozima ou a Anidrase Carbónica apresentaram uma libertação de curto prazo (dentro de horas/dias) devido mais à difusão através da matriz. Primeiro, dado que a BSA é demasiado grande, quase não há difusão. Depois, a difusão de BSA aumenta devido à degradação. Em conclusão, quando a dimensão da

proteína aumenta, a razão de libertação diminui.

IV. Conclusão.

Foram avaliados novos copolímeros contendo succinato para os propósitos de libertação porque a razão de degradação dos copolímeros PEGT/PBT era demasiadamente lenta para algumas aplicações. Foi mostrado que a libertação de proteína era mais rápida para os polímeros contendo succinato do que para os poli(éter-éster)s aromáticos. A Lisozima foi libertada a partir do 1000PEG(T/S)60PB(T/S)40 (50% de succinato) dentro de 5 horas, ao passo que para a composição PEGT/PBT comparável ela demorou 30 dias. Quando o peso molecular do PEG aumentou, a libertação foi mais rápida. Da mesma forma, quando a percentagem de succinato era mais elevada, a libertação era também mais rápida. Foram observados dois perfis de libertação. Para proteínas pequenas (Lisozima, anidrase carbónica), a libertação foi rápida através da matriz intumescida e foi obtida uma libertação de primeira ordem. Para a proteína maior (BSA), a libertação estava correlacionada com o comportamento de degradação do copolímero e foi observado um perfil de libertação retardada.

Exemplo 5: Degradação *in vivo*.

Foram preparados discos porosos ($d = 16$ mm) utilizando um processo de solvente de vazamento/lixiviação

de sal. Foram implantadas subcutaneamente amostras irradiadas com raios gama ao longo da linha dorso-mediana das costas de ratos Wistar grandes. As amostras foram explantadas após 2, 8 e 15 semanas. Foi realizada uma análise GPC sobre os copolímeros após a extração a partir dos tecidos utilizando clorofórmio.

Para esta investigação, tinham sido utilizadas quatro composições de copolímeros com um peso molecular do PEG (1000 D) e uma razão PEG(T/S)/PB(T/S) (65/35) fixos e com uma razão de substituição de succinato variável. Nos resultados, 10% de S, por exemplo, significa que a razão de tereftalato para succinato era de 90/10.

Os resultados da degradação *in vivo* (diminuição do peso molecular) estão apresentados no Gráfico 6. Para comparação, a perda de peso molecular *in vitro* está apresentada no Gráfico 7.

A degradação *in vivo* parece evoluir mais rapidamente do que *in vitro*. Contrastando com a degradação *in vitro*, o copolímero substituído a 10% degrada-se claramente mais depressa do que o copolímero substituído a 0%. Podem ser observadas tendências comparáveis para os outros copolímeros, apenas a uma razão mais rápida.

Exemplo 6: Comportamento de intumescência.

Tinham sido sintetizadas quatro composições de

copolímeros como descrito no Exemplo 1. Os copolímeros tinham um peso molecular do PEG (1000 D) e a razão PEG(T/S)/PB(T/S) (65/35) fixos e uma razão de substituição de succinato variável. Uma substituição de, por exemplo, 10% indica que uma fracção molar de 10% dos grupos diácido consistia de succinato, a restante percentagem molar de 90% era de tereftalato.

O intumescimento das películas foi determinado pela sua pesagem antes e após a incubação no tampão de libertação durante três dias. A equação utilizada para calcular a razão volume-intumescimento no equilíbrio está apresentada abaixo na equação 1:

$$Q = 1 + \frac{1,2 \times (M_{\text{intumescido}} - M_{\text{seco}})}{M_{\text{seco}}};$$

No qual 1,2 é a densidade do copolímero.

Equação 1: Razão de intumescimento no equilíbrio.

Resultados.

O Quadro 6 abaixo mostra claramente que um aumento na substituição dos grupos tereftálicos por grupos succinato aumenta a razão de intumescimento.

Quadro 6

| Substituição de tereftalato por succinato (% molar) | Intumescimento |
|--|----------------|
| 0 | 1,65 |
| 10 | 1,76 |
| 45 | 2,22 |
| 100 | 2,52 |

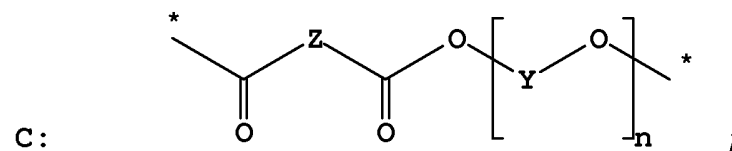
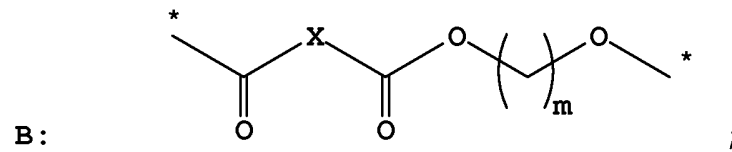
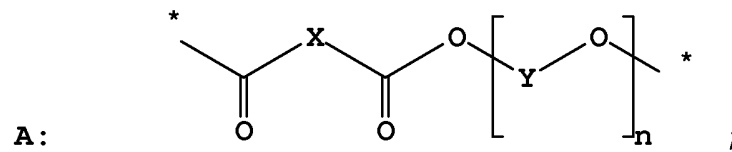
Apêndice 1: Listagem das experiências realizadas no
Exemplo 4

| Código da Amostra | Composição do Copolímero | T/S (mol/mol) | CH ₂ Cl ₂ (mL) | Proteína (55 mg/mL) | Tempo para se atingir a max. libertação (dias) | Intumes. | Espessura (µm) |
|-------------------|-----------------------------|---------------|--------------------------------------|---------------------|--|-----------|----------------|
| A | 600PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | BSA | 103 | 1.860.021 | 92 |
| B | 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | BSA | 89 | 2.460.040 | 95 |
| C | 4000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | BSA | 103 | 3.360.024 | 130 |
| D | 600PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Lisozima | 12 | 1.760.011 | 111 |
| E | 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Lisozima | 0,208 | 2.260.068 | 105 |
| F | 4000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Lisozima | 0,083 | 3.160.021 | 132 |
| G | 300PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Lisozima | 17 | 1.260.029 | 92 |
| H | 2000PEGT80PBT20 | 100/0 | 5 | Anidrase Carbónica | 1 | 3.360.058 | 159 |
| I | 600PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Anidrase Carbónica | 0,2 | 1.760.014 | 103 |
| J | 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Anidrase Carbónica | 1 | 2.360.080 | 91 |
| | 4000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 5 | Anidrase Carbónica | | 3.260.033 | 154 |
| | 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 8 | Anidrase Carbónica | | 2.260.08 | 78 |
| | 4000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 50/50 | 8 | Anidrase Carbónica | 5,5 | 3.060.10 | 99 |
| | 1000PEGT65PBT35 | 100/0 | 7 | Lisozima | 32 | 1.960.052 | 94 |
| | 1000PEGS60PBS40 | 0/100 | 5 | Lisozima | 0,208 | 2.860.038 | 112 |
| | 1000PEG (T/S) 60PB (T/S) 40 | 90/10 | 5 | Lisozima | 32 | 2.060.006 | 116 |

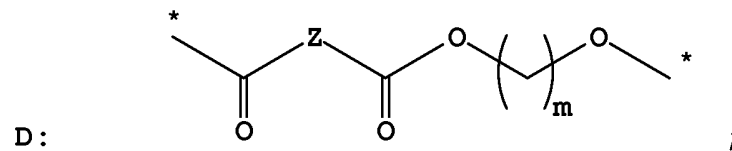
Lisboa, 13 de Outubro de 2006

REIVINDICAÇÕES

1. Dispositivo medicinal compreendendo um copolímero aleatório, cujo copolímero compreende unidades monoméricas



e



em que

* representa uma ligação a outra unidade monomérica;

X representa uma espécie contendo um grupo aromático;

Y é uma espécie alquilenos;

Z representa uma espécie alquilenos ou alcenilenos;

n é um inteiro na gama de 1-250, preferivelmente 8-100; e

m é um inteiro na gama de 2-16.

2. Dispositivo medicinal de acordo com a Reivindicação 1, em que a fracção em peso combinada das unidades A e C do copolímero está na gama de 0,1 até 1.

3. Dispositivo medicinal de acordo com a Reivindicação 1 ou 2, em que a fracção em peso combinada da soma do número de unidades monoméricas C e do número de unidades monoméricas D do copolímero é de 0,01 até 1, preferivelmente de 0,05 até 0,99.

4. Dispositivo medicinal de acordo com qualquer das Reivindicações precedentes, em que X no copolímero é um grupo fenilo.

5. Dispositivo medicinal de acordo com qualquer das Reivindicações precedentes, em que Y no copolímero é escolhido a partir do grupo de etileno, propileno, butileno

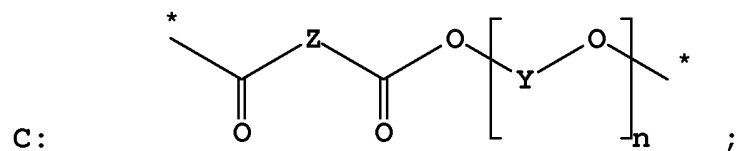
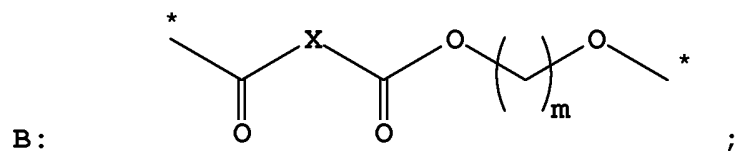
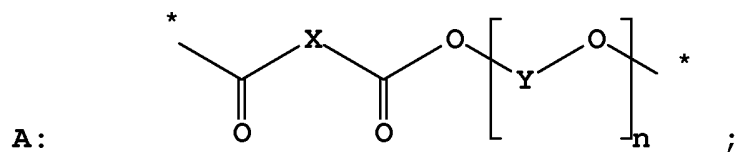
e combinações deles.

6. Dispositivo medicinal de acordo com qualquer das Reivindicações precedentes, em que Z no copolímero é escolhido a partir do grupo de etenileno, propileno, butileno, hexileno, e octileno.

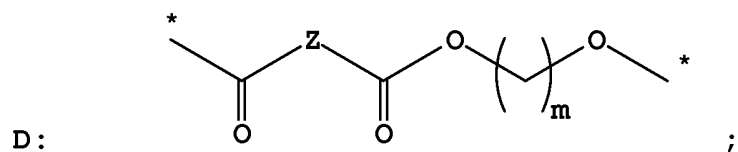
7. Dispositivo medicinal de acordo com qualquer das Reivindicações precedentes, em que o copolímero tem um peso molecular médio de desde 10000 até 500000 g/mol, preferivelmente de 40000 até 300000 g/mol.

8. Dispositivo medicinal de acordo com qualquer das Reivindicações 1-7, sendo uma armação para a engenharia de tecidos *in vitro*, uma matriz para a libertação controlada de fármacos, um substituto para a reparação de tecidos, uma sutura, um parafuso ósseo, uma âncora para suturas, um perno cónico ou não cónico, ou um grampo.

9. Utilização de um copolímero compreendendo unidades monoméricas



e



em que

* representa uma ligação a outra unidade monomérica;

X representa uma espécie contendo um grupo aromático;

Y é uma espécie alquileno;

Z representa uma espécie alquileno ou alcenileno;

PE1481017

- 5 -

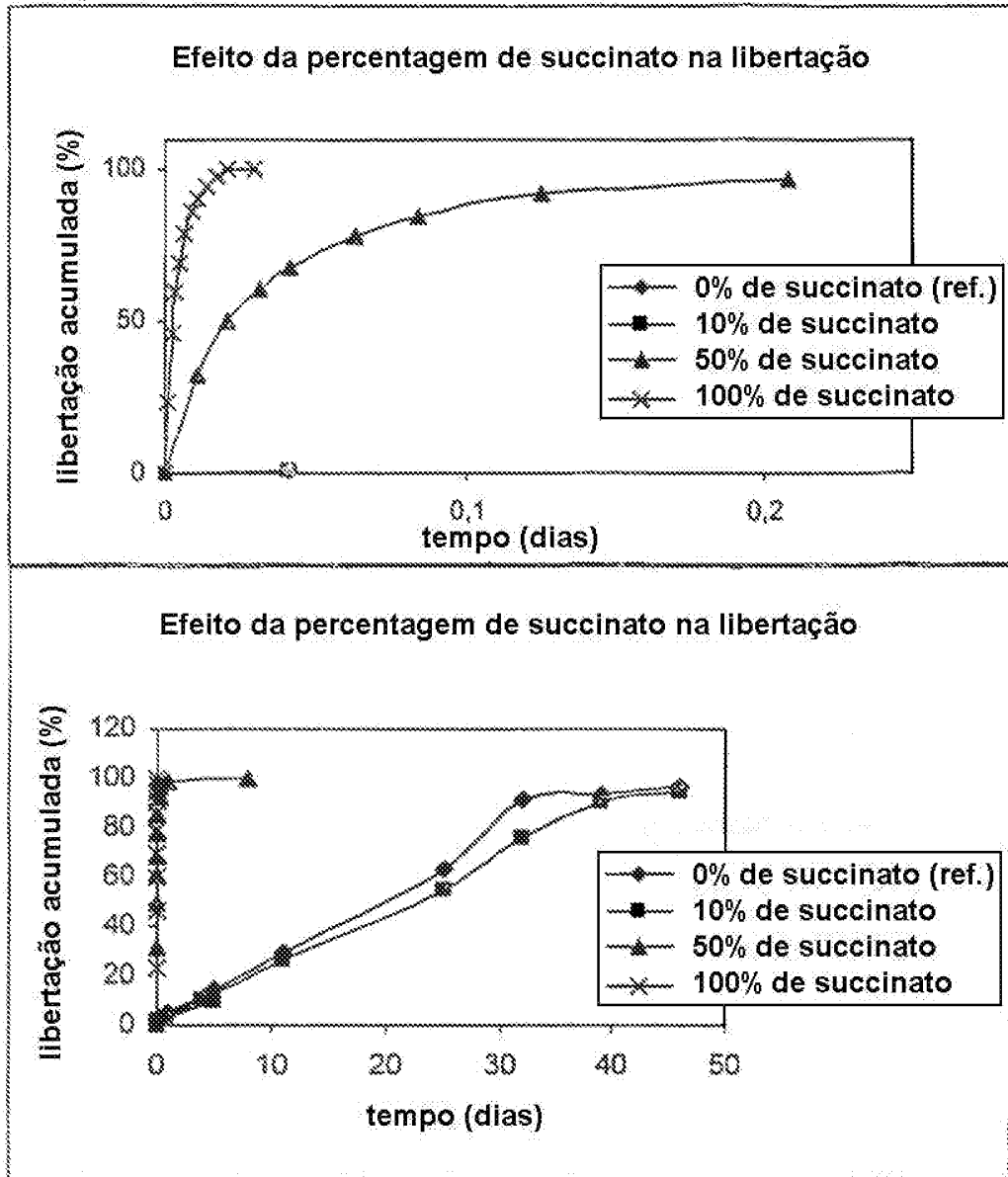
n é um inteiro na gama de 1-250, preferivelmente 8-100; e

m é um inteiro na gama de 2-16,

para o fabrico de um medicamento para a reparação de tecidos ou para a libertação controlada de fármacos.

Lisboa, 13 de Outubro de 2006

Fig. 1



Gráficos 1A (inicial) e B (longo prazo):
 Libertação acumulada (%) de Lisozima a partir de
 1000PEG(T/S)60PB(T/S)40 quando a percentagem de succinato
 era de 10%, 50%, 100% e a partir da "referência"
 1000PEGT65PBT35.

Fig.2

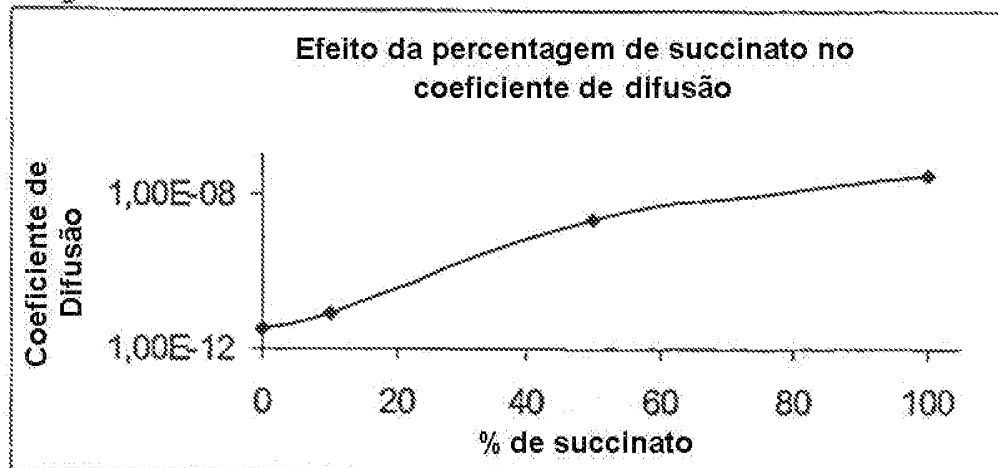


Gráfico 2: Efeito da percentagem de succinato no coeficiente de difusão (para 0, 10, 50 e 100% de succinato).

Fig. 3

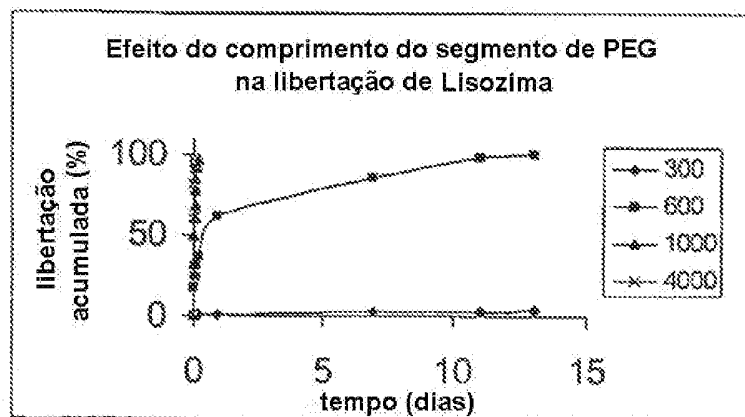


Gráfico 3: Libertação acumulada (%) de Lisozima a partir de copolímeros com 4 diferentes comprimentos de PEG: 300, 600, 1000 e 4000, quando a razão T/S era de 50/50 em % molar e quando "b" era de 60 e "c" era de 40.

Fig. 4

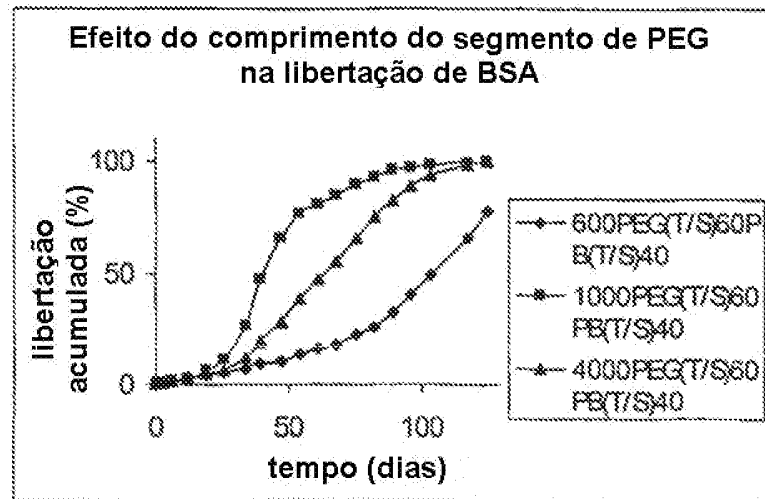


Gráfico 4: Liberação acumulada (%) de BSA a partir de copolímeros com 3 diferentes comprimentos de PEG: 600, 1000 e 4000, quando a razão T/S era de 50/50 em % molar e quando "b" era 60 e "c" era 40.

Fig. 5

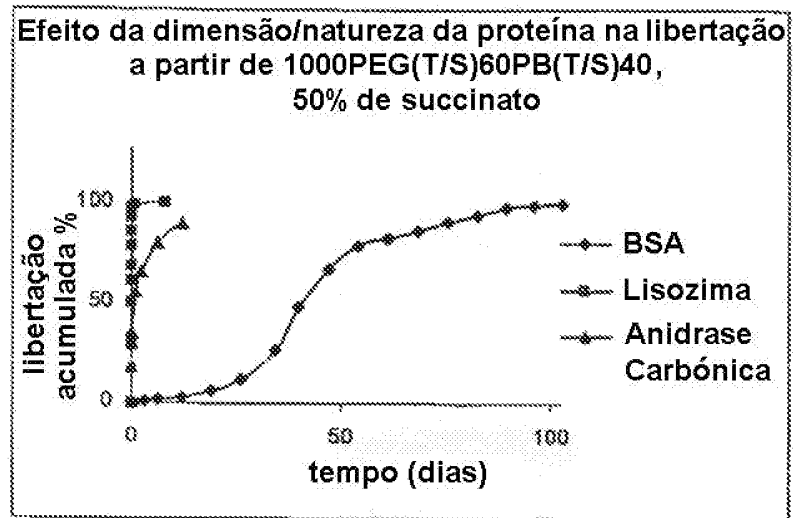


Gráfico 5: Libertação acumulada (%) de BSA, Lisozima e Anidrase Carbónica a partir de 1000PEG(T/S)60PB(T/S)40, quando a razão T/S era de 50/50 em % molar.

Fig. 6

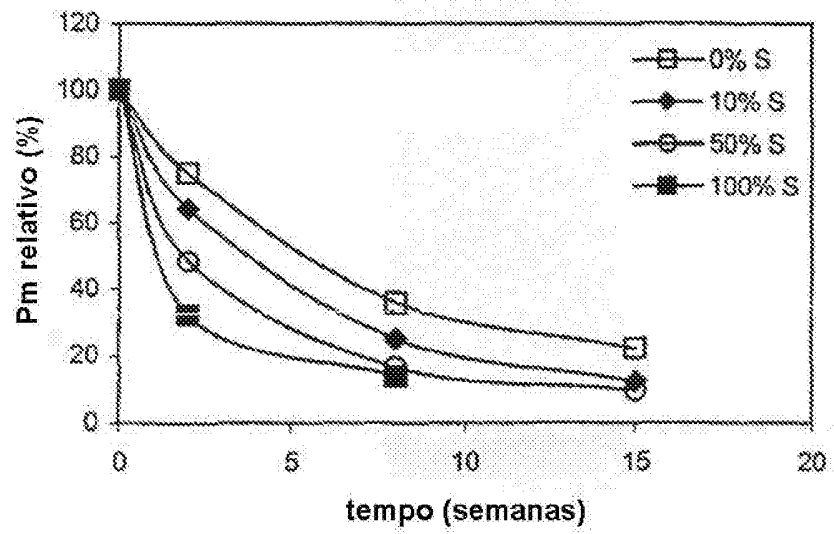


Gráfico 6: Peso molecular relativo para o 1000PEG(T/S)65PB(T/S)35 (*in vivo*).

Fig. 7

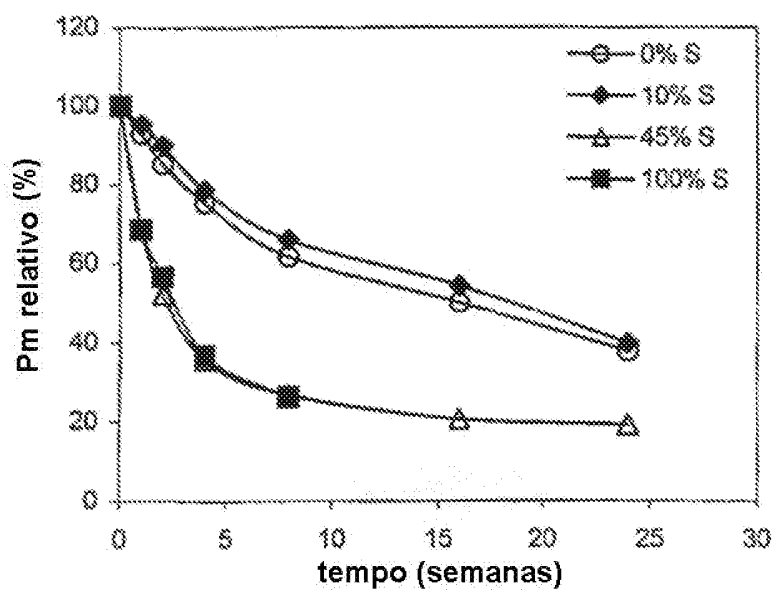


Gráfico 7: Peso molecular relativo para o 1000PEG(T/S)65PB(T/S)35 (*in vitro*).