

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 669 370**

51 Int. Cl.:

**A61L 27/18** (2006.01)  
**A61L 27/56** (2006.01)  
**A61L 27/58** (2006.01)  
**A61L 27/38** (2006.01)  
**A61L 31/14** (2006.01)  
**A61L 31/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.06.2006** E 06011457 (6)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018** EP 1862188

54 Título: **Membrana porosa que comprende un copolímero en bloques biocompatible**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.05.2018**

73 Titular/es:  
**EIDGENÖSSISCHE TECHNISCHE HOCHSCHULE  
ZÜRICH (100.0%)  
RÄMISTRASSE 101  
8092 ZÜRICH, CH**

72 Inventor/es:  
**NEUENSCHWANDER, PETER**

74 Agente/Representante:  
**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 669 370 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Membrana porosa que comprende un copolímero en bloques biocompatible

La presente invención se refiere a una membrana que comprende un copolímero en bloques biocompatible que puede obtenerse mediante una policondensación de al menos dos unidades de bloque. También se proporciona un procedimiento para preparar dicha membrana.

A pesar de la vasta cantidad de polímeros disponibles hoy en día, hay solamente unos pocos que se emplean en el campo biomédico. Esto es especialmente válido con respecto a implantes. Las razones para esta situación son básicamente la biocompatibilidad, las propiedades mecánicas tales como rigidez y elasticidad, capacidad de esterilizarse, de gran habilidad de estos polímeros y un número constantemente creciente de regulaciones administrativas en diferentes países que tienen que cumplirse al usar tales polímeros para propósitos médicos.

El procedimiento de formación de membranas es muy complejo y difícil de controlar. En muchos casos, las membranas resultantes son difícilmente permeables o en absoluto impermeables.

El documento EP 0 196 486 divulga un copolímero en bloques biocompatible que puede usarse como implante médico. Este copolímero en bloques tiene un componente cristalino y uno amorfo. Sin embargo, la degradabilidad de estos copolímeros en bloques no es suficientemente rápida para todas las aplicaciones.

El documento EP 1 498 147 describe un copolímero en bloques biocompatible con una degradabilidad controlable. El copolímero en bloques también puede emplearse en implantes médicos.

El documento EP 1 452 189 divulga un artículo moldeado que comprende poli(ácido glicólico) como un material de soporte dimensionalmente estable. La superficie de dicho soporte se recubre con un copolímero en bloques que es biocompatible y degradable. El artículo moldeado puede usarse como implante.

El documento EP 1 452 190 describe un implante con un recubrimiento que comprende un copolímero en bloques biocompatible y una capa de polilisina en la parte superior del copolímero en bloques.

El documento US 2005/0155926 divulga un terpolímero hecho de tetrafluoroetileno, hexafluoropropileno y fluoruro de vinilideno. También se proporciona un procedimiento clásico para producir una membrana que comprende dicho terpolímero.

Han sido preparadas membranas de acuerdo con una variedad de procedimientos. Un procedimiento clásico es conocido como "separación de fase que no se induce por un disolvente" (NIPS). En este procedimiento, el polímero se disuelve en un disolvente. Una película de esta solución se dispone sobre un soporte. Luego, la película se pone en contacto con un fluido que es un no-disolvente para el polímero, pero el cual es miscible con el disolvente para inducir inversión de fase de la película.

Otro procedimiento más que ha sido usado para preparar membranas se llama "separación de fase inducida por difusión". La solución de polímero se pone en contacto con un baño de coagulación. El disolvente se difunde hacia fuera hacia el baño de coagulación mientras que el no-disolvente se difunde hacia la película moldeada. El intercambio de disolvente y de no-disolvente produce una solución que se vuelve termodinámicamente inestable, lo cual da lugar a la separación de los componentes. Se obtiene una membrana plana.

El término medicina o médico, tal como se usa aquí, significa medicina tanto humana como veterinaria.

Membrana, tal como se usa aquí, significa una estructura típicamente plana, porosa. Sin embargo, la membrana también puede tener diferentes formas, por ejemplo, una forma tubular o puede ser una fibra hueca.

El término "poro", tal como se usa aquí, significa un espacio mínimo en un material el espacio mínimo tiene una forma altamente compleja e irregular.

Malla, tal como se usa aquí, significa una red típicamente plana que comprende fibras que se interconectan de manera regular o irregular.

El problema de la presente invención es proporcionar membranas que comprenden un copolímero en bloques, que son biodegradables, tienen muy buena capacidad de esterilizarse y excelentes propiedades mecánicas, por ejemplo, rigidez y elasticidad, y que tienen una estructura porosa uniforme.

El problema se soluciona mediante una membrana según la reivindicación 1. Otras formas preferidas de realización son el objeto de las reivindicaciones dependientes 2 a 14.

Las membranas de la presente invención comprenden un copolímero en bloques que es altamente biocompatible y también biodegradable. La degradabilidad puede controlarse precisamente mediante cambios menores en la composición química de la membrana. El material de base de la membrana es un polímero puro. No se necesitan

otros aditivos tales como estabilizantes, antioxidantes o plastificantes, que podrían afectar adversamente la excelente biocompatibilidad. Otras propiedades ventajosas son su elasticidad mientras aún mantienen una excelente rigidez mecánica. Las propiedades mecánicas dependen mucho del compuesto cristalino y del compuesto no cristalino.

5 Las membranas según la presente invención tienen estructuras porosas. Los poros están presentes por toda la membrana y regularmente se distribuyen en la membrana dando lugar a una membrana regularmente estructurada. Las membranas consideran simétricas puesto que las interfaces en ambos lados muestran las mismas estructuras, sólo con mínimas diferencias en comparación con la estructura del interior. Además, el tamaño promedio del poro  
10 varía solamente dentro de un intervalo limitado. La porosidad y el tamaño de poro de la membrana de la presente invención pueden variar según las necesidades del uso destinado, lo cual hace que las membranas sean una herramienta muy versátil. La porosidad puede controlarse, por una parte, mediante la concentración de la solución de copolímero en bloques y, por otra parte, mediante la selección del disolvente. Una concentración creciente conduce a un decrecimiento del tamaño de poro.

15 Es posible que los líquidos y las (macro-)moléculas se difundan hacia o incluso pasen a través de la membrana de la presente invención. Esta permeabilidad, que obedece a la ecuación de Fick, es una gran ventaja si la membrana se usa en sistemas biológicos. Allí es muy importante que las membranas artificiales permitan el intercambio de gases tales como, por ejemplo, oxígeno, de líquidos y de compuestos tales como, por ejemplo, nutrientes para células y desechos de las células. Si se obstruye tal intercambio, o no es posible en absoluto, pueden morir las células que están en contacto estrecho con tales membranas. Las membranas según la presente invención son permeables o  
20 semipermeables.

La permeabilidad depende del tamaño de los poros. Las membranas de la presente invención tienen poros en un intervalo de tamaños de 0,2 a 20,0 µm, preferiblemente en el intervalo de tamaños de 0,2 a 10,0 µm. La permeabilidad para tales membranas (por ejemplo, Fig. 6) se define como

$$P = \frac{\text{(cantidad de material que se permea) (grosor de membrana)}}{\text{(área) (tiempo) (gradiente de fuerza de impulso a través de membrana)}}$$

25 La permeabilidad de las membranas según la presente invención, para agua a 25 °C, se encuentra en el orden de  $1 \times 10^{-6}$  kg/m·s·Pa. La permeabilidad de las membranas según la presente invención se encuentra en el intervalo de  $0,1 \times 10^{-6}$  a  $5 \times 10^{-6}$  kg/m·s·Pa.

30 Las membranas de la invención son extremadamente biocompatibles en cultivos celulares in vitro con macrófagos y fibroblastos debido a la observación de adhesión celular, crecimiento celular, vitalidad celular y activación celular, y de la producción de proteínas extracelulares y citocinas.

35 Las propiedades mecánicas y la degradabilidad pueden cambiarse casi independientemente una de otra. Esta combinación de propiedades de membrana es única. Puesto que las membranas que desempeñan un procedimiento de separación habitualmente también son presionadas mecánicamente, sus características mecánicas también son de importancia. Una membrana típica (tal como, por ejemplo, en la fig. 6) tiene un desempeño mecánico en el intervalo de los valores indicados en la siguiente tabla:

Tabla 1

Propiedades mecánicas	Media ± SD
Resistencia a tracción (km)	0,15 ± 0,04
Elongación a ruptura (%)	115,59 ± 46,31
Módulo de elasticidad (km)	0,42 ± 0,05

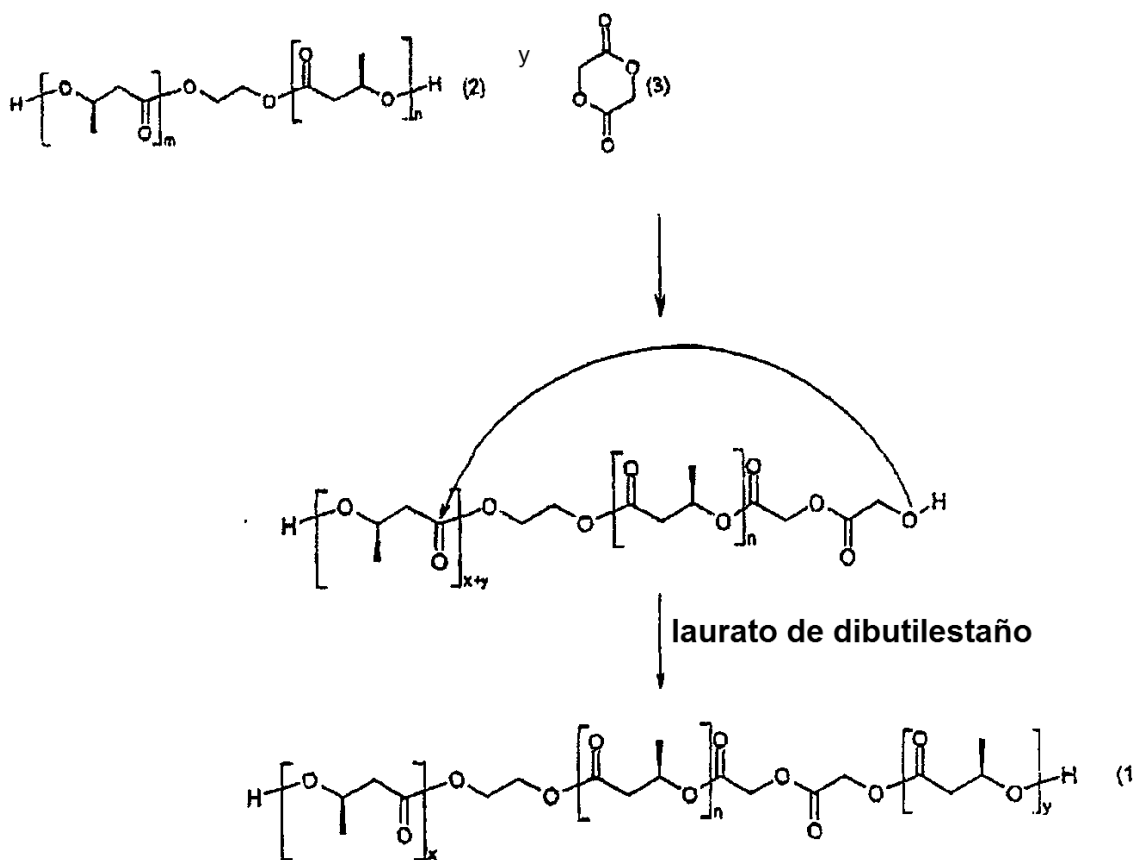
Las membranas según la presente invención comprenden un copolímero biocompatible en bloques. Tales copolímeros biocompatibles en bloques han sido descritos en los documentos EP 0 696 605 y EP 1 498 147.

40 Este copolímero en bloques tiene al menos dos unidades de bloque que pueden obtenerse mediante policondensación lineal en presencia de diisocianato, dihaluro diácido o fosgeno de una primera unidad de bloque que es  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) con una segunda unidad de bloque seleccionada del grupo que consiste en un diol (I), un  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (II), un  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéter (III) y el mismo  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV). El diol (I) es obtenible mediante transesterificación de poli-[(R)-(3)-ácido hidroxibutírico] o copolímeros del mismo con ácido 3-hidroxivalérico con etilenglicol.

El  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (II) puede obtenerse mediante polimerización con apertura de anillo de ésteres cíclicos seleccionados del grupo que consiste en (L,L)-dilactida, (D,D)-dilactida, (D,L)-dilactida, diglicolida o mezclas de las mismas, o lactonas seleccionadas del grupo que consiste en  $\beta$ -(R)-butirolactona,  $\beta$ -(S)-butirolactona,  $\beta$ -rac-butirolactona y  $\epsilon$ -caprolactona o mezclas de las mismas.

- 5 El  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (III) se selecciona del grupo que consiste en  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poli(oxitetrametileno),  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poli(oxietileno) y copolímeros de etilenglicol y propilenglicol.

El  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) puede obtenerse mediante transesterificación de  $\alpha,\omega$ -dihidroxi[oligo(3-(R)-hidroxibutirato)etileno-oligo(3-(R)-hidroxibutirato)] (I), al cual en lo sucesivo se hace referencia como PHB diol (IV), con diglicolida dilactida o caprolactona o mezclas de las mismas y la transesterificación se lleva a cabo preferiblemente en presencia de un catalizador. En el siguiente esquema de reacción, m es 1 a 50, n es 1 a 50, x+y es 1 a 50.



- 15 Los catalizadores preferidos son catalizadores de transesterificación, en particular a base de estaño tales como, por ejemplo, dilaurato de dibutilestaño. El diol tiene preferiblemente un peso molecular de 500 a 10000 dalton. El diol (1) tiene preferiblemente un contenido total de glicolida de hasta 40 % molar, de modo particularmente preferible hasta 30 % molar. Un diol preferido de la invención es  $\alpha,\omega$ -dihidroxi[oligo(3-Rhidroxibutirato)-stat-glicolida]etileno-oligo(3R)-hidroxibutirato-stat-glicolida) o los correspondientes compuestos de stat-lactida o stat-caprolactato si se usan dilactida o caprolactona en lugar de diglicolida.

- 20 Otros  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliésteres (II) adecuados son oligómeros de ácidos  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\omega$ -hidroxicarboxílicos y su uso co-oligómeros que se obtienen mediante polimerización con apertura de anillo de ésteres cíclicos o lactonas. Los ésteres cíclicos preferidos de este tipo son (L,L)-dilactida, (D,D)-dilactida, (D,L)-dilactida, diglicolida o las lactonas preferidas tales como  $\beta$ -(R)-butirolactona,  $\beta$ -(S)-butirolactona,  $\beta$ -rac-butirolactona y  $\epsilon$ -caprolactona o mezclas de las mismas. La apertura de anillo tiene lugar con dioles alifáticos tales como etilenglicol o dioles de cadena más larga. El peso molecular del macrodiol resultante se determina por la cantidad estequiométricamente empleada de estos dioles.

La polimerización con apertura de anillo de los ésteres cíclicos lactonas tiene lugar preferiblemente sin diluyente, en presencia de un catalizador tal como, por ejemplo,  $SnO(Bu)_2$  a 100°C a 160°C. Los macrodioles resultantes tienen pesos moleculares de aproximadamente 300-10000 dalton. Los macrodioles preparados a partir de mezclas de lactonas o ésteres cíclicos tienen una microestructura que depende de la cantidad del catalizador y que es aleatoria

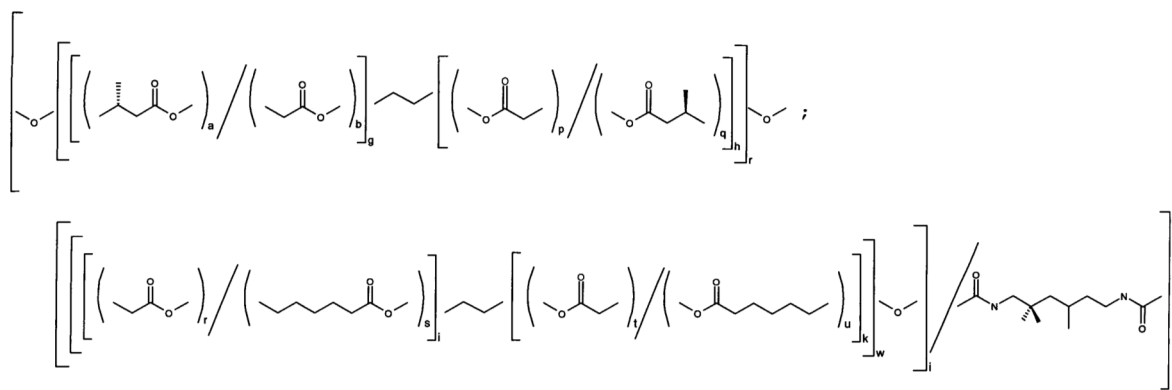
o alternante en la distribución de los componentes monoméricos entre la forma de bloque. Las estadísticas de distribución tienen una influencia en las propiedades físicas. Ejemplos de tales ésteres que pueden obtenerse mediante polimerización con apertura de anillo de las lactonas y de los ésteres cíclicos en presencia de un catalizador y que pueden usarse para preparar los copolímeros en bloques son  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[poli(L-lactida)-etileno-poli(L-lactida)];  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato)-etileno-oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato)];  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(glicolida-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)-etileno-oligo(glicolida-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)];  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(L-lactida-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)-etileno-oligo(L-lactida-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)];  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(L-lactida-*ran*-glicolida)-etileno-oligo(L-lactida-*ran*-glicolida)];  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato-*ran*-glicolida)-etileno-oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato-*ran*-glicolida)];  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato-*ran*-L-lactida)-etileno-oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato-*ran*-L-lactida)] y  $\alpha,\omega$ -hidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)-etileno-oligo(3-(R)-hidroxibutirato-*ran*-3-(S)-hidroxibutirato-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)].

La polimerización con apertura de anillo para preparar estos macrodioles también puede tener lugar sin catalizador. Los diisocianatos adecuados para preparar la variante de poliuretano de los copolímeros en bloques son, en particular, diisocianato de hexametileno, diisocianato de 2,2,4-trimetilhexametileno, 1,4-diisocianato de ciclohexilo, 1,2-diisocianato de ciclohexilo, diisocianato de isoforona, diisocianato de metilenodieciclohexilo y éster metílico de diisocianato de L-lisina.

Los haluros diácidos particularmente adecuados para preparar la variante de poliéster de los copolímeros en bloques son aquellos de ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido pimélico, ácido subérico, ácido azelaico, ácido trimetiladípico, ácido sebáico, dodecanodíacido, ácido tetradecanodíacido y ácido hexadecanodíacido.

La reacción para proporcionar el polímero de la invención tiene lugar de modo casi cuantitativo. Además, se ha encontrado que la incorporación de las unidades de dilactida, diglicolida y/o caprolactona da lugar a los polímeros de la invención que son solubles en cloruro de metileno. Por lo tanto, es posible retirar impurezas mediante filtración. De esta manera se proporciona un procedimiento rentable con el cual puede prepararse el polímero de la invención con alta pureza. La primera unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxipoliéster (IV) y la segunda unidad de bloque es el diol (I), el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (II),  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéter (III) o el mismo  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV).

Un copolímero en bloques particularmente preferido es poli[poli[ $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirato)-stat-glicolida)-etileno-oligo-(3-(R)-hidroxibutirato-stat-glicolida)]alt-2,2,4-trimetilhexametileno 1,6-diisocianato]-co-poli[dihidroxi[oligo-glicolida-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)-etileno-(oligo-glicolida-*ran*- $\epsilon$ -caprolactona)]alt-2,2,4-trimetilhexametileno 1,6-diisocianato] de la fórmula



Donde a = 1 a 50, b = 1 a 10, g = 1 a 50, h = 1 a 50, i = 1 a 50, k = 1 a 50, w = 1 a 50, p = 1 a 10, q = 1 a 50, r = 1 a 10, s = 1 a 50, t = 1 a 10, u = 1 a 50 y z = 1 a 50. Otros polímeros preferidos son idénticos a los antes mencionados, con la excepción de que la unidad de glicolida del polímero se reemplazan por la correspondiente lactida o caprolactona.

Las membranas que comprenden unidades de glicolida que son particularmente preferidas son aquellas degradables en cinco a seis días dentro del cuerpo de un ser humano o un animal. Otras membranas preferidas son aquellas cuya degradación tiene lugar durante meses o años. La velocidad de degradación depende principalmente del número de unidades de diglicolida o glicolida. Al almacenar en una solución neutra de regulador de pH, a 37 °C, el peso molecular disminuye con el tiempo como una función del contenido de glicolida. El uso de unidades de dilactida o caprolactona no cambia la velocidad de degradabilidad de los polímeros de la invención en el cuerpo.

Las membranas pueden comprender más de una capa. En una forma preferida de realización, la membrana comprende solamente una capa individual.

Se ha encontrado que la membrana según la presente invención tiene una biocompatibilidad excepcionalmente buena. Además, es posible controlar la velocidad hidrolítica y biológica de la degradabilidad de la membrana

mediante la incorporación de las unidades de glicolida o diglicolida. La degradabilidad del copolímero en bloques afuera del cuerpo puede incrementarse, además de mediante la incorporación de unidades de glicolida o diglicolida, mediante (L,L)-dilactida, (D,D)-dilactida, (D,L)-dilactida o mezclas de las mismas.

5 En una forma preferida de realización, las membranas tienen un tiempo de servicio. Este tiempo de servicio puede definirse como el tiempo que transcurre desde el punto de tiempo en el cual la membrana se pone en contacto por primera vez con agua y el. En el tiempo cuando las propiedades mecánicas del material comienzan a desplegarse y las propiedades de la membrana se vuelven insuficientes para cumplir su tarea. Es decir, cuando la membrana comienza a perder masa, esta se vuelve frágil o se alteran el tamaño de poro y la forma. Estos cambios van en paralelo con los cambios del parámetro en la tabla 1 anterior. El tiempo de servicio de las dichas membranas puede ser de 5 días hasta 2 años. De manera preferible, el tiempo de vida de servicio de una membrana según la presente invención se encuentra entre 14 a 28 días. Este intervalo es adecuado para ingeniería tisular. Con base en las moléculas, este es el punto de tiempo cuando las macromoléculas que constituyen nuestro material disminuyen su peso molecular promedio por debajo de aproximadamente 10 000 Da.

15 Las membranas de la presente invención pueden emplearse como ayudas quirúrgicas o pueden estar comprendidas en ayudas quirúrgicas. Una ventaja principal del uso de membranas como ayudas quirúrgicas o implantes es su degradabilidad controlable. Debido a que esta degradabilidad puede hacerse la medida según las necesidades de la situación particular, puede evitarse una segunda cirugía para retirar un implante que ya no se necesite. Tales segundas cirugías son una fuente prominente de complicaciones causando, por ejemplo, inflamación no deseada, infecciones, etc., además del hecho de que aumentan los costes.

20 Puesto que las membranas pueden prepararse de diversas formas, por ejemplo, planas, tubulares o en forma de cápsulas, las membranas proporcionan una flexibilidad excelente en términos de usos posibles. Por ejemplo, los implantes pueden ser en forma de un tubo. El tubo puede ser rígido o flexible. Los tubos pueden tener secciones de cortes transversales circulares, elípticas y poligonales.

25 El material de implante puede tener una estructura porosa para usos particulares. Es posible regenerar una pared del vaso funcional o un nervio con los implantes de la invención. Recubriendo con células de vasos funcionales (células endoteliales) es posible evitar una oclusión trombótica al usar a largo plazo; es decir que el polímero biocompatible puede ser un reemplazo. El implante también puede tener una forma de cápsula para recibir sustancias farmacéuticamente activas o diagnósticos incluso en forma de partículas.

30 En una forma preferida de realización, la membrana de la presente invención comprende al menos un compuesto farmacéuticamente activo o una ayuda diagnóstica. Tales compuestos incluyen hormonas, enzimas, citocinas, factores de crecimiento, medicamentos antiinflamatorios, por ejemplo, medicamentos antiinflamatorios esteroides o no esteroides (NSAIDs) y similares. Estos compuestos pueden quedar atrapados dentro de la membrana o pueden enlazarse de modo covalente a la membrana. De manera preferible se enlazan de modo covalente a la membrana.

35 Además, otros posibles usos en forma física y/o biológica apropiada se encuentran en micro- o nano-tecnologías médicas/dentales.

La presente invención también se refiere a un procedimiento según la reivindicación 15 para preparar una membrana de la presente invención. Las formas preferidas de realización son el objeto de las reivindicaciones dependientes 16 a 20.

40 Un procedimiento para preparar una membrana según la presente invención comprende las siguientes etapas: primero se disuelve un copolímero en bloques biocompatible en un disolvente adecuado, por ejemplo, dioxano segundo, la solución de copolímero en bloques se aplica sobre un soporte. Si la membrana que va a prepararse es una placa plana, de vidrio, puede usarse como un soporte tercero, después de que se ha aplicado la solución de copolímero en bloques sobre el soporte, dicho soporte se sumerge en un no-disolvente el cual es miscible con el disolvente, lo cual da lugar a la membrana porosa cuyos poros tienen un tamaño en el intervalo de 0,2 a 20,0  $\mu\text{m}$ .

45 El soporte que se emplea depende de la forma deseada de la membrana. Aparte de las membranas de vidrio para membranas planas, pueden usarse formas tubulares para preparar membranas de forma cilíndrica.

En lugar de sumergir el soporte con la solución de copolímero en bloques aplicada en el no-solvente, este último también puede rociarse sobre dicho soporte.

50 Disolventes adecuados para los copolímeros en bloque son dioxano, cloroformo, carbonato de dimetilo y butanona. Un disolvente preferido es 1,4-dioxano. Este puede retirarse fácilmente del polímero y tiene los menos efectos tóxicos laterales.

En calidad de no-disolventes pueden usarse agua, metanol y etanol.

Un no-disolvente preferido es agua. Una pareja preferida de solvente/no-disolvente es 1,4-dioxano y agua.

Según las reivindicaciones 21 y 22, la presente invención también se refiere a estructuras con forma de lámina que comprenden una membrana.

- 5 Dicha estructura con forma de lámina puede comprender una membrana y, por ejemplo, una malla. Las fibras que forman la malla mejoran aún más la estabilidad mecánica de la estructura.

A continuación, se describen brevemente las figuras:

La figura 1A ilustra la etapa de succionar la solución de polímero a un tubo preparando una membrana que tiene una forma tubular, usando el "procedimiento negativo".

- 10 La figura 1B muestra otra etapa del "procedimiento negativo" en la cual el tubo que tiene la solución de polímero restante se monta horizontalmente y gira para lograr una capa uniforme del polímero.

La figura 2 ilustra la estructura porosa de una membrana preparada a partir de 16 % de solución de polímero (disolvente dioxano).

- 15 La figura 3 muestra la estructura porosa de una membrana preparada a partir de 14 % de solución de polímero (disolvente dioxano).

La figura 4 muestra ilustra la porosidad de una membrana preparada a partir de 14 % de solución de polímero (disolvente dioxano)

La figura 5 muestra una membrana preparada a partir de 14 % de solución de polímero (disolvente dioxano).

La figura 6 muestra corte de sección transversal de una membrana.

- 20 La figura 7 muestra corte de sección transversal de una membrana a una magnificación más alta.

La figura 8 ilustra una estructura con forma de lámina que comprende una membrana y una malla.

La figura 9 muestra nuevamente una estructura con forma de lámina.

La figura 10 ilustra la combinación de una membrana y una malla que forma una estructura con forma de lámina.

- 25 La figura 11 muestra una estructura con forma de lámina que comprende una membrana y una malla a una magnificación más alta.

La figura 12 muestra una estructura con forma de lámina a una magnificación más alta.

La figura 13 muestra una costura de soldadura de dos membranas que forman una estructura con forma de bolsa.

La figura 14 muestra una sección de dos membranas que han sido soldadas.

La figura 15 muestra una costura de soldadura de una cápsula de membrana.

- 30 La figura 16 muestra células de fibroblasto 3T3 después de 72h en la membrana de eluido (a) de control (b).

La figura 17 muestra una tinción con diacetato de fluoresceína de células vivas sobre la membrana, 72h.

La figura 18 muestra una tinción con diacetato de fluoresceína de células vivas sobre la membrana, 12d.

### **Ejemplo 1**

#### Fabricación de una membrana

- 35 Para obtener una membrana, el peso molecular (Mw) del copolímero en bloques biocompatible tiene que exceder un límite inferior  $50'000 \text{ Da} < \text{Mw}$ . De otra manera el resultado será una película transparente y no una membrana. El polímero se disuelve en dioxano a una concentración de 6-25 % p/p. Sucesivamente se usan cuatro baños de coagulación. El primero con EtOH (o un no-disolvente alternativo), el segundo con MeOH (o un no-disolvente alternativo), el tercero con agua destilada (al cual sea adicionado un poco detergente) y el último con agua destilada.
- 40 Sobre una placa de vidrio limpia, con ayuda de una cuchilla de racla, lo cual permite extender una película de 500 pm que se usa. Se empuja suavemente sobre la superficie del vidrio. La placa de video con la capa de solución de polímero sobre esta entra en contacto con el no-disolvente en el primer baño, donde la película transparente se vuelve opaca lo cual da lugar a una membrana porosa. Luego, la película se lava sucesivamente en los baños restantes y al final del cuarto baño la membrana se seca al aire o en un horno al vacío. Los poros resultantes tienen
- 45 un tamaño en el intervalo de 0,2  $\mu\text{m}$  a 20  $\mu\text{m}$ . De modo alternativo, la película que se extiende sobre la placa de

video puede ponerse en contacto primero con un no disolvente rociando el no disolvente como una neblina fina sobre la superficie. Este procedimiento puede transferirse a un procedimiento agrandado de fabricación de membrana sobre la superficie de un cilindro giratorio.

### **Producción de un tubo de membrana**

- 5 Para recibir un tubo de membrana perfecto, el peso molecular del polímero aplicado debe exceder 70000 dalton. El polímero se disuelve en dioxano a una concentración de 25 %.

Son necesarios tres baños: el primero con MeOH enfriado a  $-20^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). La temperatura debe ser tan constante como sea posible. El segundo con EtOH mantenido a  $0^{\circ}\text{C}$  y el último lleno con agua destilada temperatura ambiente.

Existen dos procedimientos para fabricar tubos: el primero es el llamado procedimiento negativo.

- 10 Se suministra un tubo de vidrio con el diámetro interno correcto, así como también un tubo interno (se necesita PTFE o vidrio para impedir que se pegue la membrana resultante).

La solución preparada de antemano es succionada hacia el tubo (figura 1A). El disolvente de repuesto gotea de vuelta hacia el contenedor. La solución que prosiguen se adhiere a la pared del tubo.

- 15 El tubo de vidrio se monta ahora horizontalmente a un motor de agitación y se hace girar a 2000 giros por minuto durante varios segundos (figura 1B).

En consecuencia, la capa resultante sobre la pared del tubo de vidrio es de un grosor homogéneo.

Después, el tubo se deja caer instantáneamente al primer baño enfriado y permanece allí durante aproximadamente cinco minutos. Después de esto, el tubo se transfiere durante otros cinco minutos al segundo baño y finalmente al último (antes de ponerlo en el último, tiene que ajustarse el tubo interno).

- 20 El segundo procedimiento se llama el procedimiento positivo.

Aquí usamos directamente una barra con el diámetro correcto: la solución de polímero preparada debe ser tan viscosa como sea posible puesto que se adhiere a la superficie de la vara. La barra se baña en la solución de polímero y se pone inmediatamente en el primer baño donde la capa delgada de la solución de dioxano se congela instantáneamente. Después de 30 minutos se transfiere al segundo baño y finalmente se pone en el tercero donde la membrana se rasga o se desmonta de la barra.

- 25

### Porosidad y estructura de la superficie

La porosidad puede ajustarse modificando la concentración de la solución. Iniciando con una solución de 10 % y terminando con una por encima de 25 %, el polímero se disuelve en dioxano.

Se muestra que una concentración creciente está acompañada de una reducción del tamaño del poro.

- 30 Combinación de membrana y de fibras electro-hiladas

Las membranas resultantes son homogéneamente porosas, pero no muy fuertes. Por lo tanto, fue aspirada una combinación de membrana y de malla de fibras electro-hiladas fuertemente. (Con el mismo polímero). Ejemplos típicos de tales estructuras con forma de lámina que comprenden una membrana y una malla de fibras se muestran en las figuras 8 a 12.

- 35 Bolsas de membrana

Varias aplicaciones exigen una estructura cerrada semejante una bolsa en la cual pueden almacenarse células u otro material.

- 40 Pueden obtenerse bolsas fundiendo conjuntamente dos membranas congruentes. Fue usada una barra calentada (aproximadamente  $150^{\circ}\text{C}$ ) para fundir los bordes conjuntamente. Para impedir que se funda la membrana, se humedece con agua destilada.

### **Ejemplo 2**

Los coeficientes de transferencia de masa D fueron determinados para una membrana a temperatura ambiente y agua, con una serie de polisacáridos fluorescentes (FITC-Ficoll) con diferentes pesos moleculares. Los siguientes valores fueron encontrados para una membrana de 65µm de grosor:

- 45



Trazador	MW	N	Coefficiente de transferencia de masa D en mm <sup>2</sup> /s
Iohexol	821	6	$8,3 \pm 1,6 \times 10^{-4}$
FITC-Ficoll 16	5000	2	$5,3 \pm 1,6 \times 10^{-4}$
FITC-Ficoll 30	22000	2	$3,2 \pm 0,5 \times 10^{-4}$
FITC-Ficoll 50	72000	2	$2,4 \pm 0,1 \times 10^{-4}$
FITC-Ficoll 120	561000	2	$2,0 \pm 0,5 \times 10^{-4}$

### Ejemplo 3

5 Análisis mediante microscopio de fluorescencia de polímeros sembrados en células: se realizó una tinción de células vivas-muertas en las variantes del polímero. Se usaron el diacetato de fluoresceína (FDA) y el bromuro de etidio (EB) para indicar células vivas y muertas respectivamente. En los puntos de tiempo de 2d, 4d y 12d, fueron examinados dos pocillos para cada variante y control. Fue retirado el medio. La siembra de células de variantes de polímero y las células fueron lavadas dos veces con 200 µl de solución salina de fosfato con pH regulado (PBS) 10 estéril. Fueron adicionados 2 ml de etanol al 70 % a las células de control y fueron incubadas por 5 minutos para actuar como un control negativo.

Después de este tiempo se retiró el etanol. Las células fueron tinturadas luego con diacetato de fluoresceína (FDA) (2,5 µl/ml) y bromuro de etidio (EB) (10 µl/ml) en PBS por 1 minuto a temperatura ambiente. Fue retirado la tinción y lavado dos veces con PBS estéril. Las células vivas y muertas fueron analizadas usando microscopía de fluorescencia. 15

Ensayo de citotoxicidad: en la figura 16 se detallan las imágenes de las células después de 72 h. Todas las variantes exhiben una buena respuesta al eluato en comparación con el control, lo cual indica que subproductos liberados cualesquiera después de 24 horas no son muy tóxicos para las células. Fue observado un buen crecimiento continuado de células en los demás puntos del tiempo (no mostrados). 20

## REIVINDICACIONES

1. Membrana que comprende un copolímero en bloques biocompatible que tiene al menos dos unidades de bloques que puede obtenerse mediante policondensación lineal en presencia de diisocianato, haluro diácido o fosgeno
- 5 de la primera unidad del bloque que es un  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) con una segunda unidad de bloques seleccionada del grupo que consiste en un diol (I), un  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (II), un  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéter (III), y el mismo  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV),
- 10 en la que el diol (I) puede obtenerse mediante transesterificación de ácido poli-[(R)-(3)-hidroxibutírico] o copolímeros del mismo con ácido 3-hidroxivalérico con etilenglicol, en la que el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (II) puede obtenerse mediante polimerización con apertura de anillo de ésteres cíclicos seleccionados del grupo que consiste en (L,L)-dilactida, (D,D)-dilactida, (D,L)-dilactida, diglicolida o mezclas de las mismas, o lactonas seleccionadas del grupo que consiste en  $\beta$ -(R)-butirolactona,  $\beta$ -(S)-butirolactona,  $\beta$ -rac-butirolactona y  $\epsilon$ -caprolactona o mezclas de las mismas, en la que el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéter (III) se selecciona del grupo que consiste en  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poli(oxitetrametileno),  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poli(oxietileno) y copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, en la que el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) puede obtenerse mediante transesterificación de  $\alpha,\omega$ -dihidroxi [oligo (3-(R)-hidroxibutirato)etileno-oligo(3-(R)-hidroxibutirato)] con diglicolida y/o dilactida y/o caprolactona o mezclas de los mismos, y
- 15 **se caracteriza porque** la membrana comprende poros regularmente distribuidos y dichos poros tienen un tamaño en el intervalo de 0,2 a 20,0  $\mu\text{m}$ .
2. Membrana según la reivindicación 1, en la cual la primera unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) y la segunda unidad de bloque es el diol (I).
- 20 3. Membrana según la reivindicación 1, en la cual la primera unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) y la segunda unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (II).
4. Membrana según la reivindicación 1, en la cual la primera unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) y la segunda unidad de bloque es el mismo  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéter (III) .
5. Membrana según la reivindicación 1, en la cual la primera unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV) y la segunda unidad de bloque es el  $\alpha,\omega$ -dihidroxi-poliéster (IV).
- 25 6. Membrana según la reivindicación 1 a 5, en la cual los poros tienen un tamaño en el intervalo de 0,2 a 10,0  $\mu\text{m}$ .
7. Membrana según la reivindicación 1 a 6, en la cual dicha membrana es permeable o semipermeable.
8. Membrana según la reivindicación 1 a 7, en la cual el copolímero en bloques es poli[poli[ $\alpha,\omega$ -dihidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirato)-stat-glicolida]-etileno-oligo-(3-(R)-hidroxibutirato-stat-glicolida)]alt-2,2,4-trimetilhexametileno-1,6-diisocianato]-co-poli[dihidroxi[oligo-glicolida-ran- $\epsilon$ -caprolactona]-etileno-(oligo-glicolida-ran- $\epsilon$ -caprolactona)]alt-2,2,4-trimetilhexametileno-1,6-diisocianato].
- 30 9. Membrana según la reivindicación 1 a 7, en la cual el copolímero de bloques es poli[poli[ $\alpha,\omega$ -Dihidroxi-[oligo(3-(R)-hidroxibutirat)-co- $\epsilon$ -caprolacton)-etilen-oligo-(3-(R)-hidroxibutirat-co- $\epsilon$ -caprolacton)]alt-2,2,4-trimetilhexametileno-1,6-diisocianat]-copoli[dihidroxi[oligo-glikolid-ran- $\epsilon$ -caprolacton)-etilen-(oligo-glikolid-ran- $\epsilon$ -caprolacton)]alt-2,2,4-trimetilhexametileno-1,6-diisocianato].
- 35 10. Membrana según la reivindicación 1 a 9, en la cual dicha membrana comprende una capa individual.
11. Membrana según la reivindicación 1 a 10, en la cual dicha membrana es degradable hidrolíticamente y tiene un tiempo de vida de servicio controlable y mantiene su desempeño desde 5 días hasta 2 años, preferiblemente 14 y 28 días.
- 40 12. Membrana según la reivindicación 1 a 11, en la cual dicha membrana tiene una forma tubular.
13. Membrana según las reivindicaciones 1 a 12, en la cual dicha membrana comprende al menos un compuesto farmacéuticamente activo o una ayuda de diagnóstico.
14. Una ayuda quirúrgica destinada a fijarse en y sobre el cuerpo de un ser humano o un animal, la cual comprende dicha membrana tal como se ha reivindicado en las reivindicaciones 1 a 13.
- 45 15. Procedimiento de preparación de una membrana tal como se reivindica en la reivindicación 1, en la cual
- a) un copolímero en bloques biocompatible se disuelve en un disolvente; y
- b) dicha solución de copolímero en bloques se aplica sobre un soporte moldeado, adecuado; y
- c) dicho soporte se sumerge en un no-disolvente el cual es miscible con el disolvente,

dando lugar a la membrana que comprende poros que tienen un tamaño en el intervalo de 0,2 – 20,0  $\mu\text{m}$ .

16. Procedimiento según la reivindicación 15, en la cual el no-disolvente es pulverizado sobre dicho soporte.

17. Procedimiento según la reivindicación 15 o 16, en la cual el disolvente se selecciona del grupo que consiste en dioxano, cloroformo, carbonato de dimetilo y butanona.

5 18. Procedimiento según la reivindicación 15, en la cual el disolvente es 1,4-dioxano.

19. Procedimiento según la reivindicación 15 o 16, en la cual el no-disolvente se selecciona del grupo que consiste en agua, metanol y etanol.

20. Procedimiento según la reivindicación 15, en la cual el no-disolvente es agua.

10 21. Estructura en forma de lámina, en la que dicha estructura comprende una membrana según la reivindicación 1 a 14.

22. Estructura en forma de lámina que comprende una membrana según la reivindicación 1 a 14 y una malla.

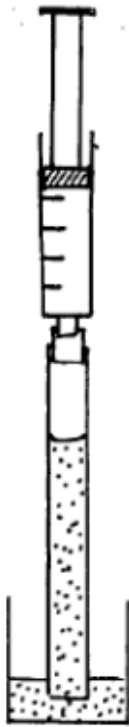


Figura 1A

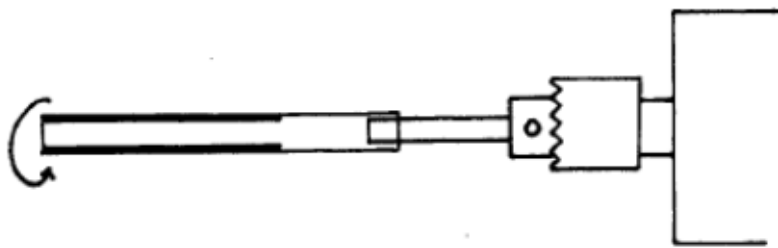


Figura 1B

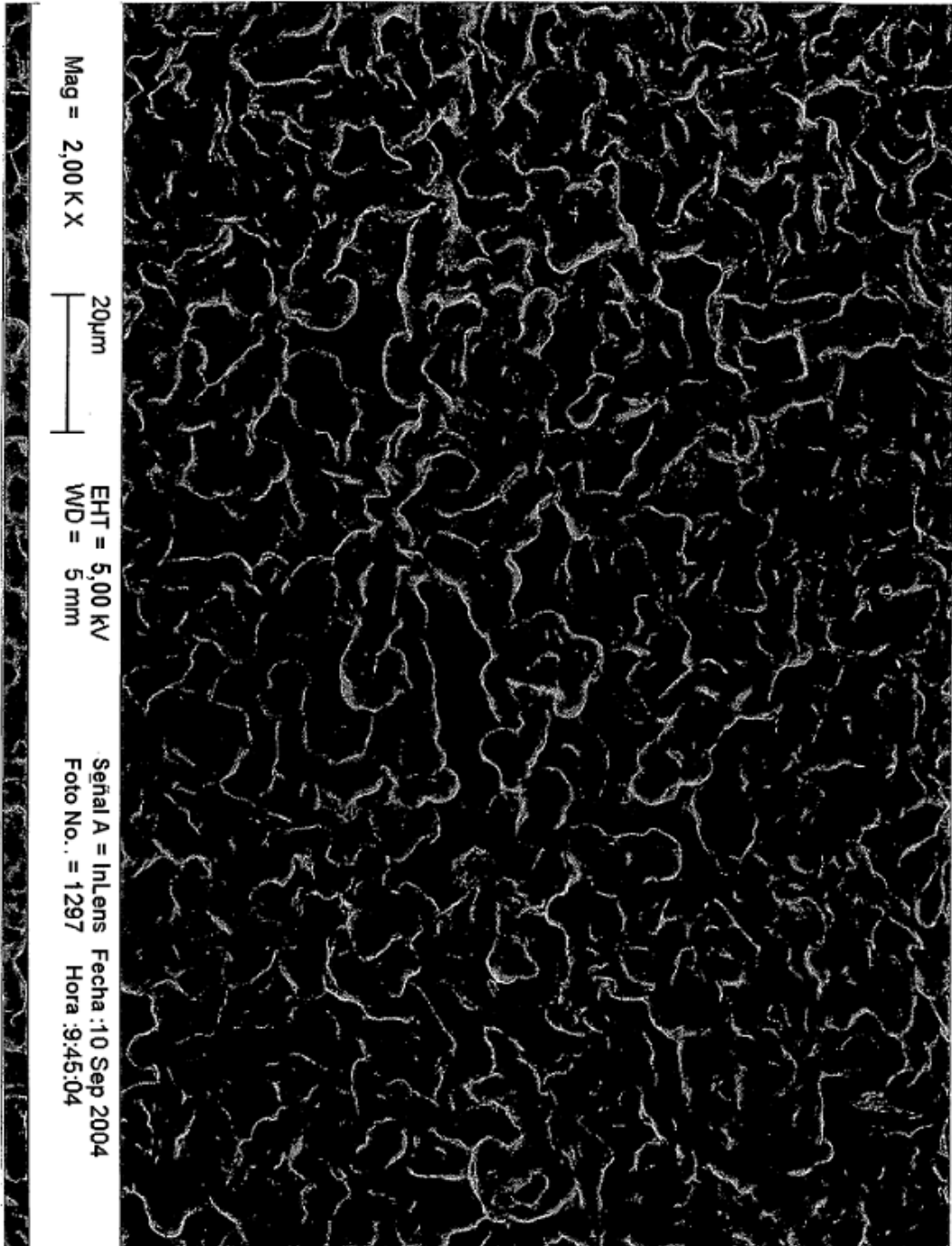


Figura 2

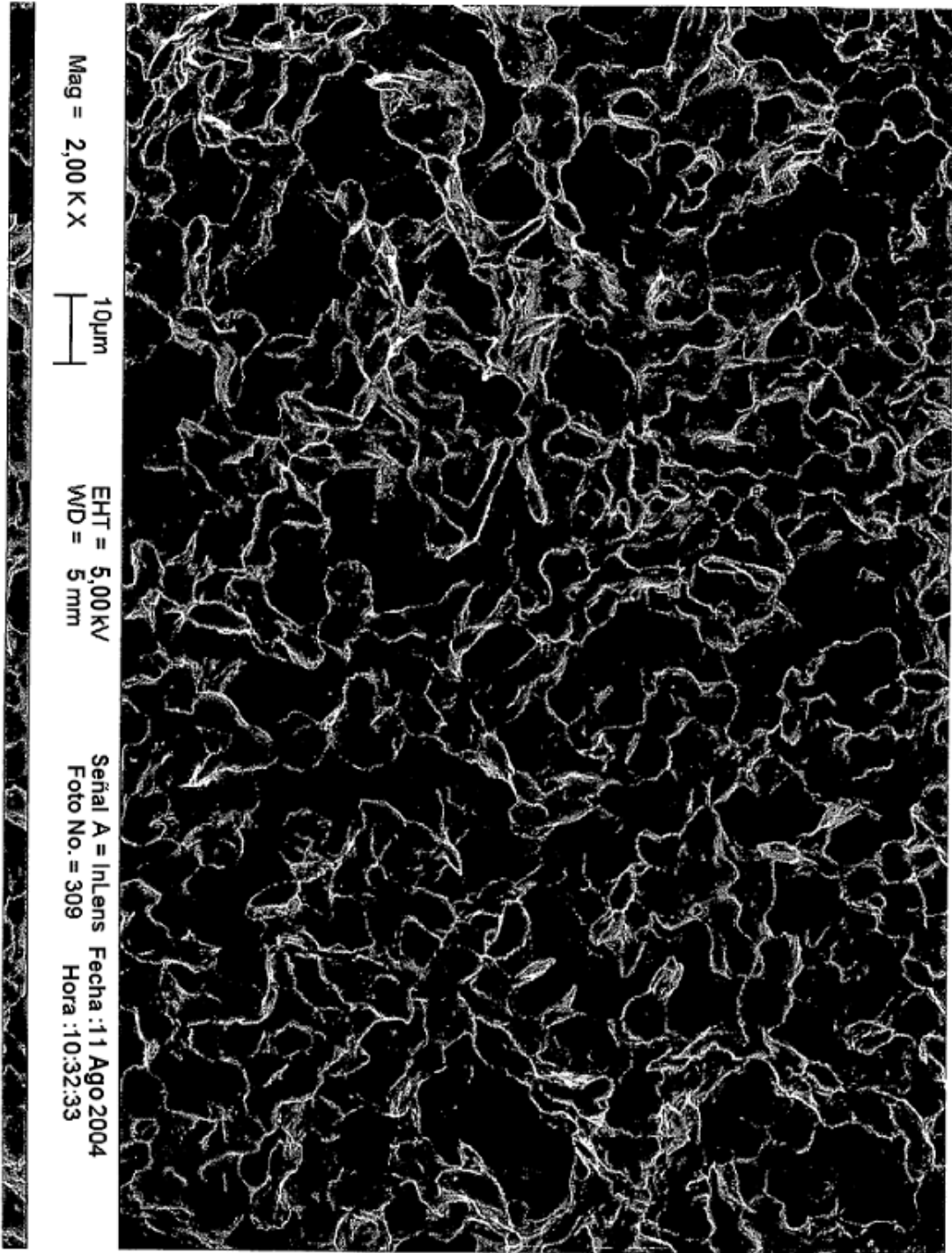


Figura 3

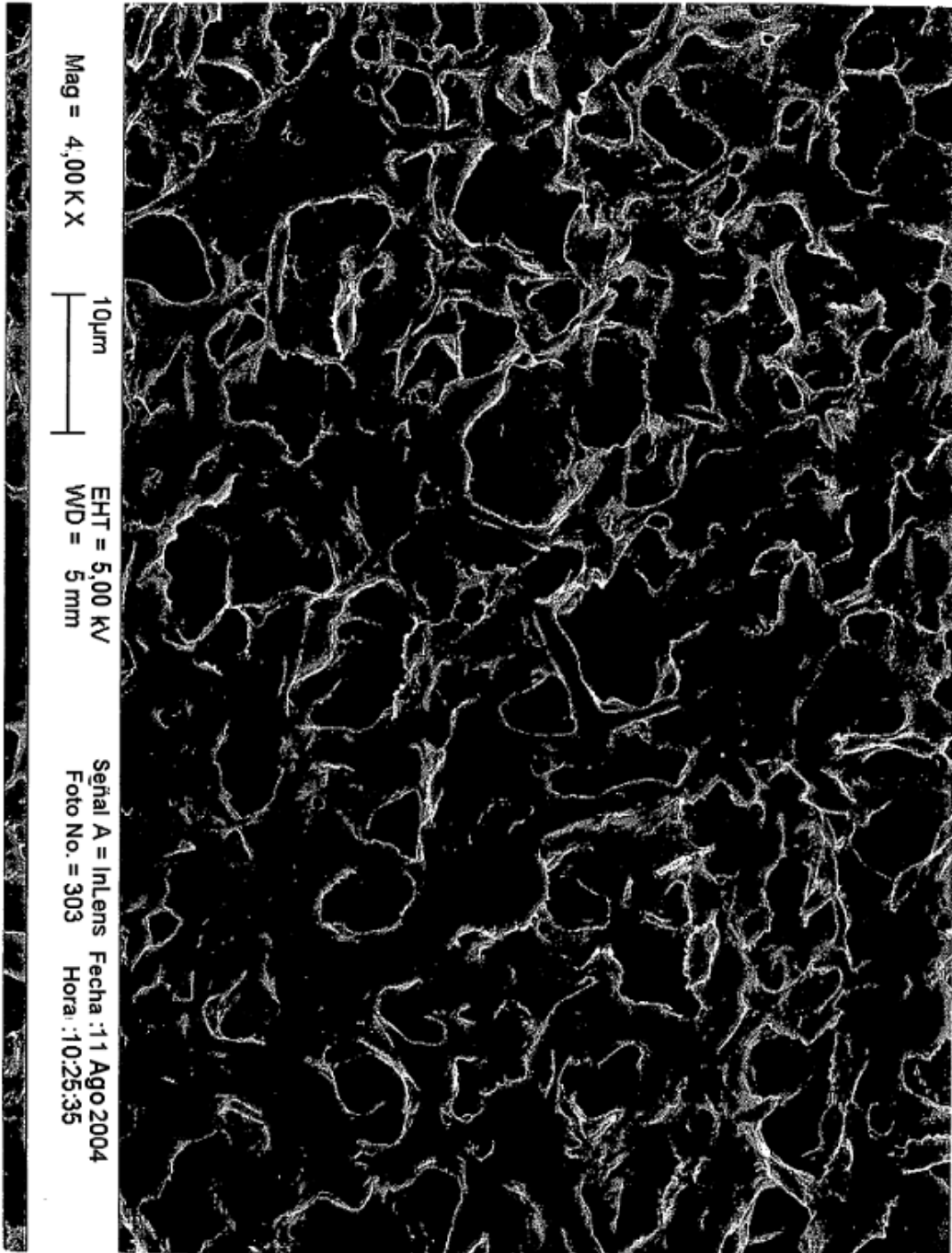


Figura 4

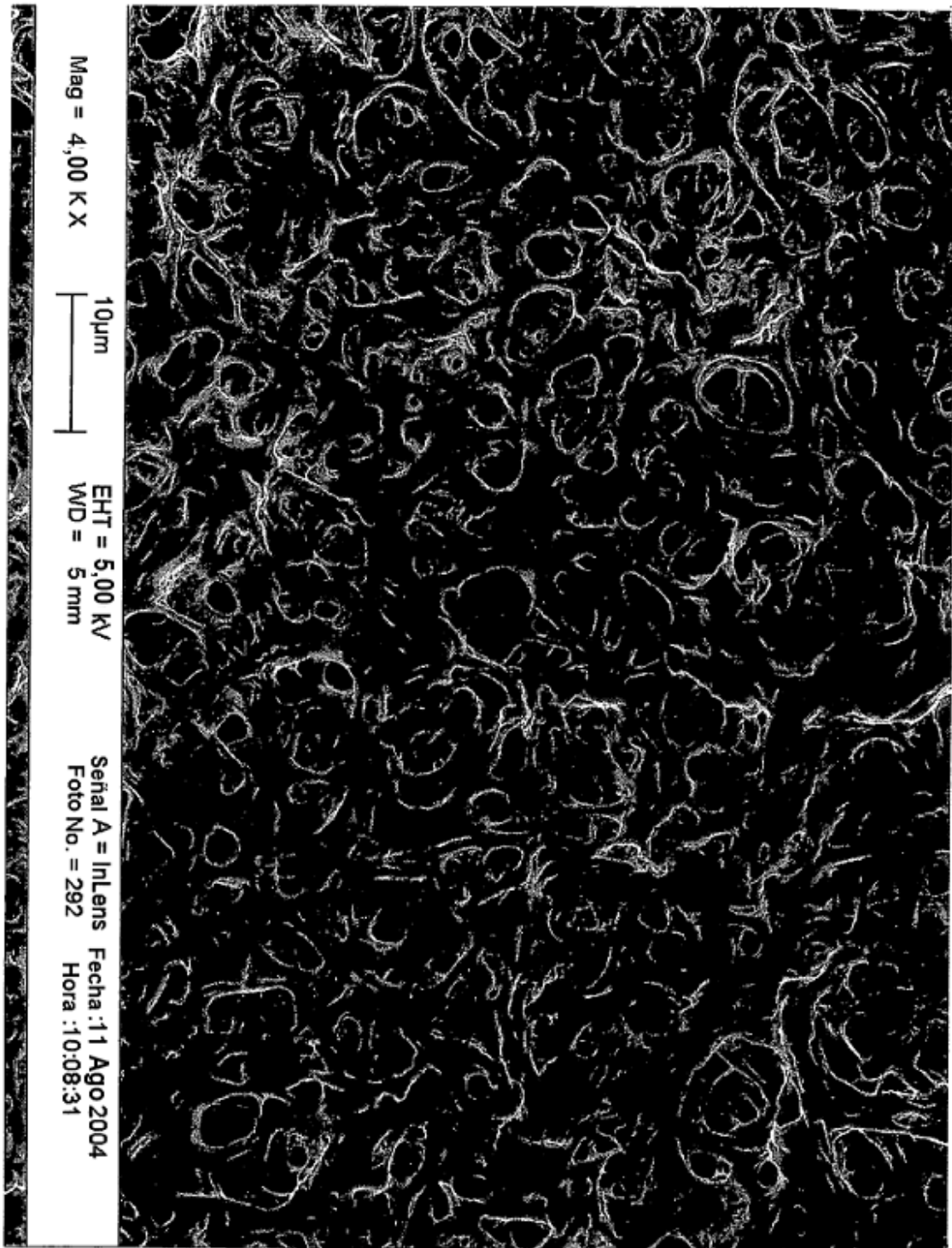


Figura 5



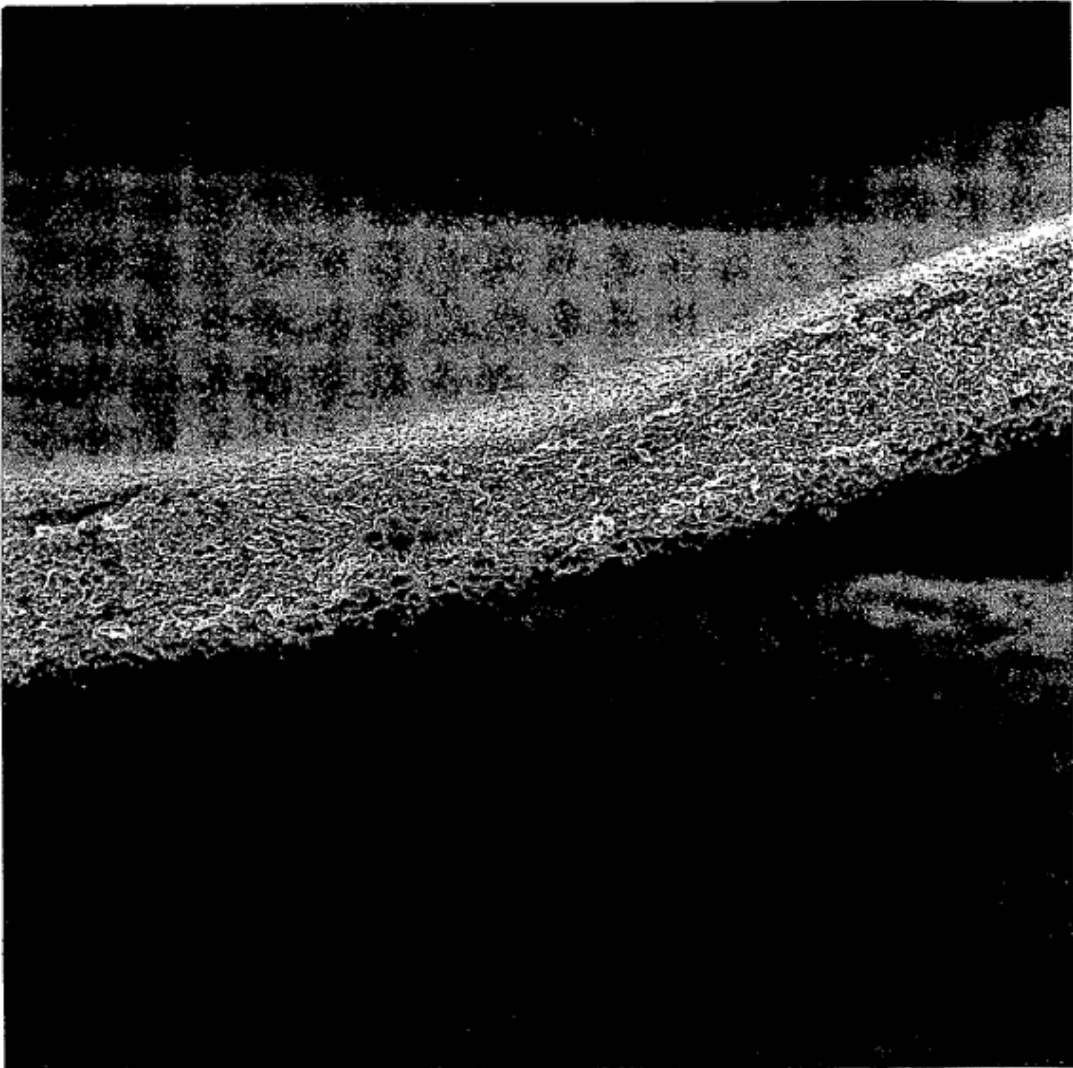


Figura 6

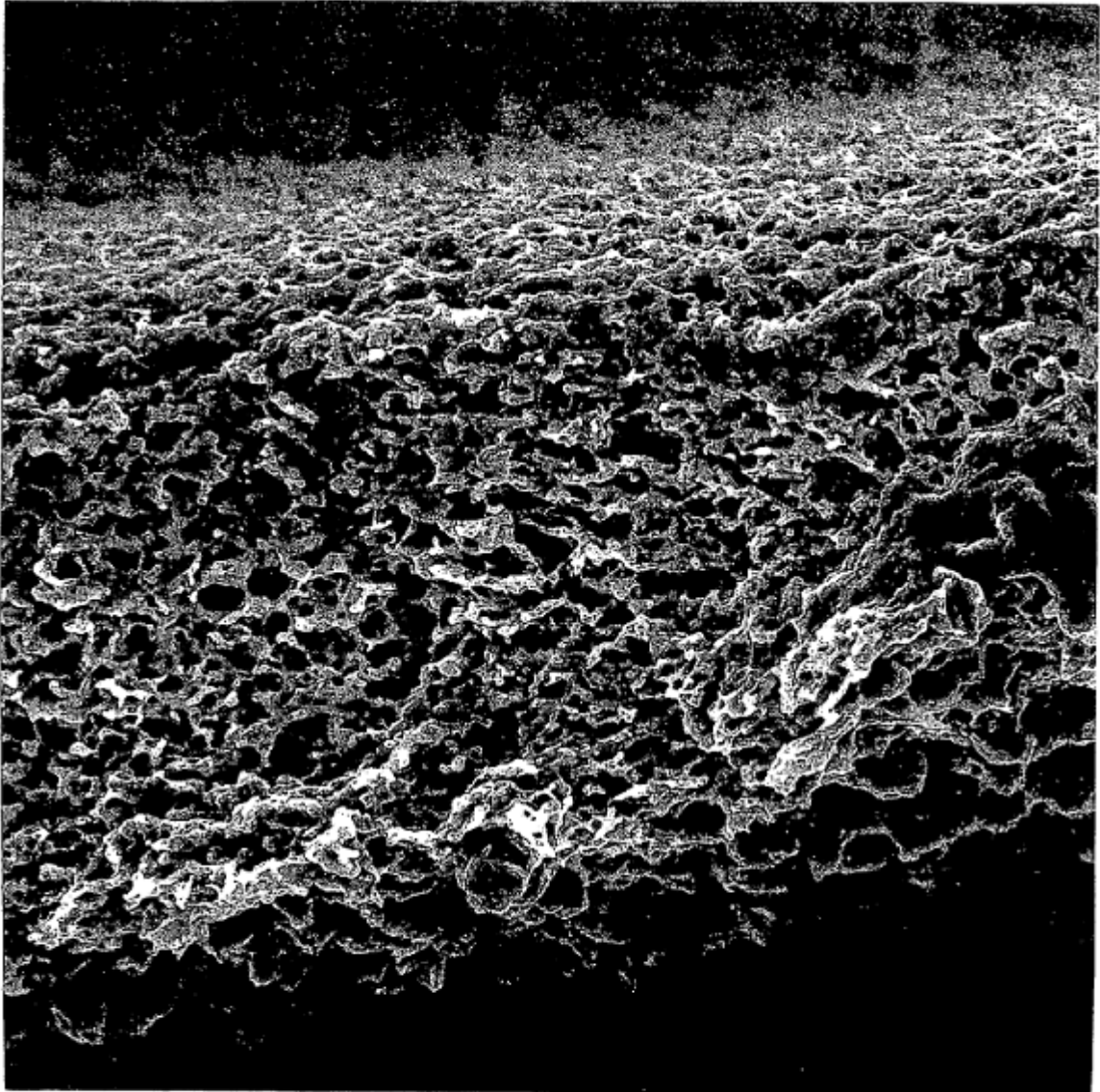


Figura 7

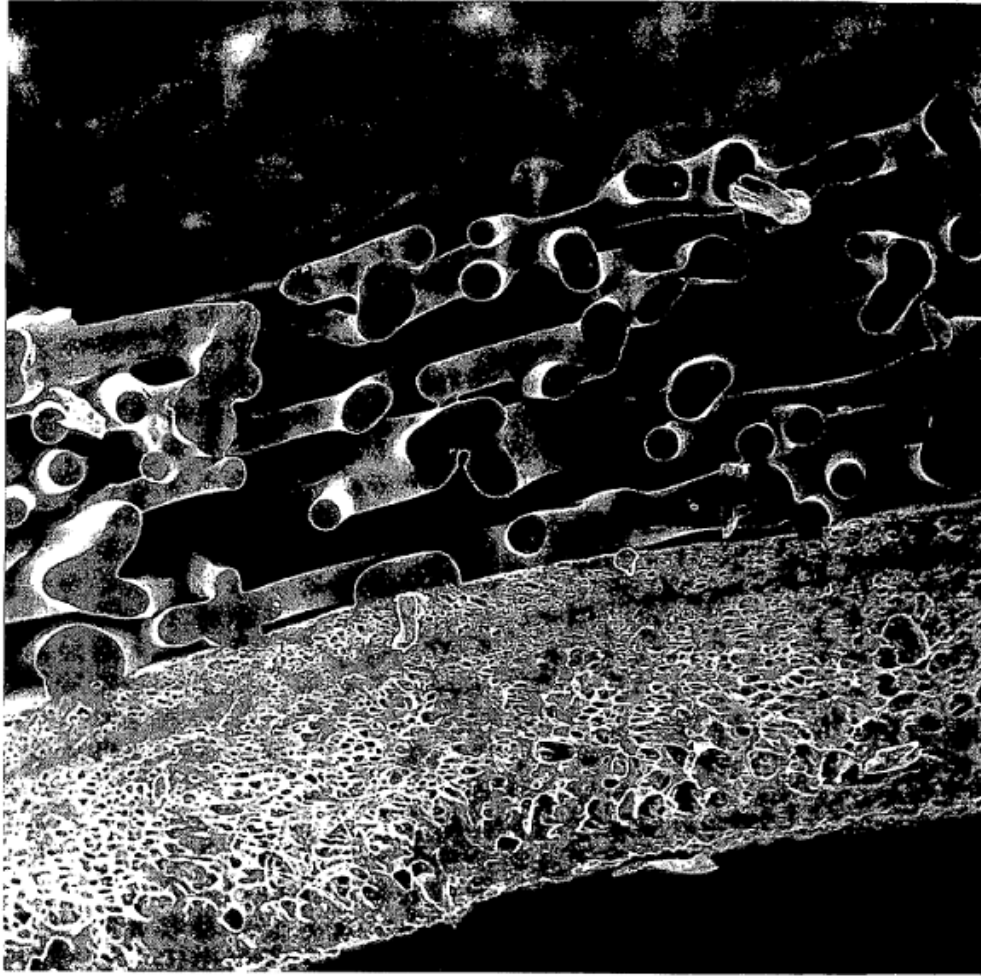


Figura 8

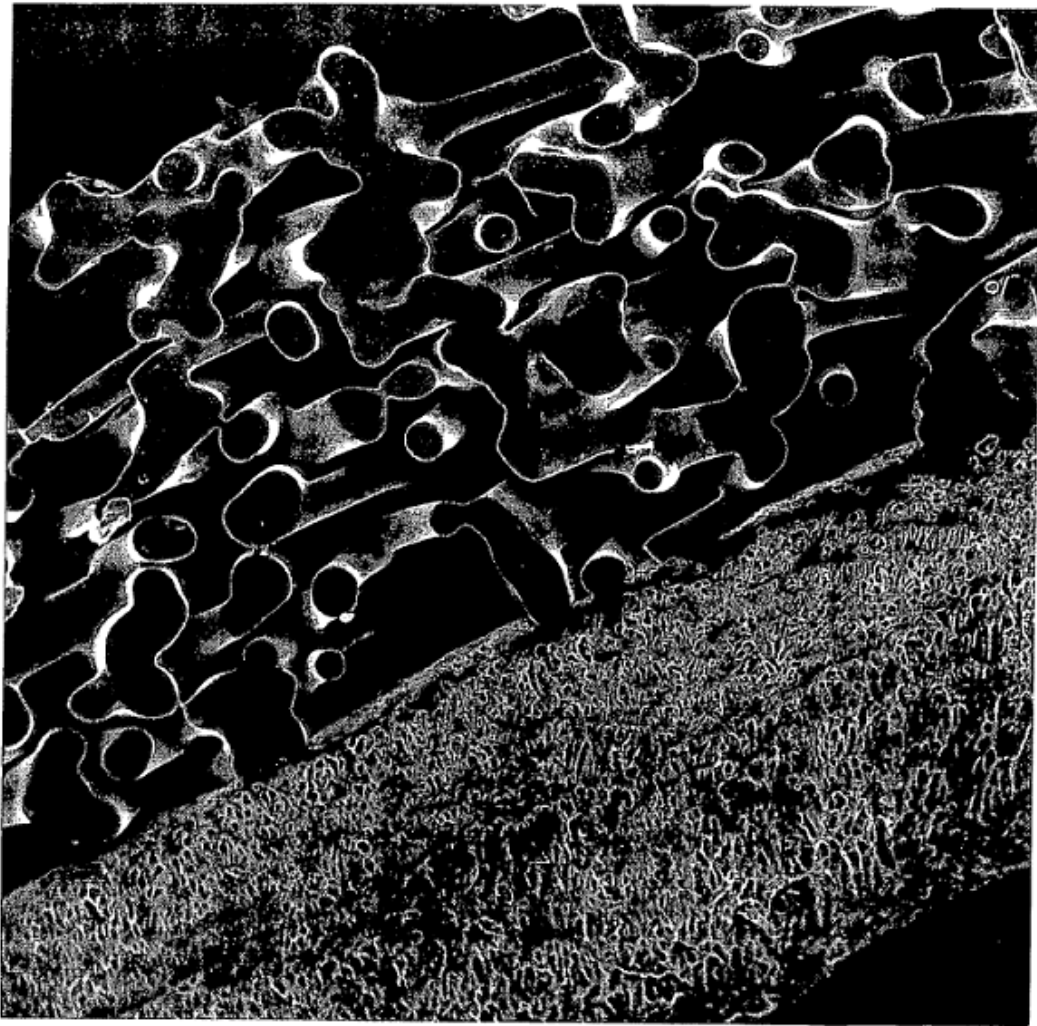


Figura 9

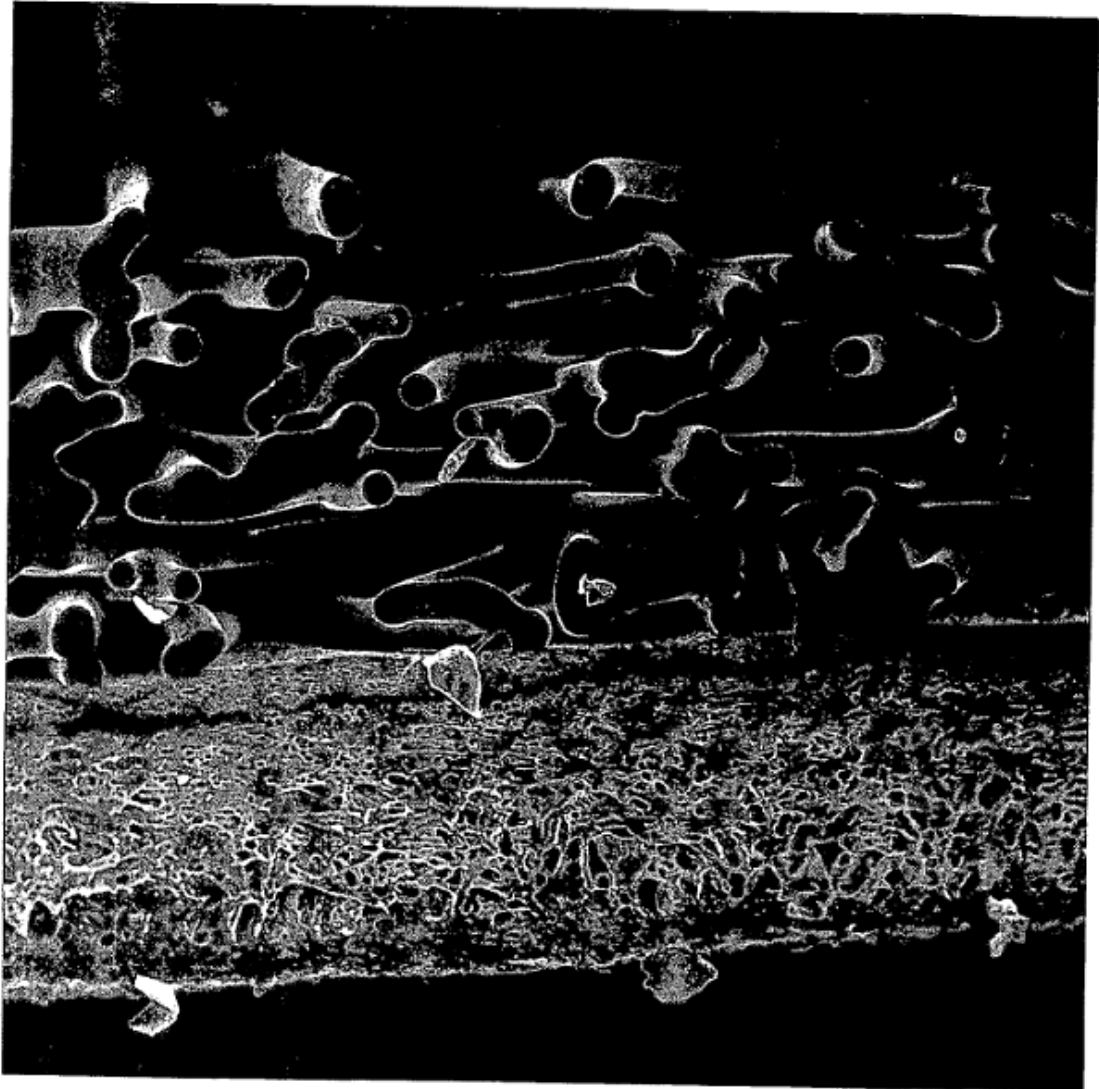


Figura 10

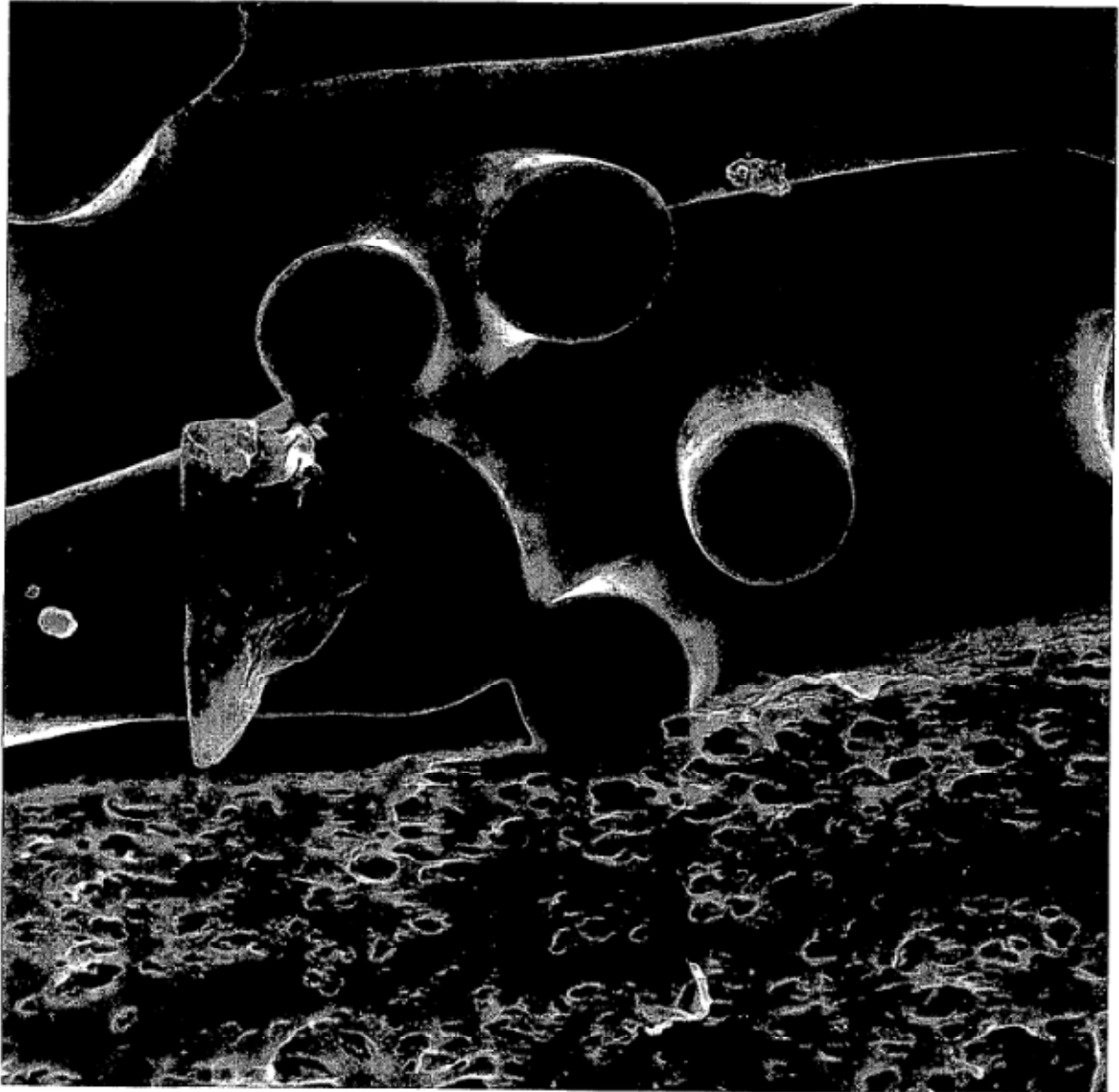


Figura 11

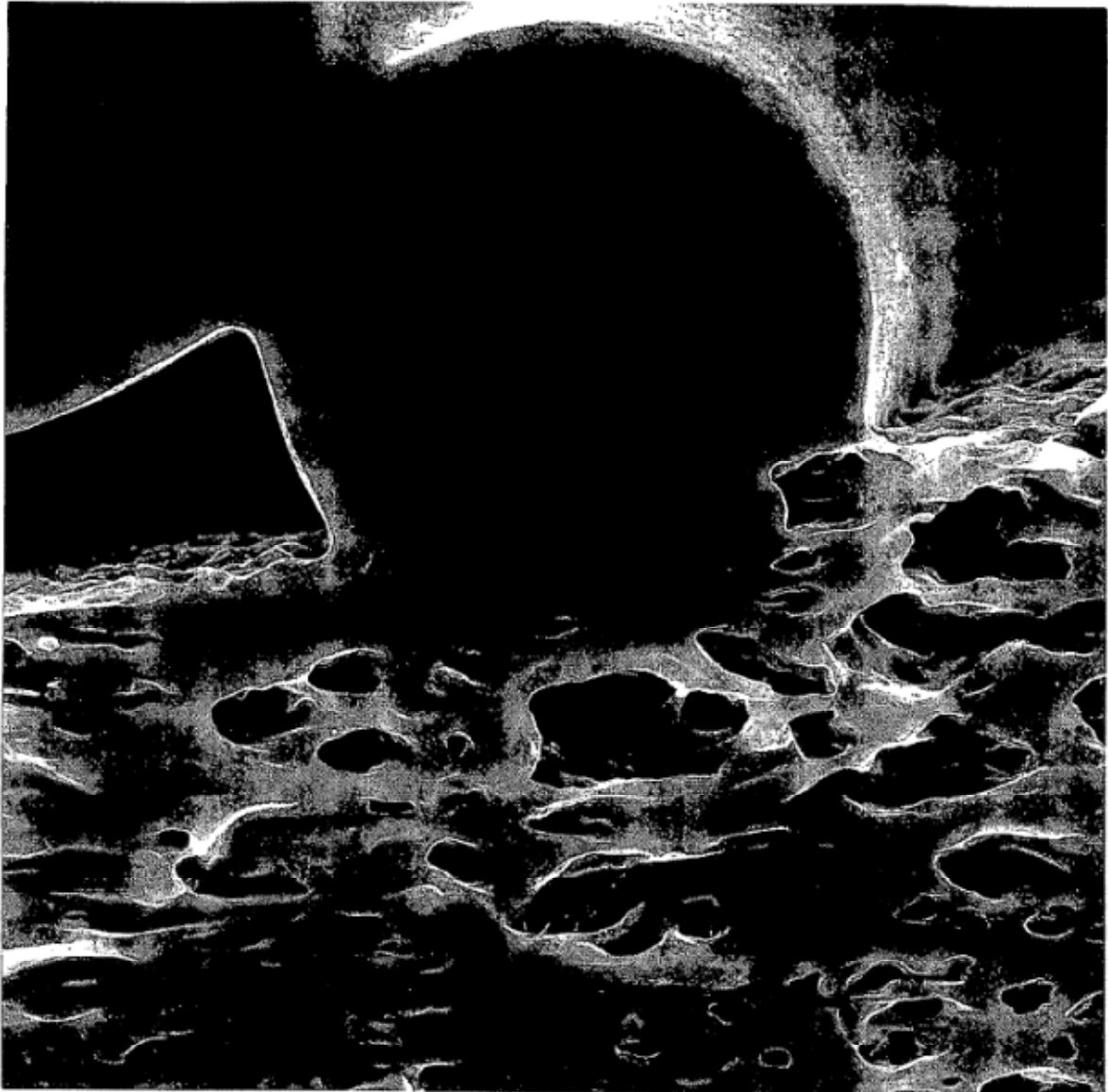


Figura 12

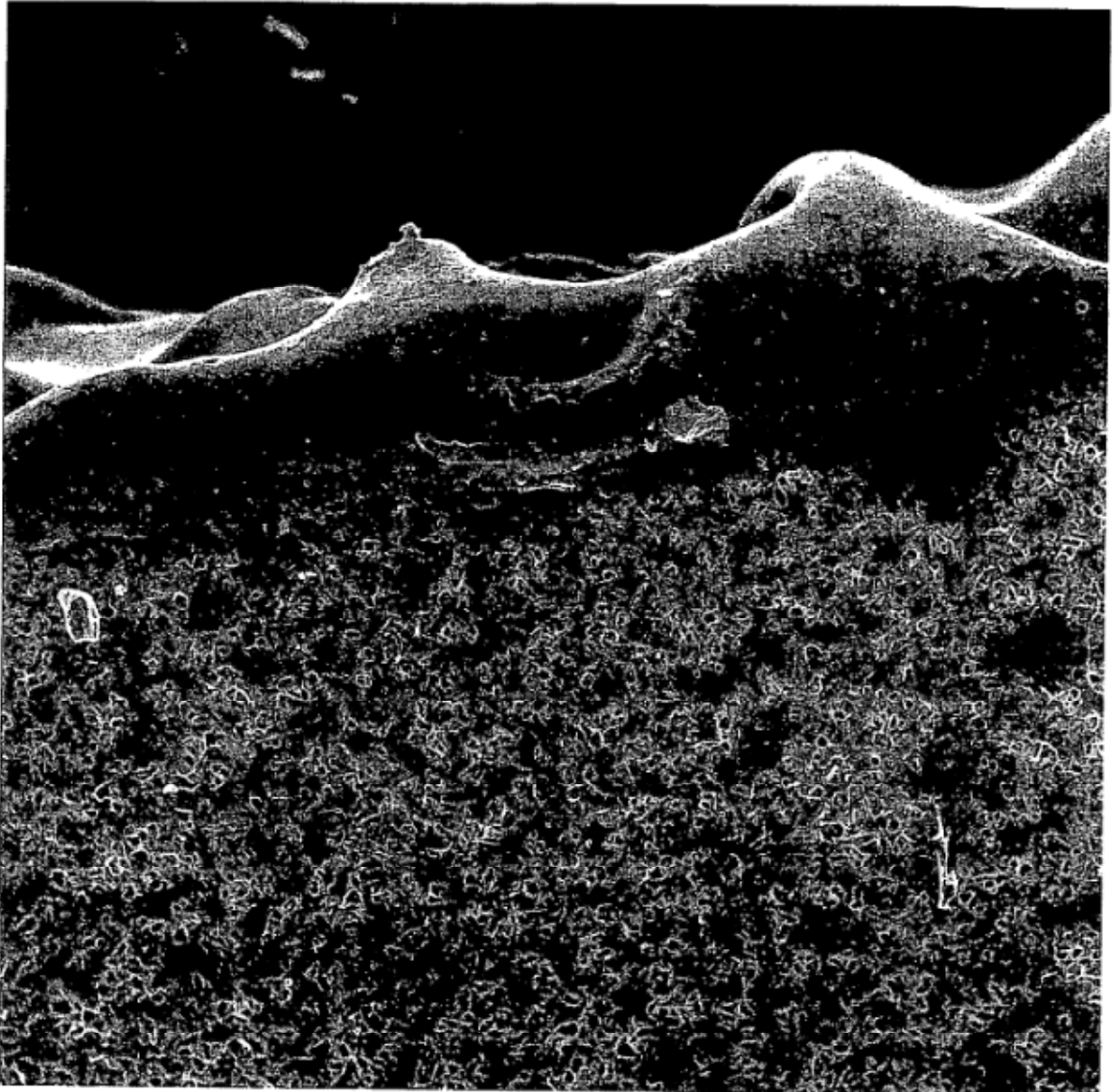


Figura 13



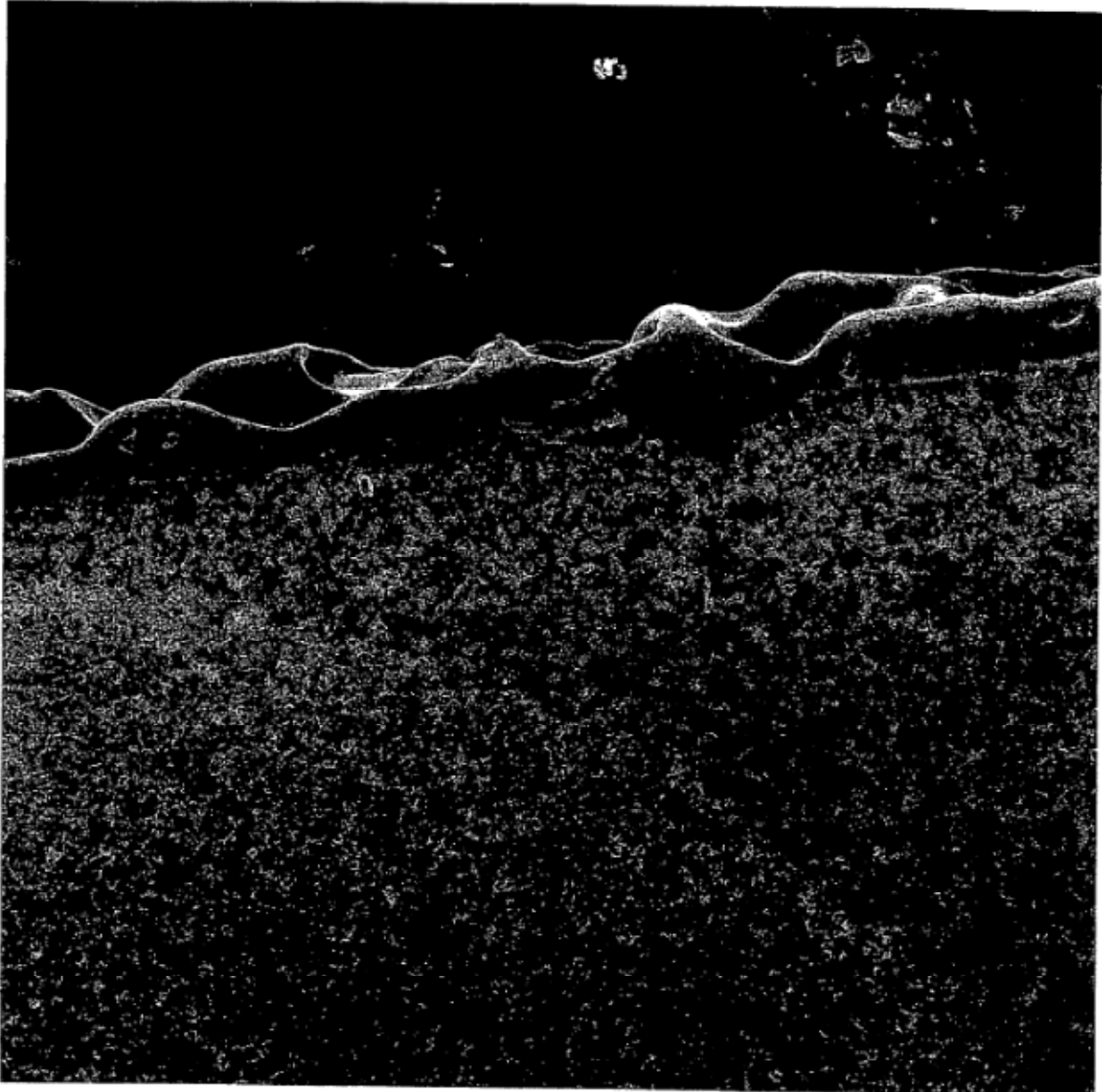


Figura 14

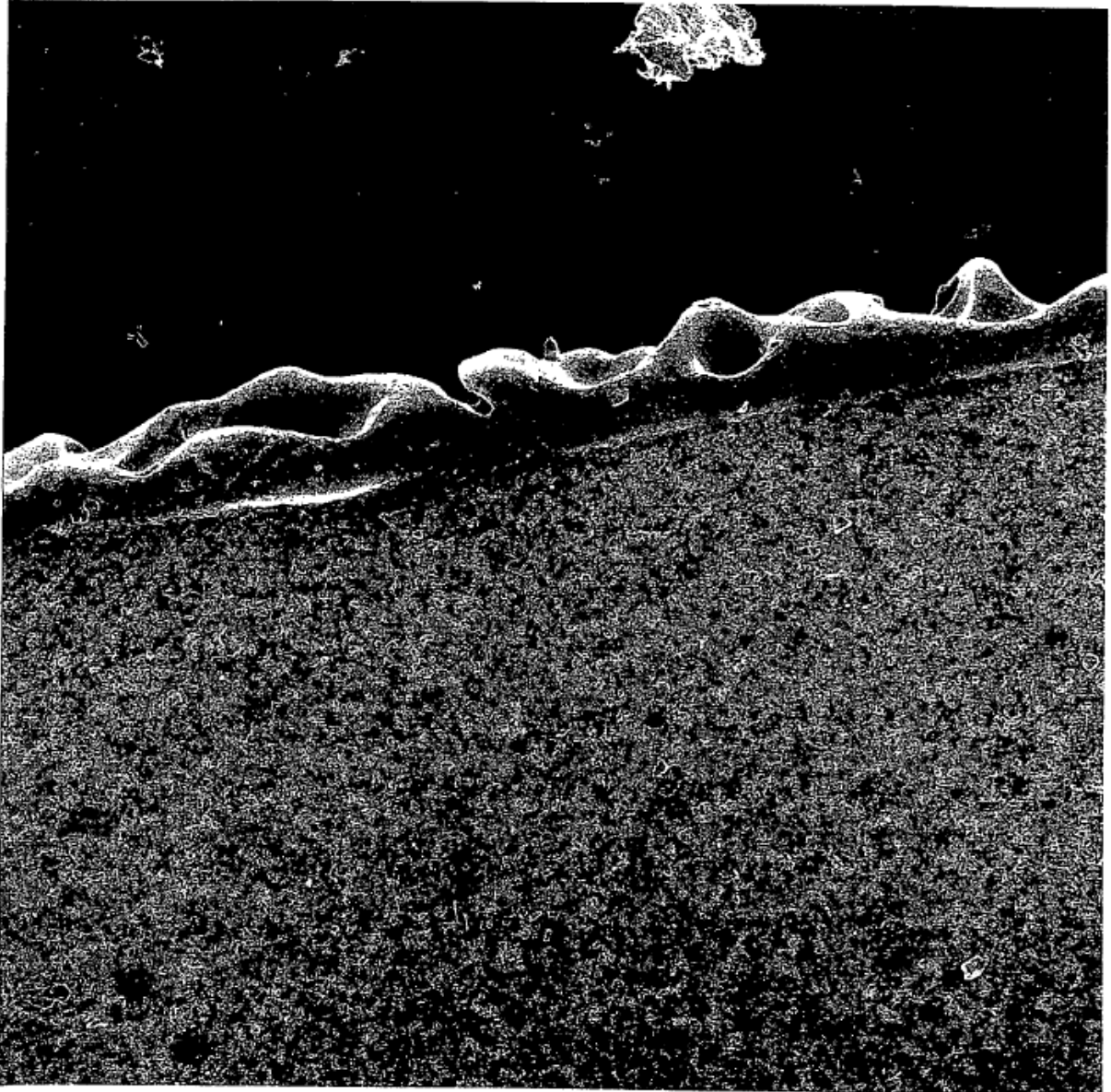
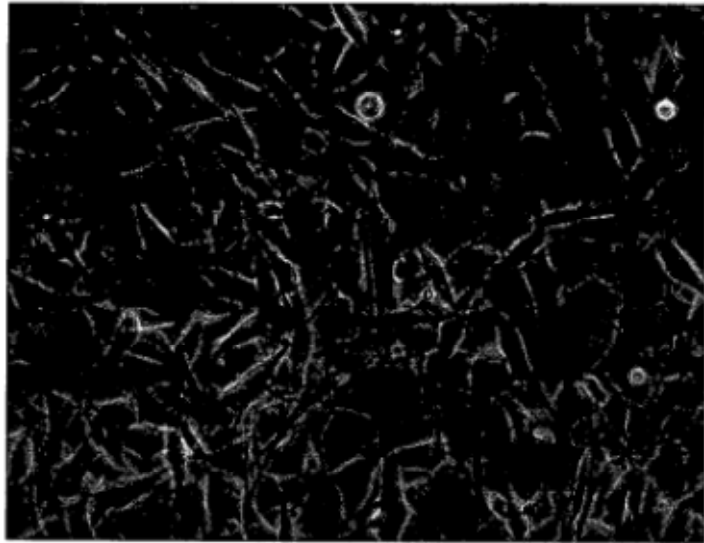


Figura 15



(a)



(b)

Figura 16



Figura 17

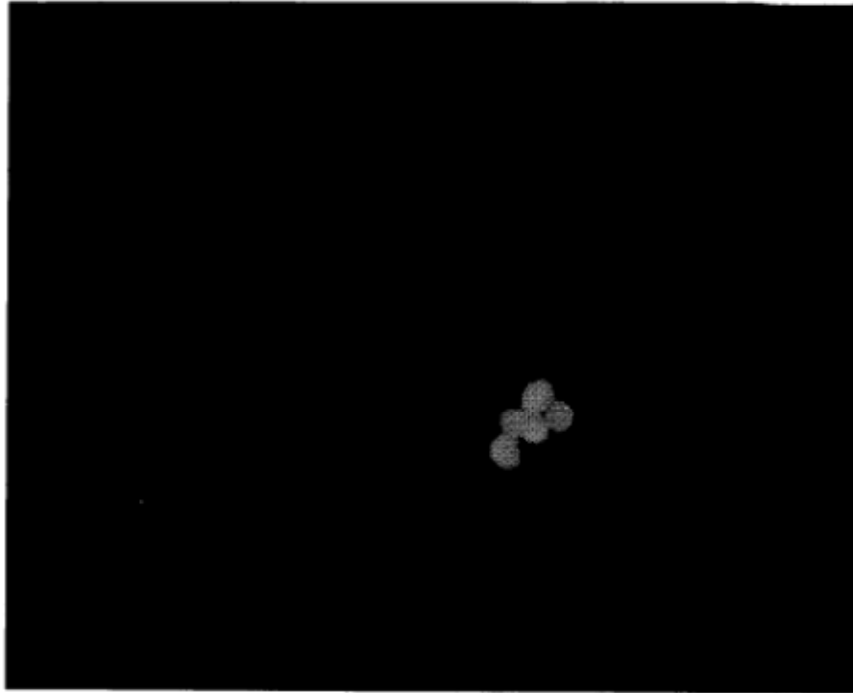


Figura 18