NUEVAS METODOLOGÍAS DE PREPARACIÓN DE SISTEMAS TOTAL O PARCIALMENTE BIODEGRADABLES

Gustavo A. Abraham[1], Carlos Elvira[1], Claudio Migliaresi[2], Antonella Motta[2] y Julio San Román[1]

[1]Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, CSIC, Juan de la Cierva 3, 28006 Madrid
[2]Dipartimento di Ingegneria dei Materiali, Universitá di Trento, Via Mesiano 77, 38050, Trento, Italy

RESUMEN
Este artículo presenta nuevas metodologías para la preparación de sistemas poliméricos biodegradables con aplicaciones en el campo de los biomateriales como sistemas de soporte en ingeniería de tejidos y microesferas para la liberación controlada de fármacos, entre otros. Las técnicas que se incluyen son: la preparación de microesferas por polimerización en emulsión, dispersiones con recubrimientos bioactivos, la preparación de matrices poliméricas porosas o espumadas mediante diferentes técnicas (emulsiones, emisión de gases, eliminación de partículas, moldeo por disolución y tratamientos térmicos), sistemas polimerizados en presencia de poliésteres alifáticos, composites biodegradables, e incorporación de macromonómeros a sistemas parcialmente biodegradables para la obtención de microesferas, usando polímeros entre los que destacan poli(ácido láctico), poli(ácido glicólico), copolímeros de ambos, poli(ε-caprolactona) y poli(óxido de etileno), entre otros.

ABSTRACT
In this article new methodologies for the preparation of biodegradable polymeric systems with applications in the biomedical field such a drug release carriers and tissue engineering scaffolds, are presented. The discussed techniques are: microsphere preparation by emulsion polymerization, dispersion with bioactive coatings, porous or sponge polymeric matrices (emulsions, gas emission, solvent-casting particulate leaching, thermal treatments), polymerised systems in the presence of aliphatic esters, biodegradable composites, and incorporation of macromonomers to partially biodegradable systems for the production of microspheres, using biodegradable polymers such as poly(lactic acid), PLA, poly(glycolic acid) (PGA), PLGA copolymers, poly(ε-caprolactone) (PCL) and poly(ethylene oxide) (PEO).

INTRODUCCION

Los polímeros biodegradables poseen una serie de propiedades especialmente interesantes para aplicaciones en diversos campos de la medicina como ortopedia, traumatología, ingeniería de tejidos, entre otros. Existe una amplia gama de materiales biodegradables empleados en una multitud de usos, siendo los polímeros preparados a partir de ácido glicólico y ácido L-láctico, los primeros en ser aprobados para uso en el campo médico como suturas biodegradables en la década del 60 [1]. Los productos de degradación en medio acuoso de estos polímeros son oligómeros o compuestos monoméricos que pueden ser metabolizados con facilidad participando en los ciclos naturales, formando agua y dióxido de carbono, dependiendo el proceso de degradación de numerosos factores como la composición, morfología, forma, cristalinidad, etc. Se han desarrollado también otros dispositivos médicos basados en estos α-hidroxiácidos, así como

en otros materiales entre los que se incluyen poli(dioxanona), copolímeros de poli(trimetilcarbonato), homopolímeros y copolímeros de poli(ε-caprolactona) [2], polianhidridos [3], poliortoésteres [4] y otros materiales [5,6].

Los esfuerzos dedicados en los últimos cincuenta años a la investigación en estos materiales en sistemas para liberación de medicamentos, reparación de fracturas, remodelación de huesos y cartílagos e implantes en tejidos blandos se encuentran reseñados en una extensa literatura [7-10].

En este artículo se presentarán algunas metodologías empleadas actualmente para la preparación de sistemas poliméricos total o parcialmente biodegradables de aplicaciones en diversos campos como biomateriales. Entre todas ellas destacaremos la preparación de microesferas por polimerización en emulsión, dispersiones con recubrimientos bioactivos, la preparación de matrices poliméricas porosas o espumadas mediante diferentes técnicas (emulsiones, emisión de gases, eliminación de partículas- moldeo por disolución y tratamientos térmicos), sistemas polimerizados en presencia de poliésteres alifáticos, composites biodegradables e incorporación de macromonómeros a sistemas parcialmente biodegradables para la obtención de microesferas.

Dispersión – evaporación de emulsiones

La preparación por este método de microesferas de polímero o polímero cargado con medicamento para sistemas de liberación controlada, se basa en la disolución a temperatura ambiente en un disolvente de fácil evaporación (bajo punto de ebullición)[11-13]. La fase orgánica se emulsifica en una fase acuosa conteniendo un 2% (p/v) de poli(vinil alcohol) con velocidades de agitación altas, del orden de 8000 rpm. La evaporación del disolvente se favorece por agitación magnética. Posteriormente se centrifuga la solución, se lavan las microesferas y se secan bajo vacío. Siguiendo este método se han preparado en nuestro laboratorio microesferas de copolímeros de injerto de poli(L-ácido láctico) en cadenas acrílicas hidrofóbicas, de MA o MMA, e hidrofílicas de VP, cargadas con 15-20% de ibuprofeno (un agente antiinflamatorio no esteroideo, AINE) [11]. Las partículas esféricas resultaron uniformes y con un diámetro comprendido entre 1 y 4 μm y el contenido de AINE atrapado dependió de la composición del sistema, estando entre 70 y 90 %. Esta vía de preparación resulta eficiente para sistemas poliméricos con comonómeros hidrofóbicos, pero no es aplicable para el caso de comonómeros hidrofílicos, dado que dependiendo de la composición estos sistemas pueden en algunos casos obtenerse partículas pseudoesféricas o no formarse microesferas debido a la solubilidad en agua del sistema.

Dispersiones con recubrimiento bioactivo

Desde 1967, fecha en que van Wezel introdujo el uso de partículas globulares pequeñas como soporte para el crecimiento tridimensional de células en medios suspendidos [14], se han desarrollado una gran variedad de microesferas, entre las que se incluyen las de dextranos, poliestireno, poliacrilamida, y vidrios de sílice. Además de emplearse como soportes para cultivos celulares, las microesferas de polímeros degradables tienen aplicación en sistemas de liberación sostenida de compuestos activos [15].

Entre las propiedades de los vidrios cerámicos de fosfato de calcio y los vidrios bioactivos, una de las más interesantes es su capacidad de unirse a los tejidos óseos y de promover la formación de hueso lo que ha estimulado el desarrollo de microesferas para cultivos celulares de estos materiales, pero la diferencia de densidades entre las partículas y el medio produce importantes esfuerzos de corte en el caso de la utilización de bioreactores bajo rotación. La preparación de microesferas biocerámicas huecas de alumino-silicatos permitieron la obtención de partículas con

menor densidad o cercana a la del medio, pero aunque resultan biocompatibles no son biodegradables. Estas desventajas dieron origen al desarrollo de microesferas poliméricas reabsorbibles de baja densidad con recubrimientos de fosfatos de calcio, sobre las que puede generarse un film bioactivo mediante un tratamiento de inmersión en fluido fisiológico simulado [16]. La formación de hidroxiapatita-carbonato de calcio (c-HA) en superficie después de dos a tres semanas de inmersión, se efectuó siguiendo el esquema mostrado en la Figura 1 [16]. De esta manera se desarrollaron microesferas de composites biodegradables y bioactivas para aplicaciones en cultivos tridimensionales tanto *in vitro* como *in vivo* en ingeniería de tejidos.

Sistemas porosos

En esta sección se presentan varias metodologías para la obtención de sistemas poliméricos porosos entre las que destacan los sistemas de liberación controlada de fármacos a partir de microesferas porosas, y biomateriales poliméricos porosos utilizados como soportes en ingeniería de tejidos, utilizados en procesos de regeneración de órganos o tejidos dañados. Entre los métodos más usados destacan la emulsiones dobles e inversas, la incorporación de compuestos que liberan gases por reacciones químicas, la incorporación de partículas en las matrices poliméricas que posteriormente en ciertos disolventes, y los tratamientos térmicos.

Emulsiones-microesferas porosas

La liberación de fármacos a partir de microesferas biodegradables o parcialmente biodegradables, sigue mecanismos basados en la difusión del fármaco y en la degradación de las microesferas, siendo la situación ideal aquella en la que las microesferas comienzan a degradarse una vez eliminada la molécula bioactiva [17]. Muchas microesferas poliméricas son impermeables o parcialmente permeables a los fármacos, por lo que la difusión de éstos está en muchos casos limitada [18]. Por ello se han diseñado y preparado micropartículas porosas que permiten la liberación de moléculas farmacológicamente activas con velocidades y cinéticas de liberación específicos, basados en características estructurales de las redes porosas de las microesferas [19].

Se han preparado microesferas inyectables a base de poli(anhídrido-co-imida) mediante doble emulsión constituida por una fase acuosa con albúmina, cloruro de metileno con el copolímero y poli(alcohol vinílico) con agitación, evaporación del disolvente orgánico y posterior precipitación de las microesferas con la proteína [20]. La liberación de la albúmina, que puede realizarse durante días o semanas, dependiendo de la composición del copolímero,la cantidad de proteína cargada y del pH, está íntimamente relacionada con el mecanismo de degradación de las microesferas basado en la erosión de éstas y que ha sido asignada a dos etapas: una primera en la que el polímero absorbe agua y se hidrolizan los enlaces anhídrido, y una segunda basada en una lenta disolución de los productos de la hidrólisis.

De manera similar, se han preparado sistemas de microesferas porosas a base de poli(D, L-ácido láctico), PLA, se han preparado mediante emulsiones dobles (W/O/W) utlizando PLA de alto peso molecular y dextranos de pesos moleculares entre 71 y 2000 kDa [21]. La Figura 2 muestra la morfología interna de una microesfera de PLA seccionada, pudiéndose observar la estructura circular de los poros, indicando la naturaleza esférica de éstos, los cuales adquieren menores tamaños según se incrementa la concentración de PLA y se disminuye la fase acuosa en la emulsión. La velocidad de liberación de macromoléculas de dextranos depende mayormente del tamaño promedio de los poros más que de la distribución de tamaños de los poros, observándose una rápida liberación (menos de 48 horas) para porosidades grandes y lenta para pequeñas, encontrándose una porosidad límite en la que no se observó liberación alguna. Asimismo, se pueden calcular los coeficientes de difusión de moléculas activas en sistemas porosos mediante la aplicación de la llamada teoría de percolación [22], en la que se considera que

la porosidad se distribuye uniformemente en la superficie exterior de las microesferas, dando lugar a una buena aproximación con los datos experimentales de liberación.

Otros sistemas de microsesferas porosas a base de quitosano, alginatos y copolímeros de dimetacrilatos de etilenglicol-co-vinilpiridina, se han diseñado y preparado por emulsión doble o emulsión inversa con las misma aplicaciones que los sistemas descritos [23-25].

Emisión de gases

Microesferas porosas basadas en poliuretanos para la liberación controlada de fármacos, se han preparado mediante reacciones en dos etapas que incluyen la formación de un prepolímero a partir de isocianatos y poli-etilenglicol, seguida de la policondensación en medio acuoso con agitación [26]. La formación de los sistemas porosos se debe a la reacción de los grupos isocianatos con la fase acuosa dando lugar a grupos aminoácidos inestables que se disocian en grupos amino finales y anhídrido carbónico que es el responsable de la porosidad de estos sistemas que son soportes entrecruzados utilizados en la liberación controlada de fármacos.

Usando una metodología química similar se han desarrollado matrices poliméricas porosas basadas en uretanos-lisina mediante una reacción inicial de metilester de lisina para formar grupos di-isocianatos (LDI), y posterior reacción con glicerina para dar lugar a un prepolímero entrecruzado que reacciona con agua dando lugar a estructuras porosas por la emisión de CO_2 [27] (ver Figura 3). Las propiedades físicas de estas matrices porosas resultan adecuadas como soportes para el crecimiento de células óseas BMSC de ratón, que después de siete días de cultivo dan lugar a la formación de una monocapa celular homogénea sobre la matriz que además, en términos de degradación, generan productos no tóxicos como lisina, glicerina, etanol y CO_2.

Hidrogeles biodegradables porosos basados en alginatos sódicos se han preparado con fines similares en el campo de la ingeniería de tejidos, mediante las etapas que se mencionan en la Figura 4 [28]. La formación de estructuras porosas debido a la emisión de CO_2, se debe en este caso a la reacción entre el bicarbonato sódico y el ácido acético con eliminación de agua y acetato sódico, resultando estructuras con poros interconectados.

Eliminación de partículas- moldeo por disolución

Una de las técnicas para obtener biomateriales poliméricos porosos es la llamada eliminación de partículas, moldeo por disolución, que básicamente resulta de la incorporación de partículas de cloruro sódico en una disolución de polímero, seguida de la eliminación del disolvente y posterior lavado en disoluciones acuosas en las que se disuelven las partículas de sal dando lugar a sistemas poliméricos porosos o espumados. Esta técnica ha sido aplicada a numerosos biomateriales poliméricos de los que cabe resaltar los constituidos por poli(ácido láctico), PLA y poli(ácido D,L-láctico-*co*-glicólico) PLGA, al ser sistemas biodegradables aprobados por la FDA. Sistemas porosos de PLA y PLGA (50:50 y 58:15) se prepararon incorporando porcentajes en peso de NaCl entre 70 y 90% (w/w), en disoluciones de cloroformo usando partículas con tamaños entre 106-150 µm y 0-53 µm, que dieron lugar a la formación de espumas con porosidades entre 0.67 y 0.91 con diámetros de poro entre 34 y 91 µm [29,30]. En le caso de los sistemas de PLA se observó que tanto la porosidad, tamaño de poro como su estructura, no influyen en el peso de la espuma, como en el grosor, en la distribución de poros y en sus propiedades en compresión, después de llevar a cabo estudios de degradación durante 46 semanas en soluciones tampón a pH = 7.4. Sin embargo, la vida media de las espumas depende del grosor de los poros. En los sistemas PLGA 85:15 se observó el mismo comportamiento, mientras que en el caso de PLGA 50:50, se experimentaron cambios en peso, absorción de agua y distribución de poros además de una degradación más rápida al aumentar el contenido en ácido glicólico en estos sistemas. Las propiedades osteoconductivas de estos biomateriales proporcionan a estos sistemas características ideales como soportes o andamiaje en procesos de

regeneración ósea. Información más detallada sobre este tipo de sistemas se puede encontrar en otro artículo dedicado a este tema incluido en este mismo número de la revista.

Por otro lado, esta misma técnica se ha utilizado en procesos de polimerización radical en masa de monómeros acrílicos hidrofílicos incorporando diferentes cantidades de NaCl en disolución acuosa, e iniciando la polimerización por radiación ultra-violeta. Sistemas entrecruzados a base de metacrilato de 2-hidroxietilo, HEMA, y dimetacrilato de etilenglicol, EDGMA, se prepararon incorporando una disolución acuosa de NaCl de diferentes concentraciones resultando sistemas, que una vez curados, se sumergieron en agua durante 48 horas con el fin de eliminar las partículas de sal [31]. Propiedades de estos sistemas tales como el grado de hidratación, mostraron una dependencia con la cantidad de NaCl incorporada en la reacción, que en altas concentraciones disminuye la capacidad de absorción de agua. En cambio el módulo elástico de los hidrogeles no se vio afectado con el aumento de la porosidad al ser sistemas interconectados (ver Figura 5).

Tratamiento térmicos

Por último, los tratamientos térmicos basados en procesos de congelación y liofilización de soluciones poliméricas, conocidos también por separación de fases por inducción térmica (TIPS), dan lugar a la preparación de sistemas porosos o espumados. Uno de los polímeros que ha sido utilizado por esta técnica es el quitosano, que con el fin de ser aplicado como soporte o andamiaje en procesos de regeneración ósea, y mediante congelación entrecruzamiento e incorporación de un factor de crecimiento, resultó ser un biomaterial poroso con propiedades osteoconductivas induciendo el crecimiento de hueso en experimentos “in vivo” realizados con ratones [32-33].

También se ha aplicado esta técnica en polímeros como PLA, PGA y copolímeros de ambos, incorporando además hidroxiapatita resultando sistemas porosos con una estructura continua constituida por poros interconectados y composites de polímero/hidroxiapatita, cuyas propiedades mecánicas mejoraron respecto a espumas de polímero, siendo excelentes candidatos como soportes en procesos de regeneración de tejido óseo [34,35].

Sistemas polimerizados en presencia de poliésteres alifáticos

La incorporación de algunos poliésteres alifáticos biodegradables obtenidos por polimerización por apertura de anillos de lactonas, lactidas (L-LA, el isómero óptico natural o DL-LA, mezcla racémica) o ε-caprolactona (CL), en la polimerización de metacrilato de metilo (MMA) ha posibilitado la obtención de sistemas parcialmente biodegradables.

Algunos estudios sobre la incorporación de poli(ε-caprolactona) (PCL) en la formulación de sistemas acrílicos de aplicación en traumatología, cirugía ortopédica y aplicaciones dentales se se están llevando a cabo en nuestro laboratorio. La poli-caprolactona, PCL, es un poliéster lineal, alifático, semicristalino y con carácter hidrofóbico que posee excelentes propiedades entre las que se encuentran: biocompatibilidad, permeabilidad y biodegradabilidad [36].

La preparación de perlas por polimerización en suspensión de metacrilato de metilo (MMA) en presencia de diferentes porcentajes de PCL conduce a la formación de interesantes sistemas microheterogéneos PMMA/PCL en los que PCL actúa como agente plastificante en la matriz de PMMA [37].

El procedimiento empleado involucra la disolución del poliéster en el monómero acrílico, la incorporación del iniciador de la polimerización radical, típicamente peróxido de benzoílo, y el agregado de dicha solución en un reactor de polimerización en suspensión previamente acondicionado con temperatura, agitación, agente de suspensión y burbujeo de nitrógeno. Las

perlas preparadas muestran una morfología microheterogénea muy interesante y dependiente de la concentración de PCL, como puede observarse por microscopía electrónica de barrido (SEM).

La posibilidad de formación de copolímeros de injerto entre PCL y PMMA durante la polimerización radical de metacrilato de metilo en presencia de PCL ha sido ya descrita en la literatura. [38] La presencia de radicales en el medio de reacción puede producir macroradicales de PCL por reacciones de transferencia, que se incorporen covalentemente a las cadenas de PMMA y/o generando reacciones de entrecruzamiento.

En la Figura 6 se muestran las micrografías obtenidas por SEM de algunos de los sistemas preparados. El tratamiento con ácido sulfúrico permitió la eliminación selectiva por hidrólisis de PCL en las perlas, como puede observarse en la Figura 7.

Estas perlas con componentes biodegradables resultan de interés como sustitutivos total o parcial de la fase sólida de las formulaciones tradicionales de cementos acrílicos, empleando para su curado nuevos iniciadores de polimerización radical (básicamente aminas terciarias de baja toxicidad y derivados de ácidos grasos).

La polimerización radical de metacrilato de metilo en presencia de otros poliésteres alifáticos como poli(L-ácido láctico) (PLLA) se ha descrito como una posibilidad para reducir la cristalinidad del PLLA lo que conduce a un aumento de la velocidad de degradación. Al mismo tiempo la presencia de la fase acrílica dispersa proporciona un aumento de la tenacidad [39]. En estos casos se ha demostrado la formación de copolímeros de injerto originando redes altamente interconectadas como consecuencia de la alta reactividad del PLLA en reacciones de iniciación y acoplamiento radical.

Composites biodegradables

El uso de mezclas de copolímeros de CL y DL-LA con fosfato tricálcico en el tratamiento de defectos óseos, ya sea como relleno o en reconstrucción de partes defectuosas principalmente en cirugía máxilo-facial ha sido recientemente descrito [40]. Estas mezclas de P(CL-DLLA)-TCP son reabsorbibles, no tóxicas, fáciles de manipular y tienen las propiedades oseoconductoras del material cerámico [41] y osteogénicas de los poli(α-hidroxiácidos).

Asimismo el uso de composites de hidroxiapatita sintética y P(CL-DLLA) ha sido también estudiado y se han empleado con éxito en experimentación animal para aplicaciones en cirugía ortopédica y odontología reconstructiva [42].

En este contexto han aparecido varias publicaciones, principalmente del grupo de A. G. Mikos de la Universidad de Rice, USA, en los que se describe la preparación y utilización de poliésteres de ácido fumárico con propilenglicol y su aplicación como cementos óseos biodegradables [43-45], mediante curado *in situ* por copolimerización radical con vinil pirrolidona (VP), activada a baja temperatura empleando peróxido de benzoílo y aminas terciarias aromáticas. Así, el empleo de polímeros altamente insaturados, con un doble enlace presente en cada unidad estructural de fumarato, permite generar sistemas entrecruzados *in vivo* mediante la polimerización de poli(propilenfumarato) (PPF) con VP [46]. El relleno de defectos óseos con estos composites de cualquier tamaño o forma, reemplazando hueso trabecular, puede efectuarse entonces con una mínima intervención quirúrgica [47]. Estos sistemas mostraron una biodegradación en periodos de tiempo razonables, pero la presencia de VP residual puede originar problemas de toxicidad [48]. Para resolver este problema se están investigando otros agentes de entrecruzamiento del PPF que sean no tóxicos como el poli(etilenglicol)-dimetacrilato (Figura 8), para su empleo en composites reforzados con β-TCP, que actúa como un cerámico particulado que proporciona refuerzo mecánico y osteoconductividad [49].

Incorporación de macromonómeros a sistemas parcialmente biodegradables

Los macromonómeros o macrómeros, monómeros de alto peso molecular, son moléculas de gran utilidad para diseñar y preparar sistemas poliméricos con estructuras de bloque o de injerto, con propiedades especiales. El alto peso molecular y su estructura química son factores determinantes a la hora de diseñar sistemas polimerizables por mecanismos radicálicos, con otros monómeros comerciales y obtener así copolímeros con estructuras y propiedades especiales. En el campo de los biomateriales se han desarrollado sistemas en la década de los 90, sintetizándose macrómeros derivados de sistemas biodegradables como el ácido láctico, ácido glicólico, poli(óxido de etileno), poli-caprolactona [50-52], a los que se han anclado mediante reacciones orgánicas funciones polimerizables (vinílicas, acrílicas).

El diseño de macrómeros anfifílicos , con segmentos alternantes hidrofílicos e hidrofóbicos, permite la incorporación de estos sistemas a polimerizaciones en emulsión actuando como agentes emulsificantes y estabilizantes de partículas y emulsiones en agua, confiriendo además propiedades especiales a los copolímeros preparados, bien de bloque o de injerto. Su actuación como agentes emulsificantes en este tipo de polimerizaciones con monómeros hidrofóbicos se debe a su carácter como estabilizante estérico mediante la absorción o injerto en partículas o micelas, como se muestra en la Figura 9, dando lugar a una organización hidrofóbica polimerizable en el núcleo de la partícula, e hidrofílica en el exterior de la misma. Una típica copolimerización en emulsión incorporando macrómeros amfifílicos y monómeros con carácter hidrofóbico se realiza en agua o mezclas de agua/alcohol a temperaturas entre 50-80ºC, con concentraciones de monómeros altas respecto a las de macromonómero (0.5-20.0 mmoles de monómero, 0.02-0.1 mmoles de macrómero), y un iniciador radicálico en concentración 1% mol respecto a la cantidad total de monómeros.

Los sistemas de macromonómeros derivados de poli (óxido de etileno) se han aplicado en estas metodología sintetizándose derivados acrílicos y del estireno con diferentes longitudes de unidades oxietilénicas y con pesos moleculares entre 1000 y 5000, copolimerizándose con metacrilato de metilo, MMA, para dar lugar a la formación de nanoesferas cuyos tamaños dependen de varios factores como la concentración de MMA, el peso molecular de los macrómeros y la concentración de éstos, así como de la cantidad de agua presente en la reacción, y en definitiva del balance hidrofílico/hidrofóbico entre los copolímeros formados y los disolventes de la reacción [53].

Macromonómeros similares derivados del estireno variando el número de unidades oxietilénicas acabados en un grupos metoxi e incorporando unidades etilénicas de longitud variable, se han copolimerizado con estireno por mecanismos radicálicos encontrándose que la velocidad de copolimerización aumenta a mayores concentraciones de macrómero y con una mayor presencia de grupos hidrofóbicos, es decir cuando el número de unidades etilénicas aumenta en el macromonómero. Asimismo, los copolímeros de injerto sintetizados muestran que la copolimerización micelar transcurre por mecanismos de polimerización radical pseudo-viva con terminaciones limitadas entre los macroradicales en propagación, aumentando los pesos moleculares promedio con la conversión de las reacciones, y obteniéndose nanoesferas con radios promedios de 15 nm y pesos moleculares de 7.4×10^6 para el caso de un macrómero de 18 unidades oxietilénicas y 7 etilénicas [54].

Referencias

[1] D. K. Gilding, A. M. Reed, *Polymer*, **20**, 1459 (1979).
[2] T. H. Barrows, *Clin. Mater.*, **1**, 233 (1986).

[3] A. J. Domb, S. Amselem, R. Langer, M. Maniar, Polyanhydrides as carriers of drugs, In: Biomedical Polymers Designed to degrade systems. S. W. Shalaby Ed., Hanser, New York, 1994, p. 69.
[4] J. Heller, A. U. Daniels, Poly(orthoesters), In: Biomedical Polymers Designed to degrade systems. S. W. Shalaby Ed., Hanser, New York, 1994, p. 35.
[5] J. Kohn, R. Langer, Bioresorbable and bioerodible materials, In: Biomaterials Science, B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, J. E. Lemons, Eds., Academic Press, New York, 1996, p. 64.
[6] S. W. Shalaby, R. A. Johnson, Synthetic absorbable Polyesters, In: Biomedical Polymers Designed to degrade systems. S. W. Shalaby Ed., Hanser, New York, 1994, p. 1.
[7] Y. Ikada, H. Tsuji, *Macromol. Rapid Commun.*, **21**, 117 (2000).
[8] J. O. Hollinger. Ed., *"Biomedical Applications of Synthetic Biodegradable Polymers"*, CRC Press, New York, 1995.
[9] A. Atala, D. Mooney, J. P. Vacanti, R. Langer, Eds., *"Synthetic Biodegradable Polymer Scaffolds"*, Birkhauser, Boston, 1997.
[10] M. Szycher, Ed., *"High Performance Biomaterials"*, Technomic, Lancaster, 1991.
[11] A. Gallardo, J. L. Eguiburu, M. J. Fernández Berridi, J. San Román, *J. of Controlled Release*, **55**, 171 (1998).
[12] P. Menei, A. Croué, V. Daniel, A. Pouplard-Barthelaix, J. P. Benoit, *J. Biomed. Mater. Res.*, **28**, 1079 (1994).
[13] L. R. Beck, D. R. Cowsar, D. H. Lewis, R. S. Cosgrove, C. T. Riddle, S. L. Lowry, T. Epperly, *Fert. Steril.*, 31, 545 (1979).
[14] A. L. Van Wezel, *Nature*, **216**, 64 (1967).
[15] R. Langer, *Science*, 249, 1527 (1990).
[16] Q-Q. Qiu, P. Ducheyne, P. S. Ayyaswamy, *J. Biomed. Mater. Res.*, **52**, 66 (2000).
[17] R. J. Linhardt, en "*Controlled release of drug: polymers and aggregate systems*", VCH Publishers, New York, 53, (1989)
[18] W. M. Saltzman, R. Langer, *Biophys. J.*, **55**, 163 (1989).
[19] T. Ehtezazi, C. Washington, C. D. Melia, *J. Control. Release*, **31**, 129 (1994).
[20] J. Hanes, M. Chiba, R. Langer, *Biomaterials*, **19**, 163 (1998).
[21] T. Ehtezazi, C. Washington, *J. Control. Release*, 68, 361 (2000).
[22] S. Reyes, K. Jensen, Chem. Engng. Sci. 40, 1723 (1985).
[23] F. L. Mi, S. S. Shyu, C. T. Chen, J. Y. Schoung, *Biomaterials*, **20**, 1603 (1999).
[24] G. Fundueanu, C. Nastruzzi, A. Carpov, J. Desbrieres, M. Rinando, *Biomaterials*, **20**, 1427 (1999).
[25] S. Nacht, R. Won, M. Katz, T. Cheng, *Eur, Pat. App*., EP 369741 A2 (1990).
[26] E. Jabbari,, M. Khakpour, *Biomaterials*, **21**, 2073 (2000).
[27] J. Y. Zhang, E. J. Beckman, N. P. Piesco, S. Agarwal, *Biomaterials*, **21**, 1247 (2000).
[28] P. Eiselt, J. Yeh, R. K. Latvala, L. D. Shea, D. J, Mooney, *Biomaterials*, **21**, 1921 (2000).
[29] L. Lu, S. J. Peter, M. D. Lyman, H. L. Lai, S. M. Leite, J. A. Tamada, J. P. Vaconti, R. Langer, A. G. Mikos, *Biomaterials*, **21**, 1595 (2000).
[30] S. Uyama, *Biomaterials*, **21**, 1837 (2000).
[31] Q. Liu, E. L. Hedberg, Z. Liu, R. Bahulekar, R. K. Meszlenyi, A. G. Mikos, *Biomaterials*, **21**, 2163 (2000).
[32] Y. J. Park, Y. M. Lee, S. N. Park, S. Y. Sheen, C. P. Chung, S. J. Lee, *Biomaterials*, **21**, 153 (2000).
[33] S. V. Madihally, H. W. Mattew, *Biomaterials*, **20**, 1133 (1999).
[34] R. Zhang, P. X. Ma, *J. Biomed. Mater. Res*., **44**, 446 (1999).
[35] Y. S. Nam, T. G. Park, *J. Biomed. Mater. Res*., **47**, 8 (1999).
[36] C. G. Pitt, T. A. Marks, A. Schindler, in Controlled Release of Bioactive Materials, R. Baker Ed., Academic Press, (1980).

[37] G. A. Abraham, A. Gallardo, A. Motta, C. Migliaresi, J. San Román, *Macromol. Mater. Eng.* **282**, 44 (2000).
[38] P. Jarret, C. V. Benedict, J. P. Bell, J. A. Cameron, S. J. Huang, *in Polymers as Biomaterials*, (Ed: S. W. Shalaby, A. S. Hoffman, B. D. Ratner, T. A. Horbett), Plenum Publ. Corp. **1985**, p. 181.
[39] M. Avella, M. E. Errico, B. Immirzi, M. Malinconico, L. Falcigno, L. Paolillo, *Macromol. Chem. Phys.*, **201**, 1295 (2000).
[40] M. Ekholm, J. Hietanen, C. Lindqvist, J, Rautavuori, S. Santavirta, A. Salo, J. Seppälä, R. Suuronen, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **10**, 69 (1999).
[41] J. R. Hanft, R. W. Sprinkle, M. S. Surprenant, M. B. Werd, *Clinics in Pediatric Med. Surg.*, **12**, 437, (1995).
[42] E. Ural, K. Kesenci, L. Fambri, C. Migliaresi, E. Piskin, *Biomaterials*, **21**, 2147 (2000).
[43] S. J. Peter, P. Kim. A. W. Yasko, M. J. Yaszemski, A. G. Mikos, *J. Biomed. Mater. Res.*, **44**, 314 (1999).
[44] S-L. He, A. W. Yasko, M. J. Yaszemski, A. G. Mikos, Proceedings of 25th Annual Meeting of Society for Biomaterials, 1999, p.12.
[45] A. J. Domb, N. Manor, O. Elmalak, *Biomaterials*, **17**, 411 (1996).
[46] S. J. Peter, P. Kim, A. W. Yasko, M. J. Yaszemski, A. G. Mikos, , *J. Biomed. Mater. Res.*, **44**, 314 (1999).
[47] S. J. Peter, M. J. Yaszemski, L. J. Suggs, R. G. Payne, R. Langer, W. C. Hayes, M. R. Unroe, L. B. Alemany, P. S. Engel, A. G. Mikos, *J. Biomater. Sci. Polym. Edn.*, **8**, 11, 893 (1997).
[48] J. D. Gresser, S.-H. Hsu, H. Nagaoka, C. M. Lyons, D. P. Nieratko, D. L. Wise, G. A. Barabino, D. J. Trantolo, *J. Biomed. Mater. Res.*, **29**, 1241 (1995).
[49] S. He, M. J. Yaszemski, A. W. Yaski, P. S. Engel, A. G. Mikos, Biomaterials, 21, 2389 (2000).
[50] A. Gallardo, J. L. Eguiburu, M. J. Fernández Berridi, J. San Román, *J. Control. Release*, **55**, 171 (1998).
[51] J. C. Ha, S. Y. Kim, Y. M. Lee, *J. Control. Release*, **62**, 381 (1999).
[52] P. Dubois, R. Jerome, P Teyssie, *Macromolecules*, **24**, 977 (1991).
[53] M. Q. Chen, A. Kishida, T. Serizawa, M. Akashi, *J. Polym. Sci.: Polym. Chem.*, **38**, 1811 (2000)
[54] M. Maniruzzaman, S. Kawaguchi, K. Ito, *Macromolecules*, **33**, 1583 (2000).