

Síntese, Caracterização e Degradação “*in vitro*” do poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico)

MOTTA⁽¹⁾, A.C., DUEK, E.A.R. ⁽²⁾

⁽¹⁾ Fac. Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas
C.P. 6122, 13081-970, Campinas (SP), Brasil
e-mail : motta@fem.unicamp.br

⁽²⁾ Laboratório de Biomateriais, CCMB - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo - PUCSP, Praça Dr. José Ermírio de Moraes, 290, 18030-230, Sorocaba, SP, Brasil.
e-mail: eliduek@pucsp.br

RESUMO

A utilização de polímeros bioreabsorvíveis na área médica tem aumentado a cada ano. Dentre os polímeros bioreabsorvíveis mais estudados, encontra-se o poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, cuja principal característica é apresentar curto tempo de degradação e por isso, aplicado como suturas, dispositivos para liberação controlada de medicamentos e regeneração guiada de tecido em contato com o osso, periodontia. Os objetivos deste trabalho foram sintetizar, caracterizar e estudar a degradação “*in vitro*” de membranas de PLGA. O copolímero foi sintetizado através da abertura dos dímeros cíclicos do ácido láctico e do ácido glicólico, utilizando como catalisador o Sn(Oct)₂. Obteve-se PLGA com valores de massa molar (\overline{M}_w) da ordem de 10⁵ g/mol e sua estrutura química foi confirmada através de RMN de ¹H e ¹³C e IR. As propriedades térmicas do PLGA foram estudadas por DSC, sendo verificado que o copolímero, na relação estudada, 80/20 é amorfo. O estudo da degradação “*in vitro*” das membranas do PLGA, mostrou o surgimento de cristalinidade em função do tempo de degradação.

Palavras chaves: Síntese, PLGA, degradação *in vitro*.

Synthesis, Characterization, and “*in vitro*” degradation of poly(L-lactic acid-co-glycolic acid), PLGA

ABSTRACT

The use of bioabsorbable polymers in the medical area has been increasing every year. Among the bioabsorbable polymers mostly studied, is poly (L-lactide-co-glycolide), PLGA, whose main characteristic is to present short time of degradation and for that, applied as sutures, devices for controlled liberation of medicines and guided regeneration of fabric in contact with the bone, periodontia. The aim of this work was to synthesize, to characterize and to evaluate the *in vitro* degradation process of PLGA membranes. The copolymer was synthesized by ring opening of the cyclic diesters of lactic acid and glycolic acid, using as catalyst Sn(Oct)₂. PLGA presented high values of molar mass (\overline{M}_w around 10⁵ g/mol) and its chemical structure was confirmed by ¹H NMR, ¹³C NMR, and FTIR spectrometry data. The thermal properties of PLGA by DSC, confirmed that the polymer in this relation 80/20 is amorphous. *In vitro* degradation of PLGA membranes showed that the polymer became crystalline as a function of the degradation time.

Keywords: synthesis, PLGA, *in vitro* degradation.

1 INTRODUÇÃO

Desenvolvimentos recentes no campo dos biomateriais têm chamado a atenção para os polímeros bioreabsorvíveis, dentre eles o copolímero Poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA. A importância de se estudar esses materiais se justifica pelo fato do processo de degradação por hidrólise, gerar produtos que

são absorvidos pelo organismo, como o ácido láctico e ácido glicólico. Dessa forma, o PLGA se apresenta altamente biocompatível e atóxico, além de ser facilmente processado em diferentes dispositivos. [1]

Com tais características, as aplicações clínicas do PLGA têm aumentado expressivamente nos últimos anos, em especial no campo da ortopedia como dispositivos para fixação de fraturas na região craniomaxilofacial, suporte para crescimento celular e dispositivo para liberação controlada de medicamentos. [2] Além destas aplicações o PLGA, em especial na forma de membranas, também tem indicação na regeneração guiada de tecido em contato com o osso, periodontia.

Sua vantagem sobre outros polímeros bioreabsorvíveis, como o poli (L-ácido láctico), PLLA, por exemplo, é o fato do copolímero PLGA requerer um menor tempo para sua completa degradação, implicando menor probabilidade de reações adversas, as quais decorrem, muitas das vezes, de fragmentos cristalinos liberados por polímeros, cujo tempo de degradação seja excessivamente longo [3]. A estrutura química do PLGA é mais suscetível à reação de hidrólise, já que em sua cadeia polimérica existe o mero proveniente do ácido glicólico, que possui um impedimento menor ao ataque das moléculas de H₂O quando comparado ao PLLA, cuja cadeia polimérica é formada exclusivamente por meros provenientes do ácido láctico [4]. A maioria das suturas comerciais existentes no mercado são compostas de seu homopolímero poli (ácido glicólico), PGA. O PGA foi a primeira sutura bioreabsorvível totalmente sintética desenvolvida, sendo comercializada com o nome de DEXON[®] no ano de 1960 por Davis e Geck [5, 6]. Como as fibras do PGA exibem boas propriedades mecânicas, seu principal uso é como materiais de suporte. O que limita sua utilização, em determinadas situações, é o fato do PGA ter uma absorção muito rápida pelo organismo, já que em 2 semanas existe uma perda de aproximadamente 50% de sua resistência original, aumentando para 100% num período de 4 semanas [6]. Sua copolimerização com outros monômeros, entre eles o dímero cíclico do ácido láctico, visa, entre outros fatores, diminuir a dureza de suas fibras e ajustar o seu tempo de degradação.

A copolimerização é um processo que resulta numa grande versatilidade de propriedades e performance que se pode obter dos materiais, via manipulação da relação dos co-monômeros; massa molar e cristalinidade do polímero [7]. No caso do copolímero PLGA tem-se a vantagem de se ter um tempo de degradação intermediário entre o PGA e o PLLA. Enquanto que para PLLA o tempo de reabsorção do material pelo organismo pode levar mais de 36 meses [8], para o copolímero esse tempo pode ser reduzido para aproximadamente 6 meses, dependendo da proporção existente entre os meros. Essa capacidade de controlar o tempo de degradação no organismo direciona, portanto, para aplicações mais específicas [9, 10].

A copolimerização do PLGA pode ser realizada basicamente por dois caminhos: 1) policondensação do ácido láctico e do ácido glicólico, obtendo-se copolímero de baixa massa molar [11]. 2) Polimerização via abertura dos dímeros cíclicos do ácido láctico e do ácido glicólico, resultando em copolímeros de alta massa molar, e conseqüentemente melhores propriedades mecânicas [4]. Nesse trabalho a rota de síntese escolhida foi a segunda.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 SÍNTESE DO COPOLÍMERO PLGA

Copolímeros de PLGA foram sintetizados, via polimerização em massa, através da adição, em uma ampola de vidro, do diéster cíclico do L-ácido láctico (Sigma-Aldrich), e do diéster cíclico do ácido glicólico (Sigma-Aldrich), na relação 80/20, respectivamente, juntamente com o catalisador Sn(Oct)₂ (Sigma). As razões monômero/catalisador empregadas em cada copolimerização, numeradas como PLGA-1, PLGA-2 e PLGA-3 foram: 3126, 6253 e 5764, respectivamente. Estes dados também estão dispostos na Tabela-1. A mistura foi congelada em N₂ líquido, fazendo-se a seguir vácuo na ampola, a qual foi selada e imersa em um banho de óleo a 110^oC por 1 semana, de acordo com Grijpma [12]. Após esse período, o copolímero foi dissolvido em clorofórmio, CHCl₃ (Merck), precipitado em metanol, CH₃OH (Merck) e seco numa estufa a vácuo a 60^oC por 8 h. O copolímero foi caracterizado através de cromatografia de permeação em gel (GPC), espectroscopia na região do infravermelho (IR), ressonância magnética nuclear de hidrogênio e de carbono treze (RMN ¹H e ¹³C) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

2.1.1 Obtenção da Membrana de PLGA

As membranas de PLGA foram preparadas a partir da dissolução dos copolímeros PLGA-1 e PLGA-2 em clorofórmio (CHCl₃) (MERCK) na concentração 5% de massa dos monômeros, em relação ao volume de clorofórmio, (g/mL), na temperatura ambiente. Após completa dissolução, a solução foi vertida numa placa de vidro dentro de uma cuba previamente saturada com vapor do solvente, com conexão para uma corrente de ar. Após aproximadamente 24 h, as membranas foram retiradas da placa e colocadas em estufa a vácuo a 60^oC por 8 h para eliminação completa do solvente. Após secagem, as membranas foram armazenadas em dessecador sob vácuo. As membranas obtidas apresentaram-se como material translúcido.

2.1.2 Cromatografia de Permeação a Gel (GPC)

A massa molar numérica média (\overline{Mn}), mássica média (\overline{Mw}) e o índice de polidispersão (IP) foram determinadas através de um cromatógrafo de permeação em gel (GPC) CLWA-1, a temperatura de 25°C, utilizando-se THF (tetraidrofurano) como fase móvel, numa concentração de 10mg/mL. As colunas utilizadas foram as de poliestireno de $10^3, 10^4$ e 10^5 nm e detector de índice de refração Waters 410.

2.1.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho (IR)

Os espectros no infravermelho foram obtidos na região de 4000 a 650 cm^{-1} , em amostras na forma de filmes sobre NaCl, em um espectrômetro BOMEN MB-Séries, a temperatura ambiente.

2.1.4 Ressonância Magnética (RMN de ^1H e ^{13}C)

Os espectros de RMN foram obtidos em um espectrômetro GEMINI 300BB operando a 75 MHz para RMN ^{13}C e 300 MHz para RMN ^1H . Foram utilizados tubos de vidro 5 mm de diâmetro e clorofórmio deuterado como solvente, a temperatura ambiente, numa concentração de 10 % em massa tanto para o RMN de próton quanto para o de carbono treze.

2.1.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Aproximadamente 10 mg do polímero foram aquecidas de 25 a 200°C a 10°C/min, mantidas a 200°C por 5min, resfriadas até -50°C a 30°C/min, mantidas a -50°C por 5 min e a seguir aquecidas novamente até 200°C a 10°C/min, sob purga de N_2 . Essas etapas foram seguidas para todas as amostras em um equipamento TA modelo MDSC2910.

2.1.6 Estudo da Degradação Hidrolítica *in vitro*

Membranas foram imersas em tubos de vidro contendo solução tampão de fosfato (pH 7,4), sendo que fragmentos desses filmes eram retirados em períodos específicos de 0, 15, 30, 60, 90, e 120 dias, lavadas em água destilada, secos em estufa a vácuo a 60°C por 8 h e caracterizados pelas seguintes técnicas: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Microscopia eletrônica de Varredura (SEM). As condições das análises de DSC foram às mesmas citadas anteriormente.

2.1.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

Foram feitas micrografias de superfície e de superfície de fratura, nos períodos determinados, para cada membrana preparada, utilizando-se microscópio eletrônico de varredura modelo JEOL JXA840A. Para a análise da superfície da fratura as amostras foram fraturadas em N_2 líquido. Todas as amostras foram recobertas com ouro-paládio com metalizador Sput Coater BALTEC SCD 050 com corrente de 30mA durante 200s.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com MIDDLETON & TIPTON, [13] a copolimerização do PLGA é uma reação de equilíbrio, conforme mostrado na Figura 1.

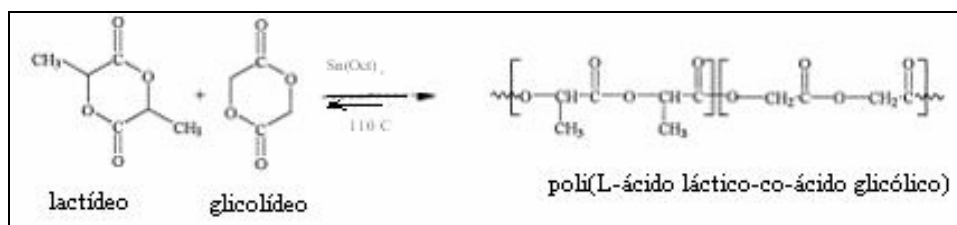


Figura 1: Síntese de poli (L-ácido láctico-co-ácido glicólico), (PLGA) [13].

O catalisador $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ possibilita a abertura dos anéis dos dímeros cíclicos do ácido láctico e do ácido glicólico, e se mostra altamente eficiente no processo de polimerização tanto do homopolímero PLLA como de copolímeros de PLGA, além de ser aceito em inúmeros países como aditivo alimentar, o que torna sua utilização muito difundida [14].

A Figura 2 mostra as curvas de GPC das amostras de PLGA.

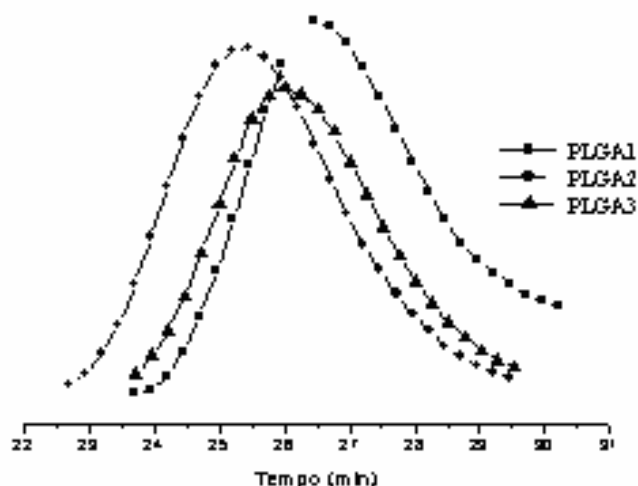


Figura 2: Curvas de GPC para amostras de PLGA

A Tabela-1 apresenta os resultados de massas molares média em número (\overline{M}_n), massas molares em massa (\overline{M}_w) e índice de polidispersão (IP) para as diferentes sínteses do PLGA na relação 80/20, além da relação monômero/catalisador, M/C, empregada em cada síntese.

Tabela 1- Massas molares (\overline{M}_w e \overline{M}_n) e índice de polidispersão (IP) do PLGA e dados das relações molares (M/C) entre o monômero proveniente do diéster cíclico do ácido láctico e o catalisador Sn(Oct)₂ usados nas polimerizações em massa do PLGA a 110°C, por 1 semana.

Síntese	Razão molar M/C	M_w (g/mol)	M_n (g/mol)	IP (M_w/M_n)
PLGA-1	3126	131000	64400	2,0
PLGA-2	6253	283500	164500	1,7
PLGA-3	5764	95500	51500	1,9
PLGA comercial (Purac)	-----	126000	-----	-----

Verifica-se que em todas as copolimerizações do PLGA os valores de massas molares obtidos foram da ordem de 10^5 g/mol, o que está de acordo com o copolímero comercial (marca Purac), tabela 1. Avaliando-se a tabela-1 verifica-se, nitidamente, a influência da relação monômero/catalisador, M/C, na massa molar média das amostras. A concentração do catalisador é um parâmetro de extrema importância para o sucesso da reação. Segundo um estudo desenvolvido por HYON [15] para o homopolímero poli (ácido láctico), foi verificado que maiores valores de massa molar eram obtidos quando a razão M/C era mantida próxima 5000 vezes. Para o trabalho em questão, foi notado que, nas condições de temperatura e tempo utilizados no processo de copolimerização do PLGA, a razão M/C que gera maior tamanho de cadeia é a próxima a 6200 vezes, sendo, portanto esse o valor escolhido para futuras obtenções do copolímero.

Os copolímeros sintetizados foram analisados estruturalmente através de espectroscopia na região do infravermelho. Todos os copolímeros apresentam as seguintes bandas de absorção (ν , cm^{-1}): 2997–2965 (CH_2 , CH_3), 1759 (C=O), 1360–1450 (CH_3), 750 (CH), que caracterizam o material [16]. A Figura 3 é referente ao espectro de FTIR do PLGA-1 do trabalho.

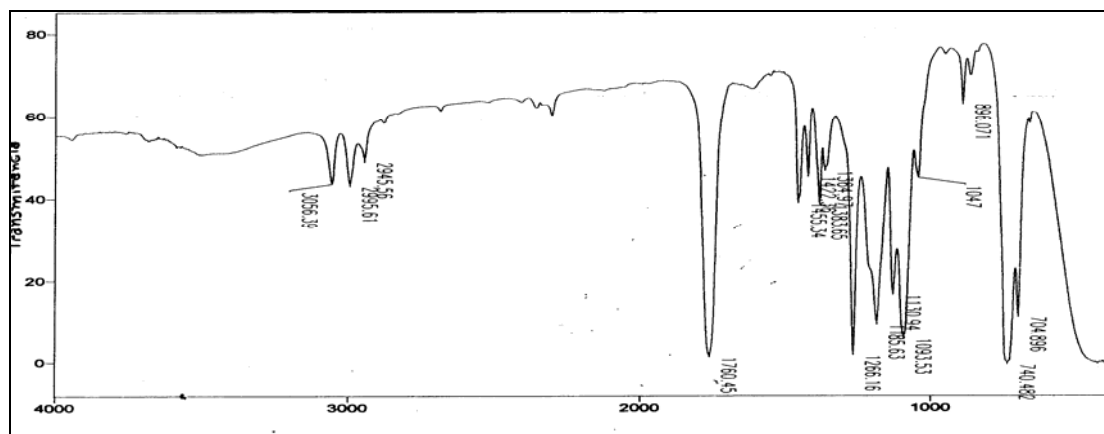


Figura 3: Espectro na região do infravermelho referente à amostra do copolímero PLGA-1.

A análise do espectro de RMN H^1 do copolímero PLGA foi baseada num artigo de Kaspertczyk [17]. Segundo esse autor, a região do espectro de RMN H^1 que resulta em diferenças em relação às proporções de unidades do mero proveniente do ácido láctico e unidades do mero proveniente do ácido glicólico é a região entre 4,74 a 5,1 ppm, sendo, portanto essa região a escolhida para comparar com o espectro da literatura, como mostra a Figura 4. Os deslocamentos químicos encontrados foram: ($CDCl_3$, δ , ppm) 1.56 (3H, CH_3), 4.77 (2H, CH_2), 5.18 (H, $OCHCH_3$) que constam na Figura 4.

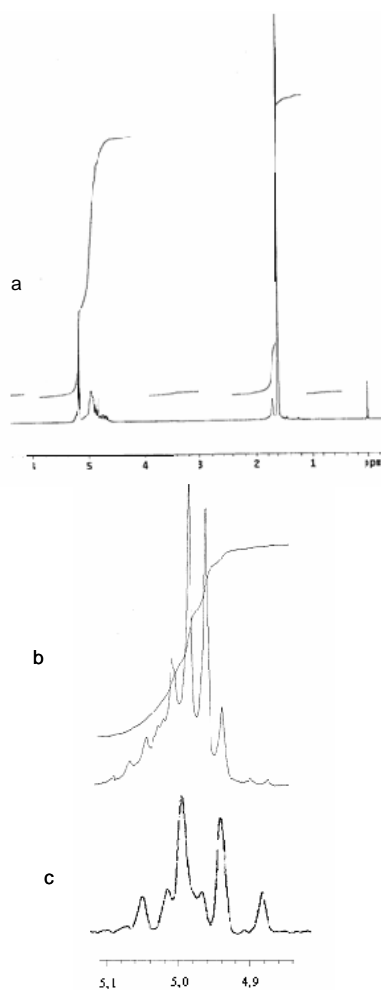


Figura 4: Espectro de ressonância magnética nuclear H^1 RMN referente ao PLGA-1 a) espectro total da amostra de PLGA1, b) região do espectro da amostra PLGA1 ; c) região do espectro do PLGA literatura [17].

O espectro de RMN¹³C, Figura 5, mostra os seguintes deslocamentos químicos (CDCl₃, δ, ppm): 16,6 (C, CH₃); 69 (C, CH); 166 e 170 (C, C=O), que caracterizam o PLGA [17, 18]. A região que diferencia as unidades do mero proveniente do ácido láctico e as unidades do mero proveniente do ácido glicólico é a região no intervalo 166-170 ppm. Os espectros da Figura 5 comparam essa região do espectro com a da literatura, podendo se verificar os mesmos sinais, os quais, no trabalho da literatura, se encontram atribuídos em termos de unidade L (proveniente ácido láctico) e unidade G (provenientes do ácido glicólico).

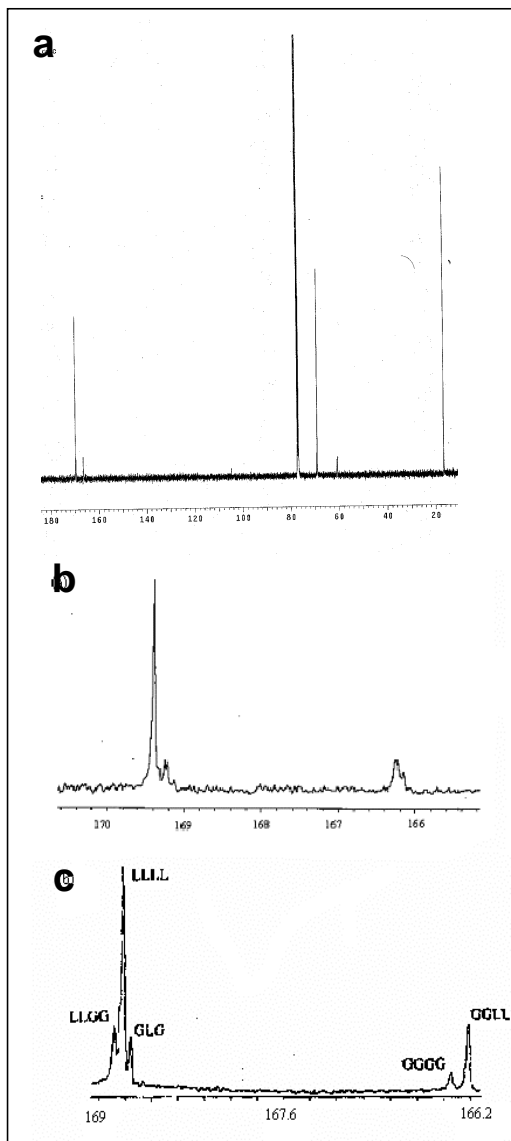


Figura 5: - Espectro de ressonância magnética nuclear de carbono ¹³C RMN referente ao PLGA1, sendo a) todos os sinais verificados no espectro da amostra PLGA1; b) região ampliada do espectro da amostra PLGA1; c) região ampliada do espectro com as respectivas atribuições de unidades L (provenientes do lactide) e G (proveniente do glicolide) da literatura.

A análise de DSC para o copolímero PLGA na relação 80/20 mostra que o material sintetizado é amorfo, com uma nítida temperatura de transição vítrea (T_g) a 56 °C para os copolímeros PLGA-1 e PLGA-2; 57 °C para o PLGA-3, valores bem próximos à T_g do copolímero comercial, que é de 59 °C. A Figura 6, a seguir, comprova a amorficidade do copolímero.

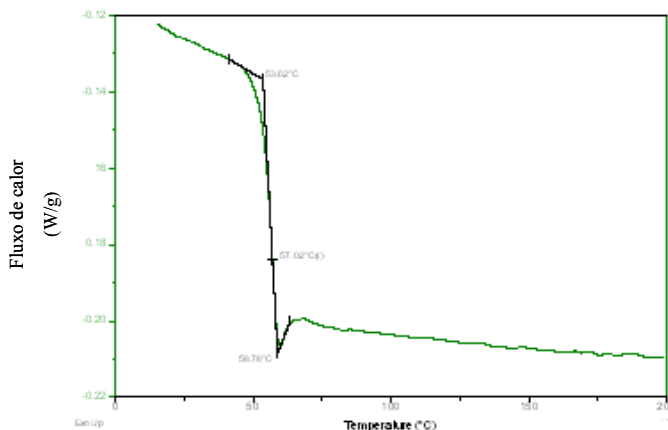


Figura 6: Curvas de DSC do 2^o aquecimento do copolímero PLGA-3, na razão 80/20.

Durante o processo de degradação dos polímeros bioreabsorvíveis as ligações ésteres sofrem hidrólise originando cadeias menores (oligômeros até monômeros), com terminações ácidas.

A Figura 7 ilustra a reação de hidrólise do PLGA.

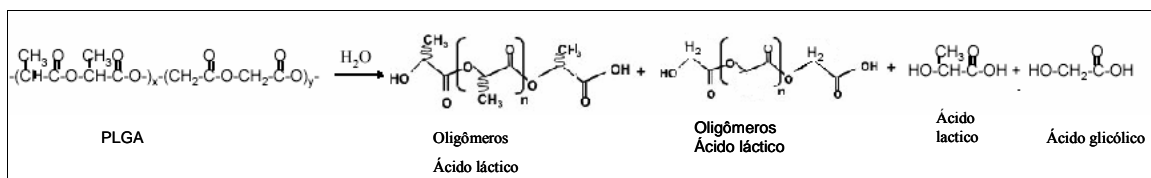


Figura 7: Reação de hidrólise do copolímero PLGA.

Após a hidrólise do material, a degradação prossegue através da eliminação metabólica dos produtos e subprodutos de reação, sendo que o ácido láctico entra no ciclo dos ácidos tricarbônicos sendo metabolizado e posteriormente eliminado na forma de CO_2 e H_2O , enquanto que o ácido glicólico, além de poder entrar no ciclo dos ácidos tricarbônicos, seguindo o mesmo comportamento que o ácido láctico, também pode ser excretado diretamente na urina [19].

A degradação “in vitro” das membranas de PLGA foi acompanhada através dos resultados obtidos dos 1^o e 2^o aquecimentos pela técnica de DSC, para as membranas PLGA1 ($\overline{M}_w = 131000$ g/mol) e PLGA2 ($\overline{M}_w = 283000$ g/mol), com o objetivo de avaliar a influência da massa molar no processo de degradação. A Figura 8 mostra os termogramas para os 1^o e 2^o aquecimentos do PLGA-1, onde se pode notar, nitidamente, o surgimento do pico de fusão a partir de 15 dias de degradação do material, indicando assim a presença de cristais no material, a partir desse tempo de imersão em tampão fosfato. LI *et al* [20] relatam que a cristalização do PLGA está fortemente associada à degradação preferencial das unidades provenientes do glicólico, já que a saída de tais unidades da cadeia do copolímero, torna-as mais isotáticas e, portanto, potencialmente cristalizáveis. Ainda nesta Figura-8, nota-se que durante o processo de degradação ocorre uma queda acentuada do fluxo de calor próximo a T_g do material. Esse “poço” é decorrente das tensões acumuladas do copolímero, e, portanto do seu processo de relaxação.

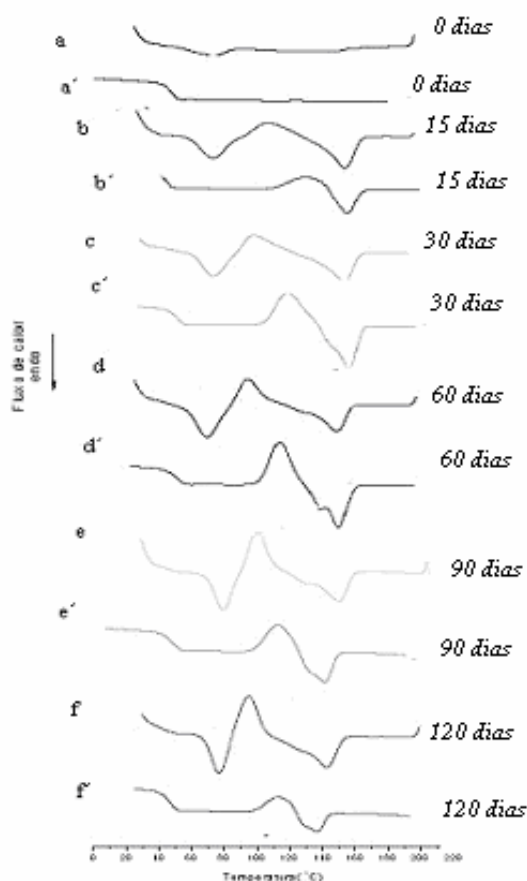


Figura 8: Termograma de DSC dos 1º e 2º aquecimentos das amostras de PLGA-1, onde a, b, c, d, e, f referem-se as curvas do 1º aquecimento e a', b', c', d', e', f' referem-se as curvas do 2º aquecimento

A Tabela 2 mostra os dados do 1º e 2º aquecimentos para as membranas de PLGA-1 e PLGA-2. No 1º aquecimento obteve-se valores de T_m (temperatura de fusão) e ΔH_m (entalpia de fusão) dos copolímeros (após 15 de degradação), no 2º aquecimento obteve-se os valores de T_g (temperatura de transição vítrea), T_c (temperatura de cristalização) com seu respectivo ΔH_c (entalpia de cristalização), T_m e ΔH_m das amostras.

Tabela 2: Valores Temperatura de transição vítrea (T_g); Temperatura de cristalização (T_c), Entalpia de cristalização (ΔH_c), Temperatura de fusão (T_m), Entalpia de fusão (ΔH_m) para amostras de PLGA-1 e PLGA-2, em função do tempo de degradação, obtidos do 2º aquecimento das curvas de DSC. As análises foram feitas em atmosfera de He, com rampa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e amostras pesando aproximadamente 10 mg.

Tempo de degradação (dias)	T_g (°C)	T_g (°C)	T_c (°C)	T_c (°C)	ΔH_c	ΔH_c	T_m (°C)	T_m (°C)	ΔH_m	ΔH_m
	PLGA1	PLGA2	PLGA1	PLGA2	(J/g)	(J/g)	PLGA1	PLGA2	(J/g)	(J/g)
0	54	56	----	----	---	----	----	----	----	----
15	50	52	135	132	-7	-8	156	157	5	7
30	49	50	118	117	-21	-16	156	156	19	14
60	44	40	110	108	-23	-23	149	145	22	18
90	40	39	109	106	-18	-20	142	140	16	16
120	37	39	109	106	-8	-18	135	138	7	16

Durante o processo de degradação, nota-se queda da temperatura de transição vítrea, passando de $54\text{ }^\circ\text{C}$, no tempo 0, para $37\text{ }^\circ\text{C}$ decorrido 120 dias para a amostra PLGA1. No início do processo de

degradação a atribuição da queda da T_g pode estar associada ao efeito plastificante da absorção de H_2O pela membrana [17], e posteriormente pode ser atribuído ao avançado grau de degradação das membranas a partir de 60 dias. Pela Tabela 4, pode-se verificar que a temperatura de cristalização (T_c) sofre uma significativa queda, observada tanto para PLGA-1 como para PLGA-2, em função do tempo de degradação, o que está relacionada à maior facilidade que os cristais têm em se formarem, como consequência da maior liberdade que as cadeias adquirem para se reorganizarem, no decorrer do processo de degradação.

Já a entalpia de cristalização (ΔH_c) tem um aumento até o período de 60 dias, para os dois copolímeros, em função das membranas estarem se tornando mais cristalinas, mas a partir deste período o valor de ΔH_c também começa a cair, o que está associado à necessidade de menos energia para a formação de cristais, quando se tem um número maior de cadeias de menor tamanho [21].

Não foi possível diferenciar as membranas de PLGA1 ($\overline{Mw} = 131000$ g/mol) e PLGA2 ($\overline{Mw} = 283000$ g/mol), quanto a análise térmica, já que os perfis apresentados durante o processo de degradação, para as membranas dos copolímeros de diferente massa molar foram o mesmo. Talvez não se tenha notado diferenças, pelo fato do tamanho das cadeias poliméricas, tanto do PLGA1 como PLGA2, serem da mesma ordem de grandeza ($\overline{Mw} = 10^5$ g/mol).

A morfologia da membrana de PLGA foi acompanhada durante o período de imersão em tampão fosfato (37 °C). A Figura 9 mostra micrografias de superfície e de superfície de fratura apresentada pelas membranas do copolímero antes da degradação e após 60 dias de degradação. A Figura-9a mostra a micrografia de superfície da membrana de PLGA antes de ser iniciado o processo de degradação, cuja aparência se mostra completamente lisa e homogênea. A micrografia referente à superfície da membrana de PLGA, transcorridos 60 dias de imersão em tampão fosfato, está mostrada na Figura 9b, cuja aparência é de uma membrana totalmente fragmentada, denotando assim o avançado grau de degradação. A Figura 9c mostra a micrografia referente à superfície de fratura da membrana de PLGA antes de ser iniciada a degradação, sendo verificada uma morfologia completamente densa, ou seja, sem a presença de poros. A partir de 60 dias tornou-se inviável a análise de microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura para o PLGA, pela impossibilidade de fraturar a membrana em N_2 líquido, devido à degradação.



Figura 9a: Micrografia eletrônica de varredura superfície do PLGA antes do processo de de degradação “*in vitro*”

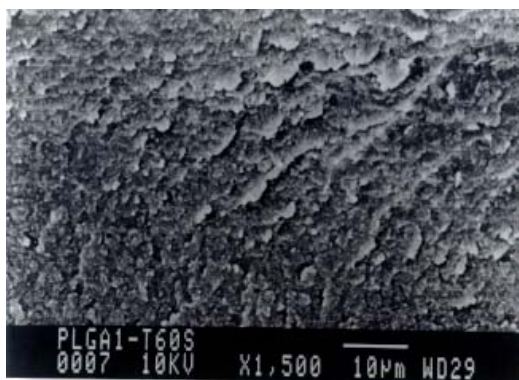


Figura 9b. Micrografia eletrônica de varredura de superfície do PLGA após 60 dias de degradação

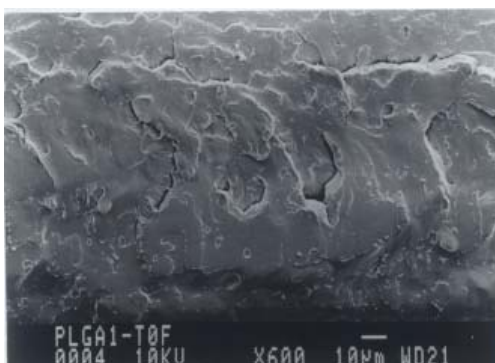


Figura 9c. Microscopia eletrônica de varredura de superfície de fratura de membrana de PLGA antes de degradação “*in vitro*”.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] MANO, J., SOUSA, R., BOESEL, L., NEVES N., “Bioinert, Biodegradable and Injectable Polymeric Matrix Composites for Hard Replacement: State of the Art and Recent Developments”, *Composites Science and Technology*, v. 64, pp. 789–817, 2004.
- [2] JAIN, R.A., “The Manufacturing Techniques of Various Drug Loaded Biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) Devices”, *Biomaterials*, v. 21, pp. 2475-2490, 2000.
- [3] BERGSMA, J.E., de BRUIJN, W.C., ROZEMA, F.R., BOS, R.R., BOERING, G., “Late Degradation Tissue Response to poly(L-lactide) Bone Plates and Screws”, *Biomaterials*, v. 16, pp. 25-31, 1995.
- [4] BENDIX, D., “Chemical Synthesis of Polylactide and its Copolymers for Medical Applications”, *Polym. Degrad. Stab*, v. 59, pp. 129-135, 1998.
- [5] KOHN, J., LANGER, R., “Bioresorbable and Bioerodible Materials”, *Biomaterials Science*, New York, Academic Press, pp.64-72, 1996.
- [6] SHALABY, S.W., JOHNSON, R.A., “Synthetic Absorbable Polyesters”, *Biomedical Polymers Designed to Degrade Systems*, New York, pp. 1-34, 1994.
- [7] BERKLAND, C., KIM, K.K., PACK, D., “Fabrication of PLG Microspheres with Precisely Controlled and Monodisperse size Distributions”, *Journal of Controlled Release*, v. 73, pp. 59-74, 2001.
- [8] ANNETTE, C., RENOUF-G., ROSEB, J., FARRARB, D., CAMERONA, R., “A Degradation Study of PLLA Containing Lauric Acid”, *Biomaterials*, v. 26, pp. 2415–2422, 2005.
- [9] BARBER, F.A., “Resorbable Fixation Devices: a Product Guide”, *Orthopedic Special Edition*, v. 4, pp. 1111-1117, 1998.
- [10] PIETRZAK, W.S., VERSTYNNEN, B.S., SARVER, D.R., “Bioabsorbable Fixation Devices: Status for craniomaxillofacial Surgeon”, *Journal of Craniofacial Surgery*, v. 2, pp. 92-96, 1997.
- [11] LUNT, J., “Large-scale Production, Properties and Commercial Applications of Polylactic Acid Polymers”, *Polym. Degrad. Stab*, v. 59, pp. 145-152, 1998.
- [12] GRIJPMMA, D.W., NIJENHUIS, J., PENNING, A.J., “Synthesis and Hydrolytic Degradation Behaviour of high-molecular Weight L-Lactide and Glycolide Copolymers”, *Polymer Bulletin*, v. 25, pp. 327-333, 1991.
- [13] MIDDLETON, J., TIPTON, A.J., “Synthetic Biodegradable Polymers as Orthopedic Devices”, *Biomaterials*, v. 20, pp. 2335-2346, 2000.

- [14] KOWALSKI, A., DUDA, A., PENCZER, “Mechanism of Cyclic Ester Polymerization Initiated with Tin(II) Octoate”, *Macromolecules*, v. 33, pp. 689, 2000.
- [15] HYON, S.H., JAMSHIDI, K., IKADA, Y., “Synthesis of Polylactides with Different Molecular Weights”, *Biomaterials*, v. 18, pp. 1503-1508, 1997.
- [16] PORJAZOSKA, A., GORACINOVA, K., MLADENOVSKA, K., GLAVA, M., “Poly(DL-lactide-co-glycolide) Microparticles as Systems for Controlled Release Of Proteins – Preparation and Characterization”, *Acta Pharm.*, v. 54, pp. 215-229, 2004.
- [17] KASPERCZYK, J., “Microstructural Analysis of poly(l-lactide)-co-(glycolide) by ^1H and ^{13}C n.m.r. Spectroscopy”, *Polymer*, v. 37, pp. 201-203, 1996.
- [18].CARETTI, D., “Inorganic Clusters in Organic Polymers and the Use of Polyfunctional Inorganic Compounds as Polymerization Initiators”, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers*, v. 7, n. 3, pp. 151-162, 1997.
- [19] BARBANTI, S.H., Zavaglia, C.A.C., DUEK, E.A.R., “Polímeros Bioreabsorvíveis na Engenharia de Tecidos”, *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 15, n. 1, pp. 13-21, 2005.
- [20] LI, S.M., GARREAU, H., VERT, M., “Structure–property Relationships in the Case of the Degradation of Massive Aliphatic poly-(α -hydroxy acids) in Aqueous Media. Part 1: poly(DL-lactic acid)”, *Journal of Materials Science*, v. 1, pp. 12–30, 1990.
- [21] DUEK, E.A.R., ZAVAGLIA, C.A.C., BELANGERO, W., “In Vitro Study of poly(lactic acid) Pin Degradation”, *Polymer*, v. 40, n 23, pp. 6465–6473, 1999.