

(11) Número de Publicação: **PT 1420801 E**

(51) Classificação Internacional:

**A61K 31/737** (2007.10) **A61P 19/02** (2007.10)  
**A61P 17/06** (2007.10) **A61P 41/00** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

---

(22) Data de pedido: **2002.08.29**

(30) Prioridade(s): **2001.08.29 US 315362 P**

(43) Data de publicação do pedido: **2004.05.26**

(45) Data e BPI da concessão: **2007.10.31**  
**012/2008**

(73) Titular(es):

**THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA**  
**UNIVERSITY-INDUSTRY LIASON OFFICE, 103-**  
**6190 AGRONOMY ROAD VANCOUVER, BRITISH**  
**COLUMBIA V6T 1Z3** CA

(72) Inventor(es):

**JOHN K. JACKSON** CA  
**HELEN M. BURT** CA

(74) Mandatário:

**MARIA SILVINA VIEIRA PEREIRA FERREIRA**  
**RUA CASTILHO, N.º 50, 5º - ANDAR 1269-163 LISBOA** PT

(54) Epígrafe: **UTILIZAÇÃO DE FUCANOS NO TRATAMENTO DE ADESÕES, ARTRITE E PSORÍASE**

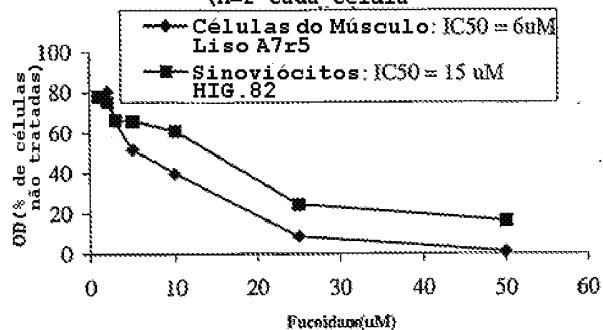
(57) Resumo:

## RESUMO

### "UTILIZAÇÃO DE FUCANOS NO TRATAMENTO DE ADESÕES, ARTRITE E PSORÍASE"

Composições, métodos e afins compreendendo fucanos, como fucoidano, para o tratamento de adesões cirúrgicas, artrite e psoriase.

Citotoxicidade do Fucoidano após 48 horas de exposição  
(n=2 cada célula)



**DESCRIÇÃO****"UTILIZAÇÃO DE FUCANOS NO TRATAMENTO DE ADESÕES, ARTRITE E PSORÍASE"**

A presente candidatura refere-se à utilização de um fucano na preparação de um medicamento para o tratamento de uma adesão potencialmente no sítio de uma doença num animal.

**CONTEXTO**

Uma adesão cirúrgica é um tipo de cicatriz que se forma entre duas partes do corpo, habitualmente após cirurgia. As adesões podem causar problemas graves. Por exemplo, adesões que envolvem os órgãos reprodutores femininos (ovários, trompas de Falópio) podem causar infertilidade, dispareunia (relações sexuais dolorosas) e dor pélvica grave. As adesões que ocorrem nos intestinos podem causar obstrução ou bloqueio intestinal, e também podem formar-se adesões noutras locais, tais como em redor do coração, coluna vertebral e na mão. Para além de cirurgia, as adesões podem ser causadas por coisas tais como endometriose, infecção, quimioterapia, radiação e cancro.

As adesões, bem como outras doenças relacionadas com a angiogénesse, como artrite e psoriase, podem durar semanas, meses ou anos e requerem cuidados prolongados e dispendiosos. Ver "Robbins Pathological Basis of Disease", de Cotran, R. S., Kumar, V., Robbins, S. L., página 75 (W. B. Saunders Co., 1989). Essas doenças e estados podem progredir para estados inflamatórios crónicos com consequências terríveis para o bem-estar mental e físico do

paciente. Infelizmente, há poucas opções terapêuticas para pacientes com adesões cirúrgicas, artrite e psoriase. Muitas vezes os pacientes são tratados com fármacos como anti-inflamatórios esteróides ou não esteróides para atenuar os sintomas das doenças. No entanto, estas terapias podem não oferecer benefícios adequados a longo prazo e estão associadas a efeitos secundários graves se forem utilizadas demasiado frequentemente (como úlceras gástricas devido a anti-inflamatórios não esteróides ou toxicidades mais graves devido à utilização excessiva de esteróides). Outros fármacos mais potentes, antiproliferativos e/ou antiangiogénicos, como os fármacos anti-cancerígenos paclitaxel, metotrexato, doxorrubicina, camptotecina e etoposido, poderão oferecer modalidades agressivas de tratamento, mas a utilização destes fármacos contra doenças que não constituem perigo de vida é limitada por toxicidades e efeitos secundários indesejados.

Assim, ainda não foi satisfeita uma necessidade de compostos, composições, métodos e afins (incluindo abordagens de distribuição) para o tratamento de uma ou mais destas doenças, preferivelmente de forma mais eficaz com poucos efeitos secundários. Os presentes compostos, composições, métodos, etc., proporcionam uma ou mais destas vantagens.

## **RESUMO**

A presente invenção proporciona a utilização de um fucano na preparação de um medicamento para o tratamento de uma adesão potencialmente no sítio de uma doença num animal. Os fucanos proporcionam um efeito terapêutico significativo para esta doença ao mesmo tempo que também provocam poucos efeitos secundários.

Numa especificação, o animal é um humano e/ou o fucano é fucoidano. O sítio da doença pode ser um sítio cirúrgico e o fucano pode destinar-se a distribuição directa, na forma de uma composição, no sítio da doença. O fucano pode destinar-se a administração substancialmente contínua no sítio da doença via libertação controlada a partir de uma forma galénica polimérica, e a forma galénica polimérica pode ser um filme, emplastro, pasta, microesfera, implante, gel, pulverização ou líquido. O fucano pode destinar-se a administração como composição farmacêutica numa forma que compreende pelo menos um de entre um creme, pasta, excipiente injectável e polímero. (A menos que seja expressamente afirmado em contrário ou que seja claro do contexto, todas as especificações, aspectos, características, etc., podem ser misturadas e emparelhadas, combinadas e permutadas de qualquer maneira desejada.)

O fucano pode destinar-se a administração na forma de uma composição farmacêutica que compreende o fucano e uma quantidade terapêutica eficaz de pelo menos um fármaco diferente. O fármaco pode ser pelo menos um de entre paclitaxel, doxorrubicina, camptotecina, etoposido, mitoxantrona, metotrexato, menadiona, plumbagina, juglona, beta-laperchona ciclosporina, sulfasalazina, esteróide, rapamicina, retinóide, docetaxel e colchicina, oligonucleótido anti-sentido, ribozima e um inibidor de RNA oligonucleotídico. A quantidade terapeuticamente eficaz do fucano pode ser distribuída como parte de uma composição e a composição pode compreender desde cerca de 0,1% até 35%, 5% até 50%, 20 - 80%, 80% até 100% p/v do fucano.

A composição também pode compreender pelo menos um excipiente farmacêutico aceitável, como Pluronic, celulose,

alginato, acrilato, ácido hialurónico, polietilenoglicol, excipiente injectável e quitosano. O fucano pode destinarse a administração oralmente, directamente no sitio da doença, via injecção no sitio da doença, intra-ocularmente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intra-articularmente, intralesão, subcutaneamente, vaginalmente, rectalmente ou topicamente, ou consoante o desejado de qualquer outra forma.

Artrite, psoriase ou doenças angiogénicas do olho podem ser tratadas por administração de uma quantidade terapeuticamente eficaz de um fucano no sitio de uma doença.

Composições farmacêuticas podem compreender uma forma galénica polimérica de um fucano que comprehende uma quantidade terapéutica eficaz do fucano e pelo menos um excipiente farmacêutico aceitável seleccionado do grupo que consiste em Pluronic, alginato, acrilato, ácido hialurónico, polietilenoglicol, excipiente injectável e quitosano. A forma galénica polimérica pode ser um filme, pasta, microesfera, pulverização, loção, líquido ou implante ou outra forma, consoante o desejado. As composições farmacêuticas também podem compreender uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um fármaco diferente, como um oligonucleótido anti-sentido, ribozima e um inibidor de RNA oligonucleotídico.

**A adesão pode ser uma adesão cirúrgica.**

Estes e outros aspectos, características e especificações são apresentados nesta candidatura, incluindo a Descrição Pormenorizada seguinte e figuras em anexo.

### **DESCRIÇÃO BREVE DAS FIGURAS**

A Figura 1 é um gráfico da inibição pelo fucoidano da proliferação celular em sinoviócitos e células do músculo liso após 48 horas de exposição.

A Figura 2 é um gráfico da inibição pelo fucoidano da activação de neutrófilos induzida pelo éster de forbol miristato (PMA).

A Figura 3 é uma fotografia que representa a inibição pelo fucoidano da expressão de collagenase e estromelisina a uma concentração de 0,5% p/v sem inibição excessiva da expressão de proteoglicanos.

A Figura 4 é um gráfico da libertação de fucoidano a partir de um filme de etileno-acetato de vinilo.

A Figura 5 é um gráfico da libertação de fucoidano a partir de uma pasta de policaprolactona.

### **DESCRIÇÃO PORMENORIZADA**

A presente invenção refere-se ao tratamento de adesões por inibição da proliferação celular, respostas inflamatórias e angiogénese utilizando os polissacáridos sulfatados conhecidos como fucanos. Aparentemente, os fucanos, como fucoidano, podem inibir a activação de neutrófilos, inibir a libertação de enzimas inflamatórias a partir de células associadas a artrite e inibir a angiogénese em membranas de pintos e adesões cirúrgicas. Uma vez que todas as células contêm receptores que se ligam à fucose, algumas especificações os fucanos são distribuídos directamente no sítio da doença para proporcionar uma exposição substancialmente contínua de tecido-alvo aos fucanos (como fucoidano) via libertação controlada a partir de formas galénicas poliméricas. Uma vez que os fucanos podem ter múltiplos efeitos *in vivo* (que afectam, em particular, a trombina e o complemento do

sangue), a libertação controlada de fucanos dirigida a sítios é uma alternativa à administração sistémica que poderá reduzir toxicidades hematológicas.

Em seguida discutir-se-á genericamente fucanos, adesões, artrite e psoriase, depois discutir-se-ão algumas especificações da invenção e subsequentemente fornecer-se-ão alguns exemplos.

### **Discussão Genérica do Contexto de Fucanos, Adesões, Artrite e Psoriase**

#### **Fucanos**

Os fucanos (incluindo fucoidano) são polissacáridos sulfatados de elevado peso molecular extraídos de algas castanhas. É relatado que estes compostos exercem múltiplas acções inibidoras *in vivo* e *in vitro*, incluindo os efeitos antitrombina, antiproliferativo, anti-complemento, anti-cancerígeno e anti-migração de neutrófilos. Os fucanos podem bloquear vários acontecimentos de ligação em superfícies celulares, incluindo ligação célula-célula, através de moléculas de integrina-selectina, ou por ligação de trombina ou complemento no sangue ou receptores de fucose em superfícies celulares.

Pensa-se que essa actividade seja responsável por propriedades anti-inflamatórias via (por exemplo) inibição da ligação de linfócitos ou neutrófilos a células vasculares endoteliais, que poderá prevenir a invasão destas células para um compartimento tecidual com inflamação subsequente. Patankar, M. S., et al., *J. Biol. Chem.* 268: 21770-21776 (1993); Brandley, B. K., et al., *J. Cell Biol.* 105: 991-997 (1987). Estudos recentes também

mostraram que os Fucanos inibem a proliferação de células vasculares do músculo liso - Logeart, D., et al., *Eur. J. Cell Biol.* 74: 376-384 & 385-390 (1997) - o que indica (mas não demonstra) um possível potencial anti-restenose destes compostos. Foi mostrado que os fucanos são lentamente interiorizados em células após ligação na superfície a células endoteliais e do músculo liso. Glabe, C. G., et al., *J. Cell Science* 61: 475-490 (1983); Logeart, D., et al., *Eur. J. Cell Biol.* 74: 376-384 (1997).

Riou, D., et al., *Anticancer Res.*, 16 (3A): 1213-1218 (1996); Itoh, H., *Anticancer Res.*, 13 (6A): 2045-2052 (1993); Nishiro, T., et al., *Thromb. Res.*, 62: 765-773 (1991); Blondin, C., et al., *Mol. Immunol.*, 31: 247-253 (1994); Patankar, M. S., et al., *J. Biol. Chem.*, 268: 21770-21776 (1993). No Japão, o fucoidano extraído de várias algas é comercializado como alimento-saúde. O fucoidano foi proposto como cosmético ou agente dérmico. JP 01031707 e JP 01085905. Foi relatado que o fucoidano é um potencial agente anti-cancerígeno. Riou, D., *Anticancer Res.*, 16: 3a 1213-18 (1996); Itoh, H., et al., *Anticancer Res.*, 15: 5b 1937-47 (1995). Foi relatado que o fucoidano não inibe a angiogénesis *in vitro*. Soeda, S., et al., *Biochim. Biophysica Acta* 1: 127-134 (2000). De modo semelhante, verificou-se que o fucoidano estimula a proliferação de células HUVE (*in vitro*) induzida por soro, indicando um possível efeito pró-angiogénico (apesar da inibição ter sido possível quando estava presente factor de crescimento de fibroblastos). Giroux, J., et al., *Eur. J. Cell Biol.* 77 4: 352-9 (1998). Estudos também mostraram que os Fucanos inibem a ligação da monocamada de células endoteliais. Glabe, C. G., *J. Cell Science*, 61: 475-490 (1983). Uma vez que as células que constituem os capilares

são células endoteliais, este relato indica que, *in vitro*, alguns aspectos da adesão celular poderão ser inibidos, mas estes dados não demonstram nenhum efeito antiangiogénico *in vivo* do fucoidano. Foi relatado que o fucoidano inibe a ligação de *Helicobacter* a células gástricas, dando a entender um efeito anti-úlceras gástricas. Shibat, H. J., *Nutr. Sci. Vitaminol.* 45: 325-336 (1999).

É relatado que outros polissacáridos sulfatados, incluindo tipos ramificados e lineares, têm actividade anticoagulante diferencial. Pereira, M. S., *J. Biol. Chem.* 12: 7656-67 (1999). Foi relatado que o sulfato de dextrano e derivados inibem o crescimento de células cancerosas - Bittoun, P., *Carbohydrate Res.* 3-4: 247-255 (1999) - e têm efeitos anticoagulantes - Mauray, S., *J. Biomater. Sci. Poly. Ed.* 9: 373-87 (1998). Os polissacáridos sulfatados foram propostos como agentes antivirais para utilização, por exemplo, contra SIDA. EP 00293826; JP 01313433.

### **Adesões**

A formação de uma adesão é um processo complexo no qual tecidos que normalmente estão separados no corpo crescem na direcção um do outro. As adesões cirúrgicas (também conhecidas como adesões pós-cirúrgicas) desenvolvem-se a partir da resposta de cicatrização de feridas dos tecidos ao traumatismo, que, noutras circunstâncias, seria normal, e ocorrem em mais de dois terços de todos os pacientes submetidos a cirurgia abdominal. Ellis, H., *Surg. Gynecol. Obstet.* 133: 497 (1971); Wiebel, M.-A., e Majno, G., *Am. J. Surg.* 126: 345 (1973). As consequências destas adesões são variadas e dependem do sítio cirúrgico envolvido. Problemas podem incluir dor, infertilidade, obstrução dos intestinos e

mesmo um risco acrescido de morte após cirurgia cardíaca. diZerega, G. S., *Prog. Clin. Biol. Res.* 381: 1-18 (1993); diZerega, G. S., *Fertil. Steril.* 61: 219-235 (1994); Dobell, A. R., Jain, A. K., *Ann. Thorac. Surg.* 37: 273-278 (1984).

O processo de formação de uma adesão envolve inicialmente o estabelecimento de uma rede de fibrina e reparação de tecido normal. O processo de reparação normal permite a fibrinólise juntamente com a reparação mesotelial. No entanto, na adesão cirúrgica, a formação da matriz de fibrina amadurece à medida que fibroblastos proliferam para o interior da rede e ocorre angiogénesse, o que resulta no estabelecimento de uma adesão organizada num período de 3 até 5 dias. Buckman, R. F., et al., *J. Surg. Res.* 21: 67-76 (1976); Raferty, A. T., *J. Anat.* 129: 659-664 (1979).

Os processos inflamatórios incluem activação de neutrófilos nos tecidos traumatizados, deposição de fibrina e ligação de tecidos adjacentes, invasão de macrófagos, proliferação de fibroblastos para a área, deposição de colagénio, angiogénesse e o estabelecimento de tecidos de adesão permanente. Presentemente, as terapias preventivas incluem prevenção da deposição de fibrina, redução da inflamação (fármacos anti-inflamatórios esteróides e não esteróides) e remoção de depósitos de fibrina.

Tentativas interventivas para prevenir a formação de adesões pós-cirúrgicas têm incluído a utilização de técnicas de hidroflutuação ou dispositivos que formam barreiras. A hidroflutuação envolve a instilação de grandes volumes de soluções de polímeros, como dextrano - Adhesion

study group, *Fertil. Steril.* 40: 612-619 (1983) - ou carboximetilcelulose - Elkins, T. E., et al., *Fertil. Steril.* 41: 926-928 (1984) - no espaço cirúrgico, numa tentativa para manter os órgãos separados. Membranas que formam barreiras sintéticas constituídas por celulose regenerada oxidada (Interceed<sup>TM</sup>), politetrafluoroetileno (membrana cirúrgica Gore-tex) e membranas completamente reabsorvíveis constituídas por uma combinação de ácido hialurônico/carboximetilcelulose (HA/CMC) modificados (Seprafilm<sup>TM</sup>) também têm sido utilizadas para reduzir a formação de adesões pós-cirúrgicas em animais e humanos. Burns, J. W., et al., *Eur. J. Surg. Suppl.* 577: 40-48 (1997); Burns, J. W., et al., *Fertil. Steril.* 66: 814-821 (1996); Becker, J. M., et al., *J. Am. Coll. Surg.* 183: 297-306 (1996). O êxito destas membranas de HA/CMC pode derivar da sua capacidade para proporcionar separação de tecidos durante o processo de cicatrização da ferida peritoneal, quando se formam adesões. Foi observado que as membranas formam um revestimento viscoso límpido no tecido danificado durante 3 - 5 dias após a aplicação, um período de tempo que é compatível com a duração da formação de adesões pós-cirúrgicas. Ellis, H., *Br. J. Surg.* 50: 10-16 (1963). A administração intraperitoneal de agentes anti-inflamatórios, como dexametasona ou corticosteróides, originou inibição pequena da formação de adesões. diZerega, G. S., *Fertil. Steril.* 61: 219-235 (1994); Hockel, M., *Ann. Chir. Gynecol.* 76: 306-313 (1987).

### **Artrite**

A artrite, como artrite reumatóide (RA), é uma doença inflamatória crónica debilitante que afecta quase 2% da população mundial. Este estado caracteriza-se por dor, inchaço, proliferação de células sinoviais (formação de

*pannus*), angiogéneses e destruição de tecido de articulações. No estado avançado, é frequente a doença danificar órgãos críticos e pode ser fatal. A doença envolve múltiplos membros do sistema imunológico (macrófagos/monócitos, neutrófilos, células B e células T), interacções de citoquinas complexas e disfunção e proliferação de células sinoviais. Um tratamento agressivo inicial é agora recomendado com fármacos anti-reumáticos modificadores da doença (DMARDs), como metotrexato, e combinações com ciclosporina ou azatioprina. *Arthritis and Rheumatism*, 39(5): 713-722 (1996).

A artrite induzida por cristais afecta quase 1% da população e caracteriza-se por activação induzida por cristais de macrófagos e neutrófilos nas articulações, seguindo-se uma dor excruciente durante muitos dias. A doença progride de modo tal que os intervalos entre episódios se tornam mais curtos e a morbidez do paciente aumenta para níveis inaceitáveis. Esta doença é geralmente tratada de forma sintomática com NSAIDS. Para uma discussão mais pormenorizada da patofisiologia desta doença e outras formas de artrite inflamatória ver McCarty *et al.*, "Arthritis and Allied Conditions" de Lea e Febiger, Filadélfia 1495 (1985).

### **Psoriase**

A psoriase é uma doença de pele inflamatória crónica comum caracterizada por lesões aumentadas, mais grossas e escamosas que fazem comichão, queimam, picam e sangram facilmente. Mais de 2% dos americanos sofrem de psoriase e é frequente os pacientes apresentarem estados de artrite concomitantes. A causa da doença é desconhecida e, presentemente, não há nenhuma cura para a doença. Há

evidências que suportam o conceito de uma doença autoimune. A doença também é caracterizada por activação de neutrófilos, proliferação celular e angiogénesis.

As células da pele podem seguir duas vias de crescimento, o crescimento normal ou cicatrização de feridas. No crescimento normal, as células são criadas na camada basal e movem-se, através da epiderme, para a superfície da pele. As células mortas são removidas da superfície à mesma velocidade que se formam células novas por baixo. Durante a cicatrização de feridas são desencadeados os processos de crescimento e cicatrização acelerados, o que resulta em renovação rápida de células da pele, provisão de sangue acrescida e inflamação. Nalguns aspectos, a psoriase é um processo exagerado de cicatrização de feridas. Se a pele não remover as células da pele (queratinócitos) tão rapidamente quanto são formadas, então pode ocorrer acumulação. Isto pode conduzir a lesões escamosas e angiogénesis (para aumentar a provisão de sangue). Ao mesmo tempo, linfócitos, neutrófilos e macrófagos podem criar ferimento, inchaço e inflamação. As presentes terapias com fármacos incluem a utilização de agentes anti-inflamatórios esteróides e não-esteróides para tratar sintomas inflamatórios. Também são utilizados metotrexato e ciclosporina, com pequena eficácia. Presentemente, o custo do tratamento de psoriase nos E.U.A. é superior a 3 mil milhões de dólares por ano.

### **Discussão Geral**

A presente invenção proporciona a utilização de fucanos (incluindo respectivos derivados e análogos) no fabrico de um medicamento para o tratamento de adesões cirúrgicas (em que tratamento, tal como é utilizado aqui,

inclui o tratamento de estados existentes e a inibição de estados potenciais). Como demonstrado nos Exemplos abaixo, os fucanos (e, em particular, fucoidano) inibem a proliferação celular, respostas/acontecimentos inflamatórios e angiogéneses, incluindo, por exemplo, em adesões cirúrgicas.

Numa especificação, os fucanos, como fucoidano, são utilizados para inibir ou prevenir a angiogéneses. Noutra especificação, os fucanos, como fucoidano, são utilizados para inibir ou prevenir a activação de células inflamatórias, de modo que as células que iniciam respostas inflamatórias nesses sítios de doença possam ser inibidas. Isto é importante, por exemplo, uma vez que muitas doenças, tais como, por exemplo, osteoartrite, não estão necessariamente associadas à acumulação de células inflamatórias nos sítios da doença. Assim, essa utilização de fucanos pode inibir ou prevenir a activação mais induzida das células residentes macrófagos, neutrófilos e outras células iniciadoras de inflamação, que causa os efeitos crónicos indesejados da doença. Essas actividades de fucanos aplicam-se aqui a adesões cirúrgicas.

Numa especificação desta invenção, os fucanos, incluindo respectivos derivados e análogos, podem ser formulados numa composição de libertação controlada de modo a proporcionar concentrações eficazes prolongadas do agente a ser distribuído em sítios de doença. Noutra especificação, o fucoidano é utilizado no tratamento de adesões cirúrgicas. Apresentam-se exemplos aqui. Esses exemplos demonstram a acção inibidora do fucoidano contra condrócitos primários (células envolvidas em artrite reumatóide) derivados de cartilagem fresca. Isto indica que

o agente tem potencial como agente anti-artrítico. Em particular, a capacidade aparente do fucoidano para inibir a produção de colagenase e estromelisina oferece abordagens terapêuticas em que a libertação destas e/ou outras metaloproteinases causa problemas clínicos.

Noutras especificações, o fucoidano pode ser utilizado em combinação com outros agentes terapêuticos para permitir uma boa eficácia contra o processo da doença com baixa toxicidade. Por exemplo, no tratamento de adesões cirúrgicas, fármacos antiproliferativos potentes, como doxorrubicina, camptotecina, etoposido, mitoxantrona, metotrexato, menadiona, plumbagina, juglona, betalaperchona ciclosporina, sulfasalazina, esteróides, rapamicina, retinóides, paclitaxel, docetaxel, colchicina e outros inibidores de microtúbulos, e outros análogos e derivados destes, podem ter toxicidades indesejadas a concentrações do fármaco necessárias para a inibição de processos de adesão sem a presença de fucanos, mas podem ser úteis a concentrações mais baixas em combinação com fucanos, como fucoidano, para obter resultados desejados.

Noutra especificação é proposto que o próprio fucano possa ser a forma galénica do agente. Por exemplo, os fucanos podem ser configurados em filmes finos que podem ser colocados directamente numa área de traumatismo cirúrgico, de modo que a dissolução lenta do fucano expõe os tecidos a uma concentração prolongada e eficaz do agente. De facto, essa formulação pode actuar como um sistema de distribuição de fármacos de libertação controlada para si próprio (como agente activo) ou para outros agentes (como paclitaxel) que podem ser introduzidos na formulação. Os fucanos também podem ser configurados em

pastilhas, cápsulas, microesferas, pastas, géis, pós, aerossóis, ou ser administrados oralmente, rectalmente, como um sólido ou como uma solução.

Em geral, os fucanos podem ser administrados isoladamente ou como parte de uma composição por aplicação ou injecção na forma de uma pasta, gel, pulverização, partículas, filme, solução, líquido, loção, creme ou implante. Vias e sítios de administração incluem oralmente, sistemicamente, intra-ocularmente, subcutaneamente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intra-articularmente, intralesão, intravaginalmente, rectalmente ou topicamente, tal como num emplastro. Em certos casos, estas vias também podem ser o sítio proposto de accção do fucano ou forma galénica de combinação fucano-fármaco. A quantidade terapeuticamente eficaz do fucano pode ser distribuída como parte de uma composição e pode compreender 5% até 50%, 20 - 80%, 80% até 100% p/v da composição. Os fucanos podem ser apresentados em recipientes ou receptáculos adequados, que, por sua vez, podem ser apresentados em estojos e também podem ser apresentados com uma etiqueta, preferivelmente uma etiqueta aprovada por uma entidade governamental regulamentadora apropriada, como a Food and Drug Administration nos Estados Unidos da América.

Para o tratamento de adesões, os fucanos ou composições que contêm fucanos podem ser aplicados directamente no sítio da doença ou cirúrgico na forma de uma solução, partículas, suspensão, filme, pasta, gel, pulverização, líquido, loção, implante ou outra forma desejada. As adesões também podem ser tratadas pela distribuição sistémica do fucano utilizando administração

intravenosa, subcutânea, intramuscular, intraperitoneal, oral ou outras vias de administração, consoante o desejado.

Os fucanos podem ser utilizados para o tratamento de doenças angiogénicas do olho. Por exemplo, a retinopatia diabética é uma complicação da diabetes que potencialmente conduz a cegueira que danifica os vasos sanguíneos da retina, seguido do crescimento de novos vasos sanguíneos (angiogénesis) que causa visão enevoada ou destruição retiniana. A degeneração macular é causada pela invasão de novos vasos sanguíneos por baixo da retina e é a principal causa de cegueira nos E.U.A. e Europa, com 200 000 novos casos por ano nos E.U.A. e apenas 15% desses podem ser tratados com terapias laser correntes. Pode proporcionar-se uma abordagem farmacológica ao tratamento destas doenças utilizando os métodos e composições discutidos aqui adaptados para utilização no olho. Por exemplo, os fucanos podem ser aplicados directamente na superfície ou injectados no olho. Modificações desses sistemas incluem formação química de ligações cruzadas para abrandar a velocidade de dissolução da forma galénica, ou mistura com outros excipientes, como Pluronics, alginatos, acrilatos, celulose, ácido hialurónico, polietilenoglicóis, quitosano, incluindo respectivos análogos e derivados, e numerosos agentes de formulação diferentes farmaceuticamente aceitáveis.

Noutra especificação da invenção, os fucanos formam um gel aquoso com carga com excipientes com carga positiva, tais como, por exemplo, quitosano ou poli-l-lisina. Fármacos tais como, por exemplo, um oligonucleótido anti-sentido, ribozima e inibidor de RNA oligonucleotídico, podem ser incorporados nesse gel para aplicação no sítio de

uma doença. Alternativamente, esse gel que contém fármaco, ou o fármaco dissolvido numa solução do fucano, pode ser seco e triturado em partículas. Estas partículas podem ser seguidamente aplicadas no sítio de uma doença de modo a actuarem como uma forma galénica de libertação controlada, ou as partículas podem actuar como um agente de transfecção, uma vez que os fucanos ligados na superfície são recolhidos em células. A aplicação dessas partículas pode ser suplementarmente facilitada utilizando excipientes farmaceuticamente aceitáveis, tais como Pluronics, celulose, alginatos, acrilatos, ácido hialurónico, polietilenoglicóis, quitosano, excipientes injectáveis, incluindo respectivos análogos e derivados, e numerosos veículos de base polimérica.

No que se refere à transfecção e à utilização de fucanos com agentes de sequências de ácidos nucleicos, a área em progressão da medicina conhecida como terapia genética está restringida por questões de distribuição de fármacos em que a captação celular de fragmentos de genes ou cadeias de ácidos nucleicos, tais como oligonucleótidos, incluindo ribozimas, nucleótidos anti-sentido e inibidores de RNA oligonucleotídicos, poderá estar inibida devido à carga e elevado peso molecular destes compostos. Recentemente foi proposta a utilização de micropartículas (como fosfato de cálcio), que contêm o gene ou ácidos nucleicos, como agentes de transfecção de modo que se liguem à superfície celular e sejam recolhidas por endocitose ou invaginação, resultando na entrada celular do gene ou ácido nucleico. A maior parte das células contém receptores de fucose na superfície membranar. A presente invenção proporciona a utilização de fucanos como agentes de transfecção para cadeias de ácidos nucleicos. Numa

especificação, a cadeia de ácido nucleico pode ser ligada ou encapsulada no interior de uma micropartícula de fucoidano e a partícula pode ser submetida à formação química de ligações cruzadas, para inibir a dissolução antes da aplicação no sítio das células-alvo.

Os fucanos, isoladamente ou em combinação com outros fármacos, podem ser utilizados em combinação com materiais implantados no corpo. Estes materiais podem incluir numerosos dispositivos médicos, tais como cateteres, derivações, membranas, próteses, esponjas, materiais de enchimento, articulações e respectivas partes de substituição artificial e outros implantes relacionados com a ortopedia. Esses implantes podem conter ou podem ser revestidos com fucanos, isoladamente ou em combinação com outros fármacos e excipientes.

A menos que indicado em contrário, excepto nas reivindicações, a utilização de "ou" inclui "e" e vice-versa. Termos não limitadores não devem ser considerados limitadores a menos que expressamente afirmado ou que o contexto indique claramente o contrário. (Por exemplo, "incluir", "ter" e "compreender" indicam tipicamente "incluir sem limitação".) Formas singulares, incluindo nas reivindicações, tais como "um", "uma", "o" e "a", incluem a referência plural a menos que expressamente afirmado ou que o contexto indique claramente o contrário.

#### **EXEMPLOS**

Exemplo 1: O Efeito do Fucoidano na Proliferação de Sinoviócitos e Células do Músculo Liso *In Vitro*

Determinou-se a proliferação utilizando o ensaio de proliferação/citotoxicidade do sal brometo de dimetiltiazolodifeniltetrazólio (MTT).

No dia um, 1500 - 2000 células do músculo liso (aorta torácica embrionária de rato A7r5) ou sinoviócitos (coelho HIG.82) foram plaqueadas, por cavidade, numa placa de 96 cavidades, deixando a primeira coluna sem células (ensaio em branco). A placa foi colocada na incubadora a 37°C, CO<sub>2</sub>. No dia seguinte adicionou-se fucoidano em várias concentrações. Não se adicionou fucoidano à primeira coluna (ensaio em branco) nem à segunda coluna (coluna não tratada) para o controlo. As células foram expostas durante 48 horas. No final do período de exposição adicionaram-se 50 µL de sal brometo de dimetiltiazolodifeniltetrazólio (MTT), dissolvido em meio, e deixou-se o sistema incubar durante 4 horas a 37°C. Seguidamente, o meio foi aspirado e adicionaram-se 200 µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Agitou-se a placa durante 30 minutos e leu-se a absorvância a 562 nm. A medição da densidade óptica foi convertida em número de células utilizando um gráfico padrão de densidade óptica com número de células conhecido, e a viabilidade celular foi expressa em % de crescimento (este valor é a % em comparação com as células de controlo).

Como mostrado na Figura 1, o fucoidano induziu uma inibição dependente da concentração da proliferação celular após 48 horas de exposição para sinoviócitos e células do músculo liso. As concentrações inibidoras que originaram 50% de efeito na proliferação (IC50) foram 15 µM e 6 µM, respectivamente.

Exemplo 2: O efeito do fucoidano na quimioluminescência de neutrófilos induzida por éster de forbol miristato (PMA)

Nesta experiência incubaram-se neutrófilos humanos preparados de fresco com fucoidano a 0,5% p/v, seguida de estimulação das células com o PMA. A estimulação (ou activação) das células induziu a geração de anião superóxido, que foi possível medir pela emissão de luz (quimioluminescência). Em seguida, determinou-se a inibição da função dos neutrófilos pela inibição da quimioluminescência. Ao longo do estudo utilizou-se solução salina tamponada de Hank (HBSS) pH 7,4. Todos os compostos químicos foram adquiridos à Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO), a menos que afirmado em contrário. Todas as experiências foram realizadas a 37°C. Os neutrófilos foram preparados a partir de sangue humano completo citrado recolhido de fresco. Em resumo, 400 mL de sangue foram misturados com 80 mL de dextrano T500 4% (Pharmacia LKB, Biotechnology AB Uppsala, Suécia) em HBSS e deixados assentar durante 1 hora. O plasma foi recolhido continuamente e 5 mL foram aplicados em 5 mL de Ficoll Paque (Pharmacia) em tubos de polipropileno de 15 mL (Corning, N.I.). Após centrifugação a 500 x g durante 30 minutos, dos grânulos de neutrófilos eliminaram-se por lavagem os eritrócitos com 20 s de choque hipotônico. Os neutrófilos foram novamente suspensos em HBSS, mantidos em gelo e utilizados para experiências num período de 3 horas. A viabilidade e pureza dos neutrófilos foram sempre superiores a 90%.

As células foram incubadas com várias concentrações de fucoidano durante 15 minutos a 37°C antes da adição do PMA.

Realizaram-se estudos de quimioluminescência a uma concentração de células de  $5 \times 10^6$  células por mL em HBSS com PMA a 0,5  $\mu\text{M}$ . Adicionaram-se aos tubos 10  $\mu\text{L}$  de luminol dissolvido em DMSO 25% em HBSS, para originar uma concentração final de 1 mM, e as amostras foram misturadas para iniciar a activação de neutrófilos. A quimiluminescência foi monitorizada utilizando um Luminómetro LKB (Modelo 1250) a 37°C com agitação imediatamente antes das medições. Os tubos de controlo continham células, fucoidano e luminol.

O fucoidano inibiu fortemente a activação de neutrófilos induzida por PMA, como mostrado na Figura 2. Os dados referem-se a três incubações separadas de PMA-neutrófilos. Estes dados demonstram um efeito anti-inflamatório do fucoidano.

**Exemplo 3:** O efeito do fucoidano na expressão do gene da colagenase e do gene da estromelisina induzida por IL-1 em condrócitos

Neste ensaio medem-se os níveis de RNA para duas metaloproteinases, colagenase e estromelisina. A super-expressão destes genes resulta na secreção destas duas enzimas a partir de condrócitos articulares e pode representar parte da patofisiologia da artrite reumatóide. Os agentes que inibem a super-expressão da colagenase e estromelisina são potenciais agentes anti-artríticos. Este potencial anti-artrítico pode ser atenuado se o agente também inibir significativamente a expressão de genes de proteoglicanos. A expressão de genes de proteoglicanos faz parte da fisiologia normal dos condrócitos. Uma cultura de condrócitos primários foi isolada de fresco de cartilagem

de vitelo. As células foram plaqueadas (a  $2,5 \times 10^6$ /mL) em placas de cultura 100 x 20 mm e foram incubadas em meio F12 de Ham, que continha soro fetal de bovino (FBS) 5%, durante a noite a 37°C. As células foram privadas de nutrientes com meio sem soro durante a noite. As células foram pré-tratadas com camptotecina, a concentrações de  $10^{-6}$  M,  $10^{-7}$  M e  $10^{-8}$  M, durante 6 horas. Depois adicionou-se IL-1 (20 ng/mL) a cada placa e as placas foram incubadas durante 18 horas adicionais. Isolou-se RNA total pelo método de isotiocianato de guanidina acidificado, tendo sido sujeito a electroforese num gel desnaturado. As amostras de RNA desnaturado (15 µg) foram analisadas por electroforese em gel num gel de desnaturação 1%, foram transferidas para uma membrana de nylón e hibridizadas, respectivamente, com a sonda de cDNA de colagenase etiquetada com  $^{32}P$ , sonda de cDNA de estromelisina etiquetada com  $^{32}P$ , sonda de cDNA de proteoglicanos etiquetada com  $^{32}P$  e cDNA de gliceraldeído fosfato desidrogenase (PAGDH) etiquetado com  $^{32}P$ . Os níveis de PAGDH actuaram como padrão interno, para assegurar uma carga aproximadamente igual. Os resultados experimentais em filmes de raios X foram submetidos a varrimento e analisados com HP ScanJet.

O fucoidano inibiu completamente a expressão de colagenase e estromelisina a uma concentração de 0,5% p/v sem inibição excessiva da expressão de proteoglicanos, como mostrado na Figura 3. A uma concentração de 0,1% p/v observou-se inibição potente da expressão de colagenase e estromelisina sem qualquer efeito inibidor na expressão de proteoglicanos. Estes dados demonstram um efeito anti-inflamatório do fucoidano.

**Exemplo 4: O efeito do fucoidano na angiogénesse na membrana corioalantóica do embrião de pinto (ensaio CAM)**

Obtiveram-se ovos de galinha fertilizados de uma incubadora local, tendo sido colocados numa incubadora com um rotor automático a 37°C durante 3,5 dias antes da abertura das cascas dos ovos.

Folhas de papel encerado esterilizado foram colocadas na janela que foi criada no espaço aéreo e foram utilizadas para prevenir a contaminação e desidratação do conteúdo dos ovos. Estas folhas, que mediam 4 cm x 4 cm, foram esterilizadas pulverizando-as com etanol 70% e permitindo que secassem na bancada de fluxo laminar. Passados três dias, os ovos foram rodados manualmente na incubadora de modo que a sua extremidade mais pontiaguda ficasse virada para cima durante 5 - 10 minutos, para permitir a separação do conteúdo do ovo da membrana interna. Utilizando etanol 70% e Kimwipes, toda a casca do ovo foi limpa, para ajudar a limpeza e higienização do exterior do ovo. Dentro de uma bancada de fluxo laminar, o ovo foi mantido com a extremidade arredondada para cima e fez-se um orifício na extremidade arredondada do ovo partindo cuidadosamente a casca com a extremidade de pinças. Os restos da casca foram cuidadosamente removidos com pinças, para formar um orifício na extremidade arredondada. Fez-se este orifício circular com um diâmetro de 2 até 3 cm sem danificar a membrana interna. Depois de criado o orifício na casca, a membrana interna da casca (que alberga o conteúdo do ovo) foi suavemente inclinada e removida utilizando as pinças, tendo o cuidado de não danificar a membrana corioalantóica (CAM) (que alberga a gema e o embrião de pinto em desenvolvimento).

Em seguida, o orifício foi recoberto com a folha de papel de cera de parafilme esterilizado esticando suavemente o parafilme e colocando em redor do orifício. O ovo foi então colocado no suporte para ovos na incubadora (37°C) e foi posicionado de modo a evitar rotação. Passados 6 dias, cada ovo foi removido da incubadora um por um (extremidade arredondada para cima) e o parafilme que cobria a janela foi removido para aceder directamente à CAM, cuja origem se situa no tracto digestivo posterior do embrião. Prepararam-se grânulos de poli(épsilon-caprolactona) (PCL) carregada com fucoidano fundindo PCL a 60°C e combinando fisicamente o fucoidano no PCL, e permitindo o endurecimento dos grânulos por arrefecimento para a temperatura ambiente. Os grânulos de fucoidano foram colocados no leito capilar em crescimento da CAM. Em seguida, o conteúdo do ovo foi novamente selado com a folha de parafilme e foi novamente colocado na incubadora a 37°C. Passados mais 2 dias registou-se a análise da rede vascular da CAM (48 horas depois de colocar o fármaco no leito capilar da CAM). Classificou-se o efeito do fármaco na CAM utilizando uma escala avascular, que pontua o efeito do fármaco como 0, 1, 2 ou 3. Os valores da escala avascular descrevem o seguinte:

- 0 Sem actividade anti-angiogénica
- 1 Redução de microvasos
- 2 Pequena zona avascular com a dimensão do grânulo do fármaco (2 mm de diâmetro)
- 3 Zona avascular que mede 4 - 5 mm de diâmetro

O fucoidano inibiu a angiogénesse de forma potente na CAM, como mostrado na Tabela 1. Concentrações de fucoidano tão baixas quanto 2% p/p em PCL inibiram parcialmente ou

completamente a angiogéneses em 4 ou 2 CAMs, respectivamente.

Tabela 1: Actividade Anti-angiogénica do Fucoidano. O número em cada coluna mostra o número de ovos (CAMs) que exibem inibição da angiogéneses nula, parcial ou máxima.

Concentração do Fármaco	Actividade Anti-angiogénica		
	Nula (0)	Parcial (1-2)	Máxima (3)
Fucoidano 2,0%	-	4	2
Fucoidano 5,0%	-	1	4
Fucoidano 15,0%	-	2	3
Fucoidano 30,0%	-	2	1
Controlo	11	-	-

Estes dados demonstram uma actividade anti-angiogénica do fucoidano e mostram que uma formulação polimérica de fucoidano de libertação lenta é um método eficaz para libertar concentrações terapeuticamente eficazes do fármaco sem induzir toxicidade indevida.

**Exemplo 5:** A encapsulação do fucoidano em filmes de etileno-acetato de vinilo e pasta de policaprolactona

Cinco miligramas de fucoidano (Sigma) e 45 mg de etileno-acetato de vinilo (EVA, peso molecular aproximadamente 50 k, Polysciences) foram dissolvidos/suspensos em 1 mL de diclorometano. Duzentos microlitros da solução foram pipetados para discos de teflon de 1 cm de diâmetro e deixaram-se secar durante a noite (evaporação do solvente) para formarem filmes elásticos finos, originando filmes aproximadamente de 10 mg com uma espessura aproximada de 100 µm.

Mediu-se a velocidade de libertação do fármaco a partir destes filmes colocando secções dos filmes de 5 mg em tubos de vidro com tampa de 20 mL que continham 10 mL de solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,4. Os tubos foram tapados e colocados num agitador orbital a 37°C. Em instantes especificados, os tubos foram removidos e a quantidade de fármaco libertado foi analisada por espectroscopia de absorvância. O perfil de libertação do fucoidano (Figura 4) caracterizou-se por um jacto inicial de libertação do fármaco, seguido de uma libertação lenta prolongada. Esta forma galénica de fucoidano representa uma formulação injectável biocompatível e biodegradável do fármaco que liberta o fármaco de um modo controlado.

Pasta de PCL: O fucoidano foi combinado em policaprolactona (PCL, Birmingham Polymers, peso molecular 54 k) a 60°C por levigação da espátula a uma concentração de 10% p/p. Em seguida, esta mistura foi pipetada para seringas de plástico de 1 mL e foi deixada arrefecer. Esta formulação pode ser injectada através de uma agulha de calibre 18 a 56°C.

Para medir a libertação do fármaco a partir da pasta de PCL, aliquotas de 10 mg de pasta fundida foram injectadas na base de tubos de vidro de 15 mL e deixaram-se arrefecer e assentar. A cada tubo adicionaram-se 15 mL de PBS, os tubos foram tapados e submetidos a rotação de extremidade para extremidade num forno a 37°C. Em instantes especificados, os tubos foram removidos e a quantidade de fármaco libertado foi analisada por espectroscopia de absorvância. Os perfis de libertação do fucoidano estão apresentados na Figura 5. A libertação do fucoidano caracterizou-se por um jacto inicial de libertação do

fármaco, seguido de uma libertação lenta prolongada. Esta forma galénica de fucoidano representa uma formulação injectável biocompatível e biodegradável do fármaco que liberta o fármaco de um modo controlado.

**Exemplo 6:** Membranas carregadas com fucoidano para o tratamento de adesões cirúrgicas em ratos

Utilizou-se o modelo de adesões cirúrgicas da parede lateral cecal do rato para investigar o efeito do fucoidano em adesões cirúrgicas. Neste modelo, 16 ratos foram separados em dois grupos de 8. Após o traumatismo cirúrgico, os ratos foram imediatamente tratados com filmes de ácido hialurónico (HA) com ligações cruzadas que continham fucoidano ou então não foram tratados (grupo de controlo).

Materiais e Métodos. Obteve-se hialuronato de sódio de qualidade clínica da Lifecore Scientific. Todos os solventes tinham qualidade de HPLC e foram obtidos da Fisher. Obtiveram-se placas de Petri de plástico da Fisher Scientific. Obtiveram-se etil-3-(dimetilamino)carbodiimida (EDAC) e fucoidano da Sigma (St. Louis, Mo).

Preparação de Filmes. Produziram-se filmes carregados com fucoidano preparando uma solução de fucoidano 0,6% p/v, hialuronato de sódio 0,4% p/v e glicerol 0,15% p/v em água. Produziram-se filmes de controlo (sem fucoidano) preparando uma solução ou mistura de hialuronato de sódio 0,4% p/v e glicerol 0,15% p/v em água. Os filmes carregados com fucoidano e os filmes de controlo foram moldados a partir destas soluções pipetando 4 g de cada solução para placas de Petri de plástico separadas com 2,5 cm de diâmetro e

secando durante 24 horas a 60°C. O agente EDAC de formação de ligações cruzadas foi incluído a 4 mM (concentração final). Em seguida, cada filme seco foi cuidadosamente removido da placa de Petri utilizando uma lâmina cirúrgica.

Esterilização. Os filmes foram empacotados entre papel de pesagem 5 cm x 5 cm (Fisher Scientific) e foram selados a quente em sacos de plástico. Em seguida, os filmes foram esterilizados terminalmente utilizando irradiação gama de uma fonte de cobalto-60 e foram expostos a 2,5 Mrad de radiação com arrefecimento do tubo selado em gelo.

Estudos Animais. O traumatismo cirúrgico foi induzido do modo seguinte. Obtiveram-se 16 ratos Sprague Dawley na idade madura, cada um pesando 225 - 350 g, da Charles River Laboratories, Wilmington, MA. Apenas se utilizaram no estudo animais que apresentavam um estado globalmente normal (isto é, que exibiram uma pelagem não emaranhada e limpa, olhos claros brilhantes e uma postura activa). Os animais foram aleatoriamente atribuídos a um de dois grupos, foram pesados e anestesiados com uma única injecção de cloridrato de cetamina (6 mg/kg), administrada no músculo grande da coxa. O abdómen foi rapado e limpo com álcool. Fez-se uma incisão de 4 cm na pele começando aproximadamente 2 cm caudal à linha branca enquanto o músculo era seguro com pinças. O cego foi raspado quatro vezes nas superfícies ventral e dorsal com um dispositivo de abrasão mecânica, que permite abrasão controlada independente do operador numa área definida. As adesões ao cego foram avaliadas e classificadas de acordo com um sistema de pontuação predefinido:

0 = sem adesões

1 = adesão ténue com plano facilmente identificável

2 = adesão ligeira com plano apto a ser dissecado livremente

3 = adesão moderada com dissecação difícil do plano

4 = adesão densa sem plano apto a ser dissecado

(As adesões de grau 1 apresentam o nível mais baixo de adesão discernível (uma adesão ténue com um plano identificável).)

Após a abrasão do cego, os animais do Grupo 1 não receberam tratamento. Os animais do Grupo 2 receberam os filmes de fucoidano-HA discutidos acima. Os filmes foram enrolados em redor do cego. Em seguida, as incisões foram fechadas com uma sutura Dexon 3.0. Aos sete dias pós-operação, os animais foram submetidos a eutanásia e avaliados quanto à presença de adesões pós-operatórias de grau 2 (ou superior). As adesões de grau 2 foram definidas como adesões ligeiras com um plano apto a ser dissecado livremente.

### **Resultados.**

Tabela 2.

Grupo	% Com Adesões ≥2	Incidência Média ± EPM	% Sem Adesões
Controlo	75	1,4 ± 0,4	25
Membrana carregada com Fucoidano	38	0,5 ± 0,2	50

- As membranas recobriram apenas cerca de metade do cego.
- Não se notaram anormalidades por necrópsia (sem material residual, sem ascites, sem sinais de cicatrização anormal, no cego ou na incisão na linha média).

Os resultados demonstram a inibição eficaz da formação de adesões por filmes carregados com fucoidano porque a incidência média das adesões foi reduzida e a % de ratos sem adesões aumentou nos ratos tratados com fucoidano. Filmes carregados com fucoidano que recubram totalmente o cego poderão ser ainda mais eficazes na inibição da formação de adesões.

Lisboa, 7 de Janeiro de 2008

## **REIVINDICAÇÕES**

1. Utilização de um fucano na preparação de um medicamento para o tratamento de uma adesão potencialmente no sítio de uma doença num animal.
2. Utilização da Reivindicação 1, em que a doença é um sítio cirúrgico e o fucano se destina a distribuição directa, na forma de uma composição, no sítio da doença.
3. Utilização da Reivindicação 1 ou Reivindicação 2, em que o fucano se destina a administração oral.
4. Utilização da Reivindicação 1 ou Reivindicação 2, em que o fucano se destina a administração via injecção no sítio da doença.
5. Utilização da Reivindicação 1 ou Reivindicação 2, em que o fucano se destina a administração intra-ocularmente, subcutaneamente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intra-articularmente, intralesão, intravaginalmente, rectalmente ou topicamente.
6. Utilização de qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o fucano é fucoidano.
7. Utilização de qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o fucano se destina a administração substancialmente contínua no sítio da doença via libertação controlada a partir de uma forma galénica polimérica.

8. Utilização da Reivindicação 7, em que a forma galénica polimérica compreende um filme, emplastro, pasta, microesfera, implante, gel, pulverização ou líquido.

9. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 8, em que o fucano se destina a administração como composição farmacêutica numa forma que compreende pelo menos um de entre um creme, pasta, excipiente injectável e polímero.

10. Utilização de qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o fucano se destina a administração na forma de uma composição farmacêutica que compreende o fucano e uma quantidade terapeuticamente eficaz de pelo menos um fármaco diferente.

11. Utilização da Reivindicação 10, em que o fármaco compreende pelo menos um de entre paclitaxel, doxorrubicina, camptotecina, etoposido, mitoxantrona, metotrexato, menadiona, plumbagina, juglona, betalaperchona, ciclosporina, sulfasalazina, esteróide, rapamicina, retinóide, docetaxel, colchicina, um oligonucleótido anti-sentido, ribozima e um inibidor de RNA oligonucleotídico.

12. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 11, em que o fucano se destina a distribuição como parte de uma composição e a composição compreende 0,1% até 35% p/v do fucano.

13. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 11, em que o fucano se destina a distribuição como parte de uma composição e a composição compreende 80% até 100% p/v do fucano.

14. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 11, em que o fucano se destina a distribuição como parte de uma composição e a composição compreende 5% até 50% p/v do fucano.

15. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 11, em que o fucano se destina a distribuição como parte de uma composição e a composição compreende 20% até 80% p/v do fucano.

16. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 15, em que o fucano faz parte de uma composição que também compreende pelo menos um excipiente farmaceuticamente aceitável.

17. Utilização da Reivindicação 16, em que o excipiente farmaceuticamente aceitável é seleccionado do grupo que consiste em Pluronic, celulose, alginato, acrilato, ácido hialurónico, polietilenoglicol e quitosano.

18. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 17, em que o fucano se destina a administração directamente no sítio da doença.

19. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 18, em que o animal é um humano.

20. Utilização de qualquer uma das Reivindicações 1 até 19, em que a adesão é uma adesão cirúrgica.

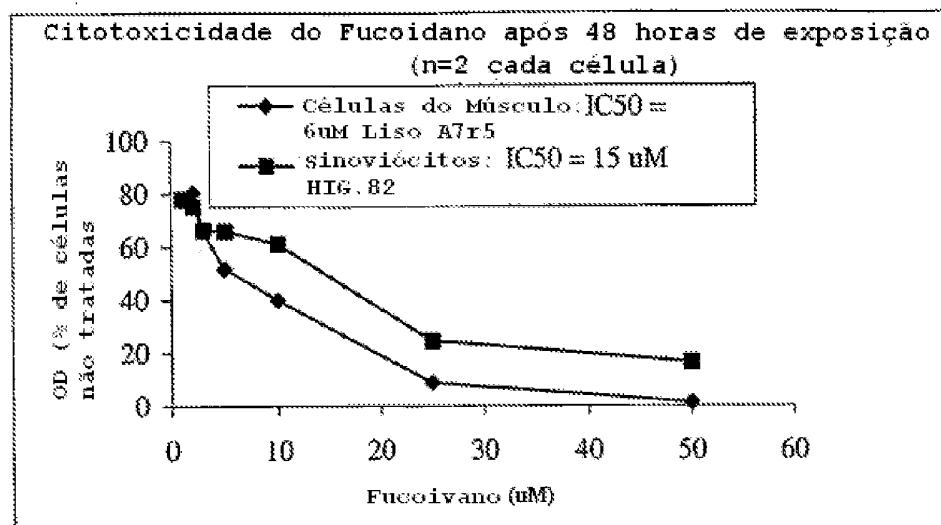


FIG. 1

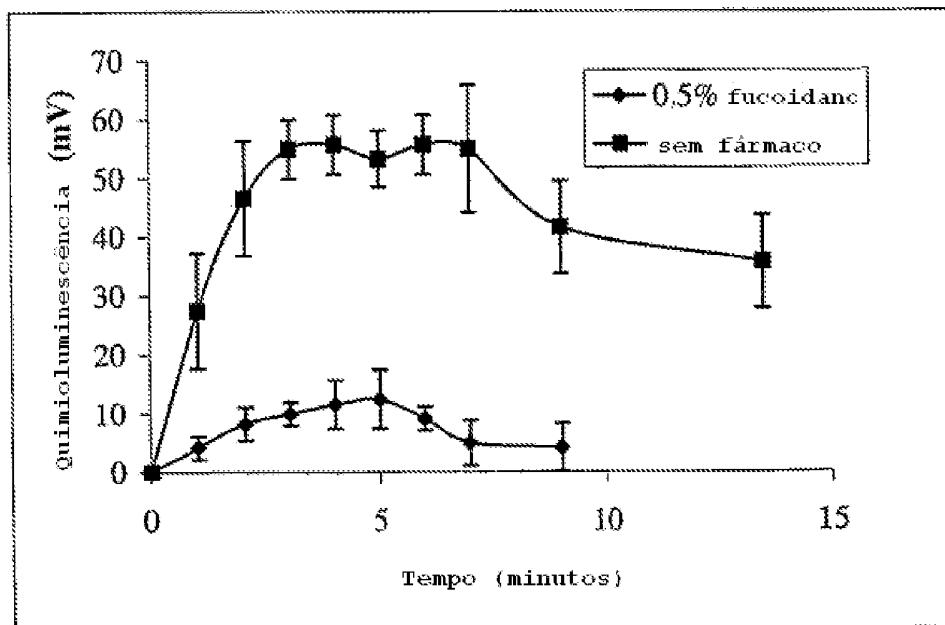


FIG. 2

2/3

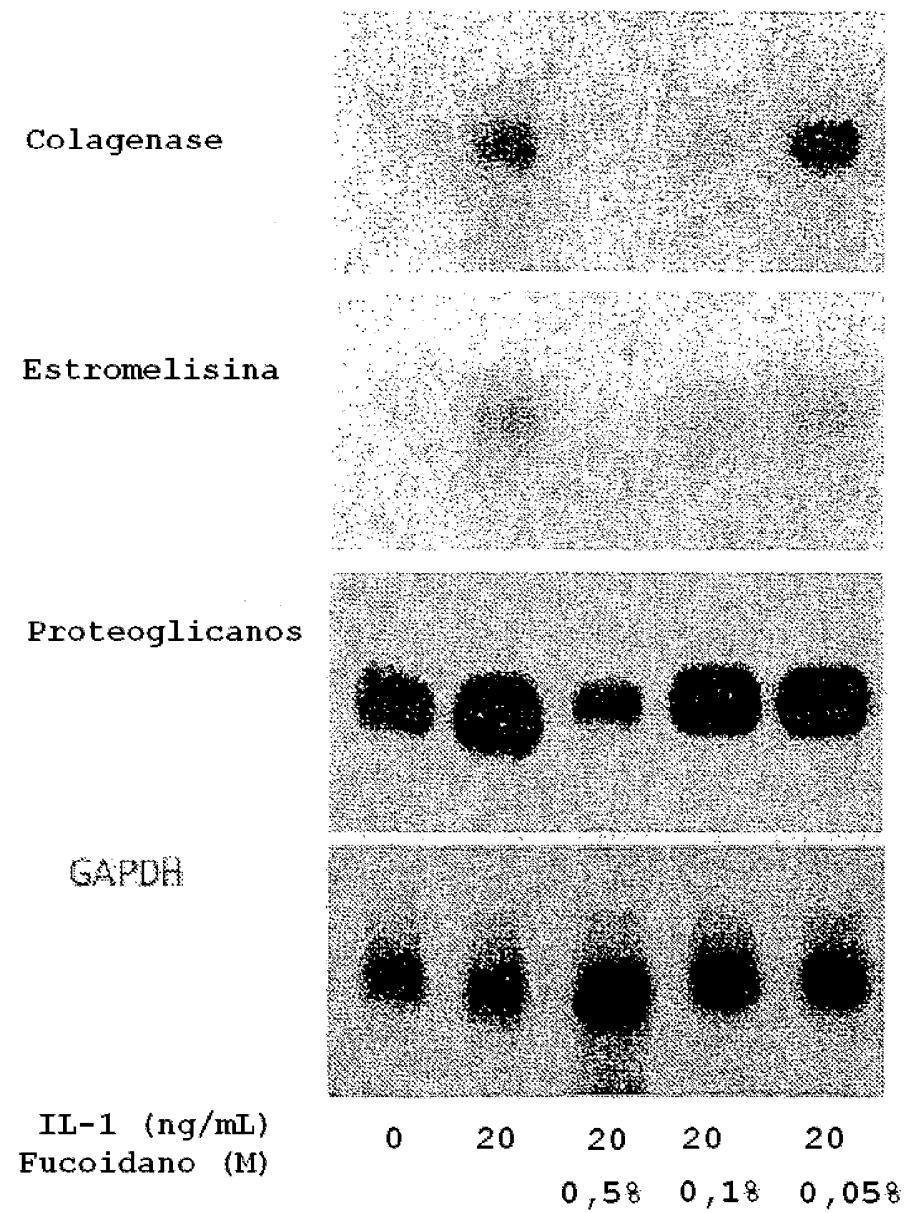


FIG. 3

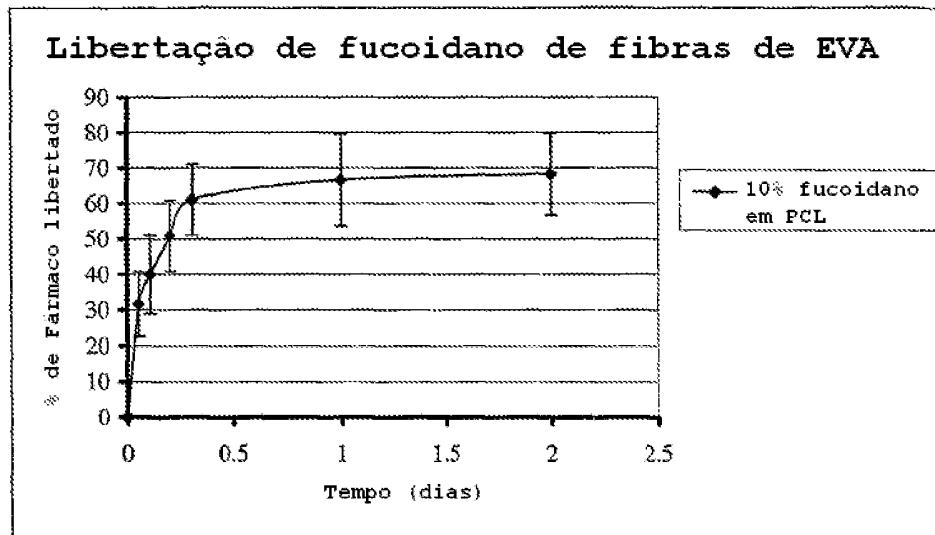


FIG. 4

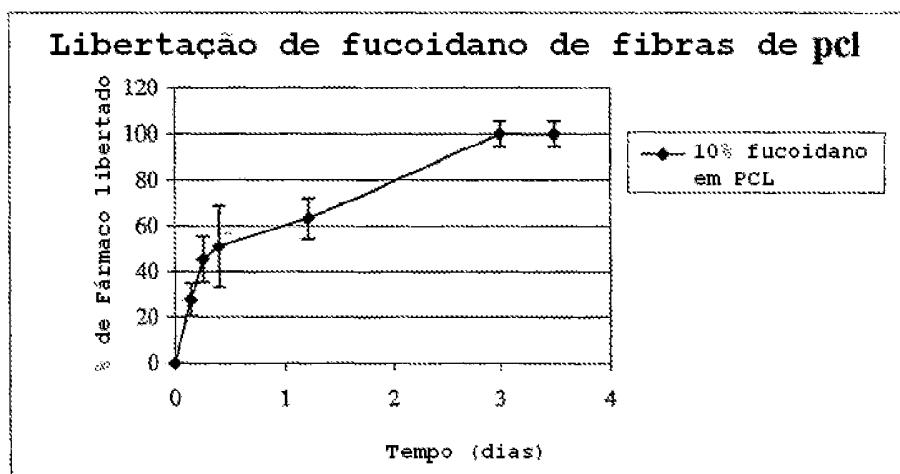


FIG. 5