



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 295 386**

51 Int. Cl.:
A61K 31/737 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)
A61P 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02758008 .3**
86 Fecha de presentación : **29.08.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1420801**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.2004**

54 Título: **Uso de fucanos en el tratamiento de adherencias, artritis y soriasis.**

30 Prioridad: **29.08.2001 US 315362 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2008

73 Titular/es: **The University of British Columbia
University-Industry Liaison Office
103-6190 Agronomy Road
Vancouver, British Columbia V6T 1Z3, CA**

72 Inventor/es: **Jackson, John, K. y
Burt, Helen, M.**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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

DESCRIPCIÓN

Uso de fucanos en el tratamiento de adherencias, artritis y soriasis.

- 5 La presente solicitud se relaciona con el uso de un fucano en la elaboración de un medicamento para tratar una adherencia potencialmente en un sitio de enfermedad en un animal.

Antecedentes

- 10 Una adherencia quirúrgica es un tipo de cicatriz que se forma entre dos partes del cuerpo, usualmente después de cirugía. Las adherencias pueden originar problemas severos. Por ejemplo, las adherencias que involucran los órganos reproductivos femeninos (ovarios, trompas de Falopio) pueden originar infertilidad, dispareunia (coito doloroso) y dolor pélvico severo. Las adherencias que ocurren en el intestino pueden originar la obstrucción o bloqueo del intestino, y las adherencias también se pueden formar en otros lugares tales como alrededor del corazón, la columna y en la mano. Además de la cirugía, las adherencias pueden ser originadas por cosas tales como la endometriosis, infección, quimioterapia, radiación y cáncer.

- Las adherencias, así como también otras enfermedades angiogénicas relacionadas tales como la artritis y la soriasis, pueden durar durante semanas, meses o años, requiriendo un cuidado prolongado y costoso. Ver Robbins Pathological Basis of Disease by Cotran, R. S., Kumar, V., Robbins, S. L., p75 (W. B. Saunders Co., 1989). Tales enfermedades y condiciones pueden desarrollarse en condiciones inflamatorias crónicas con consecuencias terribles tanto en el bienestar mental como físico del paciente. Desafortunadamente, existen pocas opciones terapéuticas para los pacientes con adherencias quirúrgicas, artritis, y soriasis. A menudo los pacientes se tratan con drogas tales como anti-inflamatorios esteroides y no esteroides para aliviar los síntomas de las enfermedades. Sin embargo, estas terapias pueden no ofrecer un beneficio a largo plazo adecuado y están asociadas con serios efectos colaterales si se utilizan demasiado frecuentemente (tales como úlceras gástricas de anti-inflamatorios no esteroides o toxicidades más serias del sobre uso de esteroides). Otras drogas anti-proliferativas y/o anti-angiogénicas, más potentes tales como las drogas anti-cáncer paclitaxel, metotrexato, doxorubicina, camptotecina y etopósido podrían ofrecer modalidades de tratamiento agresivas pero el uso de estas drogas contra enfermedades que no amenacen la vida están limitadas por las toxicidades indeseadas y los efectos colaterales.

- Así, existen necesidades insatisfechas para compuestos, composiciones, métodos y similares (incluyendo aproximaciones de suministro) para tratar una o más de estas enfermedades, preferiblemente más efectivamente con pocos efectos colaterales. Los presentes compuestos, composiciones, métodos, etc., suministran una o más de estas ventajas.

Resumen

- La presente invención suministra el uso de un fucano en la preparación de un medicamento para tratar una adherencia potencialmente en un sitio de enfermedad en un animal. Los fucanos suministran un efecto terapéutico significativo para la enfermedad aunque también suministran bajos efectos colaterales.

- En una modalidad, el animal es un humano y/o el fucano es fucoidan. El sitio de la enfermedad puede ser un sitio quirúrgico, y el fucano puede ser para suministro directo como una composición al sitio de la enfermedad. El fucano puede ser para la administración sustancialmente continua al sitio de la enfermedad por vía de liberación controlada de una forma de dosis polimérica, y la forma de dosis polimérica puede ser una película, parche, pasta, microesfera, implante, gel, pulverizado o líquido. El fucano puede ser para la administración como una composición farmacéutica en una forma que comprende por lo menos una crema, pasta, excipiente inyectable y polímero. (A menos que expresa o claramente se establezca de otra manera del contexto, todas las modalidades, aspectos, características, etc., se pueden mezclar y cazadas, combinadas, y permutadas de cualquier manera deseada.

- El fucano puede ser para la administración como una composición farmacéutica que comprende el fucano y una cantidad terapéutica efectiva de por lo menos otra droga. La droga puede ser por lo menos un paclitaxel, doxorubicina, camptotecina, etopósido, mitoxantrona, metotrexato, menadiona, plumbagina, juglona, beta-lapercona ciclosporina, sulfasalacina, esteroide, rapamicina, retinoide, docetaxel, y colquicina, oligonucleótido no codificante, ribozima y un inhibidor ARN de oligonucleótido. La cantidad terapéuticamente efectiva del fucano se puede suministrar como parte de una composición y la composición puede comprender desde aproximadamente 0.1% a 35%, 5% a 50%, 20-80%, 80% a 100% p/v del fucano.

- La composición además puede comprender por lo menos un excipiente farmacéutico aceptable, tal como un plurónico, celulosa, alginato, acrilato, ácido hialurónico, polietilenglicol, excipiente inyectable, y quitosan. El fucano puede ser para la administración oral, directamente al sitio de la enfermedad, por vía de inyección al sitio de la enfermedad, intraocularmente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intraarticularmente, intralesionalmente, subcutáneamente, intravaginalmente, rectalmente, o tópicamente, o de otra manera como se desee.

- La artritis, soriasis o las enfermedades oculares angiogénicas se pueden tratar al administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un fucano a un sitio de enfermedad.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender una forma de dosis polimérica de un fucano que comprende una cantidad terapéutica efectiva del fucano y por lo menos un excipiente farmacéutico aceptable seleccionado del grupo que consiste de plurónico, alginato, acrilato, ácido hialurónico, polietilenglicol, excipiente inyectable, y quitosan. La forma de dosis polimérica puede ser una película, pasta, micro esfera, pulverizado, loción, líquido, o implante u otra forma como se desee. Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos otra droga tal como un oligonucleótido no codificante, ribozima y un inhibidor ARN oligonucleótido.

La adherencia puede ser una adherencia quirúrgica.

Estos y otros aspectos, características y modalidades tal como se establecen dentro de esta solicitud, incluyen la siguiente Descripción Detallada y los dibujos anexos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una gráfica de inhibición de fucoidan o proliferación de célula en sinoviocitos y células de músculo liso después de 48 horas de exposición.

La Figura 2 es una gráfica de la inhibición de fucoidan de forbol éster miristato (PMA) inducido por activación de neutrófilo.

La Figura 3 es una fotografía que describe la inhibición de fucoidan de la expresión de collagenasa y estromelicina a una concentración de 0.5% p/v sin inhibición excesiva de la expresión de proteoglicano.

La Figura 4 es una gráfica de la liberación de fucoidan de película de etileno vinil acetato.

La Figura 5 es una gráfica de liberación de fucoidan de una pasta de policaprolactona.

Descripción detallada

La presente invención se relaciona con el tratamiento de adherencias al inhibir la proliferación celular, las respuestas inflamatorias, y la angiogenia utilizando polisacáridos sulfatados conocidos como fucanos. Parece que los fucanos tales como el fucoidan pueden inhibir la activación de neutrófilo, inhibir la liberación de enzima inflamatoria proveniente de células asociadas a artritis e inhibir la angiogenia en membranas de pollo y adherencias quirúrgicas. En razón a que todas las células contienen receptores que se unen a fucosa, en algunas modalidades los fucanos son directamente suministrados al sitio de la enfermedad para suministrar una exposición sustancialmente continua al tejido objetivo a los fucanos (tal como fucoidan) por vía de la liberación controlada de formas de dosis poliméricas. En razón a que los fucanos pueden tener múltiples efectos *in vivo* (en particular afectando la trombina de la sangre y el complemento) las liberaciones controladas de sitio directo de los fucanos es una alternativa a la administración sistémica que puede reducir las toxicidades hematológicas.

A continuación se discutirá primero en general los fucanos, las adhesiones, la artritis y la soriasis, luego se discutirán algunas modalidades de la invención, luego se suministrarán algunos ejemplos.

Discusión de los Antecedentes Generales a Cerca de los Fucanos, Adherencias, Artritis y Soriasis

Fucanos

Los fucanos (incluyendo el fucoidan) son polisacáridos sulfatados de alto peso molecular extraídos de malezas marinas cafés. Estos compuestos les ha sido reportada múltiples acciones inhibitorias *in vivo* e *in vitro* incluyendo efectos anti-trombina, anti-proliferativos, anti-complemento, anti-cancerígenos y anti-neutrófilo de migración. Los fucanos pueden bloquear varios eventos de unión a superficies de célula que incluyen unión célula-célula a través de moléculas de integrina-selectina, o al unir la trombina o el complemento en la sangre o los receptores de mucosa o en superficies de célula.

Tal actividad se cree que es responsable por las propiedades anti-inflamatorias por vía (por ejemplo) inhibición de linfocito o neutrófilo que se une a las células endoteliales vasculares que podrían evitar la invasión de estas células en un compartimiento de tejido con la subsecuente inflamación. Patankar, M.S., *et al.*, J. Biol. Chem. 268: 21770-21776 (1993); Brandley, B.K. *et al.*, J. Cell Biol. 105: 991-997 (1987). Recientes estudios también han mostrado que los Fucanos inhiben la proliferación de las células musculares lisas vasculares, Logeart, D., *et al.*, Eur. J. Cell Biol. 74: 376-384 & 385-390 (1997), indicando (pero no demostrando) un potencial posible anti-reestenosis de estos compuestos. Los Fucanos han mostrado ser lentamente internalizados en células luego de la unión a superficie tanto a células musculares endoteliales como lisas. 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). En Japón, el fucoidan extraído de varias malezas marinas se

comercializa como un alimento saludable. El Fucoidan se ha propuesto como un agente cosmético o dermatológico. La JP 01031707 y la JP 01085905. El Fucoidan se ha reportado por ser un agente anticancerígeno potencial. Riou, D., *et al.*, *Anticancer Res.*, 16: 3a 1213-18 (1996); Itoh, H., *Anticancer Res.*, 15: 5b 1937-47 (1995). El Fucoidan se reportó por no inhibir la angiogenesis *in vitro*. Soeda, S., *et al.*, *Biochim. Biophysica Acta* (1): 127-134 (2000). Similarmente, el fucoidan se encontró que estimula la proliferación de células HUVE (*in vitro*) inducidas por suero, indicando un posible efecto proangiogénico (aunque la inhibición fue posible cuando estaba presente el factor de crecimiento de fibroblasto). Giraux, J., *et al.*, *Eur. J. Cell Biol.* 77 4: 352-9 (1998). Estudios también han mostrado que los Fucanos inhiben la unión monocapa de célula endotelial. Glabe, C.G., *J. Cell Science*, 61: 475-490 (1983). En razón de las células que componen los capilares son células endoteliales, este reporte indica que *in vitro*, algunos aspectos de la adhesión de la célula se pueden inhibir pero estos datos no demuestran ningún efecto angiogénico *in vivo* del fucoidan. El fucoidan se ha reportado por inhibir la unión del helicobacter a las células gástricas que se indican en un efecto de úlcera anti-gástrico. Shibata, H. J., *Nutr. Sci. Vitaminol.* 45: 325-336 (1999).

Otros polisacáridos sulfatados que incluyen los tipos ramificados y lineales se reportan por tener actividad anti-coagulante diferencial. Pereira, M.S., *J. Biol. Chem.* 12: 7656-67 (1999). El sulfato dextrano y los derivados se han reportado por inhibir el crecimiento de célula cancerígena, Bittoun, P., *Carbohydrate Res.* (3-4): 247-255 (1999) y por tener efectos anticoagulantes, Mauray, S., *J. Biomat. Sci. Poly ed.* 9: 373-87 (1998). Los polisacáridos sulfatados han sido propuestos como agentes anti-virales para uso contra por ejemplo, SIDA. EP 00293826; JP 01313433.

20 Adherencias

La formación de adherencia es un proceso complejo en el cual los tejidos que son normalmente separados en el cuerpo crecen uno entre el otro. Las adherencias quirúrgicas (también conocidas como adherencias post-quirúrgicas) se desarrollan de otra manera respuesta al curado de herida normal de los tejidos al trauma y ocurren en más de dos tercios de todos los pacientes quirúrgicos abdominales. Ellis, H., *Surg. Gynecol. Obstet.* 133:497 (1971); Wiebel, M-A. y Majno, G., *Am. J. Surg.* 126: 345 (1973). Las consecuencias de estas adherencias son variadas y dependen del sitio quirúrgico involucrado. Los problemas pueden incluir dolor, infertilidad, obstrucción de los intestinos y aún un riesgo creciente de morir después de la cirugía 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).

El proceso de formación de adherencia involucra inicialmente el establecimiento de una red de fibrina y reparación de tejido normal. El proceso de reparación normal permite la fibrinólisis junto con la reparación mesotelial. Sin embargo, en formación de adherencia quirúrgica la matriz de fibrina madura como fibroblastos prolifera en la red y ocurre la angiogenia dando como resultado el establecimiento de una adherencia organizada a los 3 a 5 días. Buckman, R.F., *et al.*, *J. Surg. Res.* 21:67-76 (1976); Rafferty, A. T., *J. Anat.* 129: 659-664 (1979).

Los procesos inflamatorios incluyen la activación del neutrófilo en los tejidos traumatizados, la deposición de fibrina y la unión de tejidos adyacentes, la invasión de macrófago, la proliferación de fibroblasto en el área, la deposición de colágeno, la angiogenia y el establecimiento de tejidos de adherencia permanente. Eventualmente, las terapias preventivas incluyen la prevención de la deposición de fibrina, la reducción de la inflamación (drogas anti-inflamatorias esteroides y no esteroides) y la remoción de depósitos de fibrina.

Intentos con intervención para evitar la formación de adherencias post-quirúrgicas han incluido el uso de técnicas de hidroflotación o dispositivos de barrera. La hidroflotación involucra la instalación de grandes volúmenes de soluciones de polímero tales como dextrano. El grupo de estudio de adherencia, *Fertil. Steril.* 40:612-619 (1983), o carboximetil celulosa, Elkins, T. E., *et al.*, *Fertil. Steril.* 41:926-928 (1984), en el espacio quirúrgico en un intento de mantener los órganos aparte. Las membranas de barrera sintética hechas de celulosa regenerada oxidada (InterceedTM), el politetrafluoroetileno (membrana quirúrgica Gore-tex) y las membranas completamente reabsorbibles hechas de una combinación de ácido hialurónico/carboximetilcelulosa (HA/CMC) (Sepra-filmTM) también se han utilizado para reducir la formación de adherencia post-quirúrgica tanto en animales como en 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). El éxito de estas membranas HA/CMC puede derivar de su capacidad de suministrar la separación de tejido durante el proceso de reparación de herida peritoneal cuando de forman las adherencias. Las membranas se observaron por formar un recubrimiento viscoso claro en el tejido dañado durante 3-5 días después de la aplicación, un período de tiempo que es compatible con el curso de tiempo de la formación de adherencia post-quirúrgica. Ellis, H., *Br. J. Surg.* 50: 10-16 (1963). La administración intraperitoneal de los agentes anti-inflamatorios tales como dexametasona o corticosteroides produjeron una inhibición marginal de la formación de adherencia diZerega, G. S. *Fertil. Steril.* 61:219-235 (1994); Hockel, M., *Ann. Chir. Gynecol.* 76: 306-313 (1987).

60 Artritis

La artritis, tal como la artritis reumatoide (RA) es una enfermedad inflamatoria crónica debilitante que afecta casi al 2% de la población mundial. Esta condición se caracteriza por dolor, hinchamiento, proliferación de células sinoviales (formación de paños), angiogenia y destrucción del tejido de articulación. En las etapas avanzadas de la enfermedad a menudo se dañan órganos críticos y puede ser fatal. La enfermedad involucra miembros múltiples del sistema inmune (macrófagos/monocitos, neutrófilos, células B y células T) interacciones del complejo citoquina y mal funcionamiento y proliferación de células sinoviales. El tratamiento agresivo temprano se recomienda ahora con

enfermedades que modifican las drogas anti-reumáticas (DMARDS) tales como el metotrexato y combinaciones con ciclosporina o azatioprina. *Arthritis y Reumatismo*, 39(5):713-722 (1996).

La artritis inducida por cristal afecta casi el 1% de la población y se caracteriza por la activación inducida por cristal de macrófagos y neutrófilos en las articulaciones y que es seguida por dolor agudo durante muchos días. La enfermedad progresa de tal forma que los intervalos entre episodios se vuelven más cortos y la morbilidad del paciente se incrementa hasta niveles inaceptables. Esta enfermedad se trata generalmente sintomáticamente con los NSAID. Para una discusión más detallada de la patofisiología de esta enfermedad y otras formas de artritis inflamatoria ver McCarty, *et al.*, *Arthritis and Allied Conditions* by Lea and Febiger, Filadelfia 1495 (1985).

Soriasis

La soriasis es una enfermedad de la piel inflamatoria crónica común, caracterizada por lesiones engrosadas y escamosas levantadas que rascan, queman, pica y sangrado fácil. Más del 2% de los Americanos sufren de soriasis y los pacientes a menudo tienen condiciones artríticas acompañantes. La causa de la enfermedad es desconocida y no existe cura para la enfermedad actualmente. Hay evidencia que soporta el concepto de una enfermedad auto-inmune. La enfermedad se caracteriza además por la activación de neutrófilo, la proliferación de célula y la angiogenia.

Las células de la piel pueden seguir dos rutas de crecimiento, el crecimiento normal o curación de herida. En el crecimiento normal, las células se crean en la capa basal y se mueven a través de la epidermis a la superficie de la piel. Las células muertas son liberadas de la superficie a la misma tasa en la que se forman las nuevas por debajo. Durante la curación de herida, el crecimiento acelerado y la reparación se disparan dando como resultado un recambio rápido de células de la piel, un suministro sanguíneo creciente e inflamación. En algunos aspectos la soriasis es un proceso de curación de herida exagerado. Si la piel no libera las células de la piel (queratinocitos) tan rápidamente como ellos se forman entonces puede ocurrir una acumulación. Esto puede conducir a lesiones escamosas y a la angiogenia (para incrementar el suministro de sangre). Al mismo tiempo, los linfocitos, neutrófilos y macrófagos pueden crear dolor, hinchamiento e inflamación. Las terapias de droga habituales incluyen el uso de agentes anti-inflamatorios esteroides y no esteroides para tratar los síntomas inflamatorios. El metotrexato y la ciclosporina también se utilizan con eficacia marginal. Los costos habituales de tratar la soriasis en los Estados Unidos son de más de \$3 billones por año.

Discusión General

La presente invención suministra el uso de fucanos (que incluyen derivados y análogos de éstos) en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de adherencias quirúrgicas (donde tratamiento se utiliza aquí incluye tanto el tratamiento de condiciones existentes como la inhibición de condiciones potenciales). Como se demostró en los Ejemplos de adelante, los fucanos (y en particular, fucoidan) inhiben la proliferación celular, las respuestas/eventos anti-inflamatorios y la angiogenia, que incluyen por ejemplo en adherencias quirúrgicas.

En una modalidad, los fucanos tales como el fucoidan se utilizan para inhibir o evitar la angiogenia. En otra modalidad, los fucanos tales como el fucoidan se utilizan para inhibir o evitar la activación de la célula inflamatoria, de tal forma que las células que inician las respuestas inflamatorias tales como los sitios de enfermedad se pueden inhibir. Esto es importante, por ejemplo, en razón de que muchas enfermedades tales como, por ejemplo, la osteoartritis, no están necesariamente asociadas con la acumulación de célula inflamatoria en los sitios de la enfermedad. Así, tal uso de fucanos puede inhibir o evitar la activación con más extracción de los macrófagos residentes, los neutrófilos y otras células iniciadoras de inflamación que originan los efectos crónicos no deseados de la enfermedad. Tales actividades del fucano se aplican aquí a adherencias quirúrgicas.

En una modalidad de esta invención, los fucanos, que incluyen derivados y análogos de éstos, se pueden formular en una formulación de liberación controlada para suministrar concentraciones efectivas sostenidas del agente para ser suministradas en los sitios de la enfermedad. En otra modalidad, el fucoidan se utiliza en el tratamiento de adherencias quirúrgicas. Se suministran aquí ejemplos. Tales ejemplos demuestran la acción inhibitoria del fucoidan contra los condrocitos primarios (células involucradas en la artritis reumatoide) derivadas de cartílago fresco. Esto indica que el agente tiene potencial como agente anti-artrítico. En particular, la capacidad aparente del fucoidan para inhibir la producción de colagenasa y estromelicina ofrece aproximaciones terapéuticas donde la liberación de estos y/o otras metaloproteinasas originan problemas médicos.

En otras modalidades, el fucoidan se puede utilizar en combinación con otros agentes terapéuticos para permitir la buena eficacia contra el proceso de enfermedad con baja toxicidad. Por ejemplo, en el tratamiento de adherencias quirúrgicas, drogas potentes anti-proliferativas, tales como doxorubicina, camptotecina, etoposido, mitoxantrona, metotrexato, menadiona, plumbagina, juglona, beta-laperona ciclosporina, sulfasalazina, esteroides, rapamicina, retinoides, paclitaxel, docetaxel, colquicina y otros inhibidores de microtúbulo, y otros análogos y derivados de éstos pueden tener toxicidades indeseadas a concentraciones de droga requerida para la inhibición de los procesos de adherencia sin la presencia de fucan, pero ellos pueden ser útiles en concentraciones más bajas en combinación con fucanos, tales como fucoidan, para lograr los resultados deseados.

En otra modalidad se propone que el fucano pueda en si mismo ser la forma de dosis del agente. Por ejemplo, los fucanos se pueden hacer en películas delgadas que se pueden colocar directamente sobre el área de trauma quirúrgica de tal forma que la disolución lenta del fucano expone los tejidos a la concentración sostenida y efectiva del agente. De

hecho, tal formulación puede actuar como un sistema de suministro de droga de liberación controlada para sí mismo (como el agente activo) o para otros agentes (tales como paclitaxel) que se pueden colocar en la formulación. Los fucanos también se pueden conformar en tabletas, cápsulas, micro esferas, pastas, geles, polvos, aerosoles o dados oralmente, rectalmente, como un sólido o como una solución.

En general, los fucanos se pueden administrar solos o como una parte de la composición mediante la aplicación o inyección como una pasta, gel, pulverizado, particulado, película, solución, líquido, loción, crema o implante. Las rutas y sitios de administración incluyen oralmente, sistémicamente, intraocularmente, subcutáneamente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intraarticularmente, intralesionalmente, intravaginalmente, rectalmente o tópicamente, tal como en un parche. Estas rutas pueden también, en ciertos casos, ser el sitio propuesto de acción del fucano o la forma de dosis de combinación de la droga fucano. La cantidad terapéuticamente efectiva del fucano se puede suministrar como una parte de un compuesto y puede comprender 5% a 50%, 20-80%, 80% a 100% p/v de la composición. Los fucanos se pueden suministrar en vasijas o recipientes adecuados, que a su vez se pueden suministrar en kits y también se pueden suministrar con una etiqueta, preferiblemente una etiqueta probada por la agencia regulatoria gubernamental apropiada tal como la Food and Drug Administration en los Estados Unidos de América.

Para el tratamiento de adherencias, las composiciones que contienen fucanos o fucano se pueden aplicar directamente a la enfermedad o al sitio quirúrgico como una solución, partícula, suspensión, película, pasta, gel, pulverizado, líquido, loción, implante u otra forma deseada. Las adherencias también se pueden tratar mediante el suministro sistémico del fucano que utiliza las rutas de administración intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, oral, u otras según se desea.

Los fucanos se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades angiogénicas del ojo. Por ejemplo, la retinopatía diabética es una complicación que potencialmente lleva a la ceguera de la diabetes que daña los vasos sanguíneos de la retina seguido por el nuevo crecimiento de vasos sanguíneos (angiogenia) que origina la visión borrosa o la destrucción de la retina. La degeneración macular es causada por la invasión de nuevos vasos sanguíneos inmediatamente por debajo de la retina y es la causa principal de la ceguera en los Estados Unidos y en Europa con 200,000 nuevos casos cada año en los Estados Unidos y solamente el 15% de aquellos tratables con las terapias láser habituales. Una aproximación farmacológica al tratamiento de estas enfermedades se puede suministrar utilizando los métodos y composiciones discutidos aquí adaptados para uso con el ojo. Por ejemplo, los fucanos se pueden aplicar directamente a la superficie o inyectar en el ojo. Las modificaciones a tales sistemas incluyen reticulación química para disminuir la tasa de disolución de la forma de dosis, o la mezcla con otros excipientes tales como plurónicos, alginatos, acrilatos, celulosa, ácido hialurónico, polietilenglicoles, quitosan, que incluyen análogos y derivados de estos, y numerosos otros agentes de formulación farmacéuticamente aceptables.

En otra modalidad de la invención, los fucanos forman un gel acuoso cargado con excipientes positivamente cargados tales como, por ejemplo, quitosan o poli-L-lisina. Las drogas tales como, por ejemplo, un oligonucleótido no codificante, la ribozima y el inhibidor ARN de oligonucleótido, se pueden incorporar en tal gel para la aplicación al sitio de enfermedad. Alternativamente tal gel que contiene droga, o la droga disuelta en una solución de fucano, se puede secar y moler en partículas. Estas partículas se pueden entonces aplicar al sitio de la enfermedad para actuar como una forma de dosis de liberación controlada, o, las partículas pueden actuar como un agente de transfección en razón a que los fucanos unidos a la superficie se toman hacia las células. La aplicación de tales partículas puede ser además facilitada por el uso de excipientes farmacéuticamente aceptables tales como plurónicos, celulosa, alginatos, acrilatos, ácido hialurónico, polietilenglicoles, quitosan, excipientes inyectables, que incluyen análogos y derivados de éstos, y numerosos vehículos basados en poliméricos.

Con relación a la transfección y el uso de los fucanos con los agentes de secuencia de ácido nucleico, el área de avance de medicina conocida como terapia génica está restringida por el uso de temas de suministro de droga por medio del cual los fragmentos de gen o las cadenas de ácido nucleico, tal como los oligonucleótidos que incluyen ribozimas, nucleótidos no codificante e inhibidores de ARN oligonucleótido, pueden tener su toma de célula inhibida debido a la carga y al gran peso molecular de estos compuestos. Recientemente, el uso de micropartículas (tal como fosfato de calcio) que contienen el gen o los ácidos nucleicos se han propuesto como agentes de transfección de tal forma que ellos se unen a la superficie celular y son tomados por endocitosis o invaginación, que da como resultado la entrada celular del gen o el ácido nucleico. La mayoría de las células contienen receptores de mucosa sobre la superficie de la membrana. La presente invención suministra el uso de fucanos como agentes de transfección para las cadenas de ácido nucleico. En una modalidad, la cadena de ácido nucleico se puede unir o encapsular dentro de una micropartícula de fucoidan y la partícula se puede reticular químicamente para inhibir la disolución antes de la aplicación al sitio de la célula objetivo.

Los fucanos, sean solos o en combinación con otras drogas, se pueden utilizar en combinación con materiales implantados en el cuerpo. Esos materiales pueden incluir numerosos dispositivos médicos tales como catéteres, desviadores, membranas, endoprótesis, esponjas, rellenos, articulaciones de reemplazo artificial y partes de éstos y otros implantes ortopédicos relacionados. Tales implantes pueden contener o estar recubiertos con fucanos, sea solo o en combinación con otras drogas y excipientes.

A menos que se indique otra cosa, excepto dentro de las reivindicaciones, el uso de “o” incluye “y” viceversa. Términos no limitantes no pueden ser considerados como limitantes a menos que expresamente se establezca, o se indique claramente el contexto, de otra manera. (Por ejemplo, “que incluye”, “que tiene”, y “que comprende” típi-

camente indican “que incluye sin limitación”). Las formas singulares, incluyendo en las reivindicaciones, tales como “un”, “una”, y “el” incluyen la referencia plural a menos que se establezca expresamente, o el contexto claramente lo indique, de otra manera.

5 Ejemplos

Ejemplo 1

El Efecto Del Fucoïdan Sobre la Sinoviocita y la Proliferación de Célula de Músculo Liso In Vitro

La proliferación se determinó utilizando la sal de bromuro de dimetiltiazol difeniltetrazolio (MTT) ensayo de proliferación/citotoxicidad.

En el día uno, 1500-2000 células de músculo liso (aorta torácica embrionica de rata A7r5) o sinoviocitos (HIG.82 de conejo) se colocaron por pozo sobre una placa de 96 pozos, dejando la primera columna libre de células (blanco). La placa se colocó en el incubador de CO₂ a 37°C. Al día siguiente el fucoïdan se agregó a varias concentraciones. No se agregó fucoïdan a la primera columna (blanco) y la segunda columna (columna no tratada) para control. Las células fueron expuestas durante 48 horas. Al final del período de exposición, 50 µl de sal de bromuro de dimetiltiazol difeniltetrazolio (MTT) disueltas en medio fueron agregadas y se les permitió incubar durante 4 horas a 37°C. El medio fue entonces aspirado y se agregaron 200 µl de dimetil sulfoxido (DMSO). La placa se agitó durante 30 minutos y la absorbancia se leyó a 562 nm. La medición de la densidad óptica se convirtió al número de células utilizando una gráfica estándar de densidad óptica con el número de células conocido y la viabilidad celular se expresó como el crecimiento % (este valor es el % comparado con las células de control).

Como se muestra en la Figura 1, el fucoïdan indujo una concentración dependiente de la inhibición de la proliferación de la célula después de 48 horas de exposición tanto para las células musculares de sinoviocitos como de músculo liso. Las concentraciones inhibitorias que dio el 50% del efecto sobre la proliferación (IC50) fueron de 15 µM y 6 µM respectivamente.

Ejemplo 2

El efecto del fucoïdan sobre el éster miristato de forbol (PMA) indujo quimioluminiscencia de neutrófilo

Este experimento incubó neutrófilos humanos recientemente preparados con fucoïdan a 0.5% p/v seguido por estimulación de células con el PMA. La estimulación (o activación) de las células indujo la generación de anión superóxido que se podría medir mediante la emisión de luz (quimioluminiscencia). La inhibición de la función de neutrófilo se determinó entonces por la inhibición de quimioluminiscencia. Solución de sal amortiguada de Hanks (HBSS) pH 7.4 se utilizó a lo largo de todo el estudio. Todos los químicos se compraron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) a menos que se establezca de otra manera. Todos los experimentos se desarrollaron a 37°C. Los neutrófilos fueron preparados de sangre entera citrada humana recientemente recolectada. En resumen, 400 ml de sangre se mezclaron con 80 ml de dextrano T500 4% (Farmacia LKB, Biotechnology AB Uppsala, Suecia) en HBSS y se les permitió asentarse durante 1 h. El plasma se recolectó continuamente y aplicaron 5 ml y 5 ml de Ficoll Paque (Farmacia) en tubos de polipropileno de 15 ml (Corning, NY). Seguida por centrifugación a 500 x g durante 30 min, las placas de neutrófilo se lavaron libres de eritrocitos por 20 s de choque hipotónico. Los neutrófilos fueron resuspendidos en HBSS, mantenidos sobre hielo y utilizados para experimentos dentro de las 3 h. La viabilidad y la pureza del neutrófilo fue siempre mayor del 90%.

Las células se incubaron con varias concentraciones de fucoïdan durante 15 minutos a 37°C antes de la adición de PMA.

Los estudios de quimioluminiscencia fueron desarrollados a concentración de células de 5 x 10⁶ células por ml en HBSS con PMA a 0.5 µM. A los tubos se les agregó 10 µL de luminol disuelto en 25% de DMSO en HBSS para dar una concentración final de 1 mM y las muestras se mezclaron para iniciar la activación de neutrófilo. La quimioluminiscencia se monitoreó utilizando el Luminómetro LKB (Modelo 1250) a 37°C con agitación inmediatamente antes de las mediciones. Los tubos de control contenían células, fucoïdan y luminol.

El fucoïdan inhibió fuertemente el PMA inducido por activación de neutrófilo como se muestra en la Figura 2. Los datos son para tres incubaciones separadas de PMA-neutrófilo. Estos datos demuestran un efecto anti-inflamatorio del fucoïdan.

Ejemplo 3

El efecto del fucoïdan sobre la expresión del gen de collagenasa y el gen de estromelicina IL-1 inducida en condrocitos

Este ensayo mide los niveles de ARN de dos metaloproteinasas, collagenasa y estromeilicina. La sobre expresión de estos genes da como resultado la secreción de estas dos enzimas de los condrocitos articulares y pueden representar parte de la patofisiología de la artritis reumatoide. Los agentes que inhiben la sobre expresión de la collagenasa y la estromelicina son agentes potenciales antiartríticos. Este potencial antiartrítico se puede disminuir si el agente

también inhibe la expresión del gen proteoglicano significativamente. La expresión del gen proteoglicano es parte de la fisiología normal de los condrocitos. El cultivo de condrocito primario se aisló recientemente de cartílago de becerro. Las células fueron puestas en placa (a $2.5 \times 10^6/\text{ml}$) en platos de cultivo de $100 \times 20 \text{ mm}$ e incubados en un medio F12 de Ham que contiene 5% de suero bovino fetal (FBS) durante toda la noche a 37°C . Las células fueron mantenidas sin alimento con medio libre de suero durante toda la noche. Las células fueron pre-tratadas con camptotecina a concentraciones de 10^{-6}M , 10^{-7}M y 10^{-8}M durante 6 horas. Luego el IL-1 (20 ng/ml) se agregó a cada placa y las placas se incubaron durante unas 18 horas adicionales. El ARN total se aisló mediante el método de isotiocianato de guanidina acidificado y sometido a electroforesis sobre un gel desnaturalizado. Las muestras de ARN desnaturalizadas ($15 \mu\text{g}$) se analizaron mediante electroforesis de gel en un gel desnaturalizante 1%, transferido a una membrana de nylon, e hibridizada respectivamente con la sonda de cADN de collagenasa marcada con ^{32}P , la sonda de cADN de estromelicina marcada con ^{32}P , la sonda de cADN de proteoglicano marcado ^{32}P y el fosfato dehidrogenasa de gliceraldehído marcado con ^{32}P (PAGDH) cADN. Los niveles de PAGDH actuaron como un estándar interno para asegurar una carga aproximadamente igual. Los resultados experimentales sobre las películas de rayos X se exploraron y analizaron con ScanJet HP.

El fucoidan inhibió completamente la expresión de collagenasa y estromelicina a una concentración de 0.5% p/v sin inhibición excesiva de la expresión de proteoglicano como se muestra en la Figura 3. A una concentración de 0.1% p/v hubo una inhibición potente de la expresión de collagenasa y estromelicina sin ningún efecto inhibitorio de la expresión de proteoglicano. Estos datos demuestran un efecto anti-inflamatorio de fucoidan.

Ejemplo 4

El efecto del fucoidan sobre la angiogenia en la membrana corioalantóica del embrión de pollo (ensayo CAM)

Los huevos de pollo fertilizados se obtuvieron de un criadero local en una incubadora con un rotador automático a 37°C durante 3.5 días antes de descascaramiento u oclusión.

Las láminas de papel encerado estéril se colocaron sobre una ventana que se creó en el espacio aéreo y se utilizaron para evitar la contaminación y la deshidratación de los contenidos de los huevos. Estas láminas, que miden $4 \text{ cm} \times 4 \text{ cm}$, se esterilizaron al pulverizarlas con 70% de etanol y permitirles secarse en la caperuza del flujo laminar. Después de tres días los huevos se rotaron manualmente en la incubadora de tal forma que su extremo filoso se levantó durante 5-10 minutos para permitir la separación de los contenidos del huevo de la membrana interior. Utilizando 70% de etanol y Kimwipes, la cáscara de huevo completa se enjuagó para ayudar limpiar y sanear el exterior del huevo. Dentro de la caperuza de flujo laminar, el huevo se mantuvo con la parte roma del lado hacia arriba y se hizo un hueco en el extremo romo del huevo al romper cuidadosamente la cubierta con el extremo del forceps. Los remanentes de la cáscara se removieron suavemente con los forceps para formar un hueco en el extremo romo. Este hueco circular se hizo tan largo como de 2 a 3 cm en diámetro sin dañar la membrana interior. Una vez que se creó el hueco en la cubierta, la membrana de la cáscara interior (que guarda los contenidos del huevo) se giró suavemente y se removió utilizando los forceps, teniendo cuidado de no dañar la membrana corioalantóica (CAM)(que guarda la yema y el embrión de pollo en desarrollo).

El hueco fue entonces cubierto con la lámina del papel de cera con para-película esterilizada al tensionar suavemente la para-película y luego colocarla alrededor del hueco. El huevo fue luego colocado en el soporte para huevo en la incubadora (37°C) y ubicado de tal forma que se evitara la rotación. Después de 6 días cada huevo se removió uno por uno de la incubadora (lado romo hacia arriba), y la para-película que cubre la ventana se removió para acceso directo al CAM, que se origina del intestino trasero del embrión. Los glóbulos de poli(epsilon-caprolactona) cargados con fucoidan (PCL) se elaboraron al fundir PCL a 60°C y al mezclar físicamente el fucoidan en el PCL y permitirle a los glóbulos endurecerse al enfriar hasta temperatura ambiente. Los glóbulos de fucoidan se colocaron en un lecho capilar en crecimiento del CAM. Los contenidos del huevo fueron entonces resellados con la lámina de para-película y colocados de nuevo en la incubadora a 37°C . Después de 2 días más, se registró el análisis de vascularidad CAM (48 horas después de colocar la droga sobre el lecho capilar CAM). El efecto de la droga sobre el CAM se calificó utilizando una balanza avascular, que califica el efecto de la droga como 0, 1, 2 o 3. Los valores de la escala avascular describen lo siguiente:

0 Sin actividad antiangiogénica

1 Reducción Microvasal

2 Pequeña zona avascular que mide el tamaño del glóbulo de droga (2mm de diámetro)

3 Zona avascular que mide 4-5mm de diámetro.

El fucoidan potencialmente inhibió la angiogenia en el CAM como se muestra en la Tabla 1. Las concentraciones de fucoidan tan bajas como del 2% p/p en PCL parcial o completamente inhibieron la angiogenia en 4 o 2 CAM respectivamente.

TABLA 1

Actividad Angiogénica de Fucoidan. El número de cada columna muestra el número de huevos (CAM) que muestran ninguna, parcial o máxima inhibición de la angiogenia

Concentración de Droga	Actividad Antiangiogénica		
	Ninguna (0)	Parcial (1-2)	Máxima (3)
Fucoidan 2.0%	-	4	2
Fucoidan 5.0%	-	1	4
Fucoidan 15.0%	-	2	3
Fucoidan 30.0%	-	2	1
Control	11	-	-

Estos datos demuestran una actividad antiangiogénica de fucoidan y muestran que una formulación de liberación lenta polimérica del fucoidan es un método efectivo de liberar las concentraciones terapéuticamente efectivas de la droga sin inducir toxicidad indebida.

Ejemplo 5

La encapsulación del fucoidan en películas de etileno vinil acetato y pasta de policaprolactona

Cinco mg de fucoidan (Sigma) y 45 mg de etileno vinil acetato (EVA, peso molecular aproximadamente 50k, Polysciences) se disolvieron/suspendieron en 1 ml de diclorometano. Doscientos μ l de solución fueron pipeteados sobre discos de teflón de 1 cm de diámetro y se les permitió secarse durante toda la noche (evaporación de disolvente) para formar películas elásticas delgadas para dar aproximadamente 10 mg de películas con aproximadamente un grosor de 100 μ m.

La tasa de liberación de droga proveniente de estas películas se midió al colocar secciones de 5 mg de películas en 20 ml de tubos de vidrio tapados que contienen 10 ml de solución salina amortiguada de fosfato (PBS) pH 7.4. Los tubos se taparon, y se colocaron en un agitador orbital a 37°C. En momentos específicos, los tubos se removieron y la cantidad de droga liberada se analizó mediante espectroscopia de absorbancia. El perfil de liberación del fucoidan (Figura 4) se caracterizó por una explosión inicial de liberación de droga seguida por una liberación sostenida lenta. Esta forma de dosis del fucoidan representa una formulación biocompatible, biodegradable, inyectable de la droga que libera la droga de una manera controlada.

Pasta PCL: El fucoidan se mezcló en policaprolactona (PCL, polímeros Birmingham, peso molecular 54k) a 60°C mediante pulverización de espátula a una concentración de 10% p/p. Esta mezcla fue entonces pipeteada en jeringas plásticas de 1 ml y se les permitió enfriarse. Esta formulación se podría inyectar a través de agujas calibre 18 a 56°C.

Para medir la liberación de la droga de la pasta PCL, alícuotas de 10 mg de pasta fundida se inyectaron sobre la base de los tubos de vidrio de 15 ml y se le permitió enfriarse y consolidarse. Se agregaron quince ml de PBS a cada tubo y los tubos se taparon, y rodados extremos sobre extremo en un horno a 37°C. En los momentos específicos, los tubos se removieron y la cantidad de droga liberada se analizó mediante espectroscopia de absorbancia. Los perfiles liberados de fucoidan se muestran en la Figura 5. La liberación de fucoidan se caracterizó por una explosión inicial de liberación de droga seguida por una liberación sostenida lenta. Esta forma de dosis de fucoidan representa una formulación biocompatible, biodegradable, inyectable de la droga que libera la droga de una manera controlada.

Ejemplo 6

Membranas cargadas de fucoidan para el tratamiento de adherencias quirúrgicas en ratas

El modelo de pared lateral cecal de rata de adherencias quirúrgicas se utilizó para investigar el efecto del fucoidan sobre las adherencias quirúrgicas. En este modelo, 16 ratas se dividieron en dos grupos de 8. Después del trauma quirúrgico, las ratas se trataron inmediatamente con películas de ácido hialurónico reticulado (HA) que contienen fucoidan o fueron no tratadas (grupo de control).

Materiales y Métodos. Se obtuvo hialuronato de sodio grado médico de Lifecore Scientific. Todos los disolventes fueron grado HPLC y obtenidos de Fisher. Los platos Petri plásticos se obtuvieron de Fisher Scientific. Se obtuvo etil-3-(dimetilamino) carbodiimida (EDAC) y fucoidan de Sigma (St. Louis, Mo).

Preparación de Películas. Las películas cargadas con fucoidan fueron hechas al preparar una solución de 0.6% p/v de fucoidan, 0.4% p/v de hialuronato de sodio y 0.15% p/v de glicerol en agua. Las películas de control (no fucoidan)

fueron hechas al preparar una solución o mezcla de 0.4% p/v de hialuronato de sodio y 0.15% p/v de glicerol en agua. Las películas cargadas con fucoidan y las películas de control se moldearon de estas soluciones al pipetear 4 g de cada solución en platos Petri plásticos con diámetro de 2.5 cm separadas y secadas durante 24 horas a 60°C. El agente de reticulación EDAC se incluyó a 4mM (concentración final). Cada película seca fue entonces removida cuidadosamente del plato Petri utilizando una hoja quirúrgica.

Esterilización. Las películas se empacaron entre papel de pesado 5 cm x 5 cm (Fisher Scientific) y selladas con calor en bolsas plásticas. Las películas fueron entonces térmicamente esterilizadas utilizando irradiación gama de una fuente de cobalto 60 y expuestas a 2.5 Mrad de radiación con enfriamiento del tubo sellado sobre hielo.

Estudios en Animales. El trauma quirúrgico se indujo como sigue: 16 ratas Sprague Dawley maduras, que pesa cada una 225-350 g se obtuvieron de Charles River Laboratories, Wilmington, MA. Solamente los animales que parecieron aproximadamente normales (es decir, que muestran un recubrimiento no arrugado limpio, ojos claros brillantes y una postura activa) se utilizaron en el estudio. Los animales se asignaron aleatoriamente a uno de dos grupos, pesados y anestesiados con una inyección sencilla de clorhidrato de ketamina (6mg/kg), administrados en el músculo grande del muslo. El abdomen se afeitó y se limpió con alcohol. Se hizo una incisión de 4 cm en la piel iniciando aproximadamente a 2 cm caudal a la línea alba aunque el músculo se tensionó con forceps. El cecum fue sometido a abrasión cuatro veces sobre la superficie ventral y dorsal con un dispositivo de abrasión mecánico, que le permite el operador independiente, la abrasión controlada sobre un área definida. Las adherencias del cecum se evaluaron y se calificaron de acuerdo a un sistema de calificación predefinido:

0 = No adherencias

1 = Adherencia de película con plano fácilmente identificable

2 = Adherencia media con plano libremente disectable

3 = Adhesión moderada con disección difícil de plano

4 = Adherencia densa con plano no disectable.

(Las adherencias grado 1 son el nivel más bajo de adhesión discernible (una adhesión de película con un plano identificable)).

Luego de la abrasión del cecum, los animales del Grupo 1 no recibieron tratamiento. Los animales en los Grupos 2 recibieron películas de fucoidan-HA discutidas anteriormente. Las películas se envolvieron alrededor del cecum. Las incisiones fueron entonces cerradas con sutura 3.0 Dexon. Siete días luego de la operación, los animales se sometieron a eutanasia y se evaluaron para la presencia de grado 2 (o mayor) de adherencias post-operativas. El grado de adherencias 2 se definió como las adherencias medias con un plano libremente disectable.

Resultados

Tabla 2.			
Grupo	% con Adherencias \geq 2	Incidencia media \pm SEM	% sin Adherencias
Control	75	1.4 \pm 0.4	25
Membrana cargada de Fucoidan	38	0.5 \pm 0.2	50

- Membranas solamente cubiertas aproximadamente la mitad del cecum
- No se notaron anomalías luego de la necropsia (sin material residual, no ascitos, no signos de curación anormal, en el cecum o en la incisión de línea media)

Los resultados demuestran la inhibición efectiva de la formación de adherencia mediante películas cargadas con fucoidan en razón a que incidencia media de las adherencias se redujo y el % de ratas sin adherencias se incrementó en ratas tratadas con fucoidan. Las películas cargadas con fucoidan que cubren completamente el cecum podrían ser aún más efectivas al inhibir la formación de adhesión.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un fucano en la preparación de un medicamento para tratar una adherencia potencialmente en un sitio de enfermedad en un animal.

2. El uso de la reivindicación 1 en donde la enfermedad es un sitio quirúrgico, y el fucano es para dirigir el suministro como una composición al sitio de enfermedad.

3. El uso de la reivindicación 1 o reivindicación 2 en donde el fucano es para administración oral.

4. El uso de la reivindicación 1 o reivindicación 2 en donde el fucano es para la administración por vía de inyección al sitio de la enfermedad.

5. El uso de la reivindicación 1 o reivindicación 2 en donde el fucano es para administración intraocularmente, subcutáneamente, intraperitonealmente, intramuscularmente, intraarticularmente, intralesionalmente, intravaginalmente, rectalmente o tópicamente.

6. El uso de cualquier reivindicación precedente en donde el fucano es fucoidan.

7. El uso de cualquier reivindicación precedente en donde el fucano es para administración sustancialmente continua al sitio de la enfermedad por vía de liberación controlada de una forma de dosis polimérica.

8. El uso de la reivindicación 7 en donde la forma de dosis polimérica comprende una película, parche, pasta, microesfera, implante, gel, pulverizado o líquido.

9. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde el fucano es para la administración como una composición farmacéutica en una forma que comprende por lo menos uno de una crema, pasta, excipiente inyectable y polímero.

10. El uso de cualquier reivindicación precedente en donde el fucano es para administración como una composición farmacéutica que comprende el fucan y una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos una droga.

11. El uso de la reivindicación 10 en donde la droga comprende por lo menos uno de un paclitaxel, doxorubicina, camptotecina, etoposido, mitoxantrona, metotrexato, menadiona, plumbagina, juglona, beta-lapercona ciclosporina, sulfasalazina, esteroide, rapamicina, retinoide, docetaxel, colquicina, un oligonucleótido no codificante, ribozima y un inhibidor de ARN oligonucleótido.

12. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde el fucano es para suministro como parte de una composición y la composición comprende 0.1% a 35% p/v del fucano.

13. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde el fucano es para suministro como parte de una composición y la composición comprende 80% a 100% p/v del fucano.

14. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde el fucano es para suministro como parte de una composición y la composición comprende 5% a 50% p/v del fucano.

15. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde el fucano es para suministro como parte de una composición y la composición comprende 20% a 80% p/v del fucano.

16. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 en donde el fucano es parte de una composición que además comprende por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

17. El uso de la reivindicación 16 en donde el excipiente farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste de un plurónico, celulosa, alginato, acrilato, ácido hialurónico, polietilenglicol, y quitosan.

18. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 en donde el fucano es para la administración directamente al sitio de enfermedad.

19. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 en donde el animal es un humano.

20. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde la adherencia es una adherencia quirúrgica.

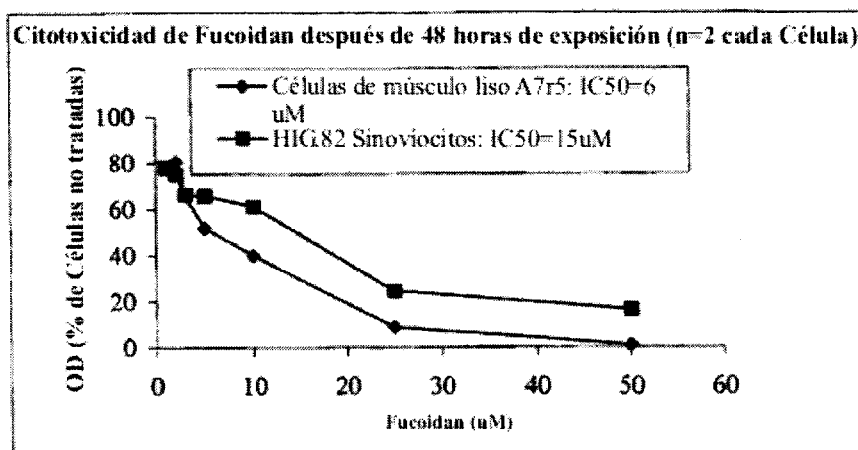


FIG. 1

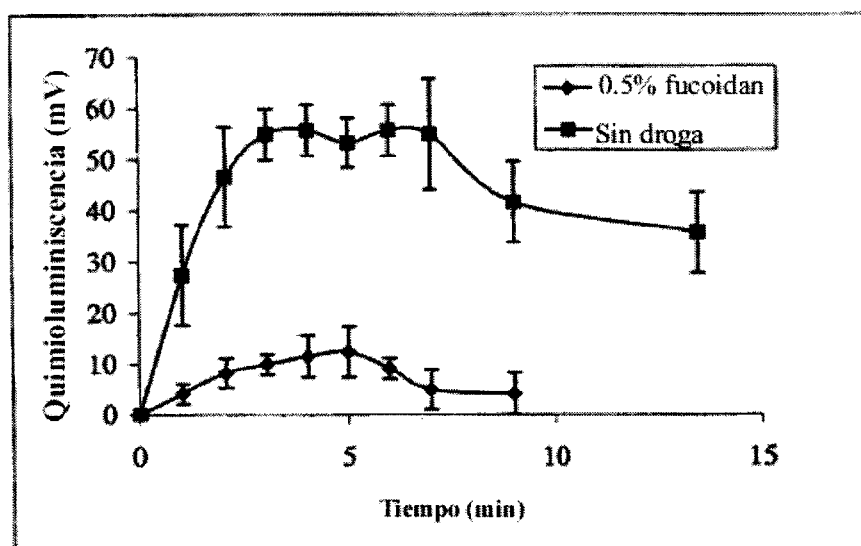


FIG. 2

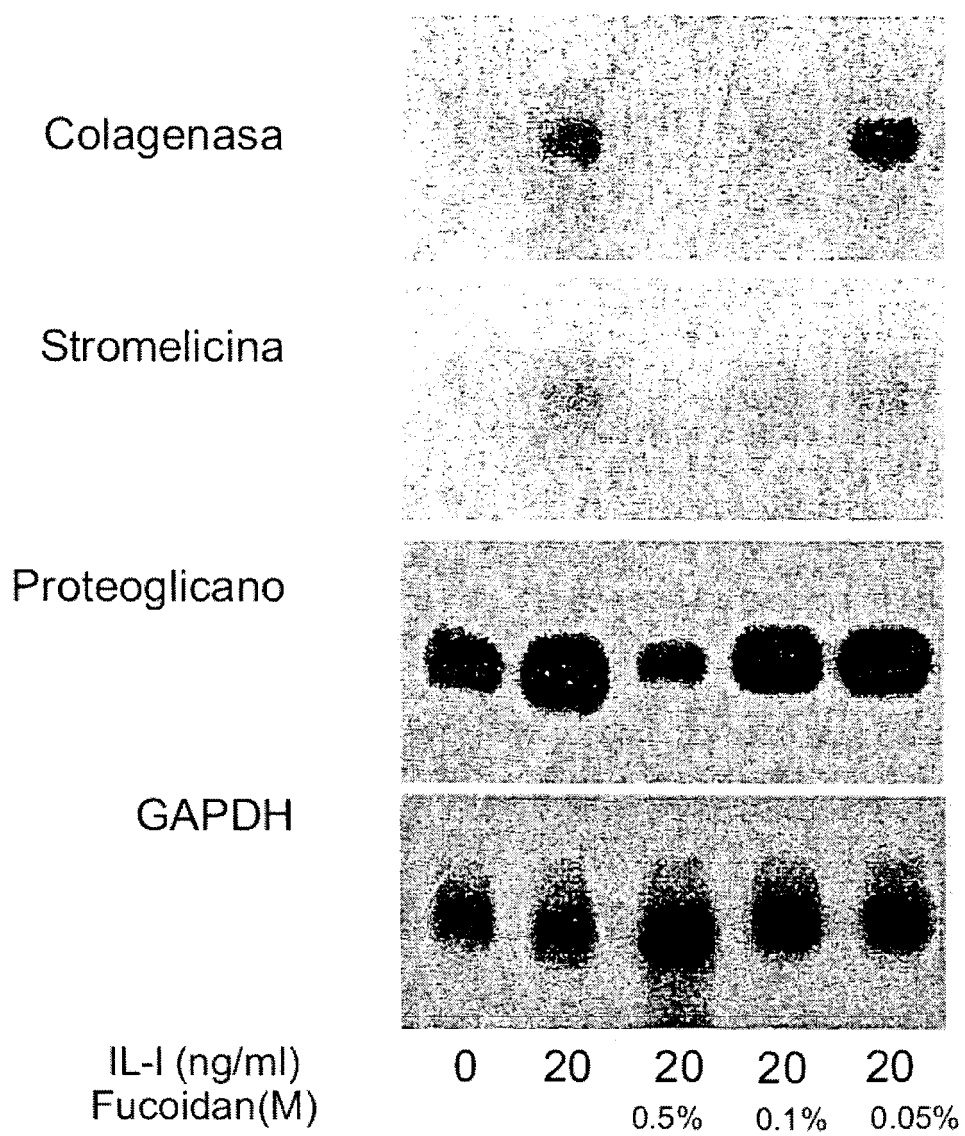


FIG. 3

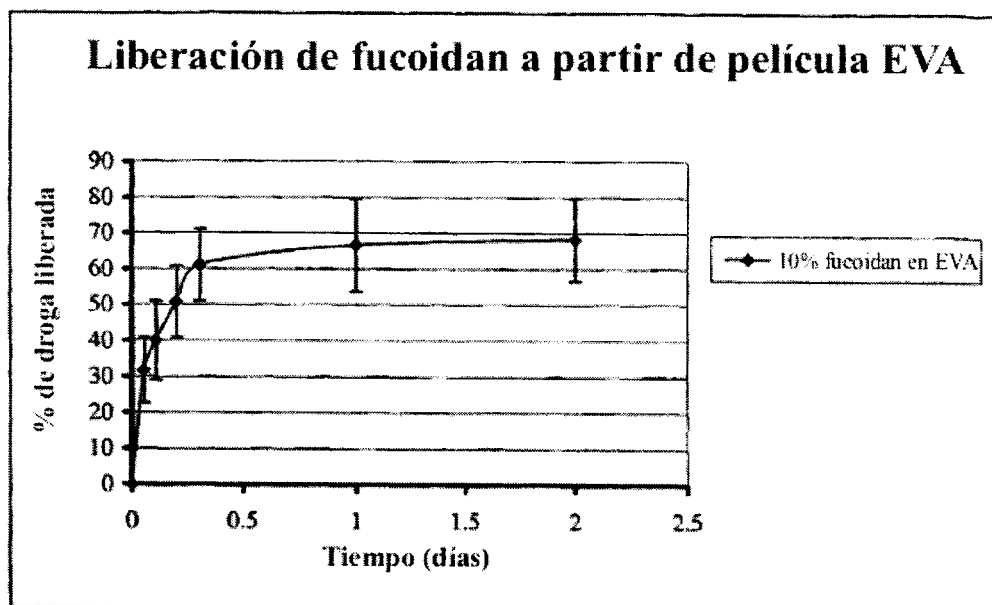


FIG. 4

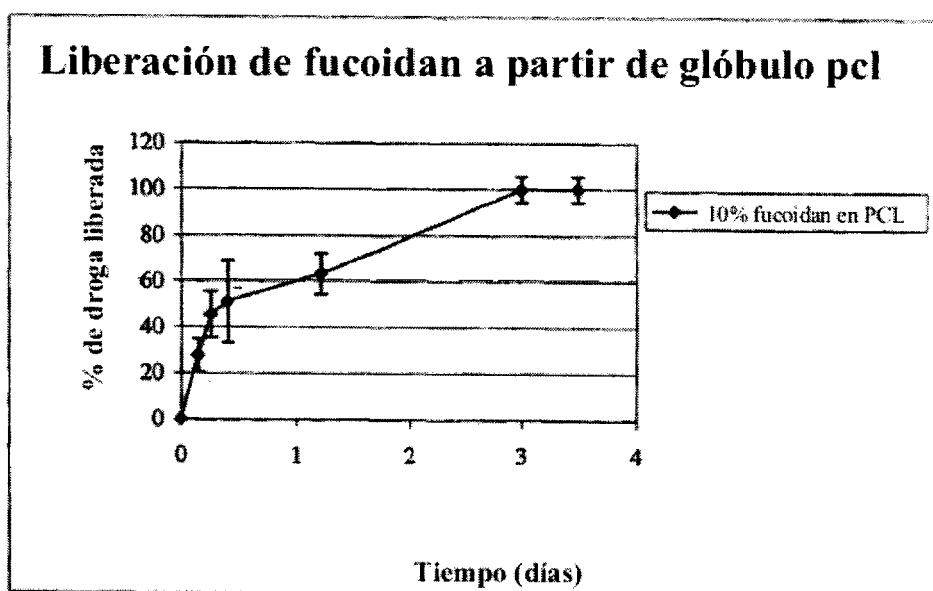


FIG. 5