

RAISBECK, LARA, RODRÍGUEZ & RUEDA
MIEMBROS DE LA FIRMA
BAKER & MCKENZIE

CALLE 35 No. 7-25, Piso 4
TELÉFONO: (57-1) 332-2600
BOGOTÁ, D.C. COLOMBIA
WWW.BAKERINFO.COM
OFFICE.BOGOTA@BAKERNET.COM

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

100
91
X

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 01028014 00000003 Folios: 55
Fecha (AMB): 2001-07-17 17:12:50
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 RESPUESTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Re: Expediente No. 01.028.014

Solicitud de Patente de Invención titulada:
"COMPOSICIONES SINGULARES DE
FOSFOLIPIDOS Y BISFOSFONATOS
ZWITERIONICOS Y USO DE LAS
COMPOSICIONES COMO SISTEMAS DE
ENTREGA DE BISFOSFATOS CON UNA
REDUCIDA TOXICIDAD GASTROINTESTINAL".

Solicitante: THE BOARD OF REGENTS OF THE
UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

RESPUESTA AL AUTO NOTIFICADO POR ESTADO No. 043
DE FECHA 17 DE MAYO DE 2001, OFICIO No. 1490

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá D.C., identificado tal como aparece al pie de mi firma en mi carácter de apoderado de la sociedad en referencia, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del término legal:

1. En atención a la primera observación del Examinador, adjunto un Capítulo Reivindicatorio Modificado corrigiendo el error en la numeración, señalado por el Examinador Técnico (se saltaba de la Reivindicación 17 a la Reivindicación 19, sin mencionar la número 18).

2. En atención a la segunda y tercera observaciones del Examinador, me permito presentar un Petitorio Modificado, en el cual indico el lugar de constitución de la

101
292



- 2 -

Institución de Educación Superior solicitante y el domicilio del inventor. El nombre del mismo ya había sido incluido en el Petitorio inicialmente presentado.

3. Atendiendo a la tercera observación del Examinador, adjunto el documento de Poder debidamente legalizado y traducido, así como el documento que acredita la existencia y representación legal de la Institución de Educación Superior solicitante.

4. En cuanto a la quinta observación del Examinador, presento junto con este escrito la cesión del derecho de patente otorgado por el inventor a la solicitante, debidamente legalizada y traducida.

5. Adjunto la Copia Certificada de la Solicitud de Patente Estadounidense No. 60/195,562, de la cual se reclama prioridad en la presente solicitud. Así mismo, presento copia de la traducción al español del Capítulo Reivindicatorio del Documento de Prioridad.

6. Finalmente, siguiendo una solicitud expresa de mi apoderada, me permito indicar que el nombre correcto de la solicitante es: "The Board of Regents of the University of Texas System". Ratifico que este cambio se encuentra soportado en el Poder, Cesión y Petitorio aportados junto con esta contestación. Para tal efecto, presento un recibo por concepto de modificación voluntaria.

Atentamente,

CARLOS R. OLARTE
C.C. No. 79.782.747 de Bogotá
T.P. 74.295

Anexos: Capítulo Reivindicatorio Modificado
 Petitorio
 Poder
 Documento de Cesión.
 Copia Certificada del Documento de Prioridad.
 Traducción del Capítulo Reivindicatorio del Documento de Prioridad.
 Recibo. No. 42.446

**DILIGENCIA DE RECONOCIMIENTO
Y PRESENTACION PERSONAL**
Ante el Notario Once del Circulo de Santafé de Bogotá, compareció

Quien exhibió la C.C. No. _____
expedida en _____ T.P. 7429
/ declaró que la firma y huella que aparecen en
el presente memorial son verdaderas y que el conte-
nido del mismo es cierto.
Memorial dirigido a Interesado

17 JUL 2001
Santafé de Bogotá, D.C.

Firma del Declarante _____
HUELLA _____
Autorizó la anterior Diligencia

NOTARIO ONCE DEL CIRCULO DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ





Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

HIT : 900176039-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 01 - 42,446
FECHA : JULIO 11 DE 2001

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 01828014 00000003 Folios: 35
Fecha (RMB): 2001-07-17 17:12:50
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 REPUESTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
ALVARO CORREA ORDOÑEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	8590114	11/07/2001	6,372,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICA	
	12 MARCAS Y LEYAS COMERCIALES	73,440.00
	TOTAL :	\$ 73,440.00

60%: SETENTA Y TRES MIL CUATROCIENTOS CUARENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RE DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador 382 0840
Fax 350 5220
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

103
ti 94**CAPITULO REIVINDICATORIO MODIFICADO****(PRIMER EXAMEN DE FORMA)**

1. Una composición farmacéutica para el tratamiento de la osteoporosis la cual comprende por lo menos un fosfolípido zwiteriónico y por lo menos un bisfosfonato.
2. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido zwiteriónico está presente en una cantidad suficiente para reducir la toxicidad gastrointestinal del bisfosfonato y el bisfosfonato está presente en una cantidad suficiente para reducir la reabsorción ósea. 102
3. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido zwiteriónico está presente en una cantidad suficiente para reducir la toxicidad gastrointestinal del bisfosfonato y mejorar la biodisponibilidad del bisfosfonato cuando la composición es tomada con el alimento, y el bisfosfonato está presente en una cantidad suficiente para reducir la reabsorción ósea, aumentar la densidad ósea y/o reducir fracturas óseas. 103
4. La composición de la reivindicación 3, en donde la cantidad de bisfosfonato oscila entre 0.1 mg por dosis y 1000 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:100 aproximadamente.
5. La composición de la reivindicación 3, en donde la cantidad de bisfosfonato oscila entre 1 mg por dosis y 500 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.5 y 1:50 aproximadamente.
6. La composición de la reivindicación 3, en donde la cantidad de bisfosfonato oscila entre 2 mg por dosis y 50 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:1 y 1:10 aproximadamente.
7. La composición de la reivindicación 3, en donde la cantidad de bisfosfonato oscila entre 2 mg por dosis y 20 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:1 y 1:5 aproximadamente.
8. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido zwiteriónico está presente en una cantidad suficiente para reducir la toxicidad gastrointestinal del

109
595

bisfosfonato y el bisfosfonato está presente en una cantidad suficiente para reducir la reabsorción ósea, aumentar la densidad ósea y/o reducir fracturas óseas. (27)

9. La composición de la reivindicación 8, en donde el bisfosfonato está presente en una cantidad entre 0.1 mg por dosis y 1000 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:100 aproximadamente.

10. La composición de la reivindicación 8, en donde el bisfosfonato está presente en una cantidad entre 1 mg por dosis y 500 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.5 y 1:50 aproximadamente.

11. La composición de la reivindicación 8, en donde el bisfosfonato está presente en una cantidad entre 2 mg por dosis y 50 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:1 y 1:10 aproximadamente.

12. La composición de la reivindicación 8, en donde el bisfosfonato está presente en una cantidad entre 2 mg por dosis y 20 mg por dosis aproximadamente, y la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:1 y 1:5 aproximadamente.

13. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido zwiteriónico incrementa la biodisponibilidad del bisfosfonato entre 2 y 20 veces aproximadamente. (10)

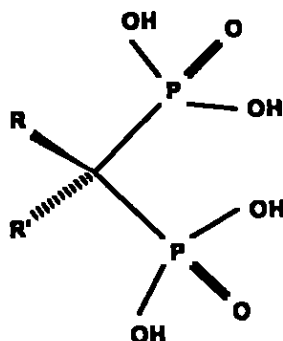
14. La composición de la reivindicación 1, en donde el bisfosfonato está en su forma zwiteriónica y conforma un complejo de asociación iónico con el fosfolípido zwiteriónico.

15. La composición de la reivindicación 1, que además comprende un metal coloidal, un complejo metálico o una mezcla o combinación de los mismos. 7

16. La composición de la reivindicación 1, en donde el bisfosfonato es caracterizado por la fórmula (I) general:

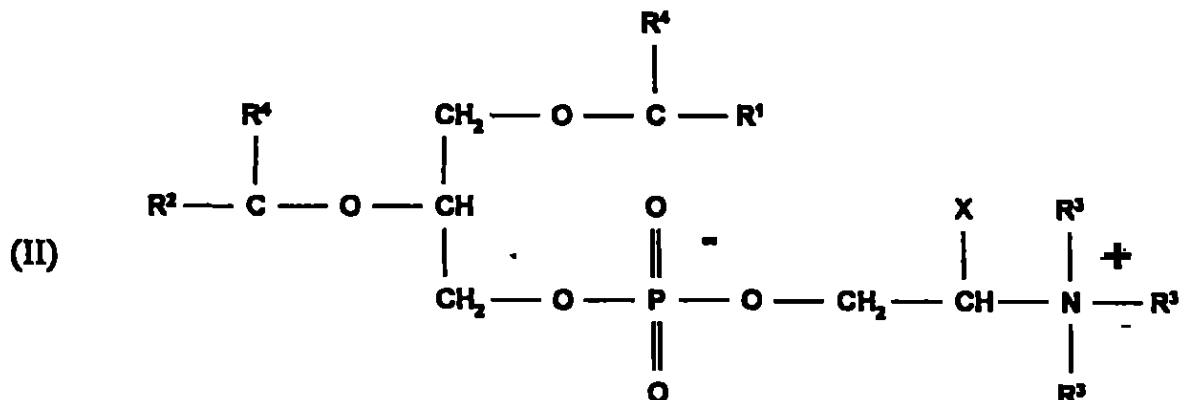
605
965

(I)



en donde R^1 es H, OH, ó Cl y R es: (a) un grupo alquilo que tiene entre 1 y 6 átomos de carbono, opcionalmente sustituidos por amino, alquilamino, dialquilamino o heterociclilo, en donde los grupos alquilo en los sustituyentes alquilamino y dialquilamino tienen entre 1 y 5 átomos de carbono y son idénticos o diferentes en el caso de los grupos alquilo sustituidos con dialquilamino; (b) un halógeno; (c) un ariltio, preferiblemente cloro sustituido; (d) un cicloalquilamino que tenga entre 5 y 7 átomos de carbono; ó (e) un nitrógeno saturado de 5 ó 6 miembros que contiene heterociclilo con 1 ó 2 heteroátomos.

17. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido está caracterizado por la fórmula general (II):



en donde R_1 y R_2 son sustituciones saturadas o insaturadas que oscilan entre 8 y 32 átomos de carbono; R_3 es H ó CH_3 , y X es H ó $COOH$; y R_4 es $=O$ ó H_2 .

18. La composición de la reivindicación 1, en donde el bisfosfonato es seleccionado entre ácido 3-amino-1-hidroxipropilideno-1,1-bisfosfónico (pamidronato), ácido 4-amino-1-hidroxibutilideno-1,1-bisfosfónico (alendronato), N,N-dimetil-3-amino-1-hidroxipropilideno-1,1-bisfosfónico (mildronato, olpatronato), ácido 1-hidroxi-3-(N-metil-N-pentilamino) propilideno-1,1-(N-metil-N-pentilamino)propilideno-1,1-

18
X
91

bisfosfónico (ibandronato), ácido 1-hidroxi-2-(3-piridil)etilideno-1,(3-piridil)etilideno-1,1-bisfosfónico (risedronato), ácido 1-hidroxi-2-(3-piridil)etilideno-1,1-bisfosfónico (etidronato), ácido 1-hidroxi-3-(1-pirrolidinil)propilideno-1,1-bisfosfónico, ácido 1-hidroxi-2-(1-imidazolil)etilideno-1,1-bisfosfónico(1-imidazolil)etilideno-1,1-bisfosfónico (zoledronato), ácido 1-hidroxi-2-(imidazo [1,2-a] piridin-3-il)etilideno-1,1-bisfosfónico (minodronato), ácido 1-(4-clorofeniltio)metilideno-1,1-bisfosfónico (cimadronato, incadronato), ácido 6-amino-1-hidroxi-hexilideno-1,1-bisfosfónico (noridronato) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y mezclas y combinaciones de los mismos.

19. La composición de la reivindicación 1, en donde el bisfosfonato es seleccionado entre risedronato, alendronato, pamidronato, y sus sales farmacéuticamente aceptables, y mezclas y combinaciones de los mismos.

20. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido zwitteriónico es seleccionado entre fosfatidilcolinas, fosfatidiletanolaminas, fosfatidilinositol, fosfatidilserinas esfingomielina y otras ceramidas, aceites que contienen fosfolípidos, y mezclas o combinaciones de los mismos.

21. La composición de la reivindicación 1, en donde el fosfolípido zwitteriónico es seleccionado entre fosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, otras fosfatidilcolinas disaturadas, aceites de lecitina, y mezclas y combinaciones de las mismas.

22. Una composición farmacéutica, para el tratamiento de la osteoporosis, la cual comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un bisfosfonato para reducir la reabsorción ósea y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwitteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal y aumentar la biodisponibilidad del bisfosfonato. 7

23. La composición de la reivindicación 22, en donde la cantidad efectiva del bisfosfonato oscila entre 0.1 mg por dosis y 1000 mg por dosis ~~aproximadamente~~, y la cantidad suficiente del fosfolípido zwitteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwitteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:100 ~~aproximadamente~~.

24. La composición de la reivindicación 22, que además comprende un metal coloidal, un complejo metálico o una mezcla o combinación de los mismos. S

10
8-4
98

25. Una composición farmacéutica la cual comprende un vehículo, una cantidad farmacéuticamente efectiva de un bisfosfonato para reducir la reabsorción ósea y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal e incrementar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

MS

26. La composición de la reivindicación 25, en donde la cantidad efectiva del bisfosfonato oscila entre 0.1 mg por dosis y 1000 mg por dosis aproximadamente, y la cantidad suficiente del fosfolípido zwiteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:100 aproximadamente.

27. La composición de la reivindicación 25, que además comprende un metal coloidal, un complejo metálico o una mezcla o combinación de los mismos.

28. La composición de la reivindicación 25, en donde el medicamento debe ser tomado oralmente.

100
1 mg
17 d.

29. El medicamento de la reivindicación 25, en donde el medicamento debe ser tomado oralmente con el alimento.

30. Un medicamento oral, para el tratamiento de la osteoporosis, el cual comprende un objeto sólido que comprende un vehículo inerte, una cantidad farmacéuticamente efectiva de un bisfosfonato para reducir la reabsorción ósea y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal e incrementar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

31. El medicamento de la reivindicación 30, en donde la cantidad efectiva del bisfosfonato oscila entre 0.1 mg por dosis y 1000 mg por dosis aproximadamente, y la cantidad suficiente del fosfolípido zwiteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:100 aproximadamente.

32. El medicamento de la reivindicación 30, que además comprende un metal coloidal, un complejo metálico o una mezcla o combinación de los mismos.

33. Un método para tratar la osteoporosis el cual comprende el paso de administrar una composición, la cual comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un

leg
99

bisfosfonato y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir a toxicidad gastrointestinal y aumentar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

34. El método de la reivindicación 33, en donde la cantidad efectiva del bisfosfonato oscila entre 0.1 mg por dosis y 1000 mg por dosis aproximadamente, y la cantidad suficiente del fosfolípido zwiteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:100 aproximadamente.

35. El método de la reivindicación 33, que además comprende un metal coloidal, un complejo metálico o una mezcla o combinación de los mismos.

36. Un método para producir una composición medicinal de bisfosfonato con una reducida toxicidad-gastrointestinal incluyendo el paso de hacer contactar un fosfolípido zwiteriónico y un bisfosfonato, en donde la composición tiene una reducida toxicidad gastrointestinal y una biodisponibilidad mejorada del bisfosfonato y causa una reducción de la reabsorción ósea.

37. El método de la reivindicación 36, en donde el contacto es hecho bajo condiciones donde el fosfolípido y el bisfosfonato están en sus formas zwiteriónicas.

38. El método de la reivindicación 36, en donde las condiciones son suficientes para promover la formación de los complejos de asociación iónica entre el fosfolípido zwiteriónico y el biofosfonato zwiteriónico.

39. El método de la reivindicación 36, que además comprende el paso de mezclar la composición con un vehículo inerte.

40. El método de la reivindicación 36, que además comprende el paso de mezclar la composición por un periodo de tiempo y a una temperatura suficiente para promover la interacción intermolecular entre el fosfolípido zwiteriónico y el biofosfonato.

41. El método de la reivindicación 40, en donde el mezclado es la sonicación y el tiempo oscila entre un minuto y una hora y la temperatura está por encima de la temperatura de transición (T_m) más alta del fosfolípido en la composición.

42. El método de la reivindicación 36, en donde el contacto es hecho en presencia de un complejo metálico, un metal coloidal, o una mezcla o combinación de los mismos.

43. Un método para producir una composición medicinal de bisfosfonato con una reducida toxicidad gastrointestinal, incluyendo los pasos de:

disolver un fosfolípido zwiteriónico en un solvente orgánico;

remover el solvente para formar una película delgada del fosfolípido zwiteriónico;

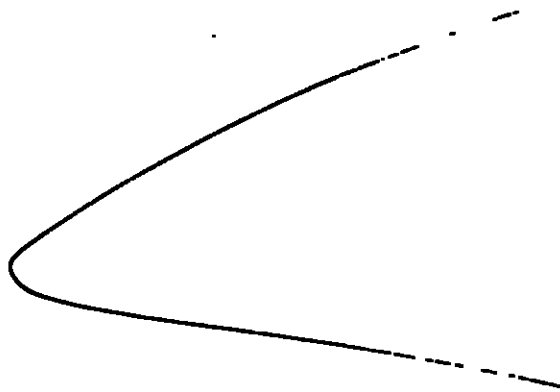
hacer contactar la película fosfolípida zwiteriónica con una solución que comprenda un bisfosfonato, en donde la solución tenga una resistencia iónica baja y un pH suficiente para mantener al bisfosfonato y al fosfolípido en sus formas zwiteriónicas para formar la composición; y

mezclar la composición por un tiempo y a una temperatura suficiente para promover la interacción intermolecular entre el fosfolípido zwiteriónico y el bisfosfonato,

donde la composición tiene una reducida toxicidad gastrointestinal y una biodisponibilidad mejorada del bisfosfonato y causa una reducción en la reabsorción ósea.

44. El método de la reivindicación 43, en donde el tiempo oscila entre un minuto y una hora y la temperatura está por encima de la temperatura de transición (T_m) más alta del fosfolípido en la composición.

45. El método de la reivindicación 43, en donde la solución además comprende un complejo metálico, un metal coloidal, o una mezcla o combinación de los mismos.



101 40

PETITORIO

(21) 01-28014
(22) 29-04-2001

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
2000-3

①

SOLICITUD DE :



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad

②

SOLICITANTE
(71)

Nombre: THE BOARD OF REGENTS OF
THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

Dirección: 201 W. 7th Street, Austin, Texas 78701

Estados Unidos de América.

Teléfono: 570-0010

Fax: 285-6908

E-Mail: _____

Domicilio: Un Instituto de Educación Superior organizado
bajo las leyes del Estado de Texas, E. U. A.

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Número _____

③

REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: CALLE 35 No. 7-25 Piso 4

Teléfono: 570-0010

Fax: 285-6908

E-Mail: patents.bogota@bakernet.com

IDENTIFICACION

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Número 79.782.747 TP 74.295

④

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: LENARD LICHTENBERGER.

Dirección: 201 W. 7th Street, Austin, Texas 78701

Estados Unidos de América.

Teléfono: _____

Fax: _____

E-Mail: _____

Domicilio: _____

IDENTIFICACION

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Número _____

⑤

Título (54)

COMPOSICIONES SINGULARES DE FOSFOLIPIDOS Y BISFOSFONATOS ZWITERIÓNICOS Y USO DE LAS
COMPOSICIONES COMO SISTEMAS DE ENTREGA DE BISFOSFATOS CON UNA REDUCIDA TOXICIDAD
GASTROINTESTINAL

⑥

Clasificación Internacional (51)

A61K 31/66

⑦

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Abril 7, 2000

(31) Número de Solicitud

60/195,562

⑧

Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los:

6 meses ☐

12 meses ☒

18 meses ☐

Otro ☐

⑨

Comprobante de pago No. 15,723; 10,579

Fecha: Marzo 9, 2001; Febrero 21, 2001.

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

44
21
102

TRADUCCION OFICIAL No. 275/01 de un documento escrito en inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 27 de junio de 2001 por la Sra. María Teresa Lara R., c.c. 41.568.055 de Bogotá, Traductora Oficial según Resolución No. 01016 del 2 de octubre de 1998, expedida por el Ministerio de Justicia.

=====

Poder otorgado por el Consejo Rector del Sistema de la Universidad de Texas (The University of Texas System) para su representación en relación con asuntos de propiedad Industrial en Colombia. Certificación notarial suscrita por Gerry P. Beckham, Notario Público del Estado de Texas, y legalizaciones subsiguientes.

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINJUSTICIA

PODER

El suscrito Consejo Rector del Sistema de la Universidad de Texas (The University of Texas System), domiciliado en 201 West 7th Street, Austin, Texas 78701, Estados Unidos de América, declara por el presente otorgar a CARLOS REINALDO OLARTE y/o ALVARO CORREA ORDOÑEZ, poder especial amplio y bastante para recabar de las oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la obtención de: Patentes de Invención, Patentes de Modelo de Utilidad, Diseños Industriales, fusiones, cambios de nombre, cesiones, presentación y tramitación de oposiciones, cambios de dirección, a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, pagar impuestos, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede a los expresados mandatarios poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía y/o personas a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente.

OTORGADA ONCE (1) DE JUNIO DE 2001
NOTARIO PUBLICO GERRY P. BECKHAM
BOGOTA, D.C. COLOMBIA
NOTARIA ONCE (11) E

112
x 103

en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de las marcas se presentaren y hacer cuanto fuere necesario ante las autoridades administrativas o judiciales de cualquier orden, dándoles así mismo facultad para sustituir el presente y en caso necesario revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado en Austin, Texas, E.U.A., a los 5 días del mes de junio de 2001.

(Fdo.) Cullen M. Godfrey

Vicerector y Asesor General

CERTIFICACION NOTARIAL

A los 5 días del mes de junio de 2001, la suscrita Notario

DA FE

1. Que Cullen M. Godfrey, mayor y domiciliado en Austin, Texas, E.U.A., suscribió de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de Vicerector y Asesor General del Sistema de la Universidad de Texas (The University of Texas System).
4. Que el Sistema de la Universidad de Texas (The University System), con sede en Austin, Texas, E.U.A., está le



MARIA TERESA LABA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 61616
DE MINISTERIO DE JUSTICIA

143
224
104

que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se ha otorgado el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Sección 9.3 de la reunión del Consejo Rector celebrada el 11 de junio de 1992 en Austin, Texas, E.U.A.

(Fdo.) Gerry P. Beckham

Notario Público

[Sello] GERRY P. BECKHAM
NOTARIO PUBLICO
ESTADO DE TEXAS
LA COMISIÓN EXPIRA EL 11-21-2001

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION NO. 01018
DE MINJUSTICIA

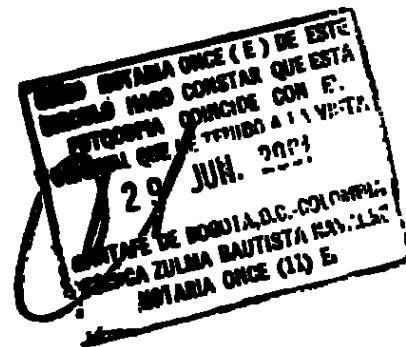
El Estado de Texas

Secretaría de Estado

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por GERRY P. BECKHAM



114
105

- 3. actuando en calidad de Notario Público, Estado de Texas
- 4. lleva el sello/estampilla de GERRY P. BECKHAM, Notario Público, Estado de Texas, la comisión expira: 11-21-01

CERTIFICADO

- 5. en Austin, Texas
- 6. el día 12 de junio de 2001
- 7. por el Secretario de Estado de Texas
- 8. Certificado No. N-254679
- 9. Sello
- 10. Firma

(Sello del Estado de Texas)

(Fdo.) Henry Cuellar

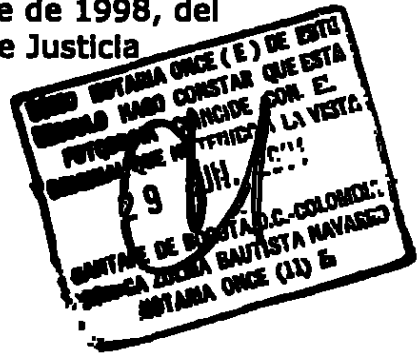
Secretario de Estado

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINJUSTICIA

=====

La anterior es traducción fiel y completa del documento en referencia, de la cual se deja copla en este archivo para su confrontación.


María Teresa Lara R.
c.c. 41.568.055 de Bogotá
Traductora Oficial según
Resolución No. 01016 del
2 de octubre de 1998, del
Ministerio de Justicia





106

The State of Texas

Secretary of State APOSTILLE

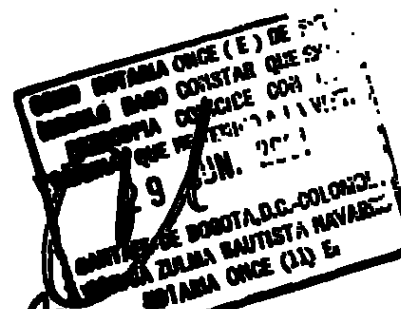
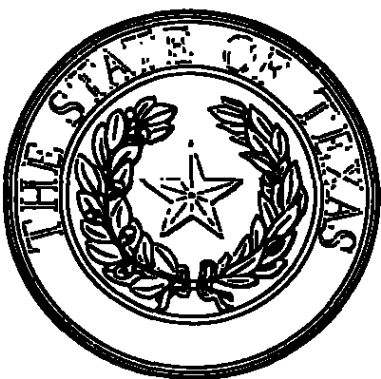
(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
2. This public document has been signed by GERRY P BECKHAM
3. acting in the capacity of Notary Public, State of Texas

4. and bears the seal/stamp of GERRY P BECKHAM, Notary Public, State of Texas, Commission Expires: 11-21-01

CERTIFIED

5. at Austin, Texas
6. on June 12, 2001
7. by the Secretary of State of Texas
8. Certificate No. N-254679
9. Seal
10. Signature:



Henry Cuellar

Henry Cuellar
Secretary of State
ST/EM

RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA
MIEMBROS DE LA FIRMA
BAKER & MCKENZIE

CALLE 35 No. 7-25, PISO 4
TELÉFONO: (57-1) 332-2800
BOGOTÁ, D.C. COLOMBIA
WWW.BAKERINFO.COM
OFFICE.BOGOTA@BAKERNET.COM

POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

The Board of Regents of the
University of Texas System

Located in

201 West 7th Street
Austin, Texas 78701
United States of America

Declares that it hereby grants to

CARLOS REINALDO OLARTE and/or
ALVARO CORREA ORDOÑEZ

A full and sufficient power of attorney to apply to the
proper national officers and authorities for the issue of:

Patents of Invention, Patents for Utility
Models, Industrial Designs, mergers,
changes of name, assignments, filing and
prosecutions, changes of address

To which end it empowers them to take all steps
necessary before said authorities for the objects stated,
to file petitions, prepare descriptions, make protests,
declarations, appeals and objections, pay imposts,
apply for certifications, receive documents and
securities, abandon applications and collect refunds.
To the said mandates sufficient power is granted
hereby to receive notifications for and on behalf of the
company, to confer powers on those who are to
represent the company judicially and extrajudicially, to
answer in court in the matter of all claims and demands
that may be presented in connection with the patents,
and to do everything that may be required, before
administrative or judicial officers of any class giving
them likewise power to substitute these presents and
revoke such substitutions if necessary.

Done and subscribed in Austin, Texas USA

On the 5th day of June, 2001

20

Cullen M. Godfrey
Vice Chancellor and General Counsel

PODER

La abajo firmada.

domiciliada en

declara por el presente otorgar a

CARLOS REINALDO OLARTE y/o
ALVARO CORREA ORDOÑEZ

poder especial amplio y bastante para recabar de las
oficinas y autoridades nacionales que correspondan, la
obtención de:

Patentes de Invención, Patentes de Modelo
de Utilidad, Diseños Industriales, fusiones,
cambios de nombre, cesiones, presentación
y tramitación de oposiciones, cambios de
dirección

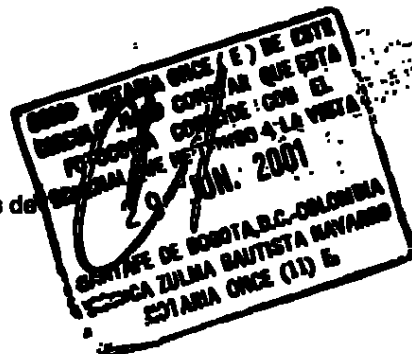
a cuyo efecto los faculta para dar ante dichas
autoridades, todos los pasos necesarios al objeto
indicado, elevar solicitudes, formular descripciones,
protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos,
oblar impuestos, solicitar testimonios, recibir
documentos y valores, deslitr y percibir. Se concede a
los expresados mandatarios poder bastante para
recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar
poderes a quienes vayan a representar a la compañía
judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a
todas las reclamaciones o demandas que por motivo
de las patentes se presentaren y hacer cuanto fuere
necesario, ante las autoridades administrativas o
judiciales de cualquier orden, dándoles asimismo
facultad para sustituir el presente y en caso necesario
revocar dichas sustituciones.

Dado y firmado en

A los

días del mes de

20



RAISBECK, LARA, RODRIGUEZ & RUEDA
MIEMBROS DE LA FIRMA
BAKER & MCKENZIE

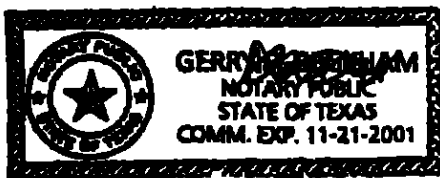
CALLE 35 No. 7-25, Piso 4
TELÉFONO: (57-1) 332-2600
BOGOTÁ, D.C. COLOMBIA
WWW.BAKERINFO.COM
OFFICE.BOGOTA@BAKERINFO.COM

NOTARIAL CERTIFICATION

On this 5th day of June
2001, the undersigned Notary

CERTIFIES

1. That Cullen M. Godfrey
of legal age and domiciled in Austin, Texas USA
set his hand on the foregoing document.
2. That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.
3. That the grantor has executed the foregoing document as
Vice Chancellor and General Counsel
of the corporate person- The University of Texas System
4. That the corporate person The University of Texas System
having its home office in Austin, Texas USA
is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
5. That the grantor has in fact the referred to authority and that his/her representation is legal.
6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source:
Section 9.3 of The Board of Regents meeting held on June 11, 1992 in Austin, Texas USA



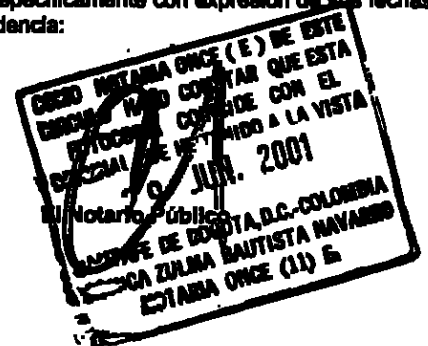
Gerry P. Beckham

CERTIFICACION NOTARIAL

A los días del mes de
de 20, el suscrito Notario

DA FE

1. Que
mayor y domiciliado en
suscribió de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de
de la persona jurídica
4. Que la persona jurídica
con sede en
está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:



118
109

TRADUCCION OFICIAL No. 312/01 de un documento escrito en Inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 11 de julio de 2001 por la Sra. María Teresa Lara R., c.c. 41.568.055 de Bogotá, Traductora Oficial según Resolución No. 01016 del 2 de octubre de 1998, expedida por el Ministerio de Justicia.

= = = = =

Cesión de invento del señor LENARD LICHTENBERGER a The Board of Regents of the University of Texas System (El Consejo Rector del Sistema de la Universidad de Texas). Certificación notarial suscrita por Charlotte J. Allen, Notario Público del Estado de Texas, y legalizaciones subsiguientes.

LA CESION NO SE TRADUCE POR ENCONTRARSE EN INGLÉS Y ESPAÑOL EN EL DOCUMENTO ORIGINAL.

ESTADO DE TEXAS §
 §
CONDADO DE HARRIS §

ANTE MÍ, la suscrita autoridad, en el día de hoy compareció personalmente Lenard Lichtenberger, a quien conozco como la persona cuyo nombre suscribe el Instrumento anterior, y reconoció ante mí haber otorgado el mismo para los propósitos y por la causa allí expresados.

DADO BAJO MI FIRMA y sello oficial a los 30 días del mes de junio de 2001.

(Fdo.) Charlotte J. Allen

NOTARIO PÚBLICO EN Y PARA
EL ESTADO DE TEXAS

[Sello] Charlotte J. Allen
 Notario Público, Estado de Texas
 Mi comisión expira el
 30 DE JUNIO DE 2004

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION No. 01016
DE MINISTERIO DE JUSTICIA

110

El Estado de Texas

Secretaría de Estado

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

- 1. País: Estados Unidos de América
- Este documento público
- 2. ha sido firmado por CHARLOTTE J. ALLEN
- 3. actuando en calidad de Notario Público, Estado de Texas
- 4. lleva el sello/estampilla de CHARLOTTE J. ALLEN, Notario Público, Estado de Texas, la comisión expira: 06-30-04

CERTIFICADO

- 5. en Austin, Texas
- 6. el día 2 de julio de 2001
- 7. por el Secretario de Estado de Texas
- 8. Certificado No. N-256870
- 9. Sello
- 10. Firma
- (Sello del Estado de Texas)
- (Fdo.) Henry Cuellar

Henry Cuellar
Secretario de Estado

=====

La anterior es traducción fiel y completa del documento en referencia, de la cual se deja copia en este archivo para su confrontación.

Maria Teresa Lara R.

María Teresa Lara R.
c.c. 41.568.055 de Bogotá
Traductora Oficial según
Resolución No. 01016 del
2 de octubre de 1998, del
Ministerio de Justicia

MARIA TERESA LARA R.
TRADUCTORA OFICIAL
RESOLUCION NO. 01016
DE JUSTICIA



The State of Texas

Secretary of State

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

**This public document
2. has been signed by**

CHARLOTTE J ALLEN

3. acting in the capacity of

Notary Public, State of Texas

4. and bears the seal/stamp of

**CHARLOTTE J ALLEN, Notary Public, State
of Texas, Commission Expires: 06-30-04**

CERTIFIED

5. at Austin, Texas

6. on July 2, 2001

7. by the Secretary of State of Texas

8. Certificate No. N-256870

9. Seal

10. Signature:



Henry Cuellar

**Henry Cuellar
Secretary of State
ST/VA**

131
72
112

ASSIGNMENT

CESION

LICHTENBERGER, Lenard

LICHTENBERGER, Lenard

By means of this document assign to
**The Board of Regents of the University of
Texas System** Education
An Institution of Higher organized
under the laws of the State of Texas
United States of America

por medio de la presente cedo (cedemos) a:
**The Board of Regents of the University of
Texas System** educación superior
una institución de organizada
bajo las leyes del Estado de Texas,
Estados Unidos de América

Domiciled in
201 W. 7th Street
Austin, Texas 78701
United States of America

domiciliada en
201 W. 7th Street
Austin, Texas 78701
Estados Unidos de América

(hereinafter referred to as the "ASSIGNEE"),
All my (our) rights, title and interest in and to
my (our) invention for a new and useful
improvement entitled and as fully set forth and
described in:

**UNIQUE COMPOSITIONS OF
ZWITTERIONIC PHOSPHOLIPIDS AND
BISPHOSPHONATES AND USE OF THE
COMPOSITIONS AS BISPHOSPHATE
DELIVERY SYSTEMS WITH REDUCED
GI TOXICITY;**
Colombian Patent Application No. 01028014

(de ahora en adelante el "CESIONARIO"),
todos mis (nuestros) derechos, título e interés
sobre mi (nuestra) invención tal como describe
en:

**COMPOSICIONES SINGULARES DE
FOSFOLIPIDOS Y BISFOSFONATOS
ZWITTERIONICOS Y USO DE LAS
COMPOSICIONES COMO SISTEMAS DE
ENTREGA DE BISFOSFATOS CON UNA
REDUCIDA TOXICIDAD
GASTROINTESTINAL;**
Solicitud de Patente Colombiana No. 01028014

So far as the Republic of Colombia is concerned.

en lo que concierne a la República de Colombia.


LICHTENBERGER, Lenard

Place and date: June 30, 2001

LICHTENBERGER, Lenard

Lugar y fecha: _____

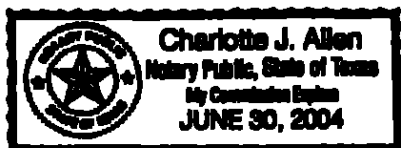
STATE OF TEXAS

§
§
§

COUNTY OF HARRIS

BEFORE ME, the undersigned authority, on this day personally appeared Linard Lichtenberger, known to me to be the person whose name is subscribed to the foregoing instrument, and acknowledged to me that he executed the same for the purposes and consideration therein expressed.

GIVEN UNDER MY HAND and seal of office this 30th day of June, 2001.




NOTARY PUBLIC IN AND FOR
THE STATE OF TEXAS

Esta es una traducción parcial al idioma español de un documento escrito originalmente en el idioma inglés.

LOS ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

A TODOS AQUELLOS A QUIEN ESTE DOCUMENTO SE LES PRESENTE:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos

Abril 18, 2001

ESTO ES PARA CERTIFICAR QUE LO ANEXADO A LA PRESENTE ES UNA FIEL COPIA DE LOS EXPEDIENTES DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AQUELLOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE IDENTIFICADA A CONTINUACION QUE REUNIERON LOS REQUERIMIENTOS PARA QUE SE LE CONCEDA UNA FECHA DE PRESENTACION BAJO 35 USC (Código de los Estados Unidos) 111.

NO. DE SOLICITUD: 60/195,562

FECHA DE PRESENTACION: 07 de Abril de 2000

**SELLO DE LA
OFICINA DE MARCAS Y PATENTES
DE LOS ESTADOS UNIDOS DE**

**Por la Autoridad del
COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS**

firma ilegible]

**H. PHILLIPS
Oficial de Certificación**

123
24
114

3 REIVINDICACIONES:

1. Una composición para el tratamiento de la osteoporosis la cual comprende un fosfolípido zwiteriónico y un bisfosfonato.

2. La composición de la reivindicación 1, en donde la cantidad de fosfolípido zwiteriónico es suficiente para reducir la toxicidad gastrointestinal del bisfosfonato.

3. La composición de la reivindicación 1, en donde la cantidad de bisfosfonato es suficiente para reducir osteoporosis.

4. La composición de la reivindicación 3, en donde la cantidad oscila entre 0.5 y 1000 mg por dosis.

5. La composición de la reivindicación 1, en donde la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:10 aproximadamente.

6. La composición de la reivindicación 3, en donde el fosfolípido zwiteriónico incrementa la biodisponibilidad del bisfosfonato entre 1 y 20 veces aproximadamente.

115

7. Una composición para el tratamiento de la osteoporosis, que comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un biofosfonato y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal y aumentar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

8. La composición de la reivindicación 7, en donde la cantidad efectiva de bisfosfonato comprende entre 0.5 y 1000 mg por dosis aproximadamente.

9. Una composición medica que comprende un vehículo, una cantidad farmacéuticamente efectiva de un bisfosfonato y una cantidad suficiente de fosfolípido zwiteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal y aumentar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

10. La composición de la reivindicación 9, en donde la relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:10 aproximadamente.

11. Un medicamento oral, para el tratamiento de la osteoporosis que comprende un vehículo inerte, una cantidad

125
26
116

farmacéuticamente efectiva un bisfosfonato y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal e incrementar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

12. El medicamento de la reivindicación 11, en donde la cantidad suficiente del fosfolípido zwiteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:10 aproximadamente.

13. Un medicamento oral, para el tratamiento de la osteoporosis, el cual comprende un objeto sólido que comprende un vehículo inerte, una cantidad farmacéuticamente efectiva de un bisfosfonato y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir la toxicidad gastrointestinal e incrementar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

14. El medicamento de la reivindicación 13, en donde la cantidad suficiente del fosfolípido zwiteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:10 aproximadamente.

119
278

15. Un método para tratar la osteoporosis el cual comprende el paso de administrar oralmente una composición, la cual comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un bisfosfonato y una cantidad suficiente de un fosfolípido zwiteriónico para reducir a toxicidad gastrointestinal y aumentar la biodisponibilidad del bisfosfonato.

16. El medicamento de la reivindicación 15, en donde la cantidad suficiente del fosfolípido zwiteriónico es tal que una relación entre bisfosfonato y el fosfolípido zwiteriónico oscila entre 1:0.1 y 1:10 aproximadamente.

17. Un método para producir una composición medicinal de bisfosfonato con una reducida toxicidad gastrointestinal incluyendo el paso de hacer contactar un fosfolípido zwiteriónico y un bisfosfonato, en cantidades suficientes de forma compleja.

18. El método de la reivindicación 14, que además comprende el paso de administrar la composición con un vehículo inerte.

PA 388679



2962
118

THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE

United States Patent and Trademark Office

April 18, 2001

THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.

APPLICATION NUMBER: 60/195,562

FILING DATE: April 07, 2000

**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**



H. Phillips
H. PHILLIPS
Certifying Officer

Please type a plus sign (+) inside this → ☐

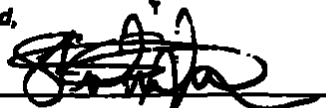
Docket Number: 25830/15PROV

PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT COVER SHEET (Small Entity)

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT under 37 CFR 1.63 (c).

INVENTOR(S)/APPLICANT(S)					
Given Names (first and middle (if any))	Family Name or Surname	Residence (City and either State or Foreign Country)			
Lenard	Lichtenberger	Houston, TX			
☐ Additional inventors are being named on page 2 attached hereto					
TITLE OF THE INVENTION (250 characters max)					
UNIQUE COMPOSITIONS OF ZWITTERIONIC PHOSPHOLIPIDS AND BISPHOSPHONATES AND USE OF THE COMPOSITIONS TO REDUCE GI TOXICITY AND ENHANCE BIOAVAILABILITY OF BISPHOSPHONATES					
CORRESPONDENCE ADDRESS					
Direct all correspondence to:					
☐ Customer Number		Place Customer Number Bar Code Label here			
☒ Firm or Individual Name					
Robert W. Strozler					
Address		2825 Briarpark Drive			
Address		Suite 630			
City		Houston	State	TX	ZIP 77042
Country		US	Telephone	713.977.7000	Fax 713.977.7011
ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)					
☒ Specification	Number of Pages	21	☐ Small Entity Statement		
☒ Drawing(s)	Number of Sheets	2	☒ Other (specify) postcard		
METHOD OF PAYMENT OF FILING FEES FOR THIS PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT (check one)					
☐ A check or money order is enclosed to cover the filing fees					FILING FEE AMOUNT
☐ The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees or credit any overpayment to Deposit Account Number:					\$75.00
The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.					
☐ No					
☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:					

Respectfully submitted,

SIGNATURE 

Date 04/07/2000

TYPED or PRINTED NAME Robert W. Strozler

REGISTRATION NO. 34,024
(if appropriate)

TELEPHONE 713.977.7000

USE ONLY FOR FILING A PROVISIONAL APPLICATION FOR PATENT

SEND TO: Box Provisional Application, Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231

129
120

CERTIFICATE OF MAILING BY "EXPRESS MAIL" (37 CFR 1.10)		Docket No.	
Applicant(s): LICHTENBERGER		25630/15PROV	
Serial No.	Filing Date 7 April 2000	Examiner	Group Art Unit
Invention: UNIQUE COMPOSITIONS OF ZWITTERIONIC PHOSPHOLIPIDS AND BISPHOSPHONATES AND USE OF THE COMPOSITIONS TO REDUCE GI TOXICITY AND ENHANCE BIOAVAILABILITY OF BISPHOSPHONATES			
I hereby certify that this <u>Provisional Patent Application and postcard</u> <i>(Identify type of correspondence)</i> is being deposited with the United States Postal Service "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 CFR 1.10 in an envelope addressed to: The Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231 on <u>7 April 2000</u> <i>(Date)</i> <u>Robert W. Strozler</u> <i>(Typed or Printed Name of Person Mailing Correspondence)</i> <u></u> <i>(Signature of Person Mailing Correspondence)</i> <u>EL 389 346 984 US</u> <i>("Express Mail" Mailing Label Number)</i>			
Note: Each paper must have its own certificate of mailing.			

5010552 640700

130
22
121

UNITED STATES PROVISIONAL PATENT APPLICATION

TITLE: **UNIQUE COMPOSITIONS OF ZWITTERIONIC
 PHOSPHOLIPIDS AND BISPHOSPHONATES AND USE OF
 THE COMPOSITIONS TO REDUCE GI TOXICITY AND
 ENHANCE BIOAVAILABILITY OF BISPHOSPHONATES**

INVENTOR: **Lenard Lichtenberger**

BACKGROUND OF THE INVENTION

1. Field of the Invention

The present invention relates to compositions that reduce GI toxicity of bisphosphonate pharmaceuticals used in treating osteoporosis and that enhance bioavailability of bisphosphonate pharmaceuticals.

More particularly, the present invention relates to compositions including a zwitterionic phospholipid and a bisphosphonate for treating osteoporosis resulting in compositions with reduced GI toxicity or side-effects and improve bisphosphonate bioavailability.

2. Description of the Related Art

Bisphosphonates represent a class of drugs that have shown very promising therapeutic efficacy in the treatment of a number of diseases associated with abnormally accelerated bone resorption including; osteoporosis, Paget's disease and hypercalcemia of malignancy (1,2). As an increasing number of these drugs become available for clinical use in the treatment of the millions of individuals with these skeletal diseases, evidence is becoming available that their chronic usage may be associated with a number of gastrointestinal side-effects, such as diarrhea, abdominal pain and inflammation (e.g. esophagitis and gastritis), erosions and ulceration of the upper gastrointestinal tract (3-5). Women, five or more years past the onset of menopause, who are in an estrogen-deficient state, are particularly prone to developing osteoporosis and are also those at greatest risk of developing GI side-effects when placed on chronic bisphosphonate therapy. It has

60195562-040700

131
391
122

been estimated that 8-10 million Americans are suffering from osteoporosis and an additional 17-20 million of our populace have low bone mass, placing them at risk for this disease. Women constitute ~80% of this "at risk" population. In many cases these individual are also taking non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) to alleviate the pain and inflammation of arthritic joints, further compounding their risk of developing GI complications. In confirmation with these clinical observations, Graham and associates (6,7) performed a number of endoscopic studies on healthy subjects taking the bisphosphonate, alendronate for a period up to 2 weeks at doses recommended for the treatment of Paget's Disease (40 mg) or osteoporosis (10 mg) and reported that 40-60% of the volunteers had observable gastric erosions, while 10-20% developed one or more gastric ulcers. In support of these concerns Lanza (8) reported that alendronate (Fosomax) administered at both 10 and 40 mg significantly retarded the rate of healing of aspirin-induced gastric erosions in his study population.

In order to investigate the potential mechanism of damage of some bisphosphonates under more controlled experimental conditions a number of laboratories have developed animal models of this condition. Peter et. al. (9) recently compared the chronic effects of increasing doses of alendronate, risedronate and etidronate administered over a 4 week period in rats and reported that all three bisphosphonates induced a dose-dependent injurious effect on mucosae of the gastric body and antrum, as observed both macroscopically and histologically, with evidence of submucosal inflammation. Blank et al. (10) developed an acute model of bisphosphonate-induced gastric injury in rats that were intragastrically administered high doses of the test drugs alone or together with the NSAID, indomethacin. In these studies they demonstrated that although the bisphosphonates or the NSAID induced little or no observable macroscopic gastric lesions over the 4 hr study period on their own, concomitant treatment of the two classes of drugs resulted in the development of gastric ulcers, with evidence of mucosal necrosis and inflammatory infiltration of the submucosa. Using this model, they compared several compounds and concluded, contrary to the findings of Peter, that the

ED195552-040700

13
27
123

bisphosphonates with a primary amino group (pamidronate and alendronate) were more irritating to the gastric mucosa than those containing a fixed nitrogenous group (risedronate and NE-97221). Elliott et. al. (11) also employed this rodent model to demonstrate that in combination with indomethacin, only bisphosphonates administered intragastrically (vs intraperitoneal administration) induced gastric injury, and in a related experiment demonstrated that alendronate significantly delayed the healing of experimentally induced gastric ulcers in rats. Many of these bisphosphonates have low bioavailability requiring the patient to routinely ingest large doses of the bisphosphonate to get a desired benefit with the concurrent GI adverse side effects.

Thus, it would be an advancement in the art to have bisphosphonate formulations that reduced or eliminated the adverse effects bisphosphonates have on the upper GI tract, while increasing the bioavailability of the bisphosphonate.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention provides a composition, for treating osteoporosis, comprising a pharmaceutically effective amount of a bisphosphonate and a sufficient amount of zwitterionic phospholipid to reduce GI toxicity and increase bioavailability of the bisphosphonate. The effective amount of the bisphosphonate comprises between about 0.5 mg per dose to about 1000 mg per dose depending on the bisphosphonate and phospholipid, with 1 mg to 500 mg per dose being preferred. Generally, the ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 and about 1:10, with ratios between about 1:0.5 and 1:5 being preferred.

The present invention also provides a composition, for treating osteoporosis, comprising a pharmaceutically effective amount of a bisphosphonate and a sufficient amount of a zwitterionic phospholipid to reduce GI toxicity and increase bioavailability of the bisphosphonate bisphosphonate. The effective amount of the bisphosphonate comprises between about 0.5 mg per dose to about 1000 mg per dose depending on the bisphosphonate and phospholipid, with 1 mg to 500 mg per dose being preferred.

50195588-040700

133
124

Generally, the ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 and about 1:10, with ratios between about 1:0.5 and 1:5 being preferred.

The present invention also provides a medicinal composition comprising a carrier, a zwitterionic phospholipid and a pharmaceutically effective amount a bisphosphonate, where the zwitterionic phospholipid reduces GI toxicity of the bisphosphonate and increases the bioavailability of the bisphosphonate. The bisphosphonate to phospholipid ratio is between about 1:0.1 to about 1:10.

The present invention also provides an oral medication for treating osteoporosis comprising an inert carrier and a pharmaceutically effective amount a bisphosphonate and a zwitterionic phospholipid, where the zwitterionic phospholipid reduces GI toxicity of the bisphosphonate and increases the bioavailability of the bisphosphonate. The bisphosphonate to phospholipid ratio is between about 1:0.1 to about 1:10.

The present invention also provides an oral medication for treating osteoporosis comprising an solid object comprising an inert carrier, a zwitterionic phospholipid and a pharmaceutically effective amount of a bisphosphonate, where the zwitterionic phospholipid reduces GI toxicity of the bisphosphonate and increases the bioavailability of the bisphosphonate. The bisphosphonate to phospholipid ratio is between about 1:0.1 to about 1:10.

The present invention provides a method for treating osteoporosis comprising the step of orally administering a composition comprising a zwitterionic phospholipid and a pharmaceutically effective amount of a bisphosphonate, where the zwitterionic phospholipid reduces GI toxicity of the bisphosphonate and increases the bioavailability of the bisphosphonate. The bisphosphonate to phospholipid ratio is between about 1:0.1 to about 1:10.

The present invention also provides a method for making a bisphosphonate medicinal composition with reduced GI toxicity and increase bioavailability including the step of contacting a bisphosphonate and a zwitterionic phospholipid in a ratio between

001955562.040700

135
125

about 1:0.1 to about 1:10. The method can further include the step of admixing the bisphosphonate/zwitterionic phospholipid with an inert carrier.

DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

The invention can be better understood with reference to the following detailed description together with the appended illustrative drawings in which like elements are numbered the same:

Figure 1 depicts the molecular similarities between bisphosphonates and zwitterionic phospholipids;

Figure 2 demonstrates that pamidronate induced lesions in both the antrum and body of the rat stomach over a 4 hr period, when administered in combination with indomethacin;

Figures 3A and 3B depict reductions in the stomachs' hydrophobic/phospholipidic barrier occurred rapidly (30-60 min) and were more prominent than that recorded in response to either the bisphosphonate or the NSAID alone;

Figure 4 depicts the gastrototoxicity of three different bisphosphonates, pamidronate>>alendronate>risedronate;

Figure 5 depicts the attenuated stomach's hydrophobic phospholipid barrier property caused by the bisphosphonates of Figure 4;

Figure 6 depicts data that supports a model that bisphosphates induce surface injury by competitively displacing PC and related phospholipids from the surface of the mucus gel layer, due to the common zwitterionic nature of both classes of compounds;

Figure 7 depicts that the gastric lesion score induced by combinations of indomethacin and pamidronate are significantly reduced by PC supplementation; and

Figure 8 depicts the prevention of gastric lesions in response to combinations of alendronate and indomethacin, if the bisphosphonate was intragastrically administered in

50195562-040700

37
126

formulations containing increasing amounts of 90% PC (purified from soy lecithin) employing alendronate : PC weight ratios of 1:1 and 1:4.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The inventor has found that unique pharmaceutical formulations containing bisphosphonate compounds, which are established selective inhibitors of osteoclast-mediated bone resorption, used in the treatment of osteoporosis, in combination with the zwitterionic phospholipid, phosphatidylcholine (PC) can be prepared that reduce GI side-effects of the bisphosphonates. It is well documented clinical and preclinical evidence that bisphosphonates, as a class, cause inflammation, injury and occasional ulceration to the mucosa of the upper GI tract, limiting the therapeutic usefulness of these powerful drugs. Furthermore, the laboratory of one our co-investigators has obtained evidence that the mucosa of the upper GI tract has hydrophobic barrier properties, that are attributable to the presence of zwitterionic phospholipids, and that a number of damaging agents including, bisphosphonates may attack this protective hydrophobic/phospholipid lining. The inventor believes that the presence of PC in formulations containing a number of commercially available bisphosphonates (including alendronate, pamidronate and risedronate) will reduce and/or abolish the GI toxicity of these. Thus, new formulations, where bisphosphates are supplemented with purified or synthetic PC should prove to be significantly less GI toxic, removing the major complication which has severely limited the utility of bisphosphonates by the debilitated patients suffering from osteoporosis. The inventor believes that the preparation of unique bisphosphonate-PC formulations including; alendronate, pamidronate and risedronate will have unique properties. The three bisphosphonates (purified from commercially available material or synthesized) can be combined with different concentrations of both purified (>90% pure) and crude (15 and 35%) PC, extracted from soy bean and provided by *American Lecithin Company* in the deoiled and oiled state. It is anticipated that the GI toxicity of the above formulations in an established rodent model of bisphosphosphate-induced gastric injury will be

1501955552-040700

138
32-
127

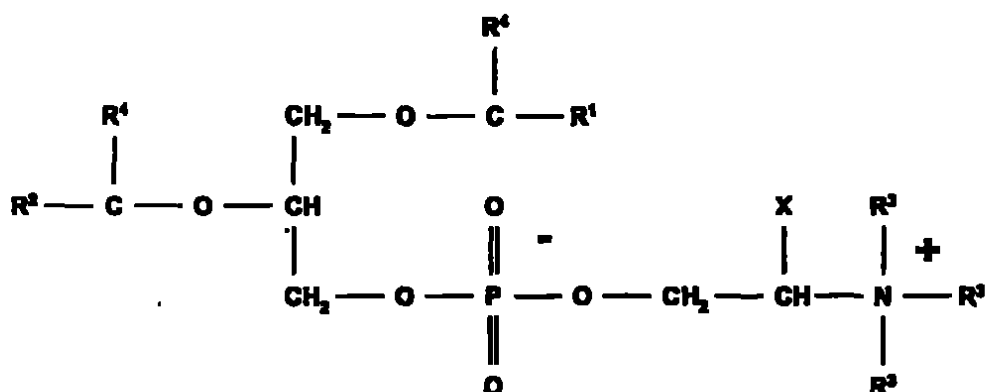
reduced or eliminated. It is also anticipated that the addition of zwitterionic phospholipids will significantly increase the bioavailability of the bisphosphonates which in certain instances have bioavailabilities of about 5% necessitating a patient to take relatively large doses of the bisphosphonate on a routine basis. The inventor believes that the bioavailability can be improved between about 1 fold to about 20 fold by judiciously choosing the bisphosphonate, the zwitterionic phospholipid and the ratio of the two ingredients.

Although there has been considerable disagreement with regards to a number of issues (the comparative toxicity of different bisphosphonates, relevant dose to be evaluated, and the dependence of this injurious action on the presence of a primary amino group), all the clinical, laboratory and histological evidence have indicated that bisphosphonates exert gastric damage by acting as topical irritants on the gastric mucosa. One potential mechanism in which they may topically injure the mucosa of the upper GI tract is by attenuating the tissues' hydrophobic barrier to luminal acid. This hydrophobic characteristic was originally described by Lichtenberger and associates by demonstrating that a microliter droplet of water beaded up when applied to the luminal surface of canine gastric mucosa, forming a prominent contact angle at the air/liquid/solid interface (12). Since that report, it has been demonstrated by a number of laboratories that the mucosa of specific GI tissues (stomach, distal esophagus and colon) have prominent hydrophobic properties both in laboratory animals and humans (12-15). Furthermore, established damaging agents (e.g. aspirin, bile salts) and various conditions (Helicobacter infection, stress) are associated with a clear and rapid attenuation in the hydrophobic properties of the upper GI tract (12-18).

Suitable zwitterionic phospholipids include, without limitation, phospholipids characterized generally by the formula:

00195562-040700

132
79
128



where R₁ and R₂ are saturated or unsaturated substitutions ranging from 8 to 32 carbon atoms; R₃ is H or CH₃, and X is H or COOH; and R₄ is =O or H₂. Mixtures and combination of the zwitterionic phospholipids of the general formula can be used as well.

As will be appreciated by those of skill in the art, the foregoing chemical structure defines a zwitterionic phospholipid structure and embraces a wide range of phospholipids, including, but not limited to, phosphatidyl cholines, phosphatidyl ethanolamines, phosphatidyl serines and various other zwitterionic phospholipids.

Other phospholipids that may be employed in the composition include: phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylinositol, phosphatidylserine, sphingomyelin, and other ceramides, and mixtures thereof.

The molecular basis of the hydrophobic barrier property of the upper GI tract is still unresolved, but compelling evidence indicates that zwitterionic phospholipids and specifically phosphatidylcholine (PC) may be involved. This is based on: 1) the well established fact that PC and other surfactant-like polar lipids can impart hydrophobic properties to both inert and biological surfaces (12,13); 2) the findings that surface gastric mucous cells synthesize and secrete these molecules into the adherent mucus layer (13,19); 3) laboratory and clinical evidence that synthetic or purified PC has ability to protect laboratory animals and humans from certain ulcerogenic agents and/or conditions (13,20,21). Interestingly, the head group of PC and a number of other gastroprotective zwitterionic phospholipids have a negatively-charged phosphate group on one end and a positively-charged nitrogen group on the other, connected by a short (2-carbon length)

601955662-040700

1030
129

60195562-040700

hydrocarbon chain, somewhat similar to the charge and molecular structure of members of the bisphosphonate family of compounds. These molecular similarities between these two families of zwitterionic compounds are depicted in Figure 1. It should be noted that the major differences are that bisphosphonates carry two phosphonate groups (though only one is ionized similar to the phosphate group of PC) that are generally separated from the nitrogenous group by a hydrocarbon chain containing three or more carbons. Because of common molecular properties shared by these two family of compounds, we investigated the possibility that members of the bisphosphonate family may injure the gastric mucosa by competing with the head group of intrinsic zwitterionic phospholipids for binding sites on the surface mucus gel layer, and in doing so, reduce the tissue's protective hydrophobic barrier characteristics. In order to test this hypothesis, we recently performed a series of experiments investigating the effects of different bisphosphonates on the surface hydrophobicity and phospholipid concentration of the antral mucosa, using the animal model of Blank et. al. (10), and compared the effects of these surface changes to the gastric toxicity of these drugs.

In these rodent studies we initially focussed our efforts on pamidronate, a bisphosphonate which no longer is dispensed for oral administration due to GI side-effects, and demonstrated that it induced lesions in both the antrum and body of the rat stomach over a 4 hr period, when administered in combination with indomethacin as shown in Figure 2 for the time course of antral lesions. It was also demonstrated that the combination of pamidronate and indomethacin was very effective in attenuating both the hydrophobic characteristics and PC concentration of the gastric mucosa. It was notable that these reductions in the stomachs' hydrophobic/phospholipidic barrier occurred rapidly (30-60 min) and were more prominent than that recorded in response to either the bisphosphonate or the NSAID alone as shown in Figures 3A&B, similar to the development of gastric lesions. When we compared three different bisphosphonates, it was noted that similar to their gastrototoxicity with pamidronate>>alendronate>risedronate as shown in Figure 4, the same rank order was maintained with regards to the

130

bisphosphonates' ability to attenuate the stomach's hydrophobic phospholipid barrier property as shown in Figure 5. Histological studies indicated that even the least gastrototoxic bisphosphonate, risedronate, induced some surface injury to the gastric mucosa. Furthermore, regression analysis revealed that the bisphosphates' ability to induce gastric lesions was significantly associated with their ability reduce the stomachs' protective hydrophobic characteristics ($r = 0.6$, $p < 0.001$). This preliminary data, therefore supports the model depicted in Figure 6, which proposes that bisphosphates induce surface injury by competitively displacing PC and related phospholipids from the surface of the mucus gel layer, due to the common zwitterionic nature of both classes of compounds. This in turn, would insert hydrophilic water channels into the hydrophobic lining of the upper GI tract, allowing HCl and other noxious, water-soluble compounds to back-diffuse from the lumen into the tissue to induce mucosal injury and inflammation.

If the above hypothesis is correct, then it follows that much if not all of the surface injury, and the resultant mucosal inflammation, should be prevented if the bisphosphonate would be administered in combination with synthetic or purified PC. In order to investigate this possibility we have performed pilot preclinical studies using the rodent model of Blank et. al. (10), where the bisphosphonate test drug is administered simultaneously with indomethacin. In the initial studies, we compared the gastric toxicity of pamidronate alone to formulations where the drug was combined with either synthetic dipalmitoyl-PC (DPPC) or 90% PC (purified from soy lecithin) at a bisphosphonate : PC weight ratio of 1.0 : 0.3. It can be appreciated that the gastric lesion score induced by pamidronate was significantly reduced by PC supplementation, even employing a rather small amount of the phospholipid as shown in Figure 7. We also evaluated whether purified soy lecithin (containing 93% PC) had gastroprotective efficacy against pamidronate/indomethacin - induced gastric injury. It can be seen in Table 1 that a 1:1 weight ratio of pamidronate: PC also induced a significant reduction in gastric lesion score and a marked reduction in gastric bleeding in comparison to that induced by the bisphosphonate alone (see Table 1). In subsequent experiments we demonstrated that

00195562-040700

140
420
131

gastric lesions in response to combinations of alendronate and indomethacin, were completely prevented if the bisphosphonate was intragastrically administered in formulations containing increasing amounts of 90% PC (purified from soy lecithin) employing alendronate : PC weight ratios of 1:1 and 1:4 as shown in Figure 8.

Table 1.
Comparison of gastric lesion score and bleeding of rats administered PC-pamidronate vs pamidronate alone.

Groups	Gastric Lesion Score (lesioned area, mm ²)	Gastric Bleeding (mg Hb in perfusate)
Saline	0 ± 0	0.2 ± 0.1
Indomethacin (Indo, 40 mg/kg)	0 ± 0	0.3 ± 0.1
Pamidronate (300 mg/kg) + Indo	62 ± 11 [*]	6.4 ± 1.9 [*]
PC-Pamidronate + Indo	31 ± 5 ^{**}	1.2 ± 0.3 ^{**}

^{*} = p<0.05 vs Indo; ^{**} = p<0.05 vs pamidronate + Indo, n = 4-5 rats/ group

Experimental Design and Methods:

Formulation chemistry

The bisphosphonate compounds (pamidronate, alendronate and risedronate) will either be synthesized or purified by techniques described below. These compounds will then be prepared in formulations containing various grades of lecithin (extracted from soy lecithin, prepared the *American Lecithin Co*) ranging in purity from 15-93% PC. In addition we will compare the gastroprotective efficacy of both de-oiled and oiled lecithin preparations. We plan to combine the bisphosphonate : PC preparations in a weight ratio ranging from 1.0 : 0.2 to 1.0 : 4.0. The deoiled lecithins will initially be dissolved in ethanol, lyophilized to remove the organic solvent and then resuspended in the bisphosphonate containing solution, followed by sonication. The oiled lecithins will simply be combined with the bisphosphonate compounds and mixed by vortexing or sonication, if needed. The gastroprotective efficacy and potency of these contrasting bisphosphonate-PC formulations will then evaluated in the rodent model of bisphosphonate-induced gastric injury and bleeding, described below.

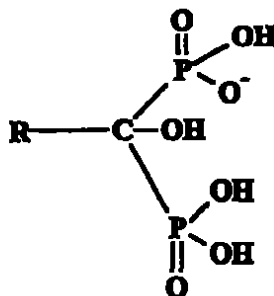
60195562-040700

14
136

Bisphosphonate synthesis and purification:

The chemical structure of the three bisphosphonate compounds to be studied in this proposal, with our strategy for synthesis is outlined below.

Bisphosphonate : (Diphosphonic acid) Analogs



I. Alendronate: R= —CH₂—CH₂—CH₂—NH₃⁺ (4-amino-1-hydroxybutane-1,1-diphosphonic acid)

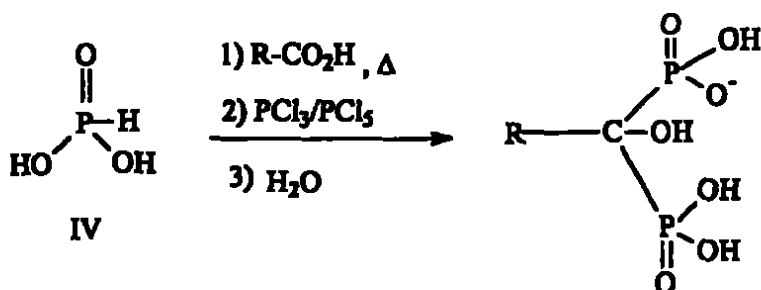
II. Pamidronate: R= —CH₂—CH₂—NH₃⁺ (3-amino-1-hydroxypropane-1,1-diphosphonic acid)

III. Risedronate: R= —CH₂— [2-(3-pyridine)-1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid]

Synthesis of I and II (diphosphonic acid analogs) are reported in the patent literature (23, 24) and the basic chemistry is described in standard text books (25). The synthetic pathways described are essentially the same. The synthetic route involves treatment of ortho-phosphorous acid, IV, with a α -amino acid (for I, 4-aminobutyric acid; for II, β -alanine) with or without the use of any solvent, followed by treatment with either PCl₃ or PCl₅ and a subsequent hydrolysis. All the steps are accommodated in an one-pot reaction. Use of β -pyridine acetic acid in the same sequence should produce III. The bisphosphonates above are shown in their zweiterion structure. However, free amines are used in the synthetic pathway.

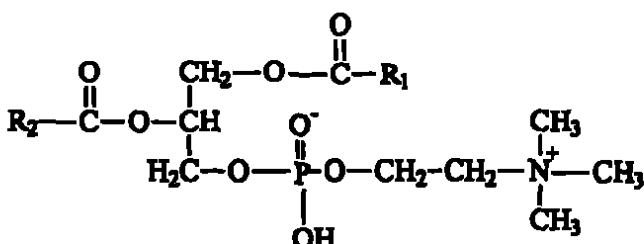
60195566-040700

442
133



Bisphosphonates

These bisphosphonates have chemical structure similarities to that of the phosphorylcholine group of phosphatidylcholine.



Phosphatidylcholine

The bisphosphonates (I-III) are components of several commercially available drugs. It would be possible to isolate them from the drugs by suitable HPLC separation methods (26). Thus the phosphatidylcholine analogs, bisphosphonates, would be available either through independent chemical synthesis or by isolation from commercial sources.

Data Interpretation:

These studies will be very important in determining both the optimum and most cost-effective PC-bisphosphonate formulations for reducing gastric injury and bleeding. It should be noted that the since the cost range for PC can range from \$1/kg for 15% PC (crude soy lecithin) to \$300/kg for 93% PC (Phospholipon 90G) it will be extremely important to determine if the less costly preparations provide comparable protection to the costly purer grades of lecithin. It will be also important to determine if the gastroprotective activity is superior with deoiled or oiled PC-bisphosphonate preparations

601955552.040708

134

as this will impact on decisions for drug packaging (e.g. tablets vs. soft gels) and future shelf-life stability studies (to be performed during Phase II).

Protective effect of PC against bisphosphonate – induced gastric injury and bleeding

In these studies we propose to continue to use the rodent animal model of Blank et al. (10) to compare the GI toxicity of formulations containing combinations of a commercially available bisphosphonate and PC to that of the bisphosphonate alone. The major focus of these pre-clinical studies is to determine the optimum ratio of the bisphosphonate and PC to obtain maximal protection, and to evaluate the protective potential of less costly, cruder grades of soy lecithin. In addition to assessing gastric injury at the macroscopic level we also propose to measure gastric bleeding, contact angle analysis (surface hydrophobicity) and perform histological staining/observation of the gastric mucosa of control and treated rats. Tissue morphological examination should provide very useful information on both the depth of mucosal injury and/or protection and whether bisphosphates-induce apoptosis is also reduced in formulations containing PC.

In these studies, male Sprague Dawley rats (150-200g) will initially fasted overnight and then be intragastrically administered formulations containing the bisphosphonate (300 mg/kg in saline, pH 7.0) alone or in combination with various PC test preparations. The rats also will be simultaneously subcutaneously injected with indomethacin (40 mg/kg in sodium carbonate, pH 8.5). Control groups of rats will either be intragastrically administered an equivalent volume of saline alone or in combination with indomethacin (40 mg/kg, s.c.). Four hours later the rats will be euthanized by CO₂ inhalation, blood will be collected for the determination of hematocrit, their stomachs removed and flushed with a known volume of saline (for hemoglobin analysis). Their stomachs will then be opened along their greater curvature, scored for macroscopic gastric lesions, and biopsies obtained from the oxyntic and antral mucosa for both

00195562-040700

14
2/8/78
135

histological and contact angle analyses. All of these techniques are presently in operation in the laboratory of Dr. Lichtenberger and will be briefly described below.

Macroscopic analysis of gastric lesions: The stomach will be opened along its greater curvature and placed mucosal side up on a sheet of coded filter paper and then the length and width of visible lesions measured by caliper by a (blinded) observer, as previously described (18, 20).

Gastric bleeding: The excised stomach will be flushed with 2 ml of cold saline, which will be collected and frozen. Prior to hemoglobin (Hb) analysis, the samples will be sonicated to break up clots, centrifuged and the supernatant collected. The Hb analysis of the gastric perfusates will then be measured colorimetrically as previously described (20).

Surface hydrophobicity of the gastric mucosa: Biopsies of the gastric antrum and oxyntic mucosa will be placed mucosal side up on coded filter paper and their surface lightly dabbed with a strip of filter paper to remove adherent fluid. After an air drying period of 30 minutes, the tissue will be transferred to the stage of a goniometer and a microliter droplet of water applied to the mucosal surface and the contact angle at the air/liquid/solid triple point measured under a telescopic eyepiece, as previously described (12-18).

Histological processing, staining and examination: Biopsies of the gastric antrum and oxyntic mucosa will be immediately immersed in buffered formalin. After 24-48 hrs of fixation the tissue will be embedded in paraffin and longitudinally cut into 4 μ m sections. The tissue will then be mounted onto slides and either conventionally stained with hematoxylin-eosin or with the TUNEL staining kit to assess the presence of cells undergoing apoptosis, as previously described (16, 17, 22, 23). The stained sections will then be coded and examined under light microscopy, in which 10 well oriented gastric glands will be scored with regards to depth, cell number, cells undergoing apoptosis (TUNEL positive) and other indices of cell and tissue injury including; presence of

60195562.040700

145
136

edema, transmigration of inflammatory monocytes and PMNs into the submucosa and mucosa and intensity of epithelial desquamation into the lumen.

Data Interpretation:

The above studies should provide potentially clinically significant information on whether combinations of individual bisphosphonate compounds together with the zwitterionic phospholipid, PC provides consistent and reproducible protection against injury and bleeding of the upper GI tract, which are induced when these drugs are administered to rats in combination with NSAIDs. This rodent model of bisphosphonate GI injury has provided very useful information in the past and should prove to be a useful tool to evaluate the benefit of PC supplementation, as indicated by our preliminary results, presented earlier. In addition, these studies should provide information whether PC protects against bisphosphonate-induced microscopic injury to the tissue, and if so, if the phospholipid is acting by preventing the induction of apoptotic, necrotic or inflammatory changes. Contact angle analysis should also indicate whether the PC protects the stomach by blocking bisphosphonate-induced alterations in the protective hydrophobic barrier of the upper GI tract.

Literature Cited:

1. Fleisch H: Bisphosphonates: preclinical aspects and use in osteoporosis. *Ann Med* 29: 55-62, 1997
2. Fleisch H: Bisphosphonates: pharmacology and use in treatment of tumor-induced hypercalcemia and metastatic bone disease. *Drugs* 42: 919-944, 1991
3. Maconi G, Bianchi Porro G: Multiple ulcerative esophagitis caused by alendronate. *Am J Gastroenterol* 90: 1889-1890, 1995
4. Lufkin EG, Argueta R, Whitaker MD, Cameron AL, Wong VH, Egan KS, O'Fallon WM, Riggs BL: Pamidronate: an unrecognized problem in gastrointestinal tolerability. *Osteoporos Int* 4: 320-322, 1994
5. De Groen PC, Lubbe DJ, Hirsch LJ, Daifotis A, Stephenson W, Freedholm D, Pryor-Tillotson S, Seleznick MJ, Pinkas H, Wang KK: Esophagitis associated with the use of alendronate. *N Eng J Med* 335: 1016-1021, 1996

60195562.040700

1488
137

6. Graham DY, Malaty HM, Goodgame R: Primary amino phosphonates: a new class of gastrototoxic drugs-comparison of alendronate and aspirin. *Am J Gastroenterol* 92: 1322-1325, 1997
7. Graham DY, Malaty HM: Alendronate gastric. *Aliment Pharmacol Ther* 13: 515-519, 1999
8. Lanza FL: The effects of amino- versus alkyl-bisphosphonates on the healing of aspirin-induced stomach erosions. *Am J Gastroenterol* 91: 1916, 1996
9. Peter CP, Kindt MV, Majka JA: Comparative study of potential for bisphosphonates to damage gastric mucosa of rats. *Dig Dis Sci* 43: 1009-1015, 1998
10. Blank MA, Ems BL, Gibson GW, Myers WR, Berman SK, Phipps RJ, Smith PN: Nonclinical model for assessing gastric effects of bisphosphonates. *Dig Dis Sci* 42: 281-288, 1997
11. Elliott SN, McKnight W, Davies NM, MacNaughton WK, Wallace JL: Alendronate induces gastric injury and delays ulcer healing in rodents. *Life Sci* 62: 77-91, 1998
12. Hills BA, Butler BD, Lichtenberger LM: The gastric mucosal barrier; the hydrophobic lining to the lumen of the stomach. *Am J Physiol* 244: G561-G568, 1983
13. Lichtenberger LM: The hydrophobic barrier properties of gastrointestinal mucus. *Annu Rev Physiol* 57: 565-583, 1995
14. Goggin PM, Marrero JM, Spychal RI, Jackson PA, Corbishley CM, Northfield TC: Surface hydrophobicity of the gastric mucosa in *Helicobacter* infection: effect of clearance and eradication. *Gastroenterology* 103: 1486-1490, 1992
15. Asante M, Ahmed H, Patel P, Davis T, Finlayson C, Mendall M, Northfield; Gastric mucosal hydrophobicity in duodenal ulceration: role of *Helicobacter pylori* infection density and mucus lipids. *Gastroenterology* 113: 449-454, 1997
16. Lichtenberger LM, Dial EJ, Ottelecz A, Romero JJ, Lechago J, Fox JG: Attenuation of hydrophobic phospholipid lining is an early event in *Helicobacter felis* - induced gastritis in mice. *Dig Dis Sci* 44: 108-115, 1999
17. Goddard PJ, Hills BA, Lichtenberger LM: Does aspirin damage canine gastric mucosa by reducing its surface hydrophobicity? *Am J Physiol* 252: G421-G430, 1987
18. Lichtenberger LM, Wang Z-M, Romero JJ, Ulloa C, Perez JC, Giraud M-N, Barreto JC: Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) associate with zwitterionic phospholipids; insight into the mechanism and reversal of NSAID-induced gastrointestinal injury. *Nature Med* 1: 154-158, 1995
19. Kao Y-C, Lichtenberger LM: Phospholipid- and neutral-lipid containing organelles of rat gastroduodenal mucous cells: possible origin of the hydrophobic lining. *Gastroenterology* 101: 7-21, 1991
20. Lichtenberger LM, Graziani LA, Dial EJ, Butler BD, Holls BA: Role of surface-active phospholipids in gastric cytoprotection. *Science* 219: 1327-1329, 1983

60195562-040700

15
49-7
138

21. Anand BS, Romero JJ, Sanduja SK, Lichtenberger LM: Phospholipid association reduces the gastric mucosal toxicity of aspirin in human subjects. Am J Gastroenterol: in press, 1999
22. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. J Cell Biol 119: 493-501, 1992
23. Staibano G. process for the preparation of disphonic acids. U.S. Patent # 4,705,651, 1987
24. Blum H, Worms K-H. Process for the production of 3-amino-1-hydroxypropano-1,1-diphosphonic acid. US Patent #4,327,039, 1982.
25. Van Wazer G. Phosphorous and its Compounds, Vol 1, Chemistry, pp 239-240, 1958.
26. HPLC-Dershan

All reference cited herein are incorporated by reference. While this invention has been described fully and completely, it should be understood that, within the scope of the appended claims, the invention may be practiced otherwise than as specifically described. Although the invention has been disclosed with reference to its preferred embodiments, from reading this description those of skill in the art may appreciate changes and modification that may be made which do not depart from the scope and spirit of the invention as described above and claimed hereafter.

00195562-040700

148
139

CLAIMS

We claim:

1. A composition, for treating osteoporosis, comprising a zwitterionic phospholipid and a bisphosphonate.
2. The composition of claim 1, wherein an amount of zwitterionic phospholipid is sufficient to reduce GI toxicity of the bisphosphonate.
3. The composition of claim 1, wherein an amount of bisphosphonate is sufficient to reduce osteoporosis.
4. The composition of claim 3, wherein the amount is between about 0.5 to about 1000 mg per dose.
5. The composition of claim 1, wherein a ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 to about 1:10.
6. The composition of claim 1, wherein the zwitterionic phospholipid increases the bioavailability of the bisphosphonate from about 1 to about 20 fold.
7. A composition, for treating osteoporosis, comprising a pharmaceutically effective amount of a bisphosphonate and a sufficient amount of a zwitterionic phospholipid to reduce GI toxicity and increase the bioavailability of the bisphosphonate.
8. The composition of claim 7, the effective amount of the bisphosphonate comprises between about 0.5 to about 1000 mg per dose.
9. A medicinal composition comprising a carrier, a pharmaceutically effective amount of a bisphosphonate and a sufficient amount of a zwitterionic phospholipid to reduce GI toxicity and increase the bioavailability of the bisphosphonate.
10. The composition of claim 9, wherein a ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 to about 1:10.
11. An oral medication for treating osteoporosis comprising an inert carrier, a pharmaceutically effective a bisphosphonate and a sufficient amount of a

60195562.040700

149
5
140

zwitterionic phospholipid to reduce GI toxicity and increase the bioavailability of the bisphosphonate.

12. The medication of claim 11, wherein the sufficient amount of zwitterionic phospholipid is such that a ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 to about 1:10.
13. An oral medication for treating osteoporosis comprising an solid object comprising an inert carrier, a pharmaceutically effective amount a bisphosphonate and an amount of a zwitterionic phospholipid sufficient to reduce GI toxicity and increase the bioavailability of the bisphosphonate.
14. The medication of claim 13, wherein the sufficient amount of zwitterionic phospholipid is such that a ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 to about 1:10.
15. A method for treating osteoporosis comprising the step of orally administering a composition comprising a pharmaceutically effective amount a bisphosphonate and an amount of a zwitterionic phospholipid sufficient to reduce GI toxicity and increase the bioavailability of the bisphosphonate.
16. The medication of claim 15, wherein the sufficient amount of zwitterionic phospholipid is such that a ratio of bisphosphonate to zwitterionic phospholipid is between about 1:0.1 to about 1:10.
17. A method for making a bisphosphonate medicinal composition with reduced GI toxicity including the step of contacting a zwitterionic phospholipid and a bisphosphonate in sufficient amounts to form a complex.
18. The method of claim 14, further comprising the step of a admixing the composition with an inert carrier.

60195562-040700

59
141

ABSTRACT

Osteoporosis is the most common metabolic bone disease, afflicting 8-10 million Americans and placing another 25 million individuals at risk. Bisphosphonates represent a class of drugs that have proven quite effective in the treatment of osteoporosis and related diseases. Unfortunately, bisphosphonates consumption is associated with GI inflammation, erosions and ulceration, by topically injuring the tissue. Our preliminary results indicates that these drugs rapidly attenuate the hydrophobic phospholipidic barrier of the stomach of rats. Based upon these observations, *Natural Therapeutics* is developing unique formulations of bisphosphonates and phosphatidylcholine (PC), that have a significantly lower gastric toxicity than the unmodified drug(s) in an established rodent model system. The studies outlined in this Phase I application, represent an extension of these exciting observations, where we propose to evaluate and compare gastric macroscopic and microscopic injury/inflammation, bleeding (hematocrit and intraluminal hemoglobin), surface hydrophobicity and apoptotic index in rats administered one of three commercially available bisphosphonates (pamidronate, alendronate and risedronate) alone and in combination with PC. We will also compare different grades of PC, ranging from 15% to 93% purity, as well as different bisphosphonate : PC ratios to determine the optimum and least costly formulation to limit the GI side-effects of these powerful drugs.

00195562-040700



Figura 2



Figure 3B

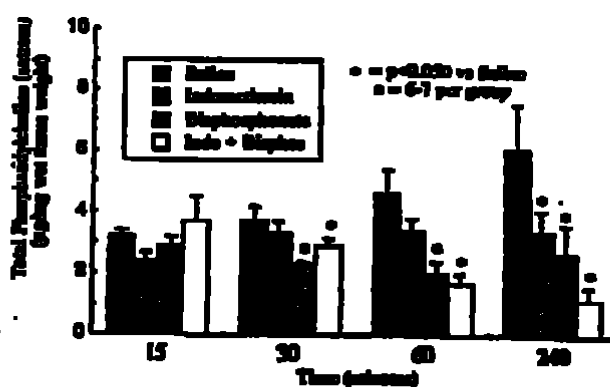
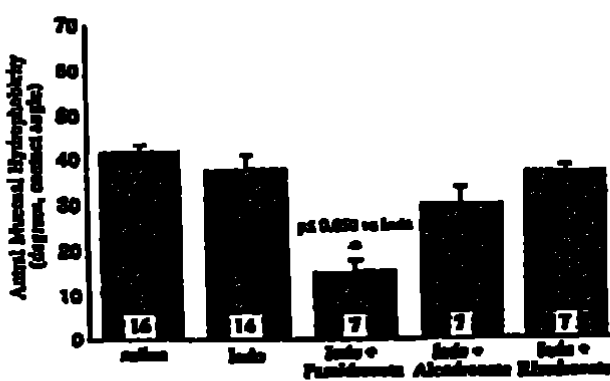


Figure 5



157
824
143

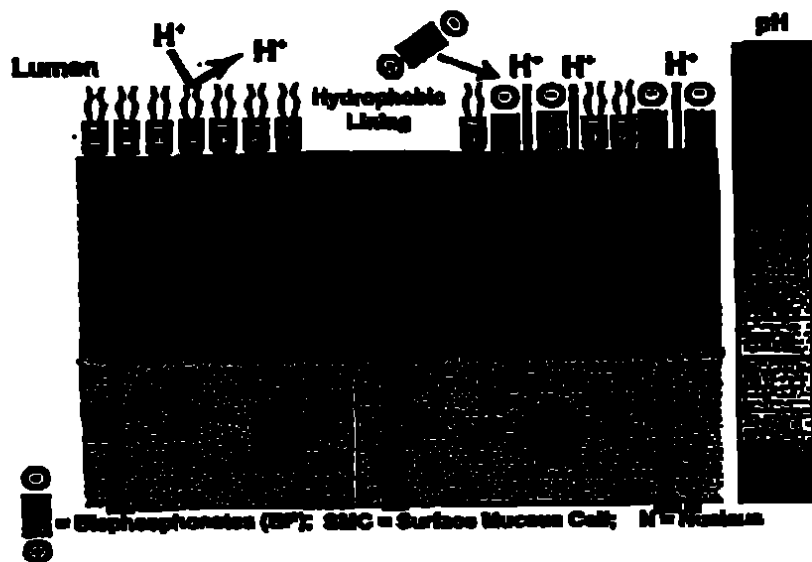


Figure 6

00195562-29556T09

Gastric Ulcers in Rats Treated with Famotidine and Indomethacin: Protective Effect of Phosphatidylcholine (PC)



Figure 7

Treatment of Rats with Bisphosphonate (Bis, 300 mg/kg) and Indomethacin (40 mg/kg) ± PC (90%)

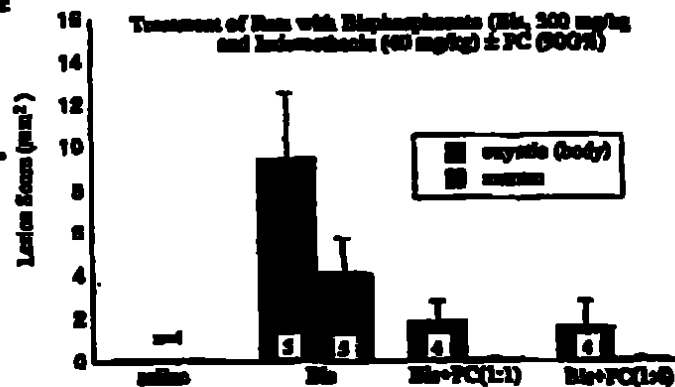


Figure 8



2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 154

Radicación no 01-28014

Concepto Técnico no 1893

Clasificación Internacional de Patentes: A 61 K 31/86

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

- SI ☒ NO ☐ Contiene un resumen de la invención (Art.26-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción de la invención (Art.26-b).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d)
- SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen. (Art. 26- h).
- SI ☐ NO ☐ NO ES APLICABLE ☒ Los productos y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes.(Art.26-i).
- SI ☐ NO ☒ La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-j).
- SI ☒ NO ☐ La prioridad coincide con la materia reivindicada.
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☒ NO ☐ ver hoja(s) anexa(s)

EXAMINADOR TÉCNICO
202049

Bogotá D. C., 26 de Diciembre de 2002

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@ilc.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia



Radicación no 01-28014

Concepto Técnico no 1893

Clasificación Internacional de Patentes: A 61 K 31/86

OBSERVACIONES:

1. Se presenta nuevo capítulo reivindicatorio en los folios 103 a 109.

EXAMINADOR TÉCNICO
202049

Bogotá D. C., 26 de Diciembre de 2002



2020
Bogotá DC

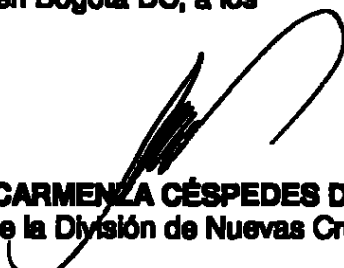
Doctor
CARLOS R. OLARTE
Apoderado(a)

REFERENCIA:	Radicación No.	01- 28014
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	355
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, a los

14 FEB. 2003


ALIX CARMEN CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202049

528