

OPS



PGT

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

INVENTARIO

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

10-21174

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO COMPOSICIONES DE LIPOSOMAS PARA

ADMINISTRACIÓN IN VIVO DE COMPUESTOS DE ÁCIDO BORÓNICO.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 9/127

71. SOLICITANTE ALZA CORPORATION

DOMICILIO Vacaville, California, Estados Unidos de América

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

22. BOGOTÁ, D.C.

991



No. 10-021174- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36 Dep. 2020 DIP. NULVASCH
Tra 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I.



Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **ALZA CORPORATION**

Dirección: 700 Eubanks Drive, Vacaville,
California 95688, Estados Unidos de América.
Nacionalidad o Domicilio: Vacaville, California,
Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución : Delaware

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: **DILIA MARÍA RODRÍGUEZ
D'ALEMAN**

Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6

Teléfono: 6 181088

Fax: 6350824

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Número 41.654.882 T.P. 20824

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: **VER HOJA ANEXA**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2008/073840 Fecha 21 de agosto de 2008

Publicación Internacional No. WO 2009/026427 A2 Fecha 26 de febrero de 2009

6

TÍTULO (54)

COMPOSICIONES DE LIPOSOMAS PARA ADMINISTRACIÓN IN VIVO DE
COMPUESTOS DE ÁCIDO BORÓNICO.

7

Clasificación Internacional (51)

A61K 9/127

8

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

Estados Unidos de América

(32) Fecha

21 de agosto de 2007

(31) Número de Solicitud

60/957,045

9

Comprobante de pago No.

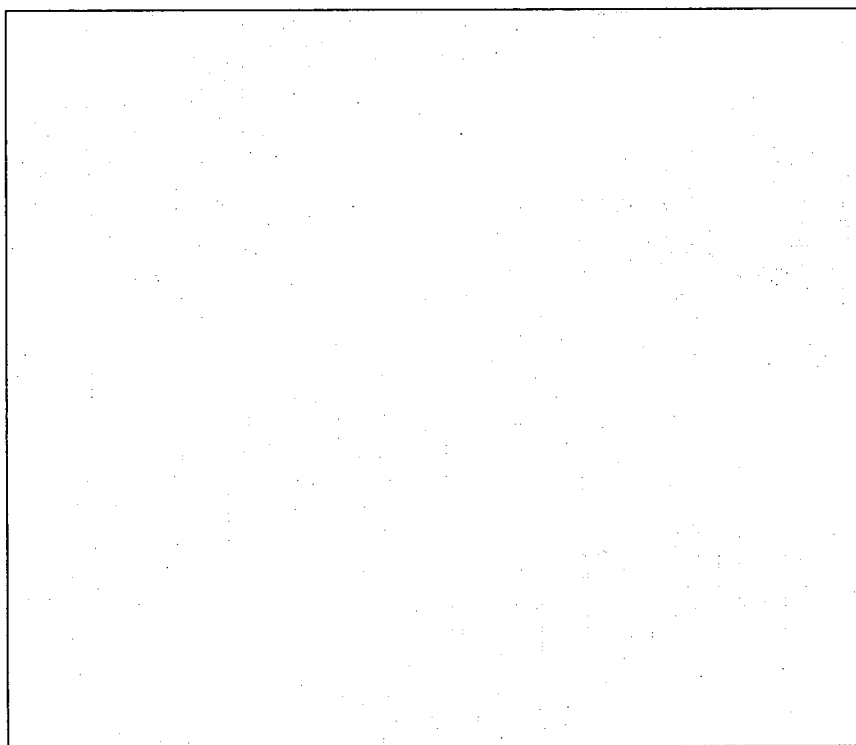
10-6,998 // 10-7,042 // 10-11,048 // 10-11,049 // 10-2,109

Fecha

29/01/10 // 29/01/10 // 10/02/10 // 10/02/10 // 07/01/10

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros * Notificaciones de los inventores.

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: DILIA MARÍA RODRÍGUEZ D'ALEMAN

FIRMA: _____

C.C. 41.654.882

T.P. 20824

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 6,998
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021174- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

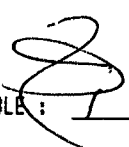
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	111710620	28/01/2010	66,939,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS
			TOTAL : \$ 500,000.00

SON: QUINIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

P-2468

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 7,042
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021174- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36
Tra. 11 PATENTEIYH
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Lve. 378 FASENACIONALI
Folios: 98

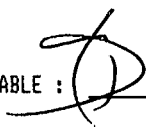
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBRECIDO DE CAJA				7006	29/01/2010	12,105,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	200,000.00
		TOTAL :	\$ 200,000.00

SON: DOSCIENTOS MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 11,048
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021174- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36 Dep. 2020 DIR NULVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 98

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754327	175684132	10/02/2010	68,215,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS
			20,000.00
		TOTAL :	\$ 20,000.00

SON: VEINTE MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 11,049
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021174- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36 Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

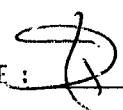
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMB	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175684132	10/02/2010	68,215,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	20,000.00
		TOTAL :	\$ 20,000.00

SON: VEINTE MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 2,109
FECHA : ENERO 7 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021174- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36 Dep. 2020 DIR.NULVASOR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBRECIBO DE CAJA				1709	06/01/2010	24,500.000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	100.000.00
		TOTAL :	\$ 100.000.00

SON: CIENTO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

A/166/9

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
AMANDA LIN HAYNES
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
AMANDA LIN HAYNES, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 24TH DAY OF JUNE 2009
7. BY: P. David Rousseau, NEW JERSEY TREASURER
8. NO: A367051
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE

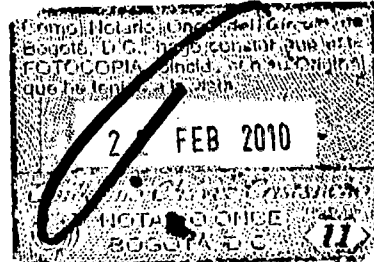


[Handwritten signature]

Certificate Number: 1146992210

Verify this certificate at

https://www1.state.nj.us/TYTF_StandingCerts/JEP/Verify_Cert.jsp



COLOMBIA

Carrera 111P 86-33 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 - Fax: (57 1) 6350824 - Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legal(es) de ALZA CORPORATION

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de DELAWARE

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en: 700 Eubanks Drive, Vacaville CA 95688 USA

por el presente instrumento confiere (conferimos) poder especial a favor de LILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAI, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CAPO PALMIEZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36443, con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enceflos comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros de marcas, patentes y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia decenal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelac y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombre de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

Dado y firmado en

a los días de

JOSEPH S KENNOFFIO, ASSISTANT SECRETARY

POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned

legal representative(s) of ALZA CORPORATION

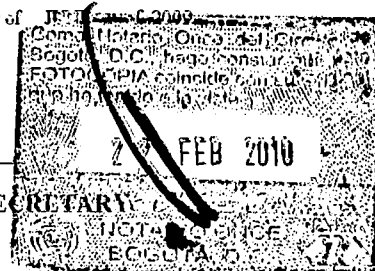
an organization existing under the laws of DELAWARE

and in present execution of its business activity, domiciled 700 Eubanks Drive, Vacaville CA 95688 USA do hereby grant POWER OF ATTORNEY to LILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAI, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CAPO PALMIEZ, tp. 36443, identification card No. 40.017.374 of Tunja, residing in Bogotá, Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewal, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellation, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the above mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Granted and signed at NEW BRUNSWICK, NJ USA

on this 4TH day of FEB 2010



CERTIFICADO NOTARIAL

(Cuando el solicitante es SOCIEDAD)

(Poderes otorgados en: El Salvador, Estados Unidos, México y Venezuela)

A los _____ días del mes de _____ de _____
el Notario que suscribe DATE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____

firmó de su puño

y letra el documento que antecede.

2. Conoce al (a) otorgante y que este (a) está legalmente capacitado para el otorgamiento.

3. El otorgante ha firmado el referido documento en su carácter de

de la persona jurídica ALZA CORPORATION

4. La citada persona jurídica con sede en 700 Eubanks Drive, Vacaville CA 95688 USA

está legalmente constituida, que tiene actualmente existencia legal y que el acto para el cual se ha otorgado este poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.

5. El otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta, que esta es legítima y que está facultado para otorgar este poder.

6. Las anteriores certificaciones de los puntos 3, 4 y 5, me constan porque he tenido a la vista los documentos auténticos.

AMANDA LIN HAYNES
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 10/28/2013

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

CERTIFICADO NOTARIAL (Cuando el solicitante es INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____ de _____
el Notario que suscribe DATE de que:

1. _____
(nombre de la persona que firma el poder)

mayor de edad y domiciliado en _____
firmó en su presencia

el documento que antecede, conoce al otorgante y que este está legalmente capacitado para el otorgamiento.

Notario Público

NOTA: A continuación de lo anterior, el Cónsul de Colombia debe autenticar la firma del Notario Público.

Para todos los demás países el Señor Cónsul de Colombia o ante quien se otorgue, debe expedir una certificación dejando constancia 1) de la existencia legal de la sociedad, 2) de que esta ejerce actualmente su objeto social, y 3) de que la persona o personas que otorgan el poder están facultadas para hacerlo, dejando constancia así mismo de que tuvo a la vista las pruebas que acrediten tales circunstancias.

**LEGALIZACIÓN POR EL CONSUL DE COLOMBIA
O POR APOSTILLA**

NOTARIAL CERTIFICATE

(When the applicant is a CORPORATION)

(Powers of attorney granted in: El Salvador, Mexico, U.S.A. and Venezuela)

This 4 day of June, 2009
the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. JOSEPH S KENTOFFRO
(name of the person who signs the power of attorney)

of legal age and domiciled in NEW BRUNSWICK, NJ USA set his hand on the foregoing document.

2. The grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

3. The grantor has executed the foregoing document in his capacity of ASSISTANT SECRETARY

of the juridical person ALZA CORPORATION

4. The mentioned juridical person with place of 700 Eubanks Drive, Vacaville CA 95688 USA, is duly organized, has actual legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

5. The grantor has in fact the referred quality and that his/her representation is legal and that he/she is empowered to grant this power of attorney.

6. I have based the above certifications 3, 4 and 5, on the authentic documents which for such purpose were exhibited to me.


Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

NOTARIAL CERTIFICATE (When the applicant is an INDIVIDUALS)

On this _____ day of _____
the undersigned Notary CERTIFIES that:

1. _____
(name of the person who signs the Power of Attorney)

of legal age and domiciled at _____

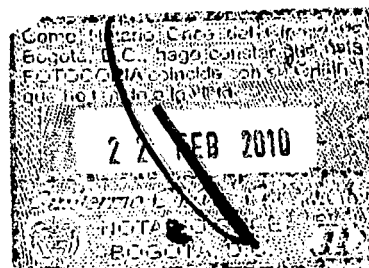
signed in his presence the foregoing document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consul must legalize the signature of the Notary Public.

For all other countries the Colombian Consul or before who it is granted must issue a certification stating 1) the legal existence of the corporation, 2) that the corporate purposes are actually being accomplished, 3) that the person or persons who grant this Power of Attorney are empowered to do it. The Consul will certify also that the documents evidencing those circumstances were exhibited to him.

LEGALIZATION BY THE COLOMBIAN CONSUL OR BY APOSTILLE



Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la APOSTILLA No. A-367051 de 24 de junio de 2009 expedida en Estados Unidos de América (Nueva Jersey) correspondiente a un documento de poder y una certificación notarial en inglés con su correspondiente traducción al español (razón por la cual no se hace su traducción), otorgado a la sociedad **ALZA CORPORATION**, domiciliada en Vacaville, California, Estados Unidos de América.

Documento de poder firmado el 4 de junio de 2009 por Joseph Kentoffio, Secretario Asistente.

Sello notarial: Amanda Lin Haynes, Notario Público de Nueva Jersey, comisión termina el 10/28/2013.

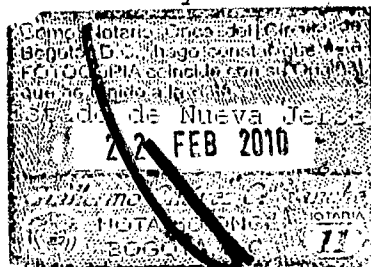
APOSTILLA

(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por AMANDA LIN HAYNES
3. Actuando en su calidad de Notario Público de Nueva Jersey
4. Lleva el sello/estampilla de AMANDA LIN HAYNES, notario

CERTIFICADO

5. En Trenton, Nueva Jersey
6. El 24 de junio de 2009
7. Por P. David Pousseau, Tesorero de Nueva Jersey
8. Certificado No. A367051
9. Sello/Estampilla: El Gran Sello del



Jimena Escobar Uribe
JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductora e Intérprete Oficial
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBERE 1961)

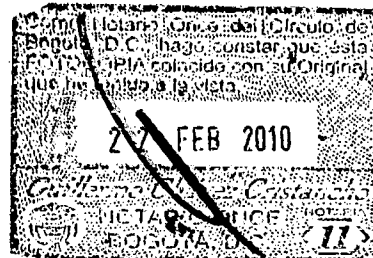
1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
GERALDINE A BAILEY
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
GERALDINE A BAILEY, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 13TH DAY OF JULY 2009
7. BY: R. David Rousseau, NEW JERSEY TREASURER
8. NO: A368604
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Certificate Number: 1148250710
Verify this certificate at
http://www1.state.nj.us/TYTP_StandingCerts/JEP/Verify_Cert.jsp



CERTIFICATION

I certify that **Joseph S. Kentoffio**, Assistant Secretary of **Alza Corporation**, a corporation existing, duly organized and complying with its corporate purposes in conformity with the laws of **Delaware, United States of America**, whose home office is located in **Vacaville, California**. I further certify that said individual is duly authorized to sign any and all instruments in his capacity as officer of the company and that the purposes for which are within the scope of the objects or activities of said corporation.

[Handwritten signature]

Sworn to and subscribed
before me this

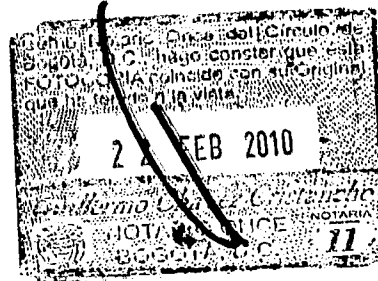
10th day of *July* 20 *09*

Geraldine A. Bailey

GERALDINE A. BAILEY
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commission Expires 1/14/2014

Esta certificación notarial debe ser llenada en su totalidad y legalizarse por
Apostilla

This notarial certification must be filled in completely and be legalized by Apostille



Traducción oficial hecha por Jimena Escobar Uribe, traductora e intérprete oficial según resolución No. 0369 del Ministerio de Justicia, del documento legalizado mediante la APOSTILLA No. A-368604 de 13 de julio de 2009 expedida en Estados Unidos de América (Nueva Jersey) correspondiente a una certificación notarial relacionada con la sociedad ALZA CORPORATION, domiciliada en Vacaville, California, Estados Unidos de América.

CERTIFICACIÓN

Yo certifico que Joseph S. Kentoffio, Secretario Asistente de Alca Corporation, una sociedad existente, debidamente constituida y cumpliendo con sus objetos corporativos de acuerdo con las leyes de Delaware, Estados Unidos de América, cuya casa matriz está localizada en Vacaville, California. Además certifico que dicho individuo está debidamente autorizado para firmar cualquier y todos los instrumentos en su capacidad como funcionario de la sociedad y que los propósitos para los cuales están dentro del espectro de los objetivos o actividades de dicha sociedad.

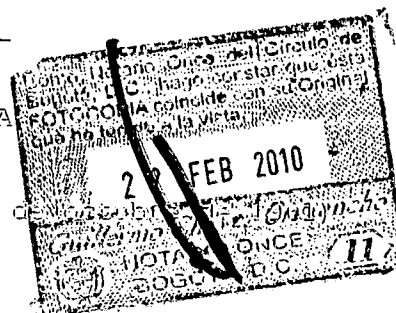
Firmado: Firma ilegible

Sello: Juramentado y suscrito ante mí este día 10 de julio de 2009.

Firmado: Geraldine A. Bailey, notario público de Nueva Jersey, comisión termina 1/14/2014.

APOSTILLA

(Convención de la Haya de 5 de octubre de 1961)



Jimena Escobar Uribe
JIMENA ESCOBAR URIBE
Traductora e Intérprete Oficial

1. País: Estados Unidos de América
2. Este documento público ha sido firmado por GEFLADINE A. BAILEY
3. Actuando en su calidad de Notario Público de Nueva Jersey
4. Lleva el sello/estampilla de GEFLADINE A. BAILEY, notario

CERTIFICADO

5. En Trenton, Nueva Jersey
6. El 13 de julio de 2009
7. Por P. David Pousseau, Tesorero de Nueva Jersey
8. Certificado No. A368604
9. Sello/Estampilla: El Gran Sello del Estado de Nueva Jersey
10. Firma: Firma ilegible

Número de certificado: 1148250710

Verifique este certificado en línea:

<https://www1.state.nj.us/TYTR StandingCert/JSP/Verify Cert.jsp>



Memorandum
JIMENA RODRIGUEZ URIBE
Traductor - Intérprete Oficial
Licencia No. 0369 Min. Justicia 1995

COMPOSICIONES DE LIPOSOMAS PARA ADMINISTRACIÓN *IN VIVO* DE **COMPUESTOS DE ÁCIDO BORÓNICO**

CAMPO TÉCNICO

5 El tema descrito en la presente se relaciona con una formulación de liposomas que tiene un compuesto de ácido borónico atrapado. Más particularmente, el tema se relaciona con liposomas preparados a partir componentes que mejoran la carga y la retención de un compuesto de ácido borónico peptídico dentro de los liposomas.

10

ANTECEDENTE

Los liposomas, o vesículas de bicapa lipídica, son vesículas esféricas que comprenden bicapas lipídicas ordenadas concéntricamente que encapsulan una fase acuosa. Los liposomas sirven como medio de suministro de agentes de diagnóstico y terapéuticos contenidos en la fase acuosa o en las bicapas lipídicas. El suministro de fármacos en una forma de liposomas atrapados puede proporcionar una diversidad de ventajas, dependiendo del fármaco, incluso, por ejemplo, una disminución en toxicidad del fármaco, farmacocinética alterada o solubilidad mejorada del fármaco. Los liposomas, cuando se formulan para que incluyan un recubrimiento superficial de cadenas de polímeros hidrófilos, *por ejemplo*, el llamado STEALTH® o liposomas de larga circulación, ofrecen la ventaja adicional de un ciclo de vida largo, debido, en parte, a la eliminación reducida de los liposomas mediante el sistema de fagocitos mononucleares. Con

frecuencia, es necesario un ciclo de vida extendido para que los liposomas lleguen a la región o célula objeto deseada desde el sitio de la inyección.

Idealmente, estos liposomas pueden estar preparados para incluir un compuesto terapéutico o de diagnóstico (i) con una alta eficiencia de carga, (ii) a una alta concentración de compuesto atrapado y (iii) en una forma estable, *es decir*, con poca fuga de compuesto durante el almacenamiento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los siguientes aspectos y modalidades de la presente descritos e ilustrados a continuación tienen como objetivo ejemplificar e ilustrar, no limitar el alcance.

En un aspecto, se proporciona una formulación de liposomas compuesta de un fosfolípido que tiene dos cadenas de acilos que tiene entre 20 y 22 átomos de carbono en cada cadena y un compuesto de ácido borónico atrapado en los liposomas. El compuesto de ácido borónico tiene la forma de un complejo con meglumina.

En una modalidad, el fosfolípido es un fosfolípido asimétrico. En otra modalidad, el fosfolípido es un fosfolípido simétrico.

En una modalidad, el fosfolípido tiene 20 átomos de carbono.

En otra modalidad diferente, el fosfolípido es un fosfolípido saturado.

En otra modalidad, el fosfolípido se selecciona de un grupo que consiste de fosfatidilcolina, fosfatidietanolamina, ácido fosfatídico y fosfatidilinositol.

En una modalidad preferida, el fosfolípido es 1,2-araquidoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (DAPC) o 1,2-dibehenoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (DBPC).

En otra modalidad, los liposomas incluyen, además, un fosfolípido unido en forma covalente a un polímero hidrófilo. Un ejemplo de polímero
5 hidrófilo es el polietilenglicol.

En otra modalidad diferente, el fosfolípido unido en forma covalente a un polímero hidrófilo es distearoilfosfatidiletanolamina-polietilenglicol.

En una modalidad, el compuesto de ácido borónico es un compuesto de ácido borónico peptídico. En otra modalidad, el compuesto de
10 ácido borónico es bortezumiba.

La formulación, en otra modalidad, comprende liposomas que comprenden además ácido acético atrapado.

En otro aspecto, se proporciona un método para preparar liposomas que tienen un compuesto de ácido borónico atrapado. El método
15 comprende suministrar liposomas que comprenden un fosfolípido que tiene dos cadenas de acilo, cada una tiene entre 20 y 22 átomos de carbono, los liposomas tienen meglumina atrapada en ellos y la incubación de los liposomas en la presencia de un compuesto de ácido borónico a una temperatura inferior a la temperatura de la fase de transición del fosfolípido. La incubación es efectiva y
20 logra una absorción del compuesto de ácido borónico en los liposomas.

En una modalidad, los liposomas comprenden fosfolípido seleccionados de un grupo que consiste de fosfatidilcolina, fosfatidietanolamina, ácido fosfatídico y fosfatidilinositol.

En otra modalidad, la incubación es efectiva y logra una absorción del compuesto de ácido borónico en los liposomas mayor al 90 %.

En otro aspecto diferente, se proporciona una mejora en un método de preparación de una composición de liposomas compuesta de liposomas compuestos de un fosfolípido que tiene dos cadenas de acilo que tiene entre 20 y 22 átomos de carbono en cada cadena y un compuesto de ácido borónico atrapado en los liposomas. La mejora comprende la carga del compuesto de ácido borónico en los liposomas mediante la incubación de liposomas y el compuesto de ácido borónico a una temperatura inferior a la temperatura de la fase de transición.

En una modalidad, la mejora comprende además la formación, antes de dicha incubación, de liposomas que comprenden meglumina atrapada en ellos.

En otra modalidad de la mejora, el fosfolípido es 1,2-araquidoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (DAPC) y la carga se realiza a una temperatura de entre aproximadamente 25-50 °C.

En otra modalidad, el fosfolípido es 1,2-dibehenoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (DBPC) y esa carga se realiza a una temperatura de aproximadamente 25-50 °C.

Además de los aspectos y modalidades de ejemplo descritos anteriormente, otros aspectos y modalidades resultarán evidentes por referencia a los esquemas y mediante el estudio de las siguientes descripciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las Figuras 1A-1H muestran las estructuras de compuestos de ácido borónico peptídico;

La Figura 2 ilustra la carga de un ácido borónico peptídico en un liposoma contra un gradiente de pH superior interior/inferior exterior para la formación dentro del liposoma de un compuesto de éster boronato con un poliol;

Las figuras 3A-3C muestran las estructuras de los polioles, como el sorbitol (Figura 3A), ácido alfa-glucopéptico (también conocido como glucoheptonato o gluceptato; Figura 3B) y meglumina (Figura 3C);

La Figura 4A muestra la absorbancia a 270 nm por fracciones de columna para los liposomas (HSPC/CHOL/mPEG-DSPE 50:45:5 mol/mol) que contienen meglumina atrapada incubada en la presencia de bortezomib a 65 °C durante 30 minutos (diamantes), 60 minutos (cuadrados) o 120 minutos (triángulos); el pico en el número de fracción 10 corresponde al fármaco no atrapado;

La Figura 4B muestra la absorbancia a 270 nm para fracciones de columna para los liposomas (HSPC/CHOL/mPEG-DSPE 50:45:5 mol/mol) que contienen meglumina atrapada incubada en la presencia de bortezomib a 20-25 °C; el pico en el número de fracción 4 corresponde al fármaco no atrapado;

La Figura 5 muestra la absorbancia a 270 nm para fracciones de columna con filtración de gel para los liposomas que contienen meglumina atrapada incubada en la presencia de bortezomib a 20-25 °C; el pico entre los números de fracción 14 y 18 corresponden al fármaco con liposomas atrapados y las fracciones 35-50 corresponden a las fracciones de fármaco no atrapado;

La Figura 6 muestra la concentración, en ng/ml, de bortezomiba en el plasma de ratas como una función de tiempo, en horas, posterior a la administración de bortezomiba atrapado en liposomas compuestos de HSPC/colesterol/mPEG-DSPE (50:45:5 mol/mol), con meglumina/ácido acético como el agente formador de complejos, en donde el bortezomiba se administró en dosis de 0,53 mg/ml (triángulos), 1,04 mg/ml (cuadrados) y 2,13 mg/ml (triángulos);

La Figura 7 muestra la concentración, en µg/ml, de bortezomiba en sangre *in vitro* como función del tiempo de incubación, en horas, para los liposomas compuestos de lípidos de esfingomielina del huevo/colesterol (círculos), esfingomielina del huevo/colesterol/mPEG-DSPE (triángulos) o esfingomielina (diamantes);

Las figuras 8A-8B muestran la concentración, en µg/ml, de bortezomiba en sangre *in vitro* como función de tiempo de incubación, en horas, a 17 °C (Figura 8A) o a 37 °C (Figura 8B) para liposomas compuestos de HSPC/mPEG-DSPE (95/5, triángulos) o 1,2-diaraquidoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (C20:0 PC)/mPEG-DSPE (95/5, diamantes);

La Figura 9 muestra la concentración, en mg/ml, de bortezomiba en plasma como función de tiempo, en horas, posterior a la administración intravenosa a ratas de liposomas compuestos de C20:0PC/mPEG-DSPE (95/5, cuadrados), 1,2-dibehenoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5, triángulos)), 1,2-dilignoceroil-sn-glicerol-3-fosfocolina (C24:0PC/mPEG-DSPE (95/5, triángulos y cuadrados)) o posterior a la administración de fármacos libres (diamantes);

La Figura 10A muestra el porcentaje de encapsulación de bortezomiba en liposomas compuestos de C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5) como una función de tiempo, en semanas, cuando se almacena a 5 °C (diamantes) o a 25 °C (cuadrados);

5 La Figura 10B muestra el porcentaje de encapsulación de bortezomiba en liposomas compuestos de C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5, diamantes, cuadrados) o de C24:0PC/mPEG-DSPE (95/5, triángulos, círculos), como una función de tiempo, en semanas, cuando se almacena a 4 °C (diamantes, triángulos) o a 25 °C (cuadrados, círculos);

10 Las figuras 11A-11C muestran la concentración de bortezomiba, en ng/ml, como una función de tiempo, en horas, posterior a la administración a ratas vía intravenosa, la concentración de fármaco en plasma (Figura 11A), sangre (Figura 11B) y el tumor (Figura 11C) para el fármaco en forma libre (diamantes) o atrapado en liposomas (C22:0 PC/mPEG 95:5) (cuadrados);

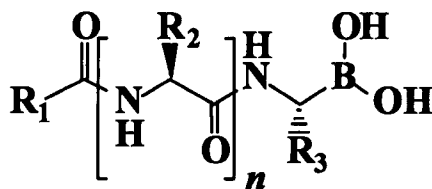
15 La Figura 12 muestra la concentración de bortezomiba, en ng/ml, como una función de tiempo, en horas, posterior a la administración a ratas vía intravenosa en una forma de liposomas atrapados (C22:0 PC/mPEG 95:5) (círculos sólidos) o en una forma libre (círculos abiertos); y

20 La Figura 13 muestra el porcentaje de bortezomiba restante en plasma como una función de tiempo, en horas, después de la administración de las formulaciones 4 y 5 (Ejemplo 6) en ratas normales.

La Figura 14 muestra el tamaño del tumor de ratas que tienen tumores CWR22 de xenoinjertos, como una función de tiempo, en días, en ratas

“Poliol” se refiere a un compuesto que tiene más de un grupo de hidroxilos (-OH) por molécula. El término incluye compuestos monoméricos y poliméricos que contienen grupos de hidróxilos alcohólicos, tales como azúcares, glicerina, poliéteres, glicoles, poliésteres, polialcoholes, carbohidratos, catecoles, copolímeros de alcohol vinílico y amina vinílica.

10



Un “polímero hidrófilo” se refiere a un polímero que tiene una cantidad de solubilidad en agua a temperatura ambiente. Los ejemplos de polímeros hidrófilos incluyen polivinilpirrolidona, polivinilmetileter,

20 polimetoloxazolina, polietiloxazolina, polihidroxi propiloxazolina, polihidroxi propilmetacrilamida, polimetacrilamida, polidimetil acrilamida, polihidroxi propil metacrilato, polihidroxi etil acrilato, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, polietilenglicol, poliaspartamida y secuencias de péptidos

hidrófilos. Los polímeros pueden emplearse como homopolímeros o como copolímeros aleatorios o en bloque. La cadena de polímeros hidrófilos es polietilenglicol (PEG), preferentemente, como cadena de PEG que tiene un peso molecular entre 500 y 10.000 daltones, más preferentemente, entre 750 y 10.000 daltones y aún más preferentemente, entre 750 y 5000.

“Gradiente de pH superior interior / inferior exterior” se refiere a un gradiente de pH transmembrana entre el interior de los liposomas (pH superior) y el medio externo (pH inferior) en el cual se suspenden los liposomas.

Generalmente, el pH interior del liposoma es al menos 1 unidad de pH mayor que el pH del medio externo y preferentemente, de 2 a 4 unidades mayor.

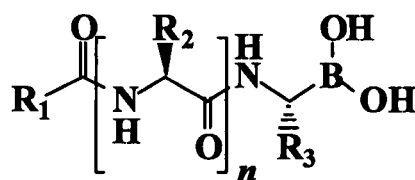
“Liposoma atrapado” intenta referirse a un compuesto que se secuestra en el compartimiento acuoso central de los liposomas, en el espacio acuoso entre las bicapas lipídicas del liposoma o dentro de la bicapa en sí.

15 II. Formulación de liposomas

En un aspecto, se proporciona una composición de liposomas que tiene un compuesto de ácido borónico peptídico. Los liposomas incluyen componentes que mejoran la carga y la retención del compuesto en los liposomas. La composición de los liposomas y el método de preparación se describen en esta sección.

A. Componentes de los liposomas

La formulación de liposomas está compuesta por liposomas que contienen un compuesto de ácido borónico peptídico. Los compuestos de ácido borónico peptídico son péptidos que contienen un ácido α -aminoborónico en el terminal ácido o C, al final de la secuencia de péptidos. En general, los compuestos de ácido borónico peptídico son de la forma:



en donde R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de porciones que pueden ser iguales o diferentes entre sí y n es de 1 a 8, preferentemente de 1 a 4. También se tienen en cuenta los compuestos que tienen residuos de ácido aspártico o ácido glutámico con un ácido borónico como cadena lateral.

Preferentemente, R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, aralquilo, aralcoxi, cicloalquilo o heterociclo; o cualquiera de los compuestos R^1 , R^2 y R^3 puede formar un anillo heterocíclico con un átomo de nitrógeno adyacente en el esqueleto peptídico. El alquilo, incluso los componentes del alquilo de alcoxi, aralquilo y aralcoxi, es preferentemente, de 1 a 10 átomos de carbono, más preferentemente, de 1 a 6 átomos de carbono y pueden ser lineales o ramificados. El arilo, incluso el componente del arilo de ariloxi, aralquilo y aralcoxi es, preferentemente,

mononuclear o binuclear (*es decir*, dos anillos fundidos), más preferentemente, mononuclear, tal como bencilo, benciloxi o fenilo. El arilo también incluye heteroarilo, *es decir*, un anillo aromático que tiene uno o dos átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre en el anillo, tal como furilo, pirrol, piridina, pirazina o indol. El cicloalquilo tiene, preferentemente, de 3 a 6 átomos de carbono. Heterociclo se refiere a un anillo no aromático que tiene uno o más átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre en el anillo, preferentemente, con 5 a 7 miembros que tienen de 3 a 6 átomos de carbono. Estos heterociclos incluyen, por ejemplo, pirrolidina, piperidina, piperazina y morfolina. Se puede combinar el cicloalquilo o el heterociclo con alquilo; *por ejemplo* ciclohexilmetilo.

Cualquiera de los grupos anteriores (excepto el hidrógeno) puede sustituirse por uno más sustituyentes seleccionados de: halógeno, preferentemente, flúor o cloro; hidroxilo; alquilo inferior; alcoxi inferior, tal como metoxi o etoxi; ceto; aldehído; ácido carboxílico, éster, amida, carbonato o carbamato; ácido sulfónico o éster; ciano; amino primario, secundario o terciario; nitro; amidino; y tio o alquiltio. Preferentemente, el grupo incluye como máximo dos de dichos sustituyentes.

Los compuestos de ácido borónico peptídico se muestran en las figuras 1A-1H. Los ejemplos específicos de R^1 , R^2 y R^3 mostrados en las figuras 1A-H incluyen n-butilo, isobutilo y neopentilo (alquilo); fenilo o pirazilo (arilo); 4-((t-butoxicarbonilo)amino)butilo, 3-(nitroamidino)propilo y (1-ciclopentilo-9-ciano)nonilo (alquilo sustituido); naftilometilo y bencilo (aralquilo); benciloxi (aralcoxi); y pirrolidina (R^2 forma un anillo heterocíclico con un átomo de nitrógeno adyacente).

En general, el compuesto de ácido borónico peptídico puede ser un monopeptido, dipéptido, tripéptido o un compuesto peptídico de orden superior. Otros ejemplos de compuesto de ácido borónicos peptídicos se describen en las patentes de los Estados Unidos núm. 6.083.903, 6.297.217 y 6.617.317, que se
5 incorporan a la presente como referencia.

El compuesto de ácido borónico peptídico se carga en los liposomas para formar una formulación de liposomas en donde el compuesto de ácido borónico peptídico se atrapa en el liposoma en la forma de un éster boronato peptídico, de acuerdo con el procedimiento ilustrado en la Figura 2. La
10 Figura 2 muestra un liposoma 10 que tiene una membrana de bicapa lipídica representada por una línea recta única 12. Se comprenderá que en los liposomas de láminas múltiples, la membrana de la bicapa lipídica está compuesta de bicapas lipídicas múltiples con espacios acuosos intervinientes. El liposoma 10 está suspendido en un medio externo 14, en donde el pH del medio
15 externo es aproximadamente 7,0, generalmente, entre aproximadamente 5,5 y 8,0, más generalmente, entre 6,0 y 7,0. El liposoma 10 tiene un compartimiento acuoso interno 16 definido por la membrana de la bicapa lipídica. Dentro del compartimiento acuoso interno está atrapado un poliol 18. El poliol es preferentemente una porción que tiene una funcionalidad de *cis* 1,2- o 1,3- diol y
20 en una modalidad preferida, el poliol es meglumina. El pH del compartimiento acuoso interno es, preferentemente, mayor que aproximadamente 8,0, más preferentemente, mayor que 9 y aún más preferentemente, mayor que 10.

También hay un compuesto de ácido borónico peptídico atrapado en el liposoma, representado en la Figura 2 por el bortezomiba. El bortezomiba también se muestra en el medio acuoso externo, antes de que pase a través de la membrana de la bicapa lipídica. En el medio acuoso externo, el compuesto queda mayormente sin cambios debido a que el pH es significativamente inferior a $pK_a = 9,7$ (calculado mediante ACD/versión para laboratorio 6,0) para el grupo borónico. En su estado neutro, el compuesto es libremente permeable a través de la bicapa lipídica, porque los compuestos son algo lipofílicos (registro $P = 2,45 \pm 1,06$, calculado mediante ACD/versión para laboratorio 6,0). La formación de un éster boronato cambia el equilibrio para causar que el compuesto adicional penetre desde el medio externo a través de la bicapa lipídica, llevando a la acumulación del compuesto en el liposoma. En otra modalidad, el pH inferior en el medio de suspensión externa y el pH algo superior en el interior del liposoma, combinado con el poliol en el interior del liposoma induce a la acumulación de fármaco en el compartimiento interno acuoso del liposoma. Una vez dentro del liposoma, el compuesto reacciona con el poliol para formar un éster boronato. El éster boronato es básicamente incapaz de cruzar la bicapa del liposoma, así que, el compuesto del fármaco, en la forma de un éster de boronato, se acumula dentro del liposoma. La estabilidad del complejo de éster borónico aumenta cuando aumenta el pH.

La concentración de poliol dentro de los liposomas es, preferentemente, una concentración tal que la concentración de grupos cargados, *por ejemplo*, grupos de hidroxilos, es significativamente mayor que la concentración del compuesto de ácido borónico. En una composición que tiene

una concentración de fármaco final de 25 mM (concentración de fármaco interna a 0,2 mg/ml de la concentración de fármaco total), por ejemplo, la concentración de compuesto interno de los grupos de carga de polímeros generalmente será al menos de este tamaño, preferentemente, tendrá varias veces el tamaño de la concentración del fármaco.

El poliol está presente en una concentración interna alta/externa baja; es decir, hay gradiente de concentración de poliol a través de la membrana de la bicapa lipídica del liposoma. Si el agente que atrapa el poliol está presente en cantidades significativas en la fase a granel externa, el poliol reacciona con el compuesto de ácido borónico peptídico en el medio externo, disminuyendo la acumulación del compuesto dentro del liposoma. Así, preferentemente, los liposomas se preparan, como se describe a continuación, para que la composición esté sustancialmente libre de agentes que atrapen el poliol en la fase a granel (fuera de la fase acuosa).

En los estudios de respaldo descritos en la presente, el ejemplo de la bortezomiba compuesta se cargó en los liposomas como un agente de captura (también conocido como agente formador de complejos), sorbitol, gluceptato o meglumina. Las estructuras de estos compuestos se muestran en las figuras 3A-3C, respectivamente. Como se establece en los Ejemplo 1-3, los liposomas se prepararon usando uno de estos agentes formadores de complejos en el amortiguador de hidratación. Después de extraer cualquier agente formador de complejos no atrapado mediante diálisis, se cargó bortezomiba en los liposomas mediante incubación de liposomas con una solución de fármacos a diversas

temperaturas durante diversos tiempos. No se cargó ningún fármaco detectable en los liposomas cuando estaba presente sorbitol o gluceptato en los liposomas como reactivo formador de complejos y se realizó la carga a 60-65 °C. Se observó un resultado similar cuando se usó meglumina como el agente formador de complejos y se realizó la carga a 65 °C. Esto se ilustró mediante los datos presentados en la Figura 4A, que muestra la absorbancia a 270 nm para las fracciones de columna G10 de desalinización para liposomas que contienen meglumina atrapada incubados en la presencia de bortezomiba a 65 °C durante 30 minutos (círculos), 60 minutos (cuadrados) o 120 minutos (triángulos). El pico en el número de fracción 10 corresponde al fármaco no atrapado. Sin embargo, como se ve en la Figura 4B, cuando la incubación se realiza a una temperatura ambiente de aproximadamente 20-25 °C, se carga bortezomiba y se retiene en los liposomas, como se evidencia mediante el pico en el número de fracción 4.

En otro estudio, descrito en el Ejemplo 4, se cargó bortezomiba en los liposomas contra un gradiente de iones establecido por la presencia de meglumina y ácido acético dentro de los liposomas. La adición de ácido acético al medio de hidratación interna causa una alta eficiencia de encapsulación de bortezomiba, como se ve en la Figura 5. En la Figura 5, el pico entre los números de fracción 14-18 corresponden al fármaco con liposomas atrapados y muestra que aproximadamente el 95 % del total del fármaco se atrapó en los liposomas mediante carga remota.

Los liposomas que tienen bortezomiba atrapado mediante la carga contra un gradiente de meglumina/ácido acético se prepararon para que tengan

concentraciones de fármaco de 0,5 mg/ml, 1,0 mg/ml y 2,1 mg/ml, según se describe en el Ejemplo 5. Las tres formulaciones se inyectaron a ratas con una dosis de fármaco de 1,6 mg/kg y la concentración de plasma sanguíneo de bortezomiba se determinó como una función de tiempo. La Figura 6 muestra la
5 concentración, en ng/ml, de bortezomiba en el plasma sanguíneo de ratas como una función de tiempo, en horas, posterior a la administración de bortezomiba atrapada en liposomas en concentraciones de fármaco de 0,53 mg/ml (triángulos), 1,04 mg/ml (cuadrados) y 2,13 mg/ml (triángulos). Después de la administración *in vivo*, el fármaco se fugó rápidamente de los liposomas y a las
10 tres horas, la concentración de fármaco fue aproximadamente igual a la esperada para la administración *in vivo* de bortezomiba libre.

Se realizaron otros estudios para llegar a una composición de liposomas con retención *in vivo* mejorada del compuesto de ácido borónico. Como se describió en el Ejemplo 6, los liposomas se prepararon a partir de diferentes
15 composiciones de lípidos y se probaron en un ensayo de liberación *in vitro* usando sangre de rata. Los liposomas que tenían una bicapa lipídica compuesta de esfingomielina de huevo/colesterol (95/5), esfingomielina de huevo/colesterol/mPEG-DSPE (50/45/5), o esfingomielina de huevo se prepararon y se cargaron con bortozemiba (Ejemplo 6A). Se analizó la liberación del fármaco
20 de los liposomas usando un ensayo de liberación *in vitro* con sangre de rata. Como se ve en la Figura 7, el fármaco se liberó rápido de los liposomas compuestos de esfingomielina de huevo/colesterol (círculos), esfingomielina de huevo/colesterol/mPEG-DSPE (triángulos) y esfingomielina de huevo (diamantes).

Se prepararon liposomas que tenían una bicapa lipídica compuesta por fosfocolina de fosfolípidos, la fosfocolina tenía longitudes de cadenas de acilo de 18, 20, 22 ó 24 átomos de carbono (Ejemplo 6B). Las figuras 8A-8B muestran la liberación de bortezomiba de liposomas compuestos por fosfocolina de soya

5 hidrogenada (C18:0; HSPC)/colesterol/mPEG-DSPE (50:45:5, triángulos) o de 1,2-diaraquidoil-sn-glicerol-3-fosfocolina (20:0PC)/mPEG-DSPE (95/5, diamantes) a 17 °C (Figura 8A) o a 37 °C (Figura 8B). Los datos en las figuras 8A-8B muestran que los liposomas preparados con el lípido C20:0PC retuvo el fármaco notablemente mejor cuando se incubó en sangre durante períodos más largos de

10 tiempo, en relación a los liposomas preparados para el lípido C18:0PC.

Los liposomas preparados de acuerdo al Ejemplo 6B se administraron vía inyección intravenosa inyección a ratas. Las muestras de sangre se tomaron durante períodos de cuatro horas posteriores a la inyección y se analizaron en busca de concentración de bortezomiba. La Figura 9

15 muestra la concentración, en µg/ml, del fármaco posterior a la administración de liposomas compuestos de 20:0PC/mPEG-DSPE (95/5, formulación núm. 4, cuadrados), C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5, formulación núm. 6, triángulos), C24:0PC/mPEG-DSPE (95/5, formulación núm. 7 y 8, círculos abiertos y cerrados, respectivamente). Un grupo de control de animales recibió una

20 inyección intravenosa de bortezomiba en forma libre (diamantes). El ciclo de vida en la circulación sanguínea de la bortezomiba disminuyó significativamente, en relación con el ciclo de vida en la circulación sanguínea del fármaco libre, cuando el fármaco se atrapó en liposomas teniendo una

bicapa compuesta de fosfolípidos de fosfocolina. En particular, los liposomas que incluyeron C22:0PC como componentes primarios de la bicapa proporcionaron un tiempo en la circulación sanguínea largo, un poco mejor que el proporcionado por los liposomas con un lípido C24:0PC.

5 Las figuras 10A-10B muestran la retención de bortezomiba atrapada en liposomas compuestos de C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5) o de C24:0PC/mPEG-DSPE (95/5). Más específicamente, la Figura 10A muestra el porcentaje de encapsulación de bortezomiba en liposomas compuestos de C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5), como una función de tiempo, en semanas, cuando se almacena a 5 °C (diamantes) o a 25 °C (cuadrados). A 5 °C, la formulación fue estable durante al menos tres meses, con prácticamente ninguna cantidad mensurable de pérdida de fármaco. Cuando se almacenó a 25 °C, el fármaco comenzó a fugarse de los liposomas después de aproximadamente 2 semanas de almacenamiento.

15 La Figura 10B muestra el porcentaje de encapsulación de bortezomiba en liposomas compuestos de C22:0PC/mPEG-DSPE (95/5, diamantes, cuadrados) o de C24:0PC/mPEG-DSPE (95/5, triángulos, círculos), como una función de tiempo, en semanas, cuando se almacena a 4 °C (diamantes, triángulos) o a 25 °C (cuadrados, círculos). Los liposomas compuestos de fosfocolina con una longitud de cadena de C22:0 ofrecieron una mejor retención de fármacos en ambas temperaturas que los liposomas que compuestos de fosfocolina con una longitud de cadena de C24:0.

20

En consecuencia, en una modalidad, se contemplan liposomas compuestos de un fosfolípido que tiene 20, 21 ó 22 átomos de carbono. El lípido puede ser un lípido asimétrico, en donde las dos cadenas de acilo tienen una diferente longitud de cadena de carbono o un lípido simétrico, en donde las dos cadenas de acilo tienen la misma cantidad de átomos de carbono. En modalidades en donde el lípido es asimétrico, se considera que el fosfolípido tiene 20, 21 ó 22 átomos de carbono, cuando uno de las dos cadenas de acilo tiene 20, 21 ó 22 átomos de carbono. En una modalidad preferida, la cadena opuesta tiene una cantidad de átomos de carbono que difiere en menos de 4, más preferentemente, menos de 2 átomos de carbono.

Los fosfolípidos son conocidos en la materia por ser lípidos que forman vesículas, a medida que forman espontáneamente vesículas de bicapas en agua, con la porción hidrófoba (cadena de acilo) en contacto con el interior, la región hidrófoba de la membrana de la bicapa y la porción del grupo principal orientada hacia el exterior, la superficie polar de la bicapa. Existe una variedad de lípidos que forman vesículas sintéticas y lípidos que forman vesículas que ocurren naturalmente, incluso los fosfolípidos, como fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico, fosfatidilinositol, en donde generalmente hay dos cadenas de hidrocarburos entre aproximadamente 14 y 22 átomos de carbono a lo largo y tienen grados variados de insaturación.

El lípido que forma vesículas atraviesa por una transición desde una fase cristalina líquida a una fase más fluida en cierta transición de fase, o transmembrana, que depende de la estructura del lípido. En una modalidad, los

liposomas se forman de un lípido que tiene cierta transmembrana y se carga el fármaco en los liposomas contra un gradiente de iones mediante la incubación de liposomas en la presencia de fármacos a temperatura inferior a la T_m de ese lípido, que generalmente es el componente lipídico primario en la bicapa lipídica. Este método de preparación se establece generalmente a continuación y se ilustra mediante la formulación de liposomas preparada según se describe en los Ejemplos 3-6, en donde la carga remota de bortezomiba se logra a temperatura ambiente.

La carga remota del compuesto de ácido borónico, en una modalidad, se realiza mediante el uso de liposomas preformados que contienen meglumina. La meglumina es un compuesto de amina secundario y forma un éster boronato con sus funcionalidades de diol con el compuesto de ácido borónico. Los múltiples dioles *cis* vicinales en meglumina reaccionan con el compuesto de ácido borónico después de que se difunde a través de la membrana de la bicapa lipídica de los liposomas, para formar un éster de boronato, atrapando así el compuesto de ácido borónico en el liposoma.

En una modalidad, el proceso es impulsado por el pH, en donde un pH inferior (*por ejemplo*, pH 6-7) en la parte exterior del liposoma y un pH algo superior (pH 8,5-10,5) en el interior del liposoma, combinados con la presencia de poliol, induce a la acumulación y carga del compuesto. En esta modalidad, la composición se prepara mediante la formulación de liposomas que tienen un gradiente superior interior/inferior exterior de un poliol. Una solución acuosa del poliol, seleccionada como se describió anteriormente, se prepara a una concentración deseada que se determina según se describió anteriormente. Se

prefiere que la solución de poliol tenga una viscosidad adecuada para la hidratación del lípido. El pH de la solución de poliol acuosa es, preferentemente, mayor que aproximadamente 8,0 cuando se emplea un reactivo de amortiguación para generar el pH interno alto. El pH de la solución de hidratación que contiene el ácido acético
 5 (u otros ácidos débiles permeables a la membrana) generalmente es neutro y en este caso el pH interno alto se genera durante el proceso de diálisis o diafiltración.

Se usa la solución de poliol acuoso para la hidratación de una película de lípidos seca, preparada a partir de la mezcla deseada de lípidos que forman vesículas, lípidos que no forman vesículas (tal como, colesterol,
 10 impureza, etc.), lipopolímero, tal como mPEG-DSPE y cualquier otro componente de la bicapa lipídica. Se prepara una película de lípidos seca mediante la disolución de los lípidos seleccionados en un solvente adecuado, generalmente un solvente orgánico volátil; se evapora el solvente y se deja secar la película. La película de lípidos se hidrata con una solución que contiene el
 15 poliol, ajustada a un pH deseado para formar los liposomas.

Después de la formación de los liposomas, se los puede dimensionar para obtener una población de liposomas que tenga un rango de tamaño sustancialmente homogéneo, generalmente entre aproximadamente 0,01 a 0,5 micrones, más preferentemente, entre 0,03-0,40 micrones y aún más
 20 preferentemente, entre 0,08-0,2 micrones. Un método efectivo de dimensionamiento para vesículas de evaporación de fase inversa (REV, por sus siglas en inglés) y vesículas multilaterales (mLV, por sus siglas en inglés) involucra la extrusión de una suspensión acuosa de los liposomas a través de

una serie de membranas de policarbonatos que tienen un tamaño de poros uniformes seleccionado en el rango de 0,8 a 0,05 micrones, generalmente, 0,8, 0,4, 0,2, 0,1, 0,08 y/o 0,05 micrones. El tamaño de los poros de la membrana corresponde aproximadamente a los tamaños promedio de los liposomas

5 producidos por extrusión a través de esa membrana, particularmente en donde la preparación se extrude dos o más veces a través de la misma membrana. Los métodos de homogeneización también son útiles para disminuir el tamaño de los liposomas a tamaños de 100 nm o menos (Martin, F.J., in *Specialized Drug Delivery Systems – Manufacturing and Production Technology*, P. Tyle, Ed.,

10 Marcel Dekker, New York, pág. 267-316 (1990)).

Después del dimensionamiento, se retira el poliol en fase a granel sin encapsular mediante una técnica adecuada, tal como diálisis, diafiltración, centrifugación, cromatografía de exclusión de tamaño o intercambio de iones, para lograr una suspensión de liposomas que tiene una concentración alta de

15 poliol en el interior y preferentemente, poco o nada de poliol en el exterior. Además, después de la formación de liposomas, se ajusta la fase externa de los liposomas mediante valoración, diálisis o similares a un pH menor que 7,0.

El compuesto de ácido borónico que se atraparé se agrega luego a la dispersión de liposomas para una carga activa en los liposomas. La cantidad

20 de compuesto de ácido borónico agregado puede determinarse mediante la cantidad total de fármaco a encapsular, asumiendo que una eficiencia de encapsulación del 100 %, *por ejemplo*, en donde todo el compuesto agregado es cargado eventualmente en los liposomas en la forma de éster boronato.

La mezcla del compuesto y la dispersión del liposoma se incuban, preferentemente, a una temperatura inferior a la temperatura de la transición de fase del componente primario del lípido en la mezcla lipídica que forma la bicapa lipídica. Se busca la captación del compuesto a una concentración del compuesto en los liposomas que es varias veces la del compuesto en el medio masivo y con frecuencia se evidencia por la formación de precipitado en los liposomas. Esto último se puede confirmar, por ejemplo, mediante técnicas de microscopía estándar de electrones o difracción de rayos X. En los lípidos de transición de fase alta con una T_m de 55 °C, por ejemplo, se puede hacer la incubación a una temperatura que varía entre 20 y 45 °C. El tiempo de incubación puede variar de unos pocos minutos a decenas de minutos, a horas o menos y hasta 12 horas o más, según la temperatura de incubación y la fuerza del reactivo formador de complejos dentro del liposoma. El tiempo de carga del fármaco también depende en parte de la forma del fármaco que se agrega al liposoma para la carga. Por ejemplo, se requiere menos tiempo cuando se agrega un fármaco solubilizado.

Al final de la etapa de incubación, la suspensión se puede seguir tratando para quitar compuestos libres (no encapsulados), *p. ej.*, mediante cualquiera de los métodos mencionados anteriormente para eliminar el polímero libre de la dispersión inicial del liposoma que contiene poliol atrapado.

Los liposomas pueden incluir opcionalmente un lípido formador de vesículas ligado covalentemente a un polímero hidrofílico. Tal como se describió, por ejemplo en la patente de EE. UU. núm. 5.013.556, que incluye a dicho lípido derivado-polímero en la composición del liposoma se forma un revestimiento de

superficie de cadenas de polímeros hidrofílicos alrededor del liposoma. El revestimiento de superficie de cadenas de polímeros hidrofílicos es eficaz para aumentar la vida útil de circulación de la sangre *in vivo* de los liposomas, si se los compara con liposomas que carecen de dicho revestimiento. Los lípidos

5 derivados de polímeros compuestos de metoxi(polietilenglicol) (mPEG) y una fosfatidiletanolamina (*p. ej.*, dimiristoil fosfatidiletanolamina, dipalmitoil fosfatidiletanolamina, distearoil fosfatidiletanolamina (DSPE), o dioleoil fosfatidiletanolamina) se pueden obtener en Avanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, AL) en varios pesos moleculares de mPEG (350, 550, 750, 1000, 2000, 3000,

10 5000 Daltones). Los lipopolímeros de ceramida de mPEG también pueden adquirirse en Avanti Polar Lipids, Inc. La preparación de conjugados de lípido-polímero también se describe en la literatura, véase patentes de EE. UU. núms. 5.631.018, 6.586.001 y 5.013.556; Zalipsky, S. y *otros.*, *Bioconjugate Chem.* 8:111 (1997); Zalipsky, S. *et al.*, *Meth. Enzymol.* 387:50 (2004). Estos

15 lipopolímeros se pueden preparar como materiales bien definidos, homogéneos y de gran pureza, con mínima dispersidad de peso molecular (Zalipsky, S. *et al.*, *Bioconjugate Chem.* 8:111 (1997); Wong, J. y *otros.*, *Science* 275:820 (1997)). El lipopolímero también puede ser un lipopolímero “neutral”, como un conjugado de polímero-distearoil, según se describe en la patente de los EE. UU. núm.

20 6.586.001, incorporada como referencia en la presente.

Cuando un conjugado de lípido-polímero se incluye en los liposomas, por lo general entre 1 y 20 moles por ciento del conjugado de lípido-

polímero se incorporan a la mezcla lipídica total (véase, por ejemplo, patente de EE. UU. núm. 5.013.556).

Los liposomas además pueden incluir un lipopolímero modificado para incluir un ligando, que forma un conjugado de lípido-polímero-ligando, también
 5 denominado en la presente como 'conjugado de lipopolímero-ligando'. El ligando puede ser una molécula terapéutica, tal como un fármaco, o una molécula biológica que tenga actividad *in vivo*, una molécula diagnóstica, como un agente de contraste o una molécula biológica, o una molécula seleccionada que tenga afinidad aglutinante para un par aglutinante, preferentemente un par aglutinante sobre la
 10 superficie de una célula. Un ligando preferido tiene afinidad aglutinante para la superficie de una célula y facilita el ingreso del liposoma en el citoplasma de una célula mediante la internalización. Un ligando presente en liposomas que incluyen a dicho lipopolímero-ligando se orienta hacia el exterior desde la superficie del liposoma y por eso está disponible para la interacción con su receptor cognado.

15 Son conocidos los métodos para unir ligandos a lipopolímeros, en donde el polímero se puede funcionalizar para la posterior reacción con un ligando seleccionado. Patente de EE. UU núm. 6.180.134; Zalipsky, S. y otros, *FEBS Lett.* 353:71 (1994); Zalipsky, S. y otros, *Bioconjugate Chem.* 4:296 (1993); Zalipsky, S. y otros, *J. Control. Rel.* 39:153 (1996); Zalipsky, S. et al., *Bioconjugate Chem.* 8(2):111 (1997); Zalipsky, S. y otros., *Meth. Enzymol.* 387:50 (2004)). También se
 20 pueden obtener comercialmente conjugados de polímero-lípido funcionalizados, tales como los conjugados de PEG-lípido de extremo funcionalizado (Avanti Polar Lipids, Inc.). El enlace entre el ligando y el polímero puede ser un enlace

covalente estable o un enlace desprendible que se parte en respuesta a un estímulo, como un cambio de pH o la presencia de un agente reductor.

El ligando puede ser una molécula que tiene afinidad aglutinante para un receptor celular o para un patógeno que circula en la sangre. El ligando también puede ser una molécula terapéutica o diagnóstica, en particular moléculas que al ser administradas libremente tienen una vida útil corta de circulación de la sangre. En una modalidad, el ligando es un ligando biológico y preferentemente, es uno con afinidad aglutinante para un receptor celular. Los ligandos biológicos ilustrativos son moléculas con afinidad aglutinante a los receptores para CD4, folato, insulina, LDL, vitaminas, transferrina, asialoglicoproteína, selectinas, como selectinas E, L y P, Flk-1,2, FGF, EGF, integrinas, en particular, integrinas $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, HER2 y otras. Los ligandos preferidos incluyen proteínas y péptidos, que a su vez incluyen anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, tales como $F(ab')_2$, $F(ab)_2$, Fab', Fab, Fv (fragmentos consistentes de las regiones variables de las cadenas pesadas y livianas) y scFv (moléculas de polipéptidos de cadena simple en las que las regiones variables livianas y pesadas se conectan por un péptido conector) y similares. El ligando también puede ser una pequeña molécula peptidomimética. Se apreciará que un receptor de superficie celular, o un fragmento de éste puede servir como ligando. Otros ligandos de destino con carácter ilustrativo incluyen, sin limitarse a, moléculas de vitamina (p. ej., biotina, folato, cianocobalamina), oligopéptidos y oligosacáridos. Otros ligandos ilustrativos se presentan en las

patentes de EE. UU. núms. 6.214.388; 6.316.024; 6.056.973; y 6.043.094, que se incorporan en la presente como referencia.

Las formulaciones de liposomas que incluyen un conjugado de destino lípido-polímero-ligando se pueden preparar con distintos enfoques. Un enfoque supone la preparación de vesículas lipídicas que incluyen un derivado de lípido-polímero de extremo funcionalizado; es decir, un conjugado de lípido-polímero en donde el extremo libre del polímero es reactivo o “activado” (véase, *p. ej.*, las patentes de los EE. UU. núms. 6.326.353 y 6.132.763). Tal conjugado activado se incluye en la composición del liposoma y los extremos activados del polímero reaccionan con un ligando de destino después de la formación del liposoma. En otro enfoque, el conjugado de lípido-polímero-ligando se incluye en la composición lipídica en el momento de la formación del liposoma (véase, *p. ej.*, las patentes de los EE. UU. núms. 6.224.903 y 5.620.689). En otro enfoque, una solución micelar de conjugado de lípido-polímero-ligando se incuba con una suspensión de liposomas y el conjugado de lípido-polímero-ligando se inserta en los liposomas preformados (véase, *p. ej.*, las patentes de EE. UU. núms. 6.056.973 y 6.316.024).

III. Métodos de uso

Las formulaciones de liposomas que tienen un compuesto de péptido de ácido borónico atrapado en forma de éster boronato se usan para el tratamiento de pacientes con tumores. Los compuestos de ácido borónico pertenecen a la clase de fármacos que se llaman inhibidores de la proteasoma. Los inhibidores de la

proteasoma inducen la apoptosis de las células por su capacidad de inhibir la actividad celular de la proteasoma. Más específicamente, en las células eucarióticas la ruta de la ubiquitina-proteasoma es central para la degradación de proteínas intracelulares. Las proteínas se destinan inicialmente a la proteólisis mediante la
5 unión de una cadena de poliubiquitina y luego se degradan rápidamente en pequeños péptidos mediante la proteasoma y se libera y se recicla la ubiquitina.

Las formulaciones de liposomas preparadas según se describe en la presente se administraron *in vivo* a ratones. Según se describe en el Ejemplo 7, los liposomas compuestos de 22:0PC/mPEG-DSPE (95/5) y que contienen
10 bortezomiba atrapado se prepararon y administraron intravenosamente a ratones que tenían tumores. A un grupo de control de ratones se los trató con bortezomiba que se vende bajo el nombre comercial VELCADE®, que es una mezcla de bortezomiba en manitol. Las Figuras 11A a 11C muestran la concentración, en ng/ml, de bortezomiba en plasma (Figura 11A), sangre (Figura
15 11B) y tumor (Figura 11C) para el fármaco en forma libre (diamantes) o atrapado en liposomas (cuadrados). La concentración de bortezomiba en plasma, sangre y tumor fue mayor en todos los momentos al administrarlo en forma de compuesto atrapado en liposomas, que cuando se lo administró como fármaco libre. Este estudio muestra la acumulación del fármaco mejorado en un tumor,
20 proporcionado por la formulación de liposomas.

Los parámetros farmacocinéticos se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Tejido	Formulación de bortezomiba	C _{max} (ng/ml)	AUC _(0-24h) (hr•ng/ml)	T _{1/2} (α)	V _{ss-obs} * (ml/hr/kg)	CL-obs* (ml/hr/kg)	CL _(app) =dosis/ AUC _{24h} (ml/hr/kg)
Plasma	Atrapado en liposoma	730	485	0,35	11.300	1630	
	Fármaco libre	23.500	59.800	2,7	42,7	13,3	
Sangre entera	Atrapado en liposomas	1650	3760				213
	Fármaco libre	10.300	37.200				21,5
Tumor	Atrapado en liposomas	462	6630				
	Fármaco libre	674	12.800				

*Se estimaron V_{ss} y CL usando T1/2α por fase.

El área de plasma bajo la curva para el bortezomiba atrapado en liposomas fue 132 veces mayor que el AUC para la forma libre del fármaco; la media vida del plasma para el bortezomiba atrapado en liposomas fue 8 veces mayor que la vida media del plasma para la forma libre del fármaco; la sangre entera C_{max} y el AUC para el bortezomiba atrapado en liposomas fueron 6,2 veces y 10 veces mayores, respectivamente, que el C_{max} y el AUC para la forma libre del fármaco; el C_{max} y el AUC en el tumor para el bortezomiba atrapado en liposomas fueron 1,5 veces y 1,9 veces mayores, respectivamente, que el C_{max} y AUC para la forma libre del fármaco.

En otro estudio, el bortezomiba atrapado en liposomas se administró a ratones y se determinaron los parámetros farmacocinéticos. Los liposomas se componían de 22:0PC/mPEG-DSPE y se prepararon según se describe en el Ejemplo 7. Los perfiles farmacocinéticos de plasma del bortezomiba atrapado en liposomas (círculos cerrados) y del bortezomiba libre (círculos abiertos) se muestran en la Figura 12 y los parámetros farmacocinéticos se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2

Formulación del bortezomiba	Conc. a los 5 min. (ng/ml)	AUC _(0 a 24 horas) (hr•ng/ml)	Vss (ml)	CL-obs* (ml/hr)
Fármaco libre	423,3 ± 33,6	271	370	53,8
Atrapado en liposomas	14.067 ± 513	29.138	1,53	0,55

En consecuencia, en una modalidad, una formulación de liposomas que comprende un compuesto de péptido de ácido borónico se usa para el tratamiento del cáncer y más particularmente para el tratamiento de un tumor en un paciente con cáncer.

El mieloma múltiple es un tumor maligno incurable que se diagnostica en aproximadamente 15.000 personas en Estados Unidos cada año (Richardson, P.G. y otros, *Cancer Control*. 10(5):361 (2003)). Es un tumor maligno hematológico caracterizado, por lo general, por la acumulación de células de plasma clonal en sitios múltiples de la médula ósea. La mayoría de los pacientes responde al tratamiento inicial con quimioterapia y radiación, aunque la mayoría a menudo sufre una recaída debido a la proliferación de células de tumores resistentes. En una modalidad, la invención proporciona un método para tratar el mieloma múltiple al administrar una formulación de liposomas que comprende un compuesto de péptido de ácido borónico atrapado en forma de éster boronato.

La formulación del liposoma también es eficaz para el tratamiento del cáncer de mama, al ayudar a superar algunas de las principales rutas por las que las células cancerígenas resisten la acción de la quimioterapia. Por ejemplo, la señalización mediante NF-kB, un regulador de apoptosis y la ruta de la proteína quinasa activada por mitógeno p44/42 puede ser anti-apoptótico. Como

los inhibidores de la proteasoma bloquean estas rutas, los compuestos se pueden activar. Así, la invención proporciona un método para tratar a un sujeto con cáncer de mama, al administrar liposomas que comprenden un compuesto de péptido de ácido borónico. Además, como se ha demostrado que los agentes

5 quimioterapéuticos como taxanos y antraciclinas activan una o ambas rutas, el uso de un inhibidor de la proteasoma en combinación con agentes quimioterapéuticos convencionales mejora la actividad antitumoral de los fármacos, como paclitaxel y doxorubicina. Así, en otra modalidad, la invención proporciona un método de tratamiento en donde un agente quimioterapéutico, en

10 forma libre o atrapado en liposomas, se administra en combinación con un compuesto de péptido de ácido borónico atrapado en liposomas.

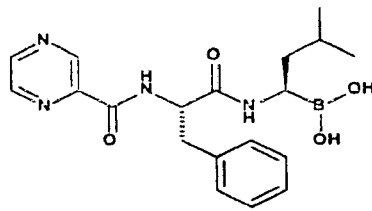
Las dosis y el régimen de dosificación de la formulación de liposomas dependerán del cáncer que se trate, la etapa del cáncer, el tamaño del tumor y la salud del paciente y otros factores fácilmente aparentes para una

15 persona que presta atención médica. Además, los estudios clínicos con el inhibidor bortezomiba de la proteosoma, Pyz-phe-boroleu (PS-341), proporcionan una amplia orientación sobre dosificaciones adecuadas y regímenes de dosificaciones. Por ejemplo, en la aplicación intravenosa que se hace una o dos veces a la semana, la dosis máxima tolerada en pacientes con tumores sólidos

20 fue de 1,3 mg/m² (Orlowski, R.Z. y otros, *Breast Cancer Res.* 5:1-7 (2003)). En otro estudio, el bortezomiba administrado como bolo intravenoso en los días 1, 4, 8 y 11 de un ciclo de 3 semanas sugirió una dosis máxima tolerada de 1,56 mg/m² (Vorhees, P.M. y otros, *Clinical Cancer Res.* 9:6316 (2003)).

La formulación de liposomas se administra, por lo general, parenteralmente, con administración intravenosa preferida y administración subcutánea como alternativa preferida. Se apreciará que la formulación pueda incluir los excipientes necesarios o farmacéuticamente deseables para facilitar el suministro.

En los métodos de tratamiento descritos anteriormente, un inhibidor preferido de la proteosoma es la bortezomiba, Pyz-phe-boroleu; Pyz: 2, 5-ácido piracincarcboxílico; PS-341), con la siguiente estructura:



Se ha demostrado que bortezomiba tiene actividad contra una variedad de tejidos cancerosos, que incluyen mamas, ovarios, próstata, pulmones y contra varios tumores, como los tumores pancreáticos, linfomas y melanomas. (Teicher, B.A. y otros, *Clin Cancer Res.*, 5(9):2638-45 (1999); Adams, J., *Semin. Oncol.*, 28(6):613-19 (2001); Orlowski, R.Z.; Dees, E.C., *Breast Cancer Res* 5(1):1-7 (2002); Frankel y otros, *Clin. Cancer Res.* 6(9):3719-28 (2000); y Shah, S.A. y otros., *J Cell Biochem*, 82(1):110-22 (2001)).

IV. Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran aun más la invención descrita en la presente y de ninguna manera pretenden ser limitantes.

5

Ejemplo 1

Carga de bortezomiba en liposomas usando sorbitol como reactivo formador de complejos

Una mezcla de fosfatidilcolina (HSPC) de soya hidrogenada, colesterol y polietileno glicol-distearoilfosfatidiletanolamina (PEG-DSPE, peso molecular de PEG 2000 Da, Avanti Polar Lipids, Birmingham, AL) en una
10 proporción molar de 50:45:5 se disolvió en etanol. El lípido se hidrató luego con un regulador de hidratación de 400 mM de sorbitol y 100 mM de regulador de tris, pH 8,5. La suspensión lipídica hidratada final contenía 10 % (w/v) de etanol. La dispersión de lípidos se extrudió bajo presión a través de dos membranas
15 apiladas Nucleopore (Pleasanton, CA), con un tamaño de poro de 0,2 µm.

El regulador externo se cambió mediante diálisis por un regulador de 150 mM NaCl/100 mM de hidroxietilpiperazina sódica-etano sulfonato (HEPES) a un pH 7,0.

La bortezomiba en polvo se agregó a la suspensión de liposomas a
20 una concentración de 3,4 mg/ml y la mezcla se incubó a 65 °C agitándola varias veces, entre 10 minutos y 7 horas.

Después del período de incubación, se inspeccionaron los liposomas para determinar la extensión del bortezomiba atrapado mediante

cromatografía en gel en Sefarosa CL-4B (Pharmacia, Piscataway, NJ). No quedó atrapada una cantidad detectable del fármaco en los liposomas.

Ejemplo 2

5 **Carga de bortezomiba en liposomas usando gluceptato como reactivo formador de complejos**

Los liposomas se prepararon según se describe en el Ejemplo 1, excepto el regulador de hidratación compuesto de 300 mM de gluceptato y 200 mM de tris, pH 8,5.

10 La bortezomiba se agregó a la suspensión de liposomas en una relación de 2,5 mg/ml de bortezomiba/20 mM de lípidos y la mezcla se incubó a 65 °C agitándola varias veces, entre 30 minutos y 2 horas.

Después del período de incubación, se hizo un ensayo con los liposomas para determinar la extensión del bortezomiba atrapado.

15 Aproximadamente 0,15 mg/ml del fármaco se cargó en los liposomas, una eficacia de encapsulación de aproximadamente 7 %.

Ejemplo 3

20 **Carga de bortezomiba en liposomas usando meglumina como reactivo formador de complejos**

Los liposomas se prepararon según se describe en el Ejemplo 1, excepto que el regulador de hidratación se componía de 300 mM de meglumina y 100 mM de tris, pH 8,5.

Se agregó bortezomiba a la suspensión de liposomas en una relación de 2,5 mg/ml de bortezomiba/20 mM de lípido y la mezcla se incubó agitándola varias veces durante 30 minutos, 60 minutos y 120 minutos (a 65 °C) o durante 3 días a temperatura ambiente.

5 Después de la incubación, los liposomas se inspeccionaron para determinar la extensión de bortezomiba atrapada. bortezomiba. Los resultados se muestran en las Figuras 4A y 4B. No se detectó carga del fármaco cuando se hizo la incubación a 65 °C (Figura 4A). Los liposomas incubados a temperatura ambiente con el fármaco registraron aproximadamente 0,3 mg/ml de fármaco
10 atrapado, una eficacia de encapsulación de aproximadamente 16 % (Figura 4B).

Ejemplo 4

Carga de bortezomiba en liposomas que contienen meglumina y ácido acético

Los liposomas se prepararon según se describe en el Ejemplo 1,
15 excepto que el regulador de hidratación se componía de 300 mM de meglumina y 300 mM de ácido acético pH 7. La bortezomiba en polvo se agregó a la suspensión de liposomas en concentraciones finales de 1,88 mg/ml de bortezomiba en aproximadamente 100 mM de lípido (concentración de lípido en la extrusión, no determinada antes de la carga del fármaco) y la mezcla se
20 incubó a temperatura ambiente (22 a 25 °C), con agitación suave durante toda la noche (aproximadamente 16 horas).

Después de la incubación, los liposomas se inspeccionaron para determinar la extensión del bortezomiba atrapado. Los resultados se muestran

en la Figura 5, en donde se logra una eficacia de encapsulación de aproximadamente 95 %.

Ejemplo 5

5 Caracterización farmacocinética de liposomas que contienen bortezomiba

Se prepararon tres formulaciones de liposomas según se describe en el Ejemplo 4, excepto que las concentraciones del componente se ajustaron para proporcionar las proporciones molares fármaco/lípido que se exponen en la siguiente tabla.

Fórmula número.	Batería de carga/Pegulador de hidratación	Proporción molar fármaco/lípido	Concentración del fármaco (mg/ml)	Eficacia de encapsulación (%)
1	Meglumina/ácido acético	65	0,525	98 %
2	Meglumina/ácido acético	33	1,041	98 %
3	Meglumina/ácido acético	16	2,132	99 %

10 Se trataron tres grupos de ratones (n=9) con inyecciones intravenosas con formulación de liposomas número. 1, 2 ó 3. Se extrajeron muestras de sangre de tres ratones en cada grupo a los 5 minutos, 3 horas y 24 horas posteriores a la inyección. La sangre se analizó para comprobar la concentración de bortezomiba. Los resultados se muestran en la Figura 6.

15

Ejemplo 6

Caracterización de liposomas con varias composiciones lipídicas

A. Formulaciones de liposomas de la esfingomielina del huevo

Los liposomas se prepararon según se describe en el Ejemplo 1,
20 excepto que las mezclas lipídicas de esfingomielina y colesterol del huevo

(55:45), esfingomielina/colesterol/mPEG-DSPE del huevo (50:45:5) o esfingomielina del huevo en sí se hidrataron con un regulador de hidratación de 300 mM de meglumina y 300 mM de ácido acético, pH 7,0. La concentración lipídica post hidratación fue de aproximadamente 100 mM.

5 El regulador externo de cada suspensión de liposomas se cambió por un regulador de diálisis de 150 mM NaCl/100 mM HEPES a pH 7,0.

El bortezomiba en polvo se agregó a cada suspensión de liposomas a una concentración de bortezomiba de 1 mg/ml. La carga del fármaco se hizo por incubación a 20-25 °C, con agitación durante toda la noche (10 a 12 horas).

10 Después de la incubación, se inspeccionaron los liposomas para determinar la extensión del bortezomiba atrapado. Se logró una eficacia de encapsulación de al menos 99 % para las tres formulaciones. El tamaño de la partícula del liposoma, determinado por dispersión de luz dinámica a 90°, fue de 179 nm (esfingomielina/colesterol/mPEG-DSPE del huevo), 266 nm
15 (esfingomielina/colesterol del huevo) y 139 nm (esfingomielina del huevo). La concentración del fármaco de cada formulación fue de aproximadamente 0,9 mg/ml.

Las composiciones de liposomas se agregaron a sangre entera de ratas en una suspensión de liposomas/relación de sangre de 5/95 v/v. La concentración del fármaco en la sangre fue de 5,5 µg/ml. Las mezclas de
20 sangre/liposomas se incubaron a 37 °C y se tomaron muestras después de 1 hora, 3 horas, 6 horas y 24 horas, centrifugadas a 5000 rpm y se analizó el sobrenadante para determinar la concentración de bortezomiba usando LC-MS. Los resultados se

muestran en la Figura 7. Los resultados indicaron que el bortezomiba encapsulado filtraba liposomas fácilmente al incubarlo con sangre entera.

B. Formulaciones de liposomas de fosfatidilcolina

5 Los liposomas se prepararon usando lípidos de fosfatidilcolina que tienen 20, 22 ó 24 átomos de carbono en cada cadena acilo. La siguiente tabla proporciona algunos detalles sobre los lípidos, e incluye el lípido C18 (HSPC) a efectos comparativos.

Abreviatura del lípido	Nombre del lípido	Peso molecular (Daltones)	Transición de fase (Tm, °C)
18:0PC (HSPC)	1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina	790,1	55
20:0PC	1,2-diaraquidolil-sn-glicero-3-fosfocolina	846,27	66
22:0PC	1,2-dibehenoil-sn-glicero-3-fosfocolina	902,37	75
24:0PC	1,2-dilignocerolil-sn-glicero-3-fosfocolina	958,48	80

10 Se prepararon las formulaciones de liposomas que tienen las siguientes composiciones lipídicas.

Formulación núm.	Composición lipídica	Batería de carga/Regulador de hidratación	Tamaño de partícula de carga (nm)	Potencia de formulación (mg/ml)	Eficacia de encapsulación (%)
4	20:0PC/mPEG-DSPE (95/5)	300 mM de meglumina /300 mM de ácido acético	141	0,42	94 %
5	22:0PC/mPEG-DSPE (95/5)	300 mM de meglumina /300 mM de ácido acético	228	0,478	81 %
6	22:0PC/mPEG-DSPE (95/5)	400 mM de meglumina /400 mM de ácido acético	104	0,48	99 %
7	24:0PC/mPEG-DSPE (95/5)	400 mM de meglumina /400 mM de ácido acético	118	0,50	96,5 %
8	24:0PC/mPEG-DSPE (95/5)	600 mM de meglumina /600 mM de ácido acético	106	0,50	66 %

Se agregó el bortezomiba en polvo a las formulaciones núms. 4 y 5 y se usó la solución solubilizada de bortezomiba en 100 mM HEPES y 50 mM NaCl,

pH 6,5 para cargar las formulaciones núms. 6 a 8. Se incubó la mezcla a 20-25 °C, agitándola durante tres días (formulación núm. 4), durante tres días a 20-25 °C más una hora a 50 °C (formulación núm. 5), durante 30 minutos a 45 °C (formulación núm. 6), durante 30 minutos horas a 50 °C (formulaciones núms. 7 y 8).

5 Se agregaron 16,5 µL de formulación de liposomas núm. 2 (Ejemplo 5) y 20 µL de formulación de liposomas núm. 4 a 950 µL de sangre entera de ratas, junto con 30 µL o 33,5 µL, respectivamente, de regulador (100 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7). Como control, se agregaron 3,5 mg/ml de bortezomiba libre a 950 µL de sangre entera de ratas, junto con 45 µL del
10 regulador. Las mezclas se incubaron a 17 °C o a 37 °C y se tomaron muestras en varios momentos durante 24 horas, se centrifugaron a 5000 rpm y se analizó el sobrenadante para determinar la concentración de bortezomiba, usando LC-MS. Los resultados se muestran en las Figuras 8A y 8B.

 Se administraron intravenosamente a ratones las formulaciones
15 núms. 4, 6, 7 y 8. Se tomaron muestras de sangre a los 5 minutos, 30 minutos, 1 hora, 2 horas y 4 horas después de la inyección. Se analizó el plasma en sangre para determinar la concentración de bortezomiba. Los resultados se muestran en la Figura 9.

 En un estudio separado, se evaluaron en ratas normales los
20 farmacocinéticos de las formulaciones núms. 4 y 5. La concentración del fármaco en plasma se determinó con un ensayo LC-MS y los resultados se presentaron en la Figura 13. Se hizo la primera recolección a los 5 minutos de la inyección de la formulación. Los resultados indican que las formulaciones de liposomas

preparados con 20:0PC y 22:0PC tienen perfiles PK similares. Este resultado es significativo porque las formulaciones de liposomas preparadas con cadenas de 20 carbono acilo son preferibles a los que se preparan con cadenas de 22 carbono acilo debido a la menor degradación del fármaco y el lípido, si bien el uso de lípidos de la cadena de 20 carbono acilo en las formulaciones de liposomas no afecta negativamente el perfil PK. Así, había una temperatura de procesamiento menor y las formulaciones de liposomas preparadas con un menor número de carbonos en las cadenas de acilo son más fáciles de extrapolar.

En otro estudio, se evaluó la eficacia antitumoral de las formulaciones 4 y 5 y un bortezomiba liposomal similar a la formulación 4, pero con un DS unido al PEG en lugar del DSPE en ratones SCID con tumores CWR22 xenoinjerto. La dosis del fármaco era 0,6 mg/kg (n=10) y se administraron cuatro dosis intravenosas en forma semanal. Se midió el tamaño del tumor y los resultados se muestran en la Figura 14. La eficacia de las tres formulaciones liposomales (formulación núm. 4, triángulos invertidos; formulación núm. 5, círculos; formulación con 22:0 PC/mPEG-DS, diamantes) fue significativamente mejor que el bortezomiba libre (VELCADE, triángulos). No había diferencia estadística entre las tres formulaciones liposomales.

20

Ejemplo 7

Actividad in vivo de bortezomiba atrapado en liposomas

Una mezcla de C22:0PC y mPEG-DSPE (proporción molar de 95/5) se disolvió en etanol. La solución de lípidos se hidrató a 80-85 °C durante 30

minutos, agitándola con un regulador de hidratación de 400 mM de meglumina y 400 mM de ácido acético, en forma neutral para formar liposomas. La dispersión lipídica se extruyó bajo presión mediante dos membranas Nucleopore apiladas (Pleasanton, CA) con tamaños reducidos de hasta 0,1 μm .

5 El regulador externo de la suspensión de liposomas se cambió mediante diálisis por un regulador de 150 mM NaCl/100 mM de sulfonato de sodio hidroxietilpiperazina-etano (HEPES) a un pH 7,0.

Se agregó una solución de bortezomiba en 100 mM HEPES y 50 mM NaCl, pH 6,5 a la suspensión de liposomas a una relación de 0,61 mg/ml de
10 bortezomiba/50 mM de lípido y la mezcla se incubó a 45 °C, agitándola durante 30 minutos. La eficacia de encapsulación se determinó en aproximadamente 95 %. La potencia final del fármaco después de la filtración estéril era de 0,498 mg/ml y la concentración de lípidos, según se determinó en un ensayo con fósforo, era de 52 mM. El tamaño de la partícula del liposoma después de la carga del fármaco,
15 determinado por la dispersión de la luz dinámica a 90°, era de 117 nm.

Se agruparon ratones macho SCID con tumores CWR22 en forma aleatoria en dos grupos de prueba para tratarlos con bortezomiba administrado intravenosamente o bortezomiba atrapado en liposomas, en una dosis de 0,8 mg/kg. Se tomaron muestras de sangre y tumor en distintos momentos. Las
20 concentraciones de bortezomiba en sangre, plasma y tejidos tumorales se determinó por LC-MS. Los resultados se muestran en las Figuras 11A a 11C.

Mientras que anteriormente se analizó un cierto número de aspectos y modalidades ilustrativos, las personas con experiencia en la técnica reconocerán

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de liposomas que comprende liposomas con un fosfolípido que tiene dos cadenas de acilo que tienen entre 20 y 22 átomos de carbono en cada cadena; un compuesto de ácido borónico atrapado en los liposomas; el compuesto se presenta en la forma de un complejo con meglumina.
2. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fosfolípido es un fosfolípido asimétrico o un fosfolípido simétrico.
3. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fosfolípido tiene 20 átomos de carbono en al menos una de dichas cadenas de acilo.
4. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fosfolípido es un fosfolípido saturado.
5. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fosfolípido se selecciona entre fosfatidilcolina, fosfatidietanolamina, ácido fosfatídico y fosfatidilinositol.
6. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fosfolípido es 1,2-araquidoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DAPC).
7. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fosfolípido es 1,2-dibehenoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DBPC).
8. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los liposomas incluyen además un fosfolípido unido covalentemente a un polímero hidrofílico.

9. La formulación de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el polímero hidrofílico es polietilenglicol.

10. La formulación de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el fosfolípido covalentemente unido a un polímero hidrofílico es

5 distearoilfosfatidiletanolamina-polietilenglicol.

11. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de ácido borónico es un compuesto péptido de ácido borónico.

12. La formulación de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el compuesto de ácido borónico es bortezomiba.

10 13. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los liposomas además comprenden ácido acético atrapado.

14. Un método para preparar liposomas con un compuesto de ácido borónico atrapado; el método comprende:

15 proporcionar liposomas que comprenden un fosfolípido con dos cadenas de acilo, cada una tiene entre 20 a 22 átomos de carbono; las liposomas tienen meglumina atrapada en ellos;

incubar los liposomas en presencia de un compuesto de ácido borónico a una temperatura menor que la temperatura de transición de fase del fosfolípido;

20 en donde la incubación es eficaz para lograr la captación del compuesto de ácido borónico en los liposomas.

15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el proporcionar comprende proporcionar liposomas que comprenden un

fosfolípido seleccionado de fosfatidilcolina, fosfatidietanolamina, ácido fosfatídico y fosfatidilinositol.

16. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el proporcionar comprende proporcionar liposomas que comprenden un fosfolípido
5 seleccionado de 1,2-araquidoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DAPC) y 1,2-dibehenoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DBPC).

17. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la incubación comprende la incubación en presencia de un compuesto de péptido de ácido borónico.

10 18. El método de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el compuesto péptido de ácido borónico es bortezomiba.

19. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el proporcionar comprende proporcionar liposomas que además comprenden un fosfolípido unido covalentemente a un polímero hidrofílico.

15 20. El método de la reivindicación 19, en donde el proporcionar comprende proporcionar liposomas que tienen polímero hidrofílico de polietilenglicol unido a un fosfolípido.

21. El método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la incubación es eficaz para lograr la captación de más del 90 % del compuesto de
20 ácido borónico en los liposomas.

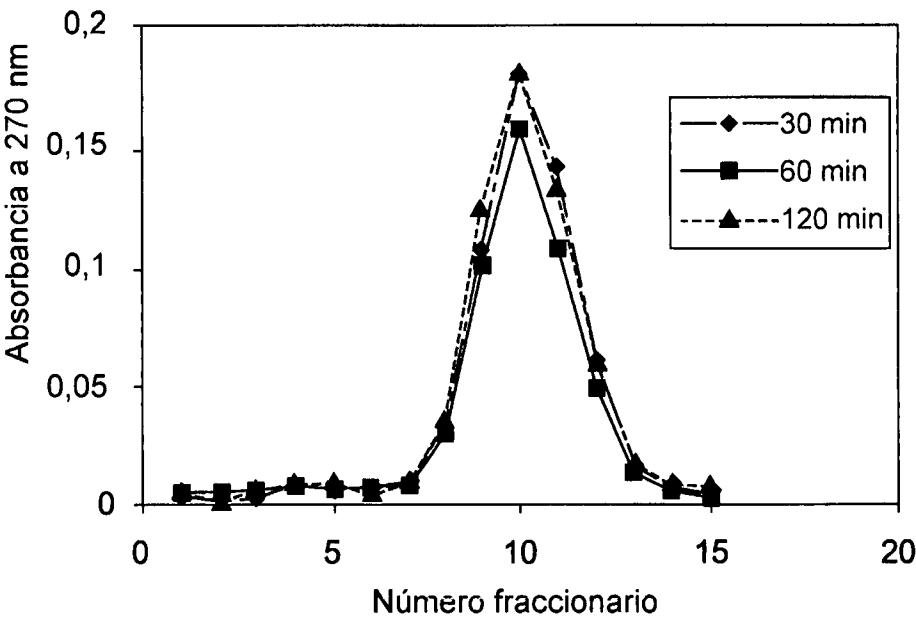


FIG. 4A

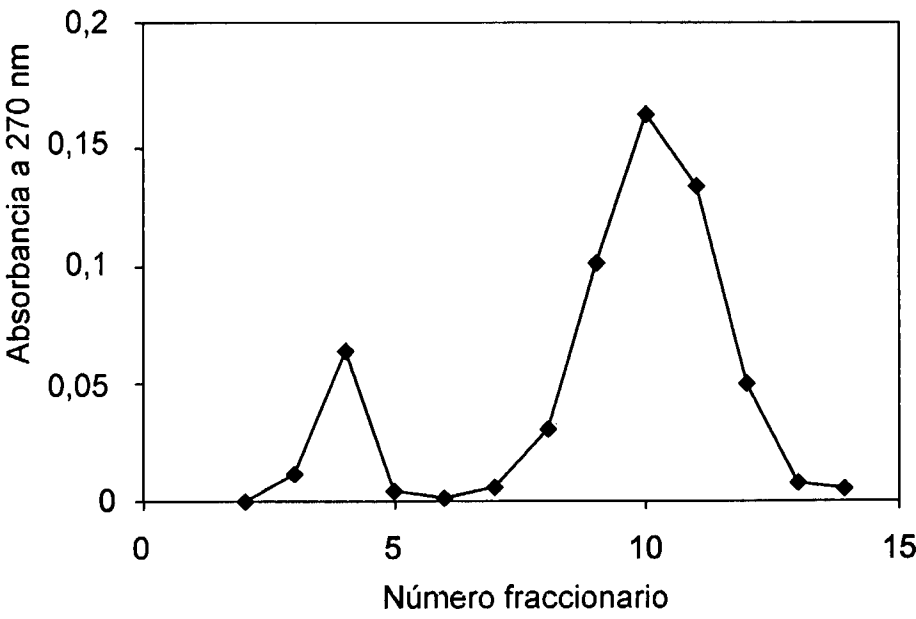


FIG. 4B

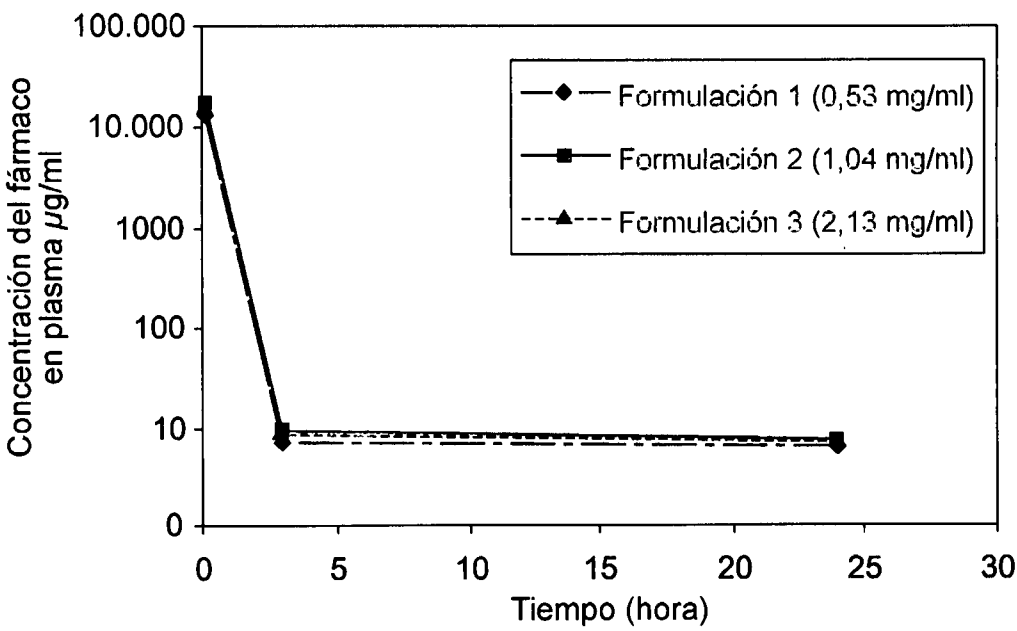


FIG. 6

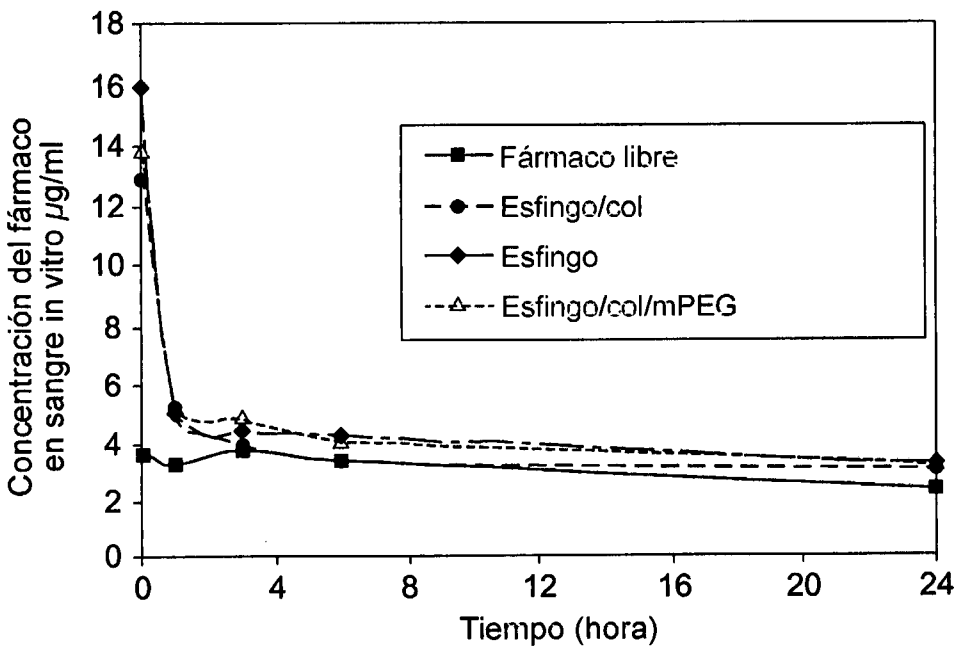


FIG. 7

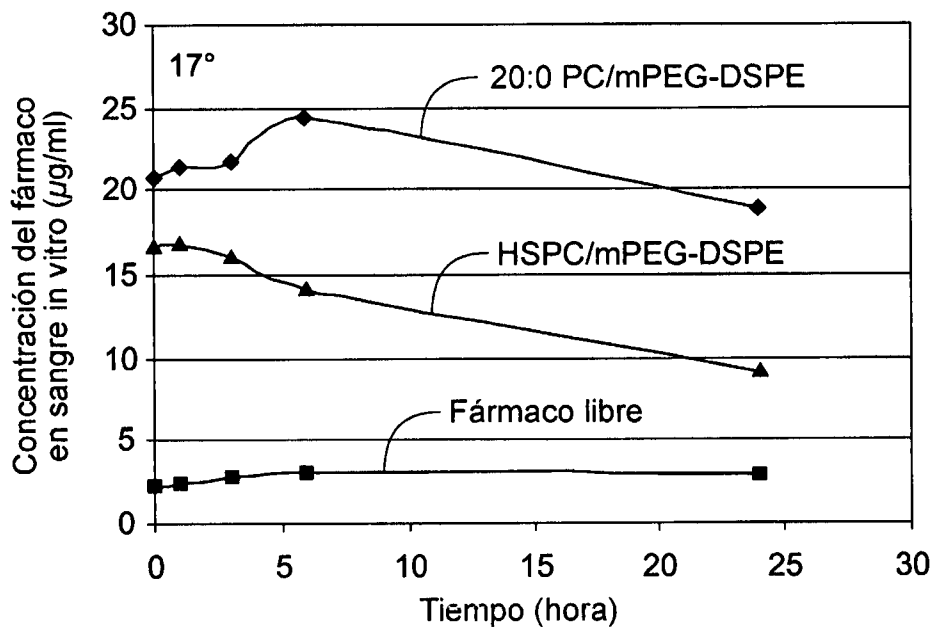


FIG. 8A

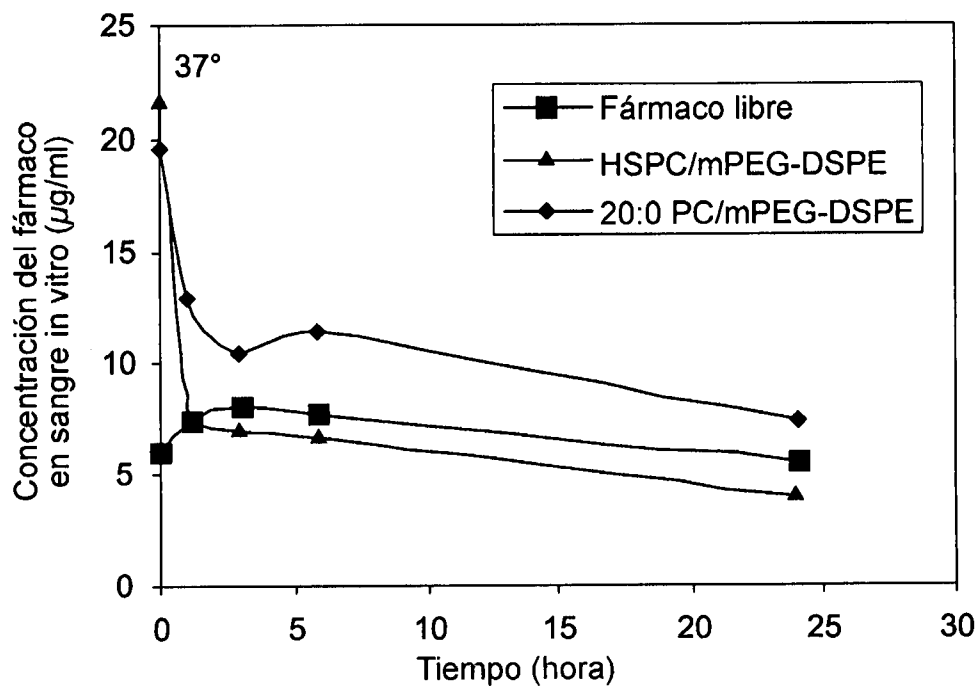


FIG. 8B

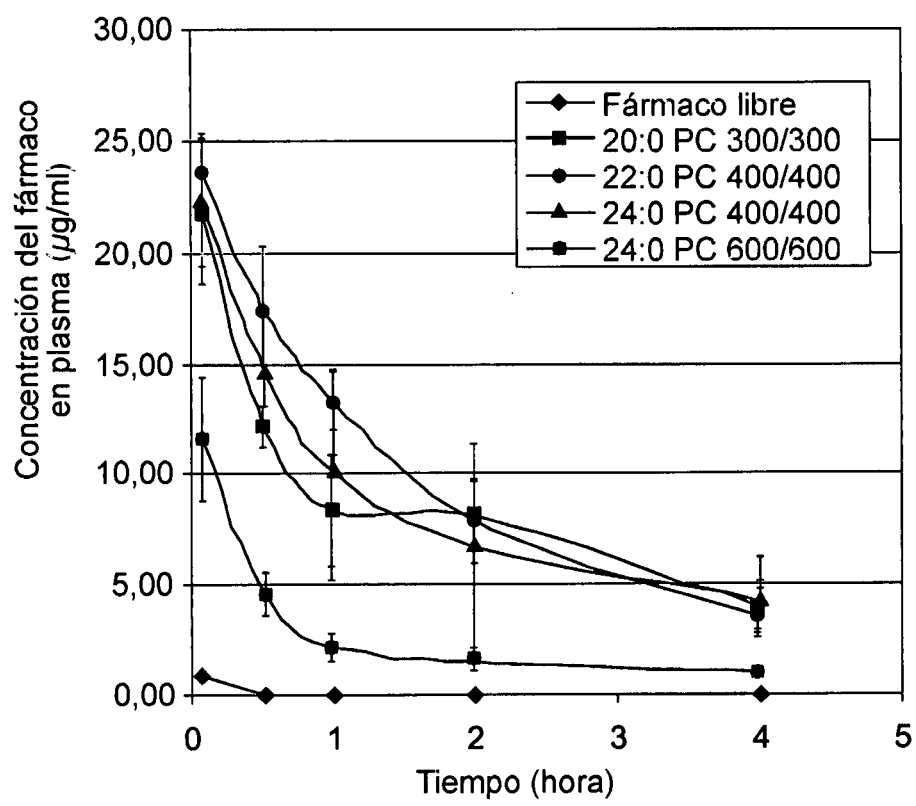


FIG. 9

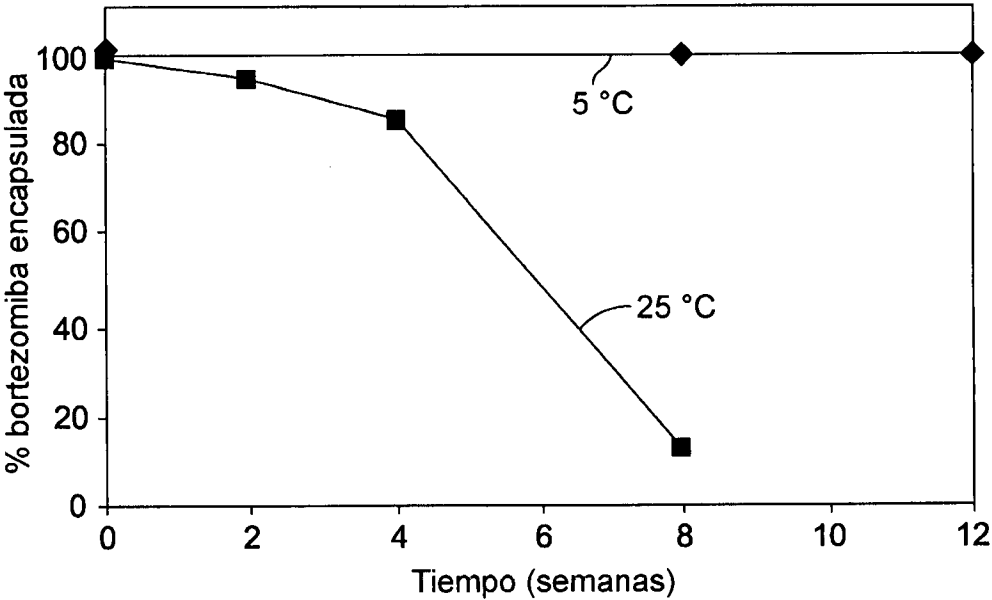


FIG. 10A

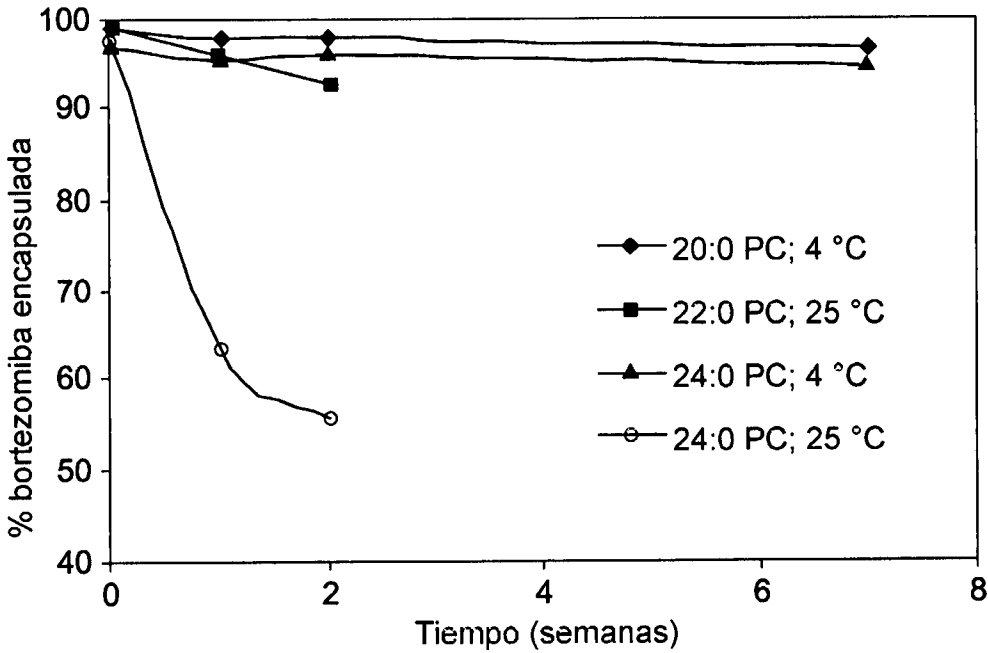


FIG. 10B

FIG. 11A

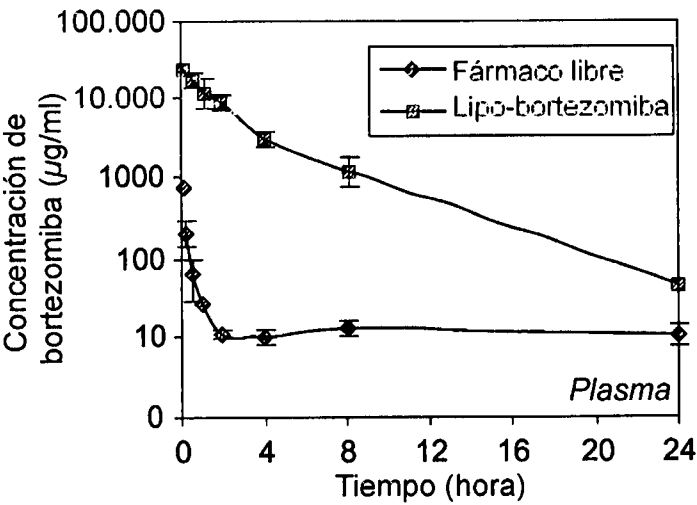


FIG. 11B

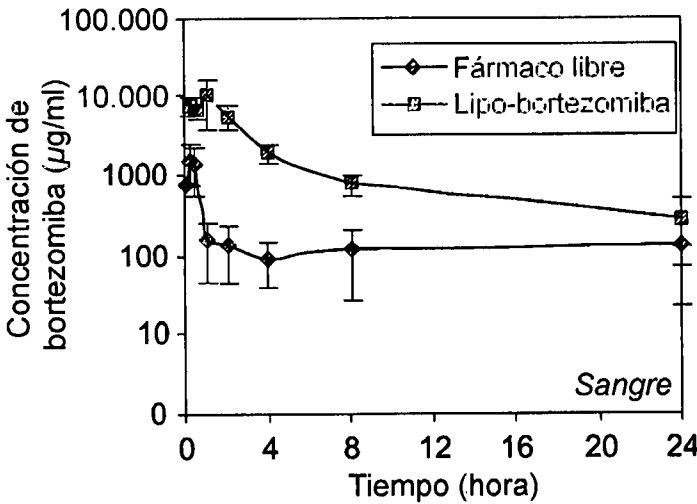
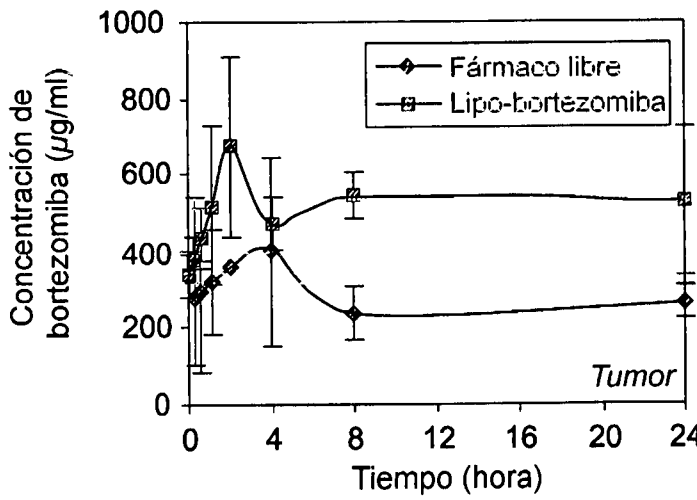


FIG. 11C



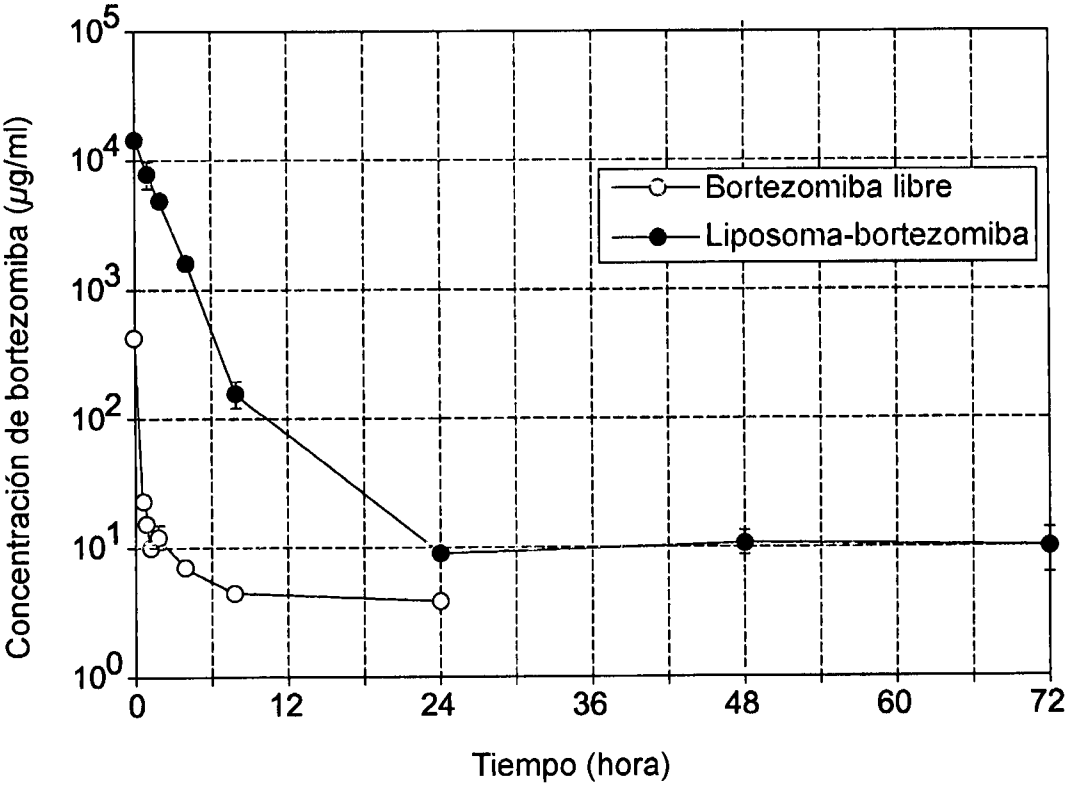


FIG. 12

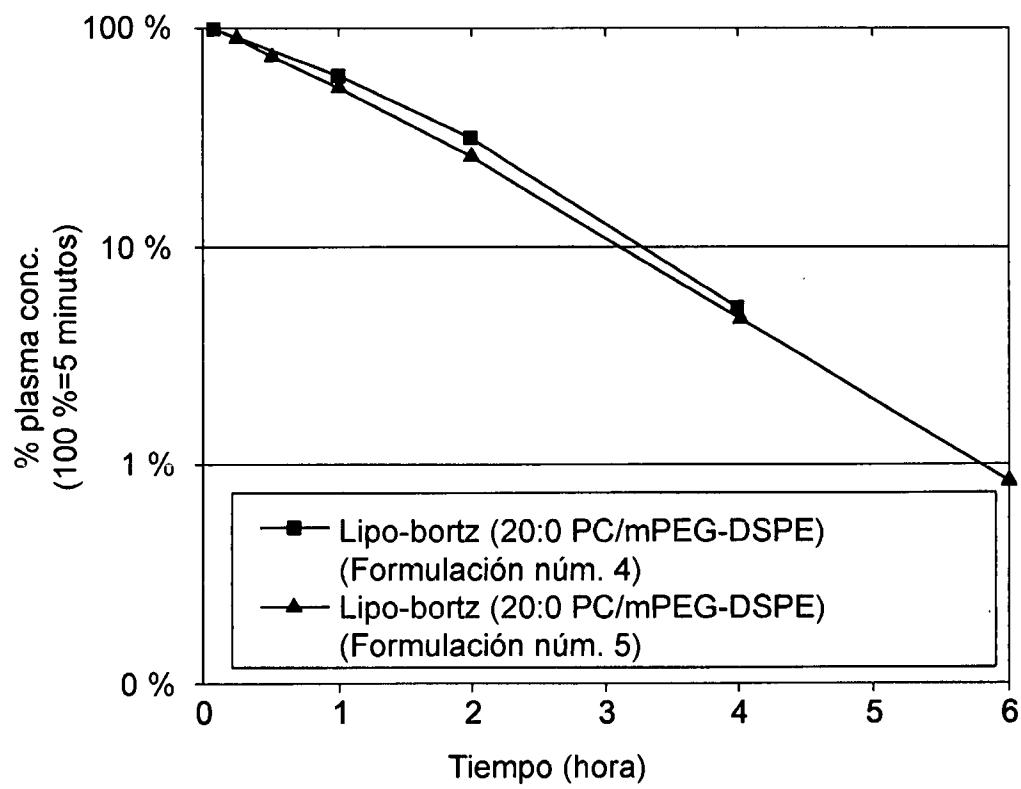


FIG. 13

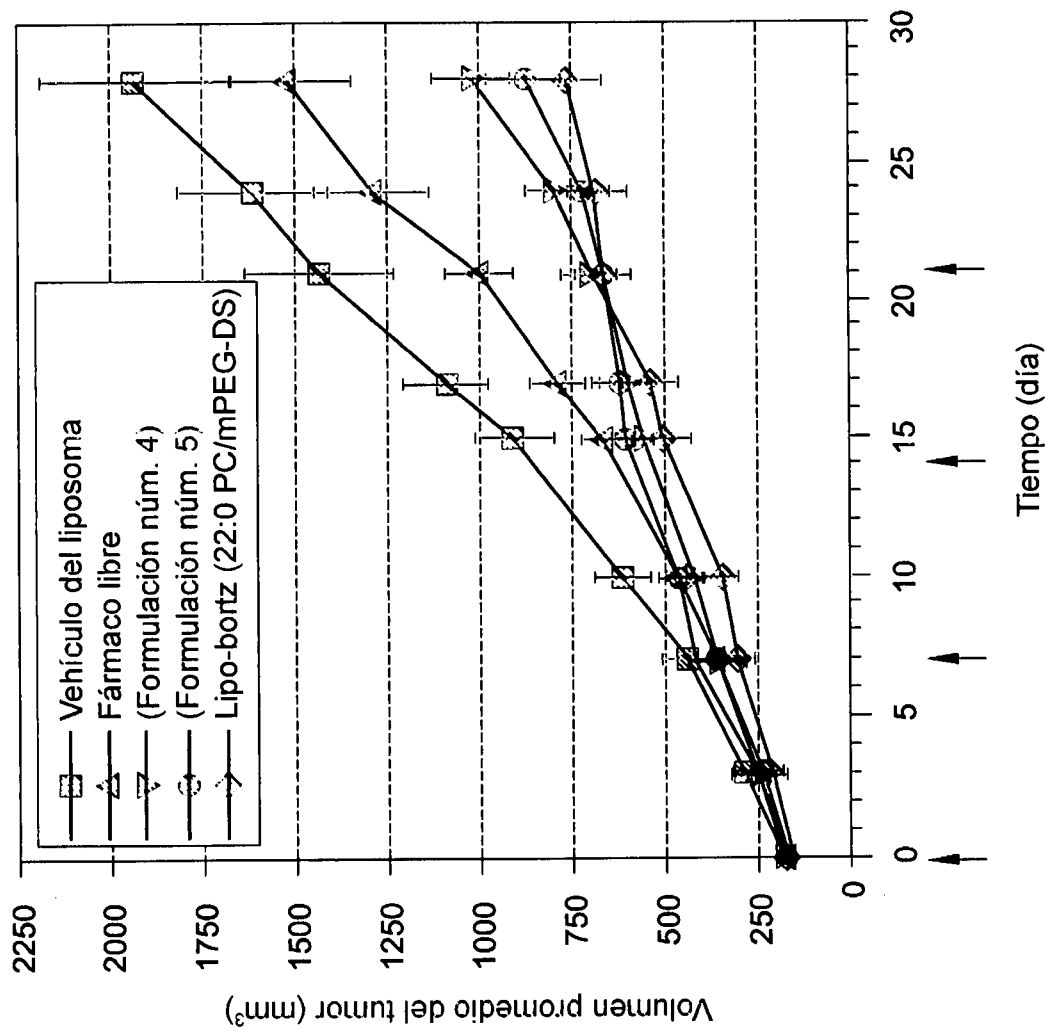


FIG. 14

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	PCT/US08/73840
0-2	International Filing Date	21 AUG 2008 (21.08.08)
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	PCT INTERNATIONAL APPLICATION RO/US
0-4	Form PCT/RO/101 PCT Request	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.51.029.204 MT/FOP 20080701/0.20.5.12
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
0-7	Applicant's or agent's file reference	ALZ-5292-PCT
I	Title of Invention	LIPOSOME COMPOSITIONS FOR IN VIVO ADMINISTRATION OF BORONIC ACID COMPOUNDS
II	Applicant	
II-1	This person is	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	ALZA CORPORATION
II-5	Address	1900 Charleston Road Mountain View, California 94039-7210 United States of America
II-6	State of nationality	US
II-7	State of residence	US
II-8	Telephone No.	732-524-1729
II-9	Facsimile No.	732-524-2808
II-10	e-mail	jnjintlpatent@corus.jnj.com
II-10(a)	E-mail authorization The receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority are authorized to use this e-mail address to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application.	Yes
II-11	Applicant's registration No. with the Office	38,435

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	ZHANG, Yuanpeng
III-1-5	Address	21837 Monte Court Cupertino, California 95014 United States of America
III-1-6	State of nationality	US
III-1-7	State of residence	US
III-1-11	Applicant's registration No. with the Office	38,435
IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence	
	The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name (LAST, First)	JOHNSON, Philip S.
IV-1-2	Address	Johnson & Johnson One Johnson & Johnson Plaza New Brunswick, New Jersey 08933-0002 United States of America
IV-1-3	Telephone No.	732-524-1729
IV-1-4	Facsimile No.	732-524-2808
IV-1-5	e-mail	jnjintlpatent@corus.jnj.com
IV-1-5(a))	E-mail authorization The receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority are authorized to use this e-mail address to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application.	Yes
IV-1-6	Agent's registration No.	27,200
IV-2	Additional agent(s)	additional agent(s) with same address as first named agent
IV-2-1	Name(s)	DONNELLY, Laura A. (38,435)
V	DESIGNATIONS	
V-1	The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.	

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	21 August 2007 (21.08.2007)	
VI-1-2	Number	60/957,045	
VI-1-3	Country	US	
VI-2	Priority document request		
	The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):	VI-1	
VI-3	Incorporation by reference :		
	where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 30.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.		
VII-1	International Searching Authority Chosen	European Patent Office (EPO) (ISA/EP)	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	—	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	—	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	—	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	—	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	—	

PCT REQUESTOriginal (for **SUBMISSION**)

IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	4	✓
IX-2	Description	29	—
IX-3	Claims	3	—
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	15	—
IX-7	TOTAL	52	
	Accompanying Items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	—
IX-18	PCT-SAFE physical media	—	✓
IX-20	Figure of the drawings which should accompany the abstract	1	
IX-21	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative	/Laura A. Donnelly, Reg. No. 38,435/	
X-1-1	Name	ALZA CORPORATION	
X-1-2	Name of signatory	DONNELLY, Laura A.	
X-1-3	Capacity	Agent	

21-08-2008

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	21 AUG 2008 (21.08.08)
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/EP
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
-------------	---	--

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
26 February 2009 (26.02.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/026427 A2

(51) International Patent Classification:

A61K 9/127 (2006.01) A61K 41/00 (2006.01)
A61K 31/69 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2008/073840

(22) International Filing Date: 21 August 2008 (21.08.2008)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

60/957,045 21 August 2007 (21.08.2007) US

(71) Applicant (for all designated States except US): ALZA CORPORATION [US/US]; 1900 Charleston Road, Mountain View, California 94039-7210 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): ZHANG, Yuan-peng [CA/US]; 21837 Monte Court, Cupertino, California 95014 (US). HUANG, Anthony [US/US]; 12150 Viewoak

Drive, Saratoga, CA 95070 (US). LUO, Bing [US/US]; 44549 Mesquite Court, Fremont, CA 94539 (US). WANG, Jinkang [US/US]; 39 Inverness Drive, San Francisco, CA 94132 (US).

(74) Agents: JOHNSON, Philip S. et al.; Johnson & Johnson, One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, New Jersey 08933-0002 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BF, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GE, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): AFIPO (BW, GH, GM, IE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,

[Continued on next page]

(54) Title: LIPOSOME COMPOSITIONS FOR IN VIVO ADMINISTRATION OF BORONIC ACID COMPOUNDS

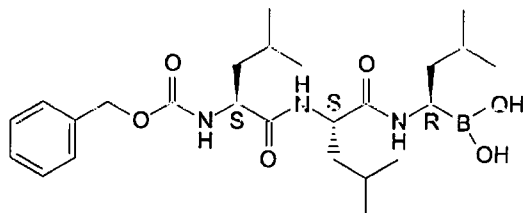


FIG. 1A

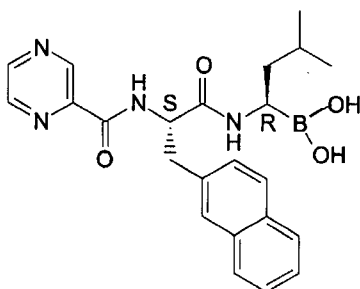


FIG. 1B

(57) Abstract: Liposome formulations for administration of a boronic acid compound are described. The liposomes are comprised of a phospholipid having two acyl chains with between 20-22 carbon atoms in each chain and a boronic acid compound entrapped in the liposomes. In a preferred embodiment, the boronic acid compound is in the form of a complex with meglumine.

BEFORE THE INTERNATIONAL BUREAU OF WIPO

Applicant: ALZA CORPORATION
International Application No.: PCT/US2008/073340
International Filing Date: AUGUST 21, 2008
For: LIPOSOME COMPOSITIONS FOR IN VIVO ADMINISTRATION OF
BORONIC ACID COMPOUNDS

I hereby certify that this correspondence is being transmitted to the INTERNATIONAL BUREAU OF WIPO on the date
below via PCT Service Centre.

(Date of Transmission)

Kisha Iles
(Name/signature of declarant)

(Date of Signature)

International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
P.O. Box 18, CH-1211
Geneva, Switzerland

**REQUEST FOR THE RECORDING OF
A CHANGE UNDER RULE 92bis.**

Dear Sir:

The applicant address has changed since the PCT Request was filed. The current/correct applicant
address is listed below:

As Filed in PCT Request	As Corrected
ALZA CORPORATION 1900 Charleston Road Mountain View, California 94039-7210	ALZA CORPORATION 700 Eubanks Drive Vacaville CA 95688

A PCT General Power of Attorney is attached in support of this matter.

Please record these changes and notify all PCT offices, designations and authorities. Also, please
charge any fees that may be required to our EPO Deposit Account No. 28300161.

Respectfully submitted,

Hal B. Woodrow, Reg. No.:32,501

Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, NJ 08933
(732) 524-2976
(732) 524-2008 (facsimile)
Dated: February 2010

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference ALC-5292-PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2008/073840	International filing date (day/month/year) 21/08/2008	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 21/08/2007
Applicant ALZA CORPORATION		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.5(a) and 20.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box No. III)

4. With regard to the title,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 35.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. 1
☒ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/073840

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K9/127 A61K47/48 A61K41/00 A61K31/69

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2006/052733 A (ALZA CORP [US]; ZALIPSKY SAMUEL [US]; MARTIN FRANCIS [US]) 18 May 2006 (2006-05-18) page 4, line 28 - page 5, line 8 page 10, line 18 - page 11, line 15 page 12, lines 1-7 page 14, lines 28-31 figure 2 claims examples 1,2 ----- -/--	1-21

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date or another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *8* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 July 2009

Date of mailing of the international search report

05/08/2009

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

van de Wetering, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/073840

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 1 465 916 A (TRIGEN LTD [GB]) 13 October 2004 (2004-10-13) page 22, paragraph 166 - page 23, paragraph 171 page 35, paragraph 291 - page 36, paragraph 302 page 67, line 46 - page 68, line 11 example 22	1, 11, 12, 14, 17, 18
Y	----- WO 01/85131 A (CELATOR TECHNOLOGIES INC [CA]; MAYER LAWRENCE D [CA]; DOS SANTOS NANCY) 15 November 2001 (2001-11-15) page 1, lines 4, 5, 24-26 page 3, line 15 - page 4, line 20 examples 3, 4 claims	1-10, 14-16, 19, 20
Y	----- EP 0 661 044 A (VESTAR INC [US]) 5 July 1995 (1995-07-05) example 3 column 7, lines 50-56 -----	1, 5, 13-15, 21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/073840

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006052733 A	18-05-2006	AR 051759 A1	07-02-2007
		AU 2005304880 A1	18-05-2006
		AU 2005304881 A1	18-05-2006
		BR PI0517061 A	30-09-2008
		BR PI0517668 A	14-10-2008
		CA 2586348 A1	18-05-2006
		CA 2586354 A1	18-05-2006
		CN 101094648 A	26-12-2007
		CN 101094649 A	26-12-2007
		EP 1807052 A1	18-07-2007
		EP 1807053 A1	18-07-2007
		JP 2008519040 T	05-06-2008
		JP 2008519041 T	05-06-2008
		KR 20070085642 A	27-08-2007
		KR 20070085644 A	27-08-2007
		NI 200700120 A	15-05-2008
		WO 2006052734 A1	18-05-2006
		UY 29191 A1	31-01-2006
		ZA 200705017 A	25-09-2008
EP 1466916 A	13-10-2004	AT 324899 T	15-06-2006
		AT 325611 T	15-06-2006
		AT 376551 T	15-11-2007
		AU 2003263328 A1	29-03-2004
		AU 2003263333 A1	29-03-2004
		AU 2003263343 A1	29-03-2004
		BR 0314450 A	26-07-2005
		CA 2535798 A1	18-03-2004
		CA 2535792 A1	18-03-2004
		CA 2536010 A1	18-03-2004
		CN 1681517 A	12-10-2005
		CN 1684693 A	19-10-2005
		DE 60304956 T2	25-01-2007
		DE 60305113 T2	07-12-2006
		DE 60317039 T2	31-07-2008
		DK 1400245 T3	28-08-2006
		DK 1396270 T3	28-08-2006
		EP 1400245 A1	24-03-2004
		EP 1396269 A1	10-03-2004
		EP 1396270 A1	10-03-2004
		EP 1466917 A1	13-10-2004
		EP 1561466 A2	10-08-2005
		EP 1695711 A2	30-08-2006
		EP 1695712 A2	30-08-2006
		ES 2264515 T3	01-01-2007
		ES 2263924 T3	16-12-2006
		WO 2004022070 A1	18-03-2004
		WO 2004022071 A1	18-03-2004
		WO 2004022072 A1	18-03-2004
		HK 1063154 A1	14-07-2006
		IL 167294 A	03-11-2008
		JP 2006509034 T	16-03-2006
		JP 2006503903 T	02-02-2006
		JP 2006511593 T	06-04-2006
		KR 20050057294 A	16-06-2005
		KR 20050057295 A	16-06-2005
		MX PA05002661 A	19-08-2005
		MX PA05002662 A	20-09-2005

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/073840

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1466916	A	NZ 539333 A	23-02-2007
		NZ 539334 A	30-11-2007
		PT 1396270 E	31-08-2006
		SI 1396270 T1	31-10-2006
		SI 1400245 T1	31-10-2006
WO 0185131	A	15-11-2001 AU 5810601 A	20-11-2001
EP 0661044	A	05-07-1995 EC 2078034 T3	01-12-1995

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

JOHNSON & JOHNSON
Attn. Johnson, Philip S.
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, NJ 08933
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

RECEIVED
AUG 10 2009
J & J PAT. DKT. SECTION

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 41.1)

Applicant's or agent's file reference ALZ-5292-PCT	Date of mailing (day/month/year) 05/08/2009
International application No. PCT/US2008/073840	International filing date (day/month/year) 21/08/2008
Applicant ALZA CORPORATION	
FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:
The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 333.82.70

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ **With regard to the protest** against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. **Reminders**

Shortly after the expiration of **18 months** from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within **19 months** from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase **until 30 months** from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, **within 30 months** from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of **30 months** (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Joëlle Gerber
--	--

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 24 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 23 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 23 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added," or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the International Preliminary Examining Authority did not act as International Searching Authority and where it has notified the International Bureau under Rule 66.1(b), be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. If a demand is made, the applicant may submit to the International Preliminary Examining Authority a reply to the written opinion together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43bis.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

JOHNSON, Philip S.
Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, New Jersey 08933-0002
ETATS-UNIS D'AMERIQUEDate of mailing (day/month/year)
21 November 2008 (21.11.2008)Applicant's or agent's file reference
ALZ-5292-PCTInternational application No.
PCT/US2008/073840

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)
21 August 2008 (21.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

ZHANG, Yuanpeng
21837 Monte Court
Cupertino, California 95014
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☐ the address ☒ the nationality ☐ the residence

Name and Address

ZHANG, Yuanpeng
21837 Monte Court
Cupertino, California 95014
United States of America

State of Nationality

CA

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☒ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Devillard Marie-José

e-mail pt04.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 04

Facsimile No. +41 22 338 39 95

Form PCT/US2008/073840

PCT/US2008/073840

94

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

JOHNSON, Philip S.
Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, New Jersey 08933-0002
ETATS-UNIS D'AMERIQUEDate of mailing (day/month/year)
21 November 2008 (21.11.2008)Applicant's or agent's file reference
ALZ-5292-PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2008/073840International filing date (day/month/year)
21 August 2008 (21.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

HUANG, Anthony
12150 Viewoak Drive
Saratoga, CA 95070
United States of AmericaState of Nationality
USState of Residence
US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 should be added to the record as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☒ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Devillard Marie-José

e-mail pt04.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 04

Facsimile No. +41 22 338 89 95

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

JOHNSON, Philip S.
Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, New Jersey 08933-0002
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 21 November 2008 (21.11.2008)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ALZ-5292-PCT	
International application No. PCT/US2008/073840	
International filing date (day/month/year) 21 August 2008 (21.08.2008)	

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address LUO, Bing 44549 Mesquite Court Fremont, CA 94539 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 should be added to the record as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the designated Offices concerned
☒ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Devillard Marie-José e-mail pt04.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 04
---	--

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

JOHNSON, Philip S.
Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, New Jersey 08933-0002
ETATS-UNIS D'AMERIQUEDate of mailing (day/month/year)
21 November 2008 (21.11.2008)Applicant's or agent's file reference
ALZ-5292-PCTInternational application No.
PCT/US2008/073940

IMPORTANT NOTIFICATION

International filing date (day/month/year)
21 August 2008 (21.08.2008)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☐ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

WANG, Jinkang
39 Inverness Drive
San Francisco, CA 94132
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

The person identified in Box 2 should be added to the record as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☒ the International Searching Authority ☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Devillard Marie-José

e-mail pt04.pct@wipo.int
Telephone No. +41 22 338 74 04

Facsimile No. +41 22 338 39 95

Form PCT/US2008/073940 (July 2008)

1/10/08/073940

97

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OF TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

JOHNSON, Philip S.
Johnson & Johnson
One Johnson & Johnson Plaza
New Brunswick, New Jersey 08933-0002
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 23 September 2008 (23.09.2008)	
Applicant's or agent's file reference ALZ-5292-PCT	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2008/073840	International filing date (day/month/year) 21 August 2008 (21.08.2008)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 21 August 2007 (21.08.2007)
Applicant ALZA CORPORATION et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable)* The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable)* An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
21 August 2007 (21.08.2007)	80/967,045	US	01 September 2008 (01.09.2008)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Athina Nickitas-Etienne

e-mail PT04.PCT@WIPO.INT

Telephone No. +41 22 338 74 04

Facsimile No. +41 22 338 32 70



No. 10-021174-00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:33:36 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 98

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒

Indicación que se solicita una PCT

☒

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☒

Dibujos de ser estos pertinentes

☒

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Bogotá,
2020

Doctor(a)
RODRIGUEZ D^a ALEMAN DILIA MARIA
Apoderado(a) y/o Representante de
ALZA CORPORATION

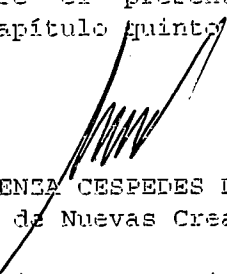
REFERENCIA	Radicación No.	10 21174
	Solicitud internacional	PCT/US2008/073340
	Fecha inicio fase nacional	21/03/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	005049

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 29 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 16 ABR. 2010.
adpall

Al contestar favor indique el número de radicación consignado en el rótulo