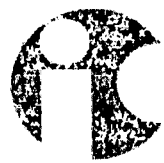


OPS



PCT

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

10-21190

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO FORMULACIONES DE LIPOSOMAS DE COMPUESTOS

DE ACIDO BORONICO.

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



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

SOLICITUD DE:

1

☒

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/US2008/073844 Fecha 21 de agosto de 2008

Publicación Internacional No. WO 2009/026430 A2 Fecha 26 de febrero de 2009

6 TÍTULO (54)

FORMULACIONES DE LIPOSOMAS DE COMPUESTOS DE ACIDO
BORONICO.

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

60/957,049

9 Comprobante de pago No.

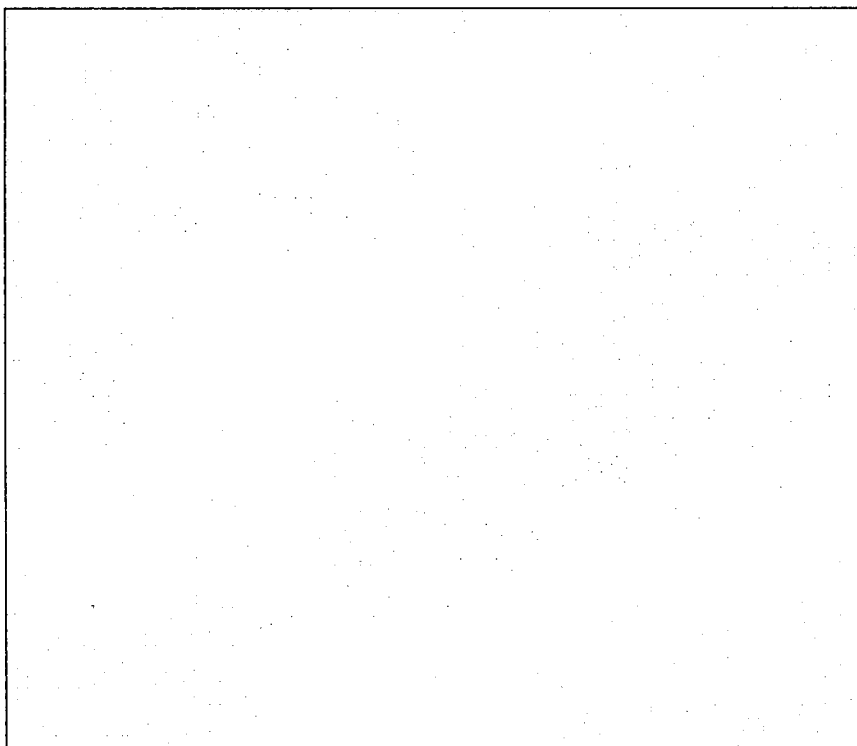
10-7.038 // 10-7.039 // 10-7.040 // 10-7.041 // 10-11.046 // 10-11.047

Fecha

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

- ☐ 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 - 7.038
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021190- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE NODET Y CO. COLOMBRECIBO 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.

P-2469
3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 7.039
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021190-00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Eje. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

***** CONSIGNACION *****

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

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

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	
		99 OTROS 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 - 7,040
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021190- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Eje: 378 FASLNACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBRECIBO 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 - 7,041
FECHA : ENERO 29 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021190- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Lve: 378 FASLNACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBRECIBO 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 - 11,046
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021190-00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBIA	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	20,000.00
		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 - 11,047
FECHA : FEBRERO 10 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-021190- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET Y CO. COLOMBIA	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175684132	10/02/2010	63,215,000.00

***** 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.

A/166/9

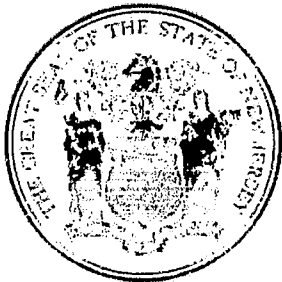
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBERE 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: R. David Rousseau, NEW JERSEY TREASURER
8. NO: A367051
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



Certificate Number: 1146992210

Verify this certificate at
https://www1.state.nj.us/TYTP_StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp

COLOMBIA

Carrera 111 N° 35-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6131033 Fax: (57 1) 6350224 Email: info@clarkmodet.com.co

PODER

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales 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 confiero (conferimos) poder especial a favor de DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAI, con Cédula de Ciudadanía No. 41.654.882 de Bogotá, y tp. 20824 y CLAUDIA LUCIA CAPO RAMIREZ, con Cédula de Ciudadanía No. 40.017.374 de Tunja, y tp. 36448, 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 enseres 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 sanitarios, permisos 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 desleal, 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, tutelares y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella).
- 5) Registrar nombres 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

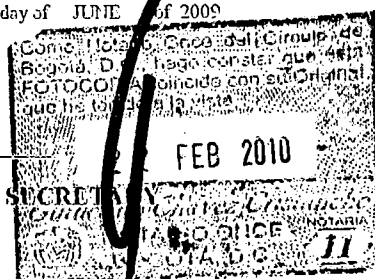
an organization existing under the laws of DELAWARE

and in present execution of its business activity, domiciled 700 Eubanks Drive, Vacaville CA 95688 USA do hereby grant POWER OF ATTORNEY to DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAI, identification card No. 41.654.882 of Bogotá, and tp. 20824 and CLAUDIA LUCIA CAPO RAMIREZ, tp. 36448, 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 renewal or assignment, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, 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 afore 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 JUNE of 2009



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 DA FE de que:

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

mayor de edad y domiciliado en _____
firmó de su puño

y leíra el documento que antecede.

2. Conocer al (a la) 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 95668 USA

está legalmente constituida, que tiene actualizada 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 LEE MAYNES
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
Commissary Expires 10/27/2013

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

Para todos los demás países el Señor Consol 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 KENTOFFIO
(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 95668 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 2, 4 and 5, on the authentic documents which for such purpose were exhibited to me.


Notary Public

NOTA: Then the Colombian Consol 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 _____

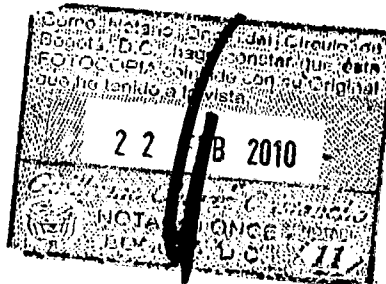
signed in his presence the foregoing document, the grantor is to him personally known and that he/she has legal capacity to execute the document.

Notary Public

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

For all other countries the Colombian Consol 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 Consol 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.

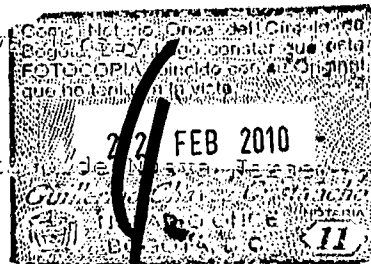
APOSTILLA

(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 R. David Rousseau, Tesorero de Nueva Jersey
8. Certificado No. A367051
9. Sello/Estampilla: El Gran Sello del Estado de Nueva Jersey



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

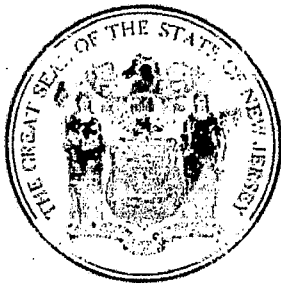
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 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

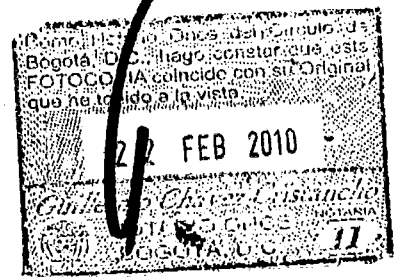


A handwritten signature in dark ink, appearing to read "R. David Rousseau", written over a horizontal line.

Certificate Number: 1148250710

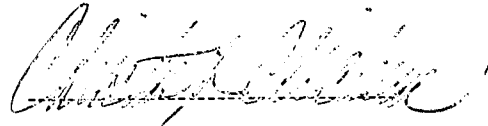
Verify this certificate at

https://www1.state.nj.us/TYTP_StandingCerti/JCP/Verify_Cert.jsp

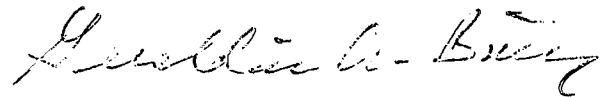


CERTIFICATION

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.



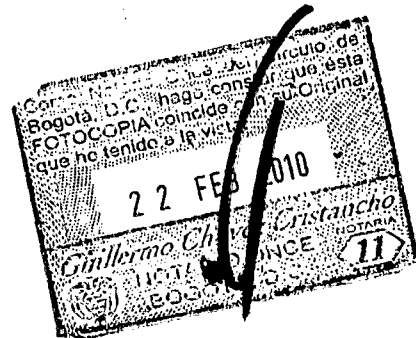
Sworn to and subscribed
before me this
10th day of Feb 2010



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 Alza 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.

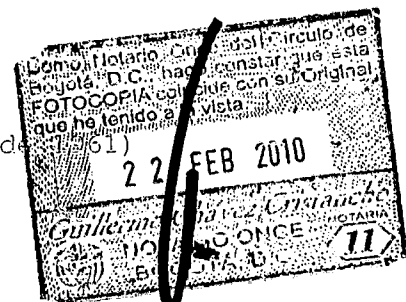
Firmado: Firma ilegible

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
Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995

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

CERTIFICADO

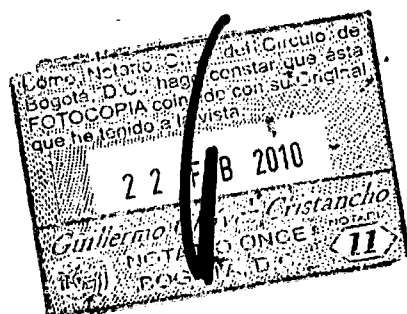
5. En Trenton, Nueva Jersey.
6. El 13 de julio de 2009
7. Por R. David Rousseau, Tesorero de Nueva Jersey
8. Certificado No. A368604
9. Sello/Estampilla: El Gran Sello del Estado de Nueva Jersey
10. Firma: Firma ilegible

Número de certificado: 1148250710

Verifique este certificado en línea:

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

Mendiola
JIMENA MENDIOLA URIBE
 Traductor - Intérprete Oficial
 Resolución No. 0369 Min. Justicia 1995



RESUMEN DE LA INVENCION

Se describe una composición de liposoma que comprende liposomas con un compuesto inhibidor de la proteasoma con péptido de ácido borónico atrapado en los liposomas. Más específicamente, los liposomas que tienen un compuesto de la Fórmula I ó II atrapados en el compartimento acuoso interior se cargan con un compuesto peptídico de ácido borónico, para formar un compuesto de éster boronato dentro del compartimento acuoso liposomal. En una modalidad, los liposomas tienen un recubrimiento externo de cadenas poliméricas hidrófilas y se utilizan para tratar un tumor sólido en un sujeto.

FORMULACIONES DE LIPOSOMAS DE COMPUESTOS DE ACIDO BORONICO

CAMPO TÉCNICO

5 Se proporciona una composición de liposomas que comprende un compuesto de ácido borónico y, en especial, un compuesto de péptido de ácido borónico. Más específicamente, se proporciona una composición de liposomas que comprende un compuesto de ácido borónico y un compuesto con la Fórmula I y/o II como se define a continuación.

10

ANTECEDENTES

Los liposomas, o vesículas de capa doble de lípidos, son vesículas esféricas formadas por capas dobles de lípidos ordenadas concéntricamente que encapsulan una fase acuosa. Los liposomas sirven como un vehículo de suministro para los agentes terapéuticos y de diagnóstico contenidos en la fase acuosa o en las capas dobles de lípidos. El suministro de drogas encapsuladas en liposomas puede proporcionar una variedad de ventajas, dependiendo del fármaco, que incluyen, por ejemplo, una disminución en la toxicidad del fármaco, farmacocinética alterada, o mejor solubilidad del fármaco. Cuando los liposomas se formulan para incluir un recubrimiento de superficie de cadenas poliméricas hidrófilas, *es decir*, llamado STEALTH® o liposomas de circulación prolongada, ofrece la ventaja de una larga vida de circulación sanguínea, debido, en parte, a una eliminación reducida de los liposomas por el sistema mononuclear fagocitario.

A menudo es necesaria una vida útil extendida para que los liposomas alcancen la región de destino deseada, o una célula del sitio de inyección.

Idealmente, tales liposomas pueden prepararse para que incluyan un compuesto terapéutico o de diagnóstico encapsulado (i) con una alta eficiencia de carga, (ii) en una alta concentración de compuesto encapsulado y (iii) en una forma estable, es decir, con poca pérdida de compuesto al estar almacenado. Una clase especialmente interesante de compuestos terapéuticos son los compuestos de péptido de ácido borónico, que son compuestos de péptidos inhibidores del proteosoma, que contienen un ácido α -aminoborónico en el extremo terminal ácido, o C de la secuencia de péptidos. Uno de tales compuestos de péptido de ácido borónico es la bortezomiba, antes conocido como PS-341 (VELCADE®, Millennium Pharmaceuticals, Inc, Cambridge, MA). Bortezomiba es un derivado dipeptídico del ácido borónico y se sintetizó como un inhibidor de proteosoma altamente selectivo, potente, reversible, con un K_i de 0,6 nmol/l (Adams, *Semin. Oncol.* 28(6):613-619 (2001)). Utilizando el cribado *in vitro* del National Cancer Institute, la bortezomiba demostró citotoxicidad contra un rango de líneas tumorales (Adams, *Id.*) y tuvo actividad antitumoral en próstata humana (Frankel y otros, *Clin. Cancer Res.* 6(9):3719-3728 (2000); DiPaola *et al.*, *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 15(3):509-524 (2001)) y modelos de xenoinjertos para cáncer de pulmón (Oyaizu y otros, *Oncol. Rep.* 8(4):825-829 (2001)).

Las composiciones de liposomas que comprenden liposomas que tienen un compuesto de péptidos de ácido borónico inhibidor del proteosoma encapsulado en el liposoma, se describen en la solicitud internacional núm. WO

2006/052734 publicada bajo Patent Cooperation Treaty el 18 de mayo de 2006. El compuesto de ácido borónico es encapsulado en el liposoma con la forma de un éster de boronato, posterior a la interacción con un poliol encapsulado en un liposoma. En una modalidad, el poliol encapsulado en el liposoma es un compuesto

5 monomérico o polimérico que contiene grupos hidroxilo alcohólicos, en donde el poliol puede ser un compuesto alifático, un compuesto anular de diol, un polifenol, o similares. En otra modalidad, el poliol monomérico incluye azúcares, glicerol, glicoles, carbohidratos, aminoazúcares (especialmente aminosorbitol), alcoholes de azúcar, deoxisorbitol, ácido glucónico, ácido tartárico, ácido gálico, etc.

10 Sería deseable encapsular tales compuestos de péptido de ácido borónico en un portador liposomal. Sin embargo, existen dificultades asociadas con cómo cargar de manera eficiente estos dipéptidos relativamente no polares y retenerlos dentro del liposoma de forma encapsulada y estable. Más especialmente, el tema central se refiere a liposomas preparados a partir de

15 componentes que mejoran la carga y la retención de un compuesto de péptido de ácido borónico dentro de los liposomas.

RESUMEN

Por consiguiente, es un objetivo proporcionar una composición de

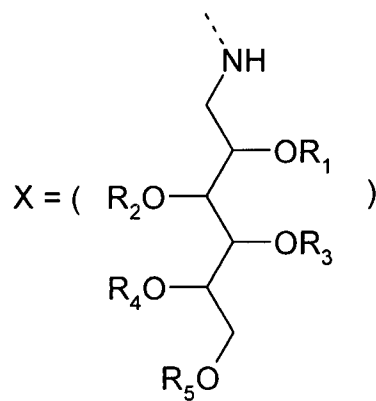
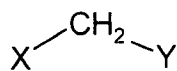
20 liposomas que comprende un compuesto de péptido de ácido borónico encapsulado de manera estable en los liposomas.

Es otro objetivo proporcionar una suspensión de liposomas que tiene un compuesto de péptido de ácido borónico encapsulado en los liposomas en la forma estable de un péptido de éster de boronato.

En una modalidad, se proporciona una composición de liposomas, que comprende un compuesto de péptido de ácido borónico que está encapsulado de manera estable en los liposomas, en donde el compuesto de péptido de ácido borónico es un compuesto dipeptidil de ácido borónico. Un compuesto dipeptidil de ácido borónico ilustrativo es la bortezomiba.

En un aspecto, se proporciona una composición, que comprende liposomas formados a partir de un lípido formador de vesículas y encapsulado en tales liposomas, un compuesto de éster de boronato conformado por un compuesto de péptido de ácido borónico y un compuesto con la Fórmula I.

Fórmula I



en donde X, Y, A, B, E, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ son como se describieron anteriormente, siempre que Y, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ no son cada uno H y cualquier enantiómeros o diastereoisómeros.

En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula I es uno donde Y es H. Un compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₁ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₂ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₃ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₄ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₅ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₃ es A. En especial, el compuesto es donde Y, R₁, R₂, R₄, R₅ son H y R₃ es A.

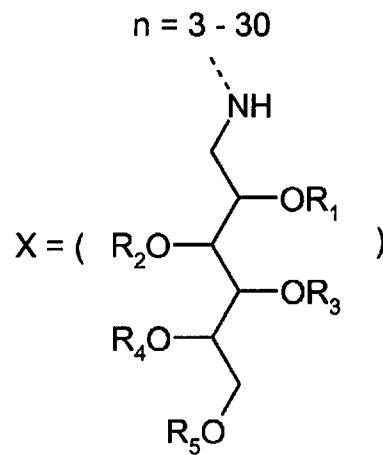
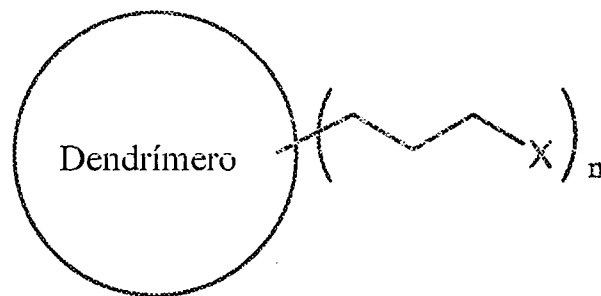
En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula I es uno en donde Y es B. Un compuesto ilustrativo es donde Y es B y R₁ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R₂ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R₃ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R₄ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R₅ es H. En especial, el compuesto es donde Y es B y R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R₃ es A. En especial, el compuesto es donde Y es B y R₁, R₂, R₄, R₅ son H y R₃ es A.

En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula I es uno donde Y es E. Un compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₁ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₂ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₃ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₄ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₅ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₆ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₇ es H. En especial, el compuesto es donde Y es E y R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ son H.

Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R₃ es A. En especial, el compuesto es donde Y es E y R₁, R₂, R₄, R₅, R₆, R₇ son H y R₃ es A.

En un aspecto, se proporciona una composición, que comprende liposomas formados a partir de un lípido formador de vesículas y encapsulado en tales liposomas, un compuesto de éster de boronato conformado por un compuesto de péptido de ácido borónico y un compuesto con la Fórmula II que es un dendrímero conjugado.

Fórmula II



$R_1 = (H, A)$

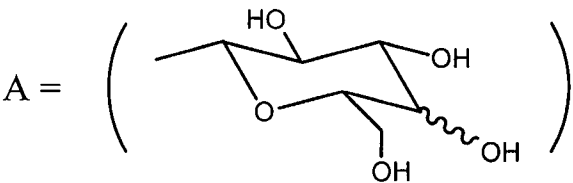
$R_2 = (H, A)$

$R_3 = (H, A)$

$R_4 = (H, A)$

$R_5 = (H, A)$

5



10

en donde D, X, A, R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son como se describieron anteriormente.

En una modalidad, el compuesto con la Fórmula II es uno en donde el dendrímero es un dendrímero G₁ o G₂. Un compuesto ilustrativo es donde el dendrímero es G₁. Otro compuesto ilustrativo es donde el dendrímero es G₂.

15

En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula II es uno donde n es un entero entre 3 y 30. Un compuesto ilustrativo es donde R₁ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R₂ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R₃ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R₄ es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R₅ es H. En especial, el compuesto es donde R₁, R₂, R₃, R₄ y R₅ son H. En especial, el compuesto es un dendrímero conjugado G₂. En una modalidad, el dendrímero G₂ tiene 16 grupos amino por molécula.

20

En otra modalidad, los liposomas además comprenden un gradiente de ion más alto en el interior/más bajo en el exterior. El gradiente de ion puede ser, por ejemplo, un gradiente de ion hidrógeno (pH). Cuando el gradiente de ion es un gradiente de pH, el pH interior de los liposomas puede estar entre aproximadamente 7,5-8,5 y el pH del entorno exterior de los liposomas puede estar entre aproximadamente 6-7.

En otra modalidad, los liposomas además incluyen entre aproximadamente 1-20 porcentaje molar de una porción hidrófoba derivada con un polímero hidrófilo.

En modalidades en donde los liposomas incluyen una porción hidrófoba unida covalentemente a un polímero hidrófilo, un polímero preferido es el polietilenglicol. Una porción hidrófoba preferida es un lípido y es, preferentemente, un lípido formador de vesículas.

En otro aspecto, se proporciona un método para suministrar un compuesto de péptido de ácido borónico, que comprende preparar una suspensión de liposomas en una solución acuosa, los liposomas que tienen un compuesto encapsulado de péptido de ácido borónico unido covalentemente a un compuesto con la Fórmula I ó II para formar un compuesto peptidil de éster de boronato y administrar la suspensión de liposomas a un sujeto.

En una modalidad, los liposomas se administran mediante inyección.

En otro aspecto, se proporciona un método para destruir selectivamente tejido tumoral en un sujeto que tenga un tumor, sometido a radioterapia, que comprende administrar a un sujeto que tenga un tumor,

liposomas que tengan un péptido de ácido borónico encapsulado, unido covalentemente a un compuesto con la Fórmula I ó II para formar un compuesto peptidil de éster de boronato y un isótopo de borón; y someter a tal sujeto a una terapia de radicación de neutrones.

- 5 En una modalidad, el isótopo de borón está en el péptido de ácido borónico, tal como ^{10}B .

Además de los aspectos y modalidades ilustrativos descritos anteriormente, otros aspectos y modalidades serán aparentes con referencia a las figuras y mediante el estudio de las siguientes descripciones.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las Figuras 1A-1C muestran las estructuras de compuestos de péptido de ácido borónico ilustrativos; y

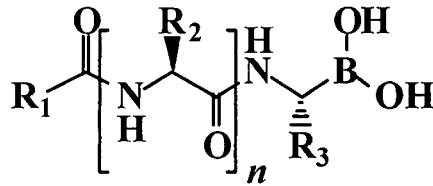
- 15 la Figura 2 ilustra la carga de un péptido de ácido borónico ilustrativo e un liposoma contra un gradiente de pH de interior más alto/exterior más bajo para la formación de un éster de boronato dentro del liposoma.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

I. Definiciones

“Compuesto de péptido de ácido borónico” se refiere a un compuesto con la forma

5



10 en donde R^1 , R^2 y R^3 porciones seleccionadas independientemente que pueden ser iguales o diferentes entre sí y n es de 1-8, preferentemente, de 1-4.

Un “polímero hidrófilo” se refiere a un polímero que tiene alguna cantidad de solubilidad en agua a temperatura ambiente. Los polímeros hidrófilos ilustrativos incluyen polivinilpirrolidona, polivinilmetileter, 15 polimetiloxazolina, polietiloxazolina, polihidroxipropiloxazolina, polihidroxipropilmetacrilamida, polimetacrilamida, polidimetilacrilamida, polihidroxipropilmetacrilato, polihidroxiethylacrilato, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, polietilenglicol, poliaspartamida y secuencias de péptidos hidrófilos. Los polímeros pueden utilizarse como homopolímeros o como 20 copolímeros de bloque o aleatorios. Una cadena de polímeros hidrófilos preferidas es polietilenglicol (PEG), preferentemente, es una cadena de PEG que tiene un peso molecular entre 500-10.000 daltons, más preferentemente entre 750-10.000 daltons, aún con más preferencia entre 750-5000 daltons.

“Gradiente de pH superior interior/inferior exterior” se refiere a un gradiente de pH de transmembrana entre el interior de los liposomas (pH más alto) y el medio externo (pH más bajo) en el cual los liposomas están suspendidos. Por lo general, el pH interior del liposoma es por lo menos 1 unidad de pH más grande que el pH del medio externo y preferentemente de 2 a 4 unidades mayor.

“Liposoma encapsulado” se refiere a un compuesto que se secuestra en el compartimento acuoso central de los liposomas, en el espacio acuoso entre las capas dobles de lípidos de los liposomas, o dentro de la capa doble misma.

10 II. Formulación del liposoma

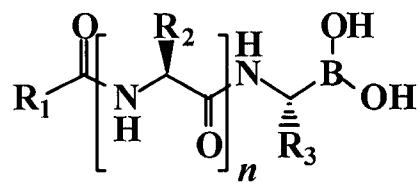
En un aspecto, la invención proporciona una composición de liposomas que tiene un compuesto encapsulado de péptido de ácido borónico. En esta sección, se describen la composición de liposomas y el método de preparación.

15

A. Componentes del liposoma

Como se observó anteriormente, la formulación del liposoma está conformado por liposomas que contienen un compuesto encapsulado de péptido de ácido borónico. Los compuestos de péptido de ácido borónico son péptidos que contiene un ácido α -aminoborónico en el extremo terminal ácido, o C de la secuencia de péptidos. En general, los compuestos de péptido de ácido borónico tienen la forma de:

20



5 en donde R₁, R₂ y R₃ son porciones seleccionadas independientemente que pueden ser iguales o diferentes entre sí y n es de 1-8, preferentemente de 1-4. También se contemplan compuestos que tienen un residuo de ácido aspártico o ácido glutámico con un ácido borónico como una cadena lateral.

Preferentemente, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan independientemente
10 de hidrógeno, alquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, aralquilo, aralcoxi, cicloalquilo, o heterociclo; o cualquiera de R₁, R₂ y R₃ puede formar un anillo heterocíclico con un átomo de nitrógeno adyacente en la cadena principal de péptidos. El alquilo, incluyendo el componente alquilo del alcoxi, aralquilo y aralcoxi es, preferentemente, de 1 a 10 átomos de carbono, con más preferencia, de 1 a 6
15 átomos de carbono y puede ser lineal o ramificado. El arilo, incluyendo el componente arilo del ariloxi, aralquilo y aralcoxi, es preferentemente mononuclear o binuclear (*es decir* dos anillos fusionados), con más preferencia mononuclear, tal como bencilo, benciloxi, o fenilo. El arilo también incluye un heteroarilo, *es decir* un anillo aromático que tiene uno o más átomos de
20 nitrógeno, oxígeno, o azufre en el anillo, tal como furilo, pirrole, piridina, pirazina, o indol. El cicloalquilo es 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 un anillo de 5 a 7

miembros que tiene de 3 a 6 átomos de carbono. Tales heterociclos incluyen, por ejemplo, pirrolidina, piperidina, piperazina y morfolina. Cualquier cicloalquilo o heterociclo puede combinarse con alquilo; *por ejemplo*, ciclohexilmetil.

Cualquiera de los grupos anteriores (excluyendo el hidrógeno) puede ser sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de halógeno, preferentemente fluoro o cloro; hidroxilo; alquilo bajo; alcoxi bajo, tal como metoxi o etoxi; ceto; aldehído; ácido carboxílico, éster, amida, carbonato, o carbamato; ácido o éster sulfónico; ciano; amino primario, secundario o terciario; nitro; amidino; y tio o alquiltio. Preferentemente, el grupo incluye como máximo dos de tales sustituyentes.

Los compuestos de péptido de ácido borónico ilustrativos se muestran en las Figuras 1A-1C. Los ejemplos específicos de R_1 , R_2 y R_3 que se muestran en las Figuras 1A-1C incluyen n-butilo, isobutilo y neopentilo (alquilo); fenilo o piracil (arilo); 4-((t-butoxicarbonil)amino)butilo, 3-(nitroamidino)propilo y (1-ciclopentilo-9-ciano)nonilo (alquilo sustituido); naftilmetil y bencilo (aralquilo); benciloxi (aralcoxi) y pirrolidina (R_2 forma un anillo heterocíclico un átomo de nitrógeno adyacente).

En general, el compuesto de péptido de ácido borónico puede ser un compuesto monopéptido, dipéptido, tripéptido, o de un péptido de orden mayor. Otros compuestos de péptido de ácido borónico ilustrativos se describen en las patentes de los Estados Unidos núms. 6.083.903, 6.297.217 y 6.617.317, que se incorporan a la presente como referencia.

Los péptidos de ácido borónico, tales como la bortezomiba, son derivados de generalmente péptidos de aminoácidos cortos de 2 a 4 que contienen ácido aminoborónico en el extremo ácido, extremo terminal C, de la secuencia (Zembower y otros., *Int. J. Pept. Protein Res.* 47(5):405-413 (1996)).

5 Debido a la capacidad para formar un complejo de borato tetrahédrico estable entre el grupo de ácido borónico y la porción de serina o histidina del sitio activo, los péptidos de ácido borónico son poderosos inhibidores de la serina-proteasa. Esta actividad a menudo es mejorada y hecha altamente específica hacia una proteasa particular, variando la secuencia de los péptidos de ácido borónico e

10 introduciendo residuos de aminoácidos no naturales y otros sustituyentes. Esto lleva a la selección de péptidos de ácido borónico con una poderosa actividad antiviral ((Priestley, E.S. y Decicco, C.P., *Org. Lett.* 2(20):3095-3097 (2000); Bukhtiyarova, M. y otros, *Antivir. Chem. Chemother.* 12 (6):367-73 (2001); Archer, S.J. y otros. *Chem. Biol.* 9(1):79-92 (2002); Priestley, E.S. y otros, *Bioorg.*

15 *Med. Chem. Lett.* 12(21):3199-202 y citotóxicas (Teicher, B.A. y otros, *Clin. Cancer Res.*, 5(9):2638-45 (1999); Frankel y otros, *Clin. Cancer Res.* 6(9):3719-28 (2000); Lightcap, E.S. y otros, *Clin. Chem.* 46(5):673-83 (2000); Adams, J., *Semin. Oncol.*, 28(6):613-19 (2001); Cusack, J.C., Jr. y otros, *Cancer Res.* 61(9):3535-40 (2001); Shah, S.A. y otros, *J. Cell. Biochem.* 82(1):110-22, (2001);

20 Adams, J., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6(4):493-500 (2002); Orlowski, R.Z. y Dees, E.C., *Breast Cancer Res.* 5(1):1-7 (2002); Orlowski, R.Z. y otros, *J. Clin. Oncol.* 20(22):4420-27, (2002); Schenkein, D., *Clin. Lymphoma* 3(1):49-55 (2002); Ling y. H. y otros, *Clin Cancer Res* 9(3): 1145-54 (2003)). Estos derivados tienen los

mismos problemas que otros péptidos cortos, más notablemente una holgura muy rápida y la incapacidad para llegar al lugar de destino *in vivo*.

Muchos compuestos de péptido de ácido borónico no tienen un grupo amino fácilmente ionizable, o son muy polares y, por lo tanto, son difíciles de cargar en un liposoma utilizando los procedimientos de carga remota convencionales, descritos anteriormente. Por lo tanto, se ha diseñado un método de carga para compuestos de péptido de ácido borónico, para proporcionar una formulación del liposoma donde el compuesto de péptido de ácido borónico es encapsulado en el liposoma en la forma de un péptido de éster de boronato, como se describirá ahora con respecto a la Figura 2. La Figura 2 muestran un liposoma 10 que tiene una membrana de dos capas de lípidos representada por una única línea continua 12. Se apreciará que en liposomas multilaminares, la membrana de dos capas de lípidos está conformada por múltiples capas dobles de lípidos con espacios acuosos intercalados. El liposoma 10 está suspendido en un medio externo 14, en donde el pH del medio externo es menor que aproximadamente 7,0, generalmente, entre aproximadamente 5,5 y 7,0, más generalmente, entre 6,0 y 7,0. El liposoma 10 tiene un compartimiento acuoso interno 16 definido por la membrana de dos capas de lípidos. Encapsulado dentro del compartimiento acuoso interno está un compuesto 18, preferentemente, un compuesto con la Fórmula I. El compuesto con la Fórmula I es, preferentemente, una porción que tiene múltiples funcionalidades hidroxilo y compuestos ilustrativos se proporcionan a continuación. El pH del compartimiento acuoso interno es preferentemente mayor que aproximadamente 7,0, con más preferencia, entre 7,1 y 9,0, aún con más preferencia entre 7,5 y 8,5.

También encapsulado en el liposoma está un compuesto de péptido de ácido borónico, representado en la Figura 2 por la bortezomiba. La bortezomiba también se muestran en el medio acuoso externo, antes de pasar a través de la membrana de dos capas de lípidos. En el medio acuoso externo, el compuesto no está cargado, debido al medio levemente ácido. En su estado sin carga, el compuesto está libremente permeable a través de las dos capas de lípidos. La formación de un éster de boronato cambia el equilibrio para producir un compuesto adicional para permear desde el medio externo a través de las dos capas de lípidos, produciendo la acumulación del compuesto en el liposoma. En otra modalidad, el pH más bajo en el medio de suspensión externo y el pH algo más alto en el liposomal interior, combinado con el agente formador de complejos dentro del liposoma, induce una acumulación de fármaco en el compartimiento acuoso interno del liposoma. Una vez dentro del liposoma, el compuesto reacciona con el agente formador de complejos para formar un éster de boronato. El éster de boronato es esencialmente incapaz de cruzar la dos capas del liposoma, por lo que el compuesto de drogas, en la forma de un éster de boronato, se acumula dentro del liposoma.

La concentración del agente formador de complejos dentro de los liposomas es preferentemente tal que la concentración de los grupos cargados, *por ejemplo*, grupos hidroxilo, es mayor que la concentración del compuesto de ácido borónico. En una composición que tiene una concentración final de fármaco de 100 mM, *por ejemplo*, la concentración interna del compuesto de los grupos de carga de polímeros será, por lo general, por lo menos así de grande.

El agente formador de complejos está presente en una concentración interna alta/externa baja; que es, que hay un gradiente de concentración del agente formador de complejos a lo largo de la membrana de dos capas de lípidos del liposoma. Si el agente formador de complejos está presente en cantidades

5 significativas en la fase a granel externa, el agente formador de complejos reacciona con el compuesto de péptido de ácido borónico en el medio externo, disminuyendo la acumulación del compuesto dentro del liposoma. Por lo tanto, preferentemente, los liposomas se preparan, como se describe a continuación, de forma tal que la composición esté sustancialmente libre de agente formador de

10 complejos en la fase a granel (fuera de la fase acuosa).

Entre diferentes moléculas que son adecuadas como agentes formadores de complejos, están los compuestos con la Fórmula I ó II, descritos anteriormente. Los compuestos con la Fórmula I ó II a partir de ésteres de boronato. Se contempla que las diferencias de reactividad entre los compuestos

15 con la Fórmula I ó II pueden utilizarse para preparar la Formulación de liposomas con un gradiente de fuerza de encapsulamiento, así ajustando las características de liberación de drogas. En general, la fuerza de retención de los reactivos formadores de complejos se relaciona con el peso molecular y las propiedades

20 y la menor propiedad hidrófoba de los reactivos formadores de complejos brinda una retención más prolongada del o los compuestos de péptido de ácido borónico.

En una modalidad, el compuesto con la Fórmula I es uno donde Y es H. Un compuesto ilustrativo es donde Y es H y R₁ es H. Otro compuesto ilustrativo

es donde Y es H y R_2 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R_3 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R_4 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R_5 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es H y R_3 es A. En especial, el compuesto es donde Y, R_1 , R_2 , R_4 , R_5 son H y R_3 es A.

- 5 Los compuestos con la Fórmula I donde Y es H, están disponibles comercialmente o se preparan de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1.

En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula I es uno donde Y es B. Un compuesto ilustrativo es donde Y es B y R_1 es H. Otro compuesto
 10 ilustrativo es donde Y es B y R_2 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R_3 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R_4 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R_5 es H. En especial, el compuesto es donde Y es B y R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es B y R_3 es A. En especial, el compuesto es donde Y es B y R_1 , R_2 , R_4 , R_5 son H y R_3 es A.

- 15 Los compuestos con la Fórmula I donde Y es B están disponibles comercialmente o se preparan de acuerdo con el procedimiento descrito en los Ejemplos 2-3.

En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula I es uno donde Y es E. Un compuesto ilustrativo es donde Y es E y R_1 es H. Otro compuesto ilustrativo
 20 es donde Y es E y R_2 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R_3 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R_4 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R_5 es H. En especial, el compuesto es donde Y es E y R_1 , R_2 , R_3 ,

R_4 y R_5 son H. Otro compuesto ilustrativo es donde Y es E y R_3 es A. En especial, el compuesto es donde Y es E y R_1, R_2, R_4, R_5 son H y R_3 es A.

Los compuestos con la Fórmula I donde Y es E están disponibles comercialmente o se preparan de acuerdo con el procedimiento descrito en el

5 Ejemplo 5.

En una modalidad, el compuesto con la Fórmula II es uno donde el dendrímero es un dendrímero G_1 o G_2 . Un compuesto ilustrativo es donde el dendrímero es G_1 . Otro compuesto ilustrativo es donde el dendrímero es G_2 .

En otra modalidad, el compuesto con la Fórmula II es un dendrímero
 10 conjugado. Un compuesto ilustrativo es un compuesto de D donde n es un entero de aproximadamente 3 a aproximadamente 30. Un compuesto ilustrativo es donde R_1 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R_2 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R_3 es H. Otro compuesto ilustrativo es donde R_4 es H. Otro compuesto
 15 ilustrativo es donde R_5 es H. En especial, el compuesto es donde R_1, R_2, R_3, R_4 y R_5 son H. En especial, el compuesto es un dendrímero conjugado G_2 . En una modalidad, el dendrímero G_2 tiene 16 grupos amino por molécula.

Los compuestos con la Fórmula II están disponibles comercialmente o se preparan de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 4.

Los liposomas en la composición están compuestos principalmente
 20 de lípidos formadores de vesículas. Tal lípido formador de vesículas es uno que se puede formar espontáneamente en vesículas de dos capas en agua, como se ejemplificó con los fosfolípidos, con su porción hidrófoba en contacto con la región interior, hidrófoba de la membrana de dos capas y su porción principal del

grupo orientado hacia la superficie exterior, polar de la membrana. También pueden utilizarse en los liposomas, lípidos capaces de ser incorporados de manera estable en capas dobles de lípidos, tales como el colesterol y sus diferentes análogos. Los lípidos formadores de vesículas son preferentemente

5 lípidos que tienen dos cadenas de hidrocarburos, por lo general, cadenas acilo y un grupo principal, polar o no polar. Existe una variedad de lípidos sintéticos formadores de vesículas y lípidos formadores de vesículas de origen natural, incluyendo los fosfolípidos, tales como fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, ácido fosfatídico, fosfatidilinositol y esfingomielina, donde las dos cadenas de

10 hidrocarburos, por lo general, están entre aproximadamente 14 y 22 átomos de carbono de longitud y tienen diferentes grados de insaturación. Los lípidos y fosfolípidos descritos anteriormente, cuyas cadenas acilo tienen diferentes grados de saturación, se pueden obtener comercialmente o preparar de acuerdo a métodos publicados. Otros lípidos adecuados incluyen glicolípidos,

15 cerebrósidos y esteroides, tales como colesterol.

El lípido formador de vesículas se puede seleccionar para lograr un grado específico de fluidez o rigidez, para controlar la estabilidad del liposoma en suero y/o para controlar la velocidad de liberación del agente encapsulado en el liposoma. Los liposomas que tienen una capa doble de lípido más rígida, o una

20 doble capa cristalina líquida, se logran mediante la incorporación de un lípido relativamente rígido, *por ejemplo*, un lípido que tiene temperatura de transición de fase relativamente alta, *por ejemplo*, hasta 60 °C. Los lípidos rígidos, *es decir*, saturados, contribuyen a una mayor rigidez de membrana en la capa doble del

lípidos. También se conoce que otros componentes del lípido, tal como el colesterol, contribuyen a la rigidez de la membrana en las estructuras de doble capa de los lípidos. Por otro lado, la fluidez del lípido se logra incorporando un lípido relativamente fluido, por lo general, uno tiene una fase de lípido con una temperatura de transición de fase cristalina líquida a líquida relativamente baja, *por ejemplo*, a o por debajo de temperatura ambiente.

Los liposomas pueden incluir opcionalmente un lípido formador de vesículas unido covalentemente a un polímero hidrófilo. Como se ha descrito, por ejemplo en la patente de los Estados Unidos núm. 5.013.556, incluir tal lípido derivado de polímero en la composición de liposomas forma un recubrimiento de superficie de cadenas poliméricas hidrófilas alrededor del liposoma. El recubrimiento de superficie de cadenas poliméricas hidrófilas es efectivo para aumentar la vida útil de la circulación sanguínea *in vivo* de los liposomas, cuando se compara con liposomas que no tienen tal recubrimiento. Los lípidos derivados de polímeros conformados por metoxi(polietilenglicol) (mPEG) y una fosfatidiletanolamina (*por ejemplo*, dimiristoil fosfatidiletanolamina, dipalmitoil fosfatidiletanolamina, distearoil fosfatidiletanolamina (DSPE), o dioleoil fosfatidiletanolamina) se pueden obtener de Avanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, AL) a diferentes pesos moleculares de mPEG (350, 550, 750, 1000, 2000, 3000 y 5000 Daltons). Los lipopolímeros de mPEG-ceramida también pueden comprarse de Avanti Polar Lipids, Inc. La preparación de conjugados de lípido-polímero también se describe en la bibliografía, *consulte* las patentes de los Estados Unidos núms. 5.631.018, 6.586.001 y 5.013.556; Zalipsky, S. y otros, *Bioconjugate*

Chem. 8:111 (1997); Zalipsky, S. y otros, *Meth. Enzymol.* 387:50 (2004). Estos lipopolímeros pueden prepararse como materiales bien definidos, homogéneos, de alta pureza, con mínima dispersión del peso molecular (Zalipsky, S. y otros., *Bioconjugate Chem.* 8:111 (1997); Wong, J. y otros., *Science* 275:820 (1997)). El

5 lipopolímero también puede ser un lipopolímero “neutro”, tal como un conjugado de polímero-distearoil, como se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 6.586.001, incorporada a la presente como referencia.

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

10 polímero es incorporado en la mezcla total de lípidos (*consulte, por ejemplo, la* patente de los Estados Unidos núm. 5.013.556).

Además, los liposomas pueden incluir un lipopolímero modificado para incluir un ligando, que forma un conjugado de lípido-polímero-ligando, también llamado en la presente como ‘conjugado de lipopolímero-ligando’. El ligando puede

15 ser una molécula terapéutica, tal como un fármaco o una molécula biológica que tiene actividad *in vivo*, una molécula de diagnóstico, tal como un agente de contraste o una molécula biológica, o un agente orientado que tiene afinidad de unión para un compañero de unión, preferentemente un compañero de unión sobre la superficie de una célula. Un ligando preferido tiene afinidad de unión con la

20 superficie de una célula y facilita la entrada del liposoma al citoplasma de una célula a través de internalización. Un ligando presente en liposomas que incluye tal lipopolímero-ligando está orientado hacia afuera de la superficie del liposoma y, por ello, está disponible para la interacción con su receptor cognado.

Los métodos para unir ligandos a lipopolímeros son conocidos, donde el polímero puede ser funcionalizado por reacción posterior con un ligando seleccionado (patente de los Estados Unidos núm. 6.180.134; Zalipsky, S. y otros, *FEBS Lett.* 353:71 (1994); Zalipsky, S. y otros, *Bioconjugate Chem.* 4:296 (1993);

5 Zalipsky, S. y otros, *J. Control. Rel.* 39:153 (1996); Zalipsky, S. y otros, *Bioconjugate Chem.* 8(2):111 (1997); Zalipsky, S. y otros, *Meth. Enzymol.* 387:50 (2004)). Los conjugados polímero-lípido funcionalizados, también pueden obtenerse comercialmente, tal como los conjugados PEG-lípido funcionalizados en el extremo (Avanti Polar Lipids, Inc.). El enlace entre el ligando y el polímero puede ser un

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

El ligando puede ser una molécula que tiene afinidad de unión con un receptor celular o con un patógeno circulante en la sangre. El ligando también puede ser una molécula terapéutica o de diagnóstico, en especial, moléculas que

15 cuando se administran en forma libre tienen una corta vida de circulación en la sangre. En una modalidad, el ligando es un ligando biológico y, preferentemente, es uno que tiene afinidad de unión con un receptor celular. Ligandos biológicos ilustrativos son las moléculas que tiene afinidad de unión con receptores para CD4, folato, insulina, LDL, vitaminas, transferrina, asialoglicoproteína, selectinas, tales

20 como selectinas E, L y P, Flk-1,2, FGF, EGF, integrinas, en especial, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$ integrinas, HER2 y otras. Los ligandos incluyen proteínas y péptidos, que incluyen anticuerpos y fragmentos de anticuerpos, tal como F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab, Fv (fragmentos que consisten en las regiones variables de las cadenas

pesadas y livianas) y scFv (moléculas de polipéptidos recombinantes de cadena única, en la cual las regiones variables liviana y pesada están conectadas por un ligador de péptido) y similares. El ligando también puede ser una molécula pequeña peptidomimética. Se apreciará que un receptor de superficie celular, o un fragmento de éste, puede servir como el ligando. Otros ligandos orientados ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, moléculas de vitamina (*por ejemplo*, biotina, folato, cianocobalamina), oligopéptidos, oligosacáridos. Otros ligandos ilustrativos se presentan en las patentes de los Estados Unidos núms. 6.214.388, 6.316.024, 6.056.973 y 6.043.094, que se incorporan a la presente como referencia.

10

B. Preparación de la formulación del liposoma

Un compuesto de péptido de ácido borónico se acumula y encapsula en los liposomas mediante la formación de un éster de boronato entre las funcionalidades hidroxilo sobre un compuesto de liposoma encapsulado con la Fórmula I y el compuesto de ácido borónico (Eggert, H. y otros, *J. Org. Chem.* 64:3846-52 (1999)). En síntesis, un compuesto con la Fórmula I que contiene múltiples funcionalidades hidroxilo está dispuesto dentro de los liposomas, el compuesto de péptido de ácido borónico se difunde a lo largo de la membrana de dos capas de lípidos del liposoma y se forma un éster de boronato, encapsulando el compuesto de péptido de ácido borónico en el liposoma.

20

En una modalidad, el proceso es iniciado por el pH, en donde un pH más bajo (*por ejemplo* pH 6-7) fuera del liposoma y un pH algo más alto (pH 7,5-8,5) en el interior del liposoma, combinado con la presencia de un

compuesto con la Fórmula I ó I, induce una acumulación y la carga del compuesto. En esta modalidad, la composición se prepara formulando liposomas que tienen un gradiente interior más alto/exterior más bajo de un compuesto con la Fórmula I ó II. Se prepara una solución acuosa del

5 compuesto con la Fórmula I ó II, seleccionada como se describió anteriormente, a la concentración deseada, determinada como se describió anteriormente. Se prefiere que el compuesto con la Fórmula I ó II, cuando está en solución, tenga una viscosidad adecuada para la hidratación del lípido, descrita a continuación. El pH del compuesto de solución acuosa con la

10 Fórmula I ó II es, preferentemente, mayor que aproximadamente 7,0.

El compuesto acuoso con la solución de Fórmula I ó II se utiliza para la hidratación de una película de lípido seca, preparada a partir de la mezcla deseada de lípidos formadores de vesículas, lípidos no formadores de vesículas (tales como colesterol, DOPE, etc.), lipopolímeros, tales como mPEG-

15 DSPE y cualquier otro componente de lípido de dos capas. Una película de lípidos seca se prepara disolviendo los lípidos seleccionados en un solvente adecuado, por lo general, un solvente orgánico volátil y evaporando el solvente para dejar una película seca. La película de lípidos seca se hidrata con una solución que contiene el compuesto con la Fórmula I ó II, ajustada a un pH

20 mayor que aproximadamente 7,0, para formar liposomas.

Los Ejemplos 1-5 describen preparaciones de liposomas compuestos de fosfatocolina (PC) del lípido de los huevos, colesterol (CHOL) y distearolfosfatidil etanolamina derivado de polietilenglicol (PEG-DSPE). Los lípidos,

a una tasa molar de 10:5:1 PC:CHOL:PEG-DSPE se disuelven en cloroformo y el solvente se evapora para formar una película de lípidos. La película lipídica se hidrata con una solución acuosa de alcohol polivinílico, pH 7,5, para formar liposomas con el compuesto de la Fórmula I ó II atrapado dentro.

5 Después de la formación de liposoma, los liposomas pueden adaptarse para obtener una población de liposomas con un rango de tamaño sustancialmente homogéneo, por lo general, entre aproximadamente 0,01 a 0,5 micrones, con más preferencia, entre 0,03-0,40 micrones. Un método efectivo de dimensionamiento para REV y MLV involucra la extrusión de una suspensión
10 acuosa de los liposomas a través de una serie de membranas de policarbonato con un tamaño de poro uniforme seleccionado en el rango de 0,03 a 0,2 micrones, por lo general 0,05, 0,08, 0,1, o 0,2 micrones. El tamaño del poro de la membrana corresponde aproximadamente a los tamaños más grandes de liposomas producidos por la extrusión a través de esa membrana, particularmente en donde
15 la preparación es extrudida dos o más veces a través de la misma membrana. Los métodos de homogeneización son útiles además para reducir el tamaño de los liposomas a tamaños de 100 nm o menores (Martin, F. J., en *Specialized Drug Delivery Systems – Manufacturing y Production Technology*, P. Tyle, Ed., Marcel Dekker, New York, pp. 267-316 (1990)).

20 Después del dimensionamiento, un compuesto en fase a granel no encapsulado de la Fórmula I ó II es eliminado mediante una técnica adecuada, tal como diálisis, centrifugación, cromatografía de exclusión de tamaño o intercambio de iones para lograr una suspensión de liposomas con una alta concentración de

compuesto de la Fórmula I ó II dentro y, de preferencia, poco a ningún compuesto de la Fórmula I ó II fuera. También después de la formación de liposoma, se ajusta la fase externa de los liposomas, mediante valoración, diálisis o lo similar, hasta un pH de menos de aproximadamente 7,0.

5 El compuesto peptídico de ácido borónico a ser atrapado se agrega luego a la dispersión de liposoma para la carga activa en los liposomas. La cantidad de compuesto de péptido de ácido borónico agregado puede determinarse a partir de la cantidad total de fármaco a ser encapsulado, asumiendo 100 % de eficiencia de encapsulación, *es decir*, en donde todo el compuesto agregado es cargado
10 eventualmente en los liposomas en forma de éster boronato.

La mezcla del compuesto y la dispersión de liposoma se incuban en condiciones que permitan la captación del compuesto mediante los liposomas a una concentración de compuesto que es varias veces la del compuesto en el medio a granel, como se evidencia por la formación de precipitado en los liposomas. La
15 última puede confirmarse, por ejemplo, mediante un microscopio electrónico estándar o técnicas de difracción de rayos X. Por lo general, la incubación se lleva a cabo a una temperatura elevada y, de preferencia, por encima de la temperatura de transición de la fase T_p de los lípidos liposoma. Para los lípidos en la fase de transición alta con T_p de 50 °C, por ejemplo, la incubación puede llevarse a cabo a
20 entre 55-60 °C. El tiempo de incubación puede variar de entre una hora o menos hasta 12 horas o más, dependiendo de la temperatura de incubación.

Al final de esta etapa de incubación, la suspensión puede tratarse además para remover el compuesto libre (no encapsulado), *por ejemplo*.,

usando cualquiera de los métodos mencionados anteriormente para remover el polímero libre de la dispersión de liposoma inicial que contiene el compuesto atrapado de la Fórmula I ó II.

Los Ejemplos 1-5 describen un método para preparar liposomas que comprenden un compuesto de ácido borónico y un compuesto de la Fórmula I ó II en forma de éster boronato, en donde el compuesto de la Fórmula I ó II es un agente formador de complejos. En estos ejemplos, se prepara una película lipídica delgada de PC de huevo y colesterol. La película lipídica se hidrata con una solución de un compuesto de la Fórmula I ó II para formar liposomas con un compuesto de la Fórmula I ó II atrapado en el compartimento acuoso interno. Un compuesto no encapsulado de la Fórmula I ó II es eliminado mediante una técnica adecuada, tal como diálisis, centrifugación, cromatografía de exclusión de tamaño o intercambio de iones para lograr una suspensión de liposomas con una alta concentración de compuesto dentro de la Fórmula I ó II y, de preferencia, poco a ningún compuesto fuera de la Fórmula I ó II. Luego, se agrega el compuesto peptídico de ácido borónico deseado al medio externo. El compuesto en su estado no ionizado es libremente permeable a través de las bicapas lipídicas liposomales. Una vez dentro de los liposomas, el compuesto reacciona con el compuesto atrapado de la Fórmula I ó II para formar un éster boronato, desviando el equilibrio hacia el pasaje de más fármaco a través de la bicapa lipídica. De esta forma, el compuesto de ácido borónico peptídico se acumula en los liposomas y queda atrapado de forma estable allí.

Las formulaciones de liposoma que incluyen un conjugado de destino lípido-polímero-ligando pueden prepararse mediante varios métodos. Un método involucra la preparación de vesículas lipídicas que incluyen un derivado polimérico-lipídico funcionalizado; es decir, un conjugado lípido-polímero en donde el extremo del polímero libre es reactivo o “activado” (ver, por ejemplo, las patentes de los Estados Unidos. núms. 6.326.353 y 6.132.763). Dicho conjugado activado se incluye en la composición de liposoma y los extremos del polímero activado reaccionan con un ligando de destino después de la formación de liposoma. En otro método, el conjugado lípido-polímero-ligando se incluye en la composición lipídica al momento de la formación de liposoma (*ver, por ejemplo*, las patentes de los Estados Unidos. núms. 6.224.903 y 5.620.689). Aun en otro método, una solución micelar del conjugado lípido-polímero-ligando es incubada con una suspensión de liposomas y el conjugado lípido-polímero-ligando se inserta en los liposomas preformados (*ver, por ejemplo*, las patentes de los Estados Unidos. núms. 6.056.973 y 6.316.024).

III. Métodos de uso

La formulación de liposoma con un compuesto de ácido borónico peptídico atrapado en forma de un éster boronato se utiliza para el tratamiento de pacientes con tumores. En modalidades en donde el compuesto de ácido borónico peptídico incluye un isótopo de boro, la formulación de liposoma puede utilizarse para la terapia por captura neutrónica de boro. Ahora se describirán estos usos.

A. Tratamiento de tumores

Los compuestos de ácido borónico se encuentran en la clase de fármacos denominados inhibidores de la proteasoma. Los inhibidores de la proteasoma inducen la apoptosis de células por su habilidad para inhibir la actividad proteasoma celular. Más específicamente, en las células eucariotas, la vía ubiquitina-proteasoma es la vía central para la degradación proteica de las proteínas intracelulares. Las proteínas son inicialmente enfocadas para la proteólisis mediante la adhesión de una cadena poliubiquitina, y luego rápidamente degradadas a pequeños péptidos mediante la proteasoma, y se libera y recicla la ubiquitina. Esta vía proteolítica coordinada depende de la actividad sinérgica del sistema conjugado de ubiquitina y de la proteasoma 26S. La proteasoma 26S es un gran complejo de múltiples subunidades (1500-2000 kDa) presente en el núcleo y el citoplasma de los eucariotes. El núcleo catalítico de este complejo, denominado proteasoma 20S, es una estructura cilíndrica que consiste en cuatro anillos heptaméricos que contienen α - β y - subunidades. La proteasoma es una proteasa treonina, la treonina N-terminal de la β -subunidad proporciona el nucleófilo que ataca al grupo carbonilo del enlace peptídico en proteínas de destino. Al menos tres actividades proteolíticas distintas se asocian con la proteasoma: quimotríptica, tríptica y peptidilglutamil. La habilidad para reconocer y aglutinar sustratos poliubiquitinados es conferida por las subunidades 19S (PA700), que se aglutinan a cada extremo de la proteasoma 20S. Las subunidades adicionales despliegan sustratos y los alimentan en el complejo catalítico 20S, a la vez que remueven las moléculas de ubiquitina

adheridas. Tanto el acoplamiento de la proteasoma 26S y la degradación de los sustratos proteicos son dependientes de ATP (Almond, *Leukemia* 16:433 (2002)).

El sistema de proteasoma ubiquitina- regula varios procesos celulares mediante la degradación coordinada y temporal de las proteínas. Al controlar los niveles de varias proteínas celulares clave, la proteasoma actúa como regulador del crecimiento celular y la apoptosis e interrupción de su actividad tiene profundos efectos en el ciclo celular. Por ejemplo, la apoptosis defectuosa está involucrada en la patogénesis de varias enfermedades que incluyen ciertos cánceres, tales como la leucemia linfocítica crónica de células B, en donde hay una acumulación de células tumorales quiescentes.

Los inhibidores de la proteasoma como una clase de compuestos en general actúan inhibiendo la degradación proteica mediante la proteasoma. La clase incluye péptidos aldehídos, péptido vinilo sulfonas, que actúan ligándose y directamente inhibiendo los sitios activos dentro del núcleo 20S de la proteasoma. Los péptidos aldehídos y péptidos vinilo sulfonas, sin embargo, se ligan a la partícula de núcleo 20S de forma irreversible, de modo que la actividad proteolítica no pueda restaurarse después de su remoción. En contraste, los compuestos peptídicos de ácido borónico confieren inhibición estable de la proteasoma, incluso se disocian lentamente de la proteasoma. Los compuestos peptídicos de ácido borónico son más potentes que sus análogos peptídicos aldehídos, y actúan más específicamente ya que la interacción débil entre boro y sulfuro significa que los boronatos peptídicos no inhiben las tiol proteasas (Richardson, P.G., *et al.*, *Cancer Control*. 10(5):361, (2003)).

La exposición de una variedad de líneas celulares derivadas de tumores a los inhibidores de la proteasoma dispara la apoptosis, probablemente como resultado de efectos en varias vías, incluso proteínas reguladoras del ciclo celular, p53, y factor nuclear kappa B (NFkB) (Grimm, L.M. y Osborne, B.A., *Results Probl. Cell. Differ.* 23:209-28 (1999); Orlowski, R.Z., *Cell Death Differ.* 6(4):303-13 (1999)). Muchos de los estudios iniciales que documentan la apoptosis mediada por el inhibidor de proteasoma usaron células de origen hematopoyético, incluso monoblastos (Imajoh-Ohmi, S. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 217(3):1070-77 (1995)), T-cell and lymphocytic leukemia cells (Shinohara, K. *et al.*, *Biochem. J.* 317(Pt 2):385-88, (1996)), lymphoma cells (Tanimoto, Y. *et al.*, *J. Biochem. (Tokyo)* 121(3):542-49 (1997)), y promyelocytic leukemia cells (Drexler, H. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94(3):355-60 (1997)). La primera demostración de actividad antitumoral *in vivo* de un inhibidor de la proteasoma utilizó un modelo de linfoma xenoinjerto humano (Orlowski, R.Z. *et al.*, *Cancer Res* 58(19):4342-48 (1998)). Además, se informó que los inhibidores de la proteasoma inducían la apoptosis preferencial del linfoma derivado del paciente (Orlowski, R.Z. *et al.*, *Cancer Res* 58(19):4342-48 (1998) y células leucémicas (Masdehors, P. *et al.*, *Br. J. Haematol.* 105(3):752-57 (1999)) y para inhibir, preferentemente, la proliferación de múltiples células de mieloma (Hideshima, T. *et al.*, *Cancer Res.*, 61(7): 3071-76 (2001)) con un relativamente escasas células de control, no transformadas. De este modo, los inhibidores de la proteasoma son particularmente útiles como agentes terapéuticos en pacientes con neoplasias hematológicas refractarias.

En una de las modalidades, una formulación de liposoma que comprende un compuesto de péptido de ácido borónico es utilizado para el tratamiento de cáncer y, más particularmente, para el tratamiento de un tumor en un paciente con cáncer.

5 El mieloma múltiple es una neoplasia incurable que se diagnostica en aproximadamente 15.000 personas en los Estados Unidos cada año (Richardson, P.G. *et al.*, *Cancer Control*. 10(5):361 (2003)). Es una neoplasia hematológica caracterizada por lo general por la acumulación de células de plasma clonal en sitios múltiples en la médula ósea. La mayoría de los pacientes
10 responde al tratamiento inicial con quimioterapia y radiación, sin embargo, muy a menudo recaen debido a la proliferación de células tumorales resistentes. En una modalidad, la invención proporciona un método para tratar el mieloma múltiple administrando una formulación de liposoma que comprende un compuesto de ácido borónico peptídico atrapado en forma de éster boronato.

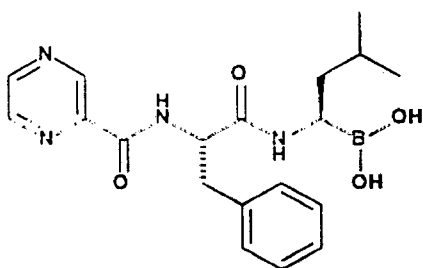
15 La formulación de liposoma es además efectiva en el tratamiento del cáncer de mama ayudando a superar algunas de las principales vías por las cuales las células cancerígenas resisten la acción de la quimioterapia. Por ejemplo, la señalización a través de NF- κ B, un regulador de apoptosis, y la vía de proteína quinasa activada por mitogen p44/42, pueden ser antiapoptóticas. Debido
20 a que los inhibidores de la proteasoma bloquean tres vías, los compuestos pueden activar la apoptosis. De este modo, el invento proporciona un método para tratar a un sujeto con cáncer de mama, mediante la administración de liposomas que comprenden un compuesto de ácido borónico peptídico. Además, debido a

que los agentes quimioterapéuticos como los taxanos y antraciclinas han demostrado que activan una o ambas de estas vías, el uso de un inhibidor de la proteasoma en combinación con agentes quimioterapéuticos convencionales actúa para mejorar la actividad antitumoral de fármacos, como paclitaxel y doxorubicina. De este modo, en otra modalidad, el invento proporciona un método de tratamiento en donde un agente quimioterapéutico, en forma libre o en forma de liposoma atrapado, se administra en combinación con un compuesto de ácido borónico peptídico de liposoma atrapado.

Las dosis y un régimen de dosificación para la formulación de liposoma dependerá del cáncer que está siendo tratado, el tamaño y la salud del paciente, y otros factores fácilmente aparentes para un cuidador médico que asiste al paciente. Además, estudios clínicos con el inhibidor de la proteosoma bortezomiba, Pyz-Phe-boroLeu (PS-341), proporcionan una amplia guía para dosis adecuadas y regímenes de dosificación. Por ejemplo, dado de forma intravenosa una o dos veces a la semana, la dosis máxima tolerada en pacientes con tumores sólidos fue de $1,3 \text{ mg/m}^2$ (Orlowski, R.Z. *et al.*, *Breast Cancer Res.* 5:1-7 (2003)). En otro estudio, la bortezomiba dado como bolo intravenoso en los días 1, 4, 8, y 11 de un ciclo de 3 semanas sugirió una dosis máxima tolerada de $1,56 \text{ mg/m}^2$ (Vorhees, P.M. *et al.*, *Clinical Cancer Res.* 9:6316 (2003)).

La formulación de liposoma se administra por lo general por vía parenteral, con preferencia, administración intravenosa. Se apreciará que la formulación puede incluir cualquier excipiente farmacéutico necesario o deseable para facilitar el suministro.

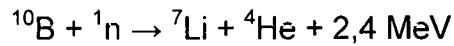
En los métodos del tratamiento descritos anteriormente, un inhibidor de la proteosoma preferido es bortezomiba, Pyz-Phe-boroLeu; Pyz: 2, 5-ácido piracincarboxílico; (PS-341), con la estructura:



Bortezomiba ha demostrado tener actividad frente a una variedad de tejidos cancerígenos, incluyendo mamas, ovarios, próstata, pulmones y frente a varios tumores, tales como tumores pancreáticos, linfomas y melanomas. (Teicher, B.A. et al., *Clin. Cancer Res.* 5(9):2638-45 (1999), Adams, J., *Semin. Oncol.*, 28(6):613-19 (2001); Orlowski, R.ZS. y Dees. E.C., *Breast Cancer Res.* 5(1):1-7 (2002); Frankel et al., *Clin. Cancer Res.* 6(9):3719-28 (2000); Shah, S. A. et al., *J. Cell. Biochem.* 82(1):110-22 (2001)).

B. Terapia de captura de neutrónica de boro

En otro aspecto, se proporciona un método para administrar un isótopo de boro 10 a un tumor, para la terapia de captura neutrónica de boro (^{10}B -NCT). La terapia de captura neutrónica de boro para el tratamiento de cáncer se basa en la interacción de isótopo ^{10}B con neutrón térmico, cada uno relativamente inocuo, de acuerdo con la siguiente ecuación:



Los resultados de reacción en la radiación ionizante intensa están confinados a células cancerígenas simples o adyacentes. De este modo, para el
5 tratamiento exitoso, se desea suministrar cantidades adecuadas de un isótopo de boro 10 a los tumores. La formulación de liposoma descrita en la presente proporciona un medio para atrapar un compuesto de ácido borónico peptídico con un isótopo ^{10}B en un liposoma. Los liposomas que incluyen un recubrimiento de superficie de cadenas poliméricas hidrófilas se acumulan de forma preferencial en
10 tumores, debido al prolongado ciclo de vida de la circulación sanguínea de dichos liposomas (*ver, por ejemplo*, patente de los Estados Unidos núms. 5.013.556 y 5.213.804). Los liposomas cargados con un compuesto peptídico de ácido borónico con un isótopo ^{10}B erradican tumores mediante dos mecanismos independientes: los liposomas actúan como un reservorio de fármaco en el tumor
15 y gradualmente liberan el compuesto anticancerígeno en el tumor y los liposomas sirven para acumular cantidades considerables de isótopos de boro 10 en el tumor ayudando la eficacia de la terapia de captura neutrónica de boro.

De lo anterior, los diferentes aspectos y características del invento son aparentes. Se describen los liposomas que comprenden un compuesto
20 impermeable de bicapa lipídica de la Fórmula I ó II y un compuesto peptídico de ácido borónico. Los liposomas se preparan mediante la encapsulación del compuesto de la Fórmula I ó II en los compartimentos acuosos internos de los liposomas, removiendo cualquier compuesto encapsulado de la Fórmula I ó II del

medio externo, agregando el compuesto de ácido borónico permeable de bicapa lipídica, que pasa a través de la membrana de bicapa lipídica para formar una unión de éster reversible con los grupos hidróxilos vicinales en el compuesto de la Fórmula I ó II. De esta forma, el compuesto de ácido borónico, que normalmente es libremente permeable a través de la bicapa lipídica, está atrapado de forma estable en los liposomas. La acumulación del compuesto peptídico de ácido borónico en los liposomas se produce en la ausencia de un ion gradiente, sin embargo, un ion gradiente puede estar presente si se desea.

10 EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran además la invención descrita en la presente y de ningún modo pretenden limitar el alcance de la invención.

Ejemplo 1

15 Síntesis del reactivo complejante del compuesto 1

Se agregó lactosa (4,1 g, 12 mmol), metilamina hidrocloreuro (1,35 g, 20 mmol), y sodio cianoborohidrido (5 M, 1,2 ml, 6 mmol) en un tubo de presión relleno con Argon, pH ajustado a 7,0 (papel pH). El tubo de reacción se selló, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h, y luego se calentó a 40 – 50 °C durante 16 h. La reacción se monitoreó mediante TLC (SiO₂, etanol/ácido acético/agua 5:1:2). La mezcla de reacción se precipitó en etanol (400 ml). El precipitado se separó por filtración y se purificó en una columna de resina de intercambio iónico (Bio-Rex 70, se usó agua como

eluyente). El producto se purificó mediante intercambio iónico. Se combinaron las fracciones de productos, y se liofilizaron para dar 1,373 g del producto como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,53 (d, $J=8$ Hz, 1 H), 4,23-4,19 (m, 1 H), 3,97-3,53 (m, 10 H), 3,55 (dd, $J=10$ y 8 Hz, 1 H), 3,361 (dd, $J=13$ y 3 Hz, 1 H), 3,14 (dd, $J=13$ y 10 Hz, 1 H), 2,77 (s, 3 H).

Liposomas cargados con bortezomiba

El compuesto 1 se disolvió en agua y se ajustó a un pH 7,4. Se disolvió una mezcla de fosfatidilcolina de huevo, colesterol, y polietilenglicol-distearoilfosfatidiletanolamina (PEG-DSPE, PEG peso molecular 2000 Da, Avanti Polar Lipids, Birmingham, AL) en una relación molar de 10:5:1 en cloroformo, el solvente se evaporó en vacío, la película lipídica se incubó con agitación en la solución del Compuesto 1, y la dispersión lipídica se extruyó bajo presión a través de 2 membranas de Nucleopore fijado (Pleasanton, CA) con un tamaño de poro de 0,2 μm . El búfer externo se cambió por NaCl 0,14 M que contiene 5 mM de sodio hidroxietilpiperazina-etano sulfonato (HEPES) a pH 6,5 usando cromatografía de gel en Sepharose CL-4B (Pharmacia, Piscataway, NJ); al mismo tiempo, el compuesto 1 no atrapado se eliminó. Para los liposomas obtenidos, se agregó bortezomiba. La mezcla se incubó durante toda la noche a 37 °C con agitación, se trató con Dowex 50 W x 4 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), y se equilibró con una solución NaCl-HEPES para remover la bortezomiba no encapsulada. Los liposomas resultantes se esterilizaron mediante filtración a través de un filtro 0,2 μm .

Ejemplo 2

Síntesis del reactivo complejante del Compuesto 2

Se agregó lactosa (4,79 g, 14 mmol), L-lisina (0,985 g, 6 mmol), sodio cianoborohidrato (5 M, 3 ml, 15 mmol), y agua MilliQ (8 ml) a un tubo de presión que contiene una barra de agitación magnética. El tubo se llenó mediante Argon, se selló y agitó a 50–60 °C durante 2 días. La mezcla de reacción se precipitó en etanol. El precipitado se separó y luego se disolvió en agua MilliQ, se agregó a un tubo de diálisis (MWCO = 500), y se dializó con agua. El producto se precipitó en etanol nuevamente, se filtró y el sólido se secó al vacío durante 2 días para lograr 3,081 g del producto como un sólido blanco. ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 4,52 (d, J=6 Hz, 1H), 4,50 (d, J=6 Hz, 1H), 4,25-4,12 (m, 2 H), 3,97-3,50 (m, 28 H), 3,07 (m, 2 H), 1,70 (ancho. m, 4 H), 1,40 (ancho m, 2 H).

Liposomas cargadas con bortezomiba

El compuesto 2 se disolvió en agua y se ajustó a un pH 7,4. Se disolvió una mezcla de fosfatidilcolina de huevo, colesterol, y polietilenglicol-distearoilfosfatidiletanolamina (PEG-DSPE, PEG peso molecular 2000 Da, Avanti Polarlipidos, Birmingham, AL) en una relación molar de 10:5:1 en cloroformo, el solvente se evaporó al vacío, la película lipídica se incubó con agitación en la solución del Compuesto 2, y la dispersión lipídica se extruyó bajo presión a través de 2 membranas de Nucleopore fijado (Pleasanton, CA) con un tamaño de poro de 0,2 μm . El búfer externo se cambió por NaCl 0,14 M que contiene 5 mM de sodio hidroxietilpiperazina-etano sulfonato (HEPES) a pH 6,5 usando

cromatografía de gel en Sepharose CL-4B (Pharmacia, Piscataway, NJ); al mismo tiempo, el Compuesto 2 no atrapado se eliminó. Para los liposomas obtenidos, se agregó bortezomiba. La mezcla se incubó durante toda la noche a 37 °C con agitación, se trató con Dowex 50 W x 4 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), y se equilibró con una solución NaCl-HEPES para eliminar la bortezomiba no encapsulada. Los liposomas resultantes se esterilizaron mediante filtración a través de un filtro 0,2 µm.

Ejemplo 3

Síntesis del reactivo complejante del Compuesto 3

Se agregó dextrosa (4,5 g, 25 mmol), L-lisina (0,985 g, 6 mmol), sodio cianoborohidrato (5 M, 5 ml, 25 mmol), y agua MilliQ (8 ml) a un tubo de presión que contiene una barra de agitación magnética. El tubo se llenó mediante Argon, se selló y agitó a 50–60 °C durante 2 días. La mezcla de reacción se precipitó en etanol. El precipitado se separó y luego se disolvió en agua MilliQ, se agregó a un tubo de diálisis (MWCO = 500), y se dializó con agua. El producto se precipitó en etanol nuevamente, se filtró y el sólido se secó al vacío durante 16 h para lograr 3,22 g del producto como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 3,84-3,60 (m, 15 H), 3,09 (ancho m, 4 H), 1,70 (ancho. m, 4 H), 1,40 (ancho m, 2 H).

20

Liposomas cargados con bortezomiba

El Compuesto 3 se disolvió en agua y se ajustó a un pH 7. Se disolvió una mezcla de fosfatidilcolina de huevo, colesterol, y polietilenglicol-

distearoilfosfatidiletanolamina (PEG-DSPE, PEG peso molecular 2000 Da, Avanti Polarlipidos, Birmingham, AL) en una relación molar de 10:5:1 en cloroformo, el solvente se evaporó en vacío, la película lipídica se incubó con agitación en la solución del Compuesto 3, y la dispersión lipídica se extruyó bajo presión a través de 2 membranas de Nucleopore fijado (Pleasanton, CA) con un tamaño de poro de 0,2 μm . El búfer externo se cambió por NaCl 0,14 M que contiene 5 mM de sodio hidroxietilpiperazina-etano sulfonato (HEPES) a pH 6,5 usando cromatografía de gel en Sepharose CL-4B (Pharmacia, Piscataway, NJ); al mismo tiempo, el Compuesto 3 no atrapado se eliminó. Para los liposomas obtenidos, se agregó bortezomib. La mezcla se incubó durante toda la noche a 37 °C con agitación, se trató con Dowex 50 W x 4 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), y se equilibró con una solución NaCl-HEPES para eliminar la bortezomib no encapsulada. Los liposomas resultantes se esterilizaron mediante filtración a través de un filtro 0,2 μm .

15

Ejemplo 4

Síntesis del reactivo complejante del Compuesto 4

El dendrímero (PAMAM, segunda generación, M.W. 3284, 20 % en peso en MeOH, 2 g) se evaporó bajo presión reducida. El residuo se disolvió en agua (5 ml), se transfirió a un tubo de presión, y el pH se ajustó a 7,0 con ácido clorhídrico. Se agregó dextrosa (0,51 g, 2,83 mmol) y sodio cianoborohidrido (5 M, 3 ml, 15 mmol) a un tubo de presión que obtiene una barra de agitación magnética. El tubo se llenó con argón, se selló y se agitó a 40°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se precipitó en etanol. El precipitado se separó y luego se

- disolvió en agua MilliQ, se agregó a un tubo de diálisis (MWCO = 1000), y se dializó con agua. Luego el producto se precipitó en etanol, filtrado, y el sólido se secó al vacío durante 16 horas para lograr 0,48 g del producto como un sólido blanco. El dendrímero usado tenía 16 grupos amino por molécula. M.W. 3284. El
- 5 Compuesto 4 fue una mezcla de varios diferentes números de conjugados.

Liposomas cargados con bortezomiba

- El Compuesto 4 se disolvió en agua y se ajustó a un pH 7,4. Se disolvió una mezcla de fosfatidilcolina de huevo, colesterol, y polietilenglicol-
- 10 distearoilfosfatidiletanolamina (PEG-DSPE, PEG peso molecular 2000 Da, Avanti Polarlipidos, Birmingham, AL) en una relación molar de 10:5:1 en cloroformo, el solvente se evaporó en vacío, la película lipídica se incubó con agitación en la solución del Compuesto 4, y la dispersión lipídica se extruyó bajo presión a través de 2 membranas de Nucleopore fijado (Pleasanton, CA) con un tamaño de poro de
- 15 0,2 μm . El búfer externo se cambió por NaCl 0,14 M que contiene 5 mM de sodio hidroxietilpiperazina-etano sulfonato (HEPES) a pH 6,5 usando cromatografía de gel en Sepharose CL-4B (Pharmacia, Piscataway, NJ); al mismo tiempo, el Compuesto 4 no atrapado se eliminó. Para los liposomas obtenidos, se agregó bortezomiba. La mezcla se incubó durante toda la noche a 37 °C con agitación, se
- 20 trató con Dowex 50 W x 4 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), y se equilibró con una solución NaCl-HEPES para eliminar la bortozemiba no encapsulada. Los liposomas resultantes se esterizaron mediante filtración a través de un filtro 0,2 μm .

Ejemplo 5

Síntesis del reactivo complejante del Compuesto 5

Se agregó lactosa (5,13 g, 25 mmol), 3-amino-1,2 propanediol, (1,64 g, 18 mmol), sodio cianoborohidrato (5 M, 3,6 ml, 18 mmol), y agua MilliQ (6 ml) a un tubo de presión que contiene una barra de agitación magnética. El tubo se llenó mediante Argon, se selló y agitó a 40-50 °C durante 2 días. La mezcla de reacción se precipitó en metanol. El precipitado se separó y luego se disolvió en agua MilliQ, se agregó a un tubo de diálisis (MWCO = 100), y se dializó con agua. Luego el producto se precipitó en etanol nuevamente, se filtró y el sólido se secó al vacío durante 16 h para lograr 1,07 g del producto como un sólido blanco. ¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 3,84-3,60 (m, 15 H), 3,09 (ancho m, 4 H), 1,70 (ancho. m, 4 H), 1,40 (ancho m, 2 H).

Liposomas cargados con bortezomiba

El Compuesto 5 se disolvió en agua y se ajustó a un pH 7,4. Se disolvió una mezcla de fosfatidilcolina de huevo, colesterol, y polietilenglicol-distearoilfosfatidiletanolamina (PEG-DSPE, PEG peso molecular 2000 Da, Avanti Polarlipidos, Birmingham, AL) en una relación molar de 10:5:1 en cloroformo, el solvente se evaporó en vacío, la película lipídica se incubó con agitación en la solución del Compuesto 5, y la dispersión lipídica se extruyó bajo presión a través de 2 membranas de Nucleopore fijado (Pleasanton, CA) con un tamaño de poro de 0,2 µm. El búfer externo se cambió por NaCl 0,14 M que contiene 5 mM de sodio hidroxietilpiperazina-etano sulfonato (HEPES) a pH 6,5 usando

cromatografía de gel en Sepharose CL-4B (Pharmacia, Piscataway, NJ); al mismo tiempo, el Compuesto 5 no atrapado se eliminó. Para los liposomas obtenidos, se agregó bortezomiba. La mezcla se incubó durante toda la noche a 37 °C con agitación, se trató con Dowex 50 W x 4 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), y se equilibró con una solución NaCl-HEPES para eliminar la bortozemiba no encapsulada. Los liposomas resultantes se esterilizaron mediante filtración a través de un filtro 0,2 µm.

Ejemplo 6

Actividad *in vitro* de bortezomiba con liposoma atrapado

Las células de mieloma múltiple crecen para confluir en placas para microtitulación. Las células se incuban con liposomas preparados como se describió en los Ejemplos 1-5 en varias concentraciones del compuesto de ácido borónico peptídico. Después de un período de incubación de 24 horas, las células se inspeccionan para apoptosis. Se descubrió que las células tratadas con la formulación de liposoma tienen mayores incidencia de apoptosis que la células de control.

Ejemplo 7

Actividad *in vitro* de bortezomiba con liposoma atrapado

Se realizaron varios estudios *in vitro* en los liposomas preparados como se describió en los Ejemplos 1-5 usando una bortezomiba con liposoma atrapado con meglumina como reactivo complejante como comparación. Los datos

fueron generados a partir de estudios vinculantes (1) ITC de la bortezomiba con los reactivos complejantes empleados en los liposomas, (2) estudios de liberación de fármacos de los liposomas; y (3) estudios de estabilidad de la carga de fármacos.

5 Estudio vinculante de fármacos ITC

Se investigó la unión de varios reactivos complejantes con bortezomiba mediante calorimetría de valoración isotérmica (VP-ITC, MicroCal, Northampton, MA) bajo parámetros controlados. Los agentes complejantes de los Ejemplos 1-5, soluciones de meglumina (1 mM) y bortezomiba (18,2 mM), se prepararon de forma individual disolviendo la cantidad deseada de materiales en la misma reserva de glicina (Sigma-Aldrich, 100 mM, pH 9,5) para asegurar la correspondencia de la concentración de glicina y el pH. El nivel de pH se verificó dos veces y se hicieron ajustes según fue necesario dentro de las 0,2 unidades. Las soluciones se desgasificaron durante 10-15 min. La solución de bortezomiba se cargó en la jeringa automatizada y se valoró (5-10 µL por inyección) con la solución de reactivo complejante (CR) cargada en la célula de muestra ITC. Los experimentos se realizaron a 30 °C. La corrida de referencia se realizó con valoración de la misma solución de fármaco en la solución de glicina 100 mM usando los mismos parámetros de prueba utilizados para las pruebas activas. El proceso de datos para generar los parámetros de unión se realizó usando el programa de software proporcionado por el fabricante ITC (Microcal origin v5.0).

CR	pH	K (mol ⁻¹)	ΔH (Kcal/mol)
Meglumina	9,5	5526	-4,1
Ejemplo 2	9,5	2589	-6,9

Ejemplo 3	9,5	1350	-9,1
Ejemplo 4	9,5	1569	-5,4
Ejemplo 5	9,5	2366	-6,3
Ejemplo 1	9,5	10.810	-9,4

Ensayo *in vitro* de liberación de fármaco en sangre pura

Se agitó una mezcla de una formulación de prueba y sangre pura de rata en una relación de volumen de 1:4 a 500 rpm, a 37 °C durante 24 horas. Las muestras se sacaron después de 0, 1, 2, 6, y 24 horas, y se agitaron a baja RPM durante varios minutos. Se eliminó el plasma sobrenadante y se analizó el fármaco libre con MS/MS. No hubo diferencia considerable destacada del fármaco liberado entre los liposomas preparados de acuerdo con el Ejemplo 1 y la bortezomiba con liposomas atrapados con meglumina como agente complejante.

Estudio de estabilidad de carga de fármaco

Las formulaciones de bortezomiba con liposomas encapsulados fueron incubadas a 25 °C, y verificadas con el tamaño de partícula, pH, y la eficiencia de la encapsulación de fármacos. La eficiencia de la encapsulación de fármacos se determinó con una cromatografía de exclusión de tamaño. La muestra (100 uL) se cargó en Bio-Gel, P-6 columna (0,5 x 30 cm), se eluyó con pH 7,0, solución 100 mM HEPES-NaCl (150 mM), y se recolectaron fracciones (1 ml/cada). Las fracciones de fármaco libre y liposomales se verificaron por UV a 270 nm, y se combinaron, respectivamente, y luego se analizaron mediante HPLC.

Estudio de estabilidad de carga de fármaco liposomal a 25 °C					
Lote núm.	CR	E.E. (día 1)	E.E. (1 mes)	E.E. (2 mes)	E.E. (4 mes)

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende liposomas formados por un lípido formador de vesícula, y atrapados en los liposomas un compuesto de éster boronato que comprende un compuesto peptídico de ácido borónico y un compuesto de la Fórmula I o Fórmula II.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque el compuesto peptídico de ácido borónico es un compuesto dipeptidil de ácido borónico.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque el compuesto peptídico de ácido borónico es bortezomiba.
4. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque el compuesto es un compuesto de la Fórmula II, y caracterizada además porque R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 son H.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada además porque D es un dendrímero G_2 conjugado con 16 grupos amino por molécula.
6. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque el compuesto es un compuesto de la Fórmula I, y caracterizada además porque Y es H, B, o E.

7. La composición de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizada además porque R_1 es H, o R_2 es H, o R_3 es H o A, o R_4 es H, o R_5 es H.
8. La composición de acuerdo con la reivindicación 6, caracterizada además porque Y, R_1 , R_2 , R_4 , R_5 son cada una H y R_3 es A.
9. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque los liposomas además comprenden un gradiente iónico interno mayor/externo menor.
10. La composición de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada además porque el gradiente iónico es un gradiente iónico de hidrógeno.
11. La composición de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizada además porque el gradiente iónico de hidrógeno proporciona un pH entre aproximadamente 7,5-8,5 y un pH externo entre aproximadamente 6-7.
12. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque los liposomas además comprenden entre aproximadamente 1-20 por ciento de moles de una entidad hidrófoba derivada con un polímero hidrófilo.
13. La composición de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizada además porque la entidad hidrófoba derivada con un polímero hidrófilo es una entidad hidrófoba derivada con polietilenglicol.
14. La composición de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizada además porque la entidad hidrófoba es un lípido.

15. Una composición para la terapia con un compuesto peptídico de ácido borónico; la composición comprende una composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque la composición se administra a un sujeto.
- 5 16. La composición de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizada además porque la composición se administra a través de una inyección.
17. La composición de acuerdo con la reivindicación 15, para tratar el mieloma múltiple.
- 10 18. Una composición para usar en el tratamiento del mieloma múltiple, que comprende una composición de liposoma de acuerdo con la reivindicación 1.
19. Una composición para destruir de forma selectiva tejido tumoral en un sujeto con un tumor que experimenta terapias de radiación, la
15 composición que comprende una suspensión de liposomas de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada además porque la suspensión se administra a un sujeto en conjunto con un isótopo de boro; y más aún caracterizada además porque el sujeto recibe terapia de radiación.
20. La composición de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizada además porque el isótopo de boro se encuentra en el ácido borónico peptídico.
- 20 21. La composición de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizada además porque el isótopo de boro es un ^{10}B .

PCT REQUEST

Paper Copy (NOT for submission)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
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-5293-PCT
I	Title of Invention	LIPOSOME FORMULATIONS 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

Paper Copy (NOT 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. (36,435)
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

Paper Copy (NOT 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	60/957,049	
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 20.6, 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 REQUEST

Paper Copy (NOT for submission)

IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	4	✓
IX-2	Description	30	-
IX-3	Claims	3	-
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	2	-
IX-7	TOTAL	40	
	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	

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
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	
------	--	--

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

Paper Copy (NOT for submission)

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

0	For receiving Office use only			
0-1	International Application No.			
0-2	Date stamp of the receiving Office			
0-4	Form PCT/RO/101 (Annex)			
0-4-1	PCT Fee Calculation Sheet Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.51.029.204 MT/FOP 20080701/0.20.5.12		
0-9	Applicant's or agent's file reference	ALZ-5293-PCT		
2	Applicant	ALZA CORPORATION		
12	Calculation of prescribed fees	fee amount/multiplier	Total amounts (USD)	
12-1	Transmittal fee T	⇒	300	
12-2-1	Search fee S	⇒	2665	
12-2-2	International search to be carried out by	EP		
12-3	International filing fee (first 30 sheets) i1	1338		
12-4	Remaining sheets	10		
12-5	Additional amount (X)	15		
12-6	Total additional amount i2	150		
12-7	i1 + i2 = i	1488		
12-12	EASY Filing reduction R	-101		
12-13	Total International filing fee (i-R) I	⇒	1387	
12-14	Fee for priority document Number of priority documents requested	1		
12-15	Fee per document (X)	0		
12-16	Total priority document fee: P	⇒		
12-17	Fee for restoration of priority rights RP Number of requests for restoration of priority rights	0		
	Total amount of fees for restoration of priority rights			
12-18	TOTAL FEES PAYABLE (T+S+I+P+RP)	⇒	4352	

PCT (ANNEX - FEE CALCULATION SHEET)

Paper Copy (NOT for submission)

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

12-21	Mode of payment	authorization to charge deposit account
12-22	Deposit account instructions The receiving Office	United States Patent and Trademark Office (USPTO) (RO/US)
12-22-1	Authorization to charge the total fees indicated above	✓
12-22-2	Authorization to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above	✓
12-22-3	Authorization to charge the fee for priority document	✓
12-23	Deposit account No.	10-0750/ALZ-5293-PCT/LAD
12-24	Date	21 August 2008 (21.08.2008)
12-25	Name and signature	/Laura A. Donnelly/DONNELLY, Laura A., Reg. No. 38,435

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

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/026430 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/US2008/073844

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

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/957,049 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]; 21337 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, EH, EF, BW, EY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HP, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LF, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, PQ, PS, RU, SC, SD, SE, SG, SH, SI, 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 FORMULATIONS OF BORONIC ACID COMPOUNDS

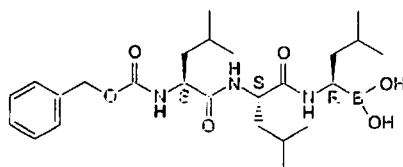


FIG. 1A

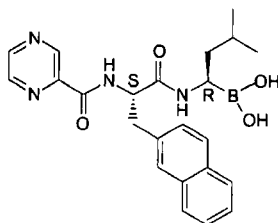
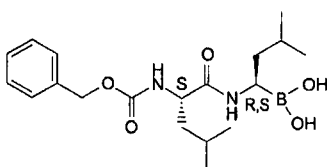


FIG. 1B



Cbz-Leu-boroLeu (free acid)

FIG. 1C

(57) Abstract: A liposome composition comprised of liposomes having a peptide boronic acid proteasome inhibitor compound entrapped in the liposomes is described. More specifically, liposomes having a compound of Formula I or II entrapped in the interior aqueous compartment are loaded with a peptide boronic acid compound, to form a boronate ester compound inside the liposomal aqueous compartment. In one embodiment, the liposomes have an outer coating of hydrophilic polymer chains and are used to treat a solid tumor in a subject.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference ALZ-5293-PCT	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2008/073814	International filing date (<i>day/month/year</i>) 21/08/2008	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 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 7 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 12.3(a) and 23.1(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 38.2(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/US2008/073844

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K9/127 A61K31/09 A61K41/00 A61K47/48

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, CHEM ABC Data, 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 32 page 10, line 18 - page 11, line 15 page 14, lines 28-31 page 19, lines 26-29 figure 2 claims examples 1,2	1-3,6-21
A	----- -/--	4,5

☒ 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 of 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.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 October 2009

Date of mailing of the international search report

13/10/2009

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/US2008/073844

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 1 466 916 A (TRIGEN LTD [GB]) 13 October 2004 (2004-10-13)	1,6,7, 15,16
Y	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	1-3,6-21
A	----- RICO-LATTES, I. ET AL: "Chiral aggregates and asymmetric induction of the reduction of prochiral ketones" CHIRALITY, 13(1), 24-29 CODEN: CHRLEP; ISSN: 0899-0042, 2001, XP002548515 abstract pages 25,26; figure 1	4,5
A	----- WU G ET AL: "SITE-SPECIFIC CONJUGATION OF BORON-CONTAINING DENDRIMERS TO ANTI-EGF RECEPTOR MONOCLONAL ANTIBODY CETUXIMAB (IMC-C225) AND ITS EVALUATION AS A POTENTIAL DELIVERY AGENT FOR NEUTRON CAPTURE THERAPY" BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 15, no. 1, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 185-194, XP001047129 ISSN: 1043-1802 pages 186,187; figure 1	4,5
A	----- PAPAGIANNAROS ET AL: "Doxorubicin-PAMAM dendrimer complex attached to liposomes: Cytotoxic studies against human cancer cell lines" INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS, ELSEVIER BV, NL, vol. 302, no. 1-2, 30 September 2005 (2005-09-30), pages 29-38, XP005017003 ISSN: 0378-5173 abstract	4,5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2008/073844

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-3 partially; 6-8; 9-21 partially

liposomal composition comprising boronate ester compound
comprised of a compound of Formula I

2. claims: 1-3 partially; 4, 5; 9-21 partially

liposomal composition comprising boronate ester compound
comprised of a compound of Formula II

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/073844

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 101094642 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 20070035642 A	27-08-2007
		KR 20070035644 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 2535788 A1	19-03-2004
		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/US2008/073844

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

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:
 JOHNSON & JOHNSON
 Attn: Johnson, Philip S.
 One Johnson & Johnson Plaza
 New Brunswick, NJ 08901
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

RECEIVED
 OCT 16 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 44.1)

Applicant's or agent's file reference AL3-5293-PCT	Date of mailing (day/month/year) 13/10/2009
International application No. PCT/US2008/073844	International filing date (day/month/year) 21/08/2008
Applicant ALZA CORPORATION	

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 13:

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) 338.82.70

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 90**bis**.1 and 90**bis**.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 E1 and E2).

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 34 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 28 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 49 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, 33 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 66.1b/s(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 43b/s.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-5293-PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2008/073844International 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 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 22 538 29 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 09933-0002
ETATS-UNIS D'AMERIQUEDate of mailing (day/month/year)
21 November 2008 (21.11.2008)Applicant's or agent's file reference
ALZ-5293-PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/US2008/073844International 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

State of Nationality

State of Residence

LUO, Bing
44549 Mesquite Court
Fremont, CA 94539
United States of America

US

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

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'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 21 November 2008 (21.11.2008)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ALZ-5293-PCT	
International application No. PCT/US2008/073844	
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 22 336 74 04
Facsimile No. +41 22 336 39 95	

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'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 21 November 2008 (21.11.2008)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference ALZ-5293-PCT	
International application No. PCT/US2008/073844	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 Facsimile No. +41 22 338 89 95	Authorized officer Devillard Marie-José e-mail pt04.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 04
---	--

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year) 23 September 2008 (23.09.2008)	TO: JOHNSON, Philip S. Johnson & Johnson One Johnson & Johnson Plaza New Brunswick, New Jersey 08933-0002 ETATS-UNIS D'AMERIQUE
Applicant's or agent's file reference ALZ-5293-PCT	
International application No. PCT/US2008/073844	
International publication date (day/month/year) Not yet published	
International filing date (day/month/year) 21 August 2008 (21.08.2008)	
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 "TR", 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 Office, 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.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
21 August 2007 (21.08.2007)	60/867,048	US	01 September 2008 (01.09.2008)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 32 70	Authorized officer Athina Nickitas-Etienne e-mail PT04.PCT@WIPO.INT Telephone No. +41 22 338 74 04
---	--



No. 10-021190- -00000-0000

Fecha: 2010-02-23 15:41:29 Dep. 2020 DIR.NULVASCH
Tra. 11 PATENTE IYII Eve: 378 FASE NACIONAL I
Act. 411 PRESENTACION Folios: 94

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

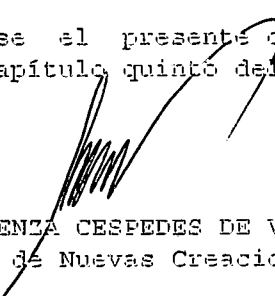
REFERENCIA	Radicación No.	10 21190
	Solicitud internacional	PCT/US2008/073844
	Fecha inicio fase nacional	21/03/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	005050

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 39 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

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 pisos 2, 5, 7 y 10 PBX: 5370000
Sede CAM: Av. Carrera 50 No. 26 - 55 int.2. Tel 5880070
Call Center 6513240. Línea 01600-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. Colombia