
00 29421

SOLICITUD DE
TE DE
CION
ONAL

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00029421 00000000
Fecha (AMD): 2000-04-24 17:06:36
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 105

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social	DR. R. PRESTON MASON
No. de Identificación	
Representante Legal (Persona Jurídica)	
País de Domicilio	Estados Unidos de América.
Departamento o Estado	Pennsylvania
Dirección	
Ciudad	
	Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre	CARLOS R. OLARTE	
Dirección	CALLE 35 No. 7-25 Piso 4	
Ciudad	SANTAFE DE BOGOTÁ	
	Teléfono	285-14-00/570-0010

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)	DR. R. PRESTON MASON
Identificación	
Dirección	
Ciudad	
	Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención EFFECTOS SINÉRGICOS DE LA AMLOPIDINA Y ATORVASTATINA O METABOLITO DE LA ATORVASTATINA COMO BASE PARA UNA TERAPIA COMBINADA.

PRIORIDAD REIVINDICADA	SI ☒ NO ☐	TIPO DE PRIORIDAD	ANDINA ☐ UNIONISTA ☒
(33) País	US	(32) Fecha	Abril 23, 1999
	US		Julio 23, 1999
	US		Agosto 27, 1999
	US		Noviembre 19, 1999
(31) No. Solicitud	60/130,659 y 60/130,665		NO
	60/145,305		✓
	60/151,121		✓
	60/166,592		✓
Para Publicar a los	☒ 6 meses	☐ 12 meses	☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

2

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica ☐
- Letras debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la SIC ☐
- Recibo de la tasa respectiva ☒
- Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras de la publicación ☐
- Si se reivindica prioridad Andina:
- Copia de la primera solicitud ☐
- Traducción oficial ☐
- Si se reivindica prioridad Unionista:
- Copia certificada de la primera solicitud ☐
- Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior
- Traducción simple ☐
- Capítulo descriptivo ☒
- Dibujos, planos necesarios ☒
- Capítulo reivindicatorio ☒
- Tarjeta archivo propietarios según formato ☒
- Tarjeta archivo temático según formato ☒
- Extracto para publicación según formato ☒
- Arte final 12 x 12 y 6 x 6 cms ☐
- Otros Documentos ☐

**SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO
QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD**

FIRMA

NOMBRE CARLOS R. OLARTE

CC. 79.782.747 de Bogotá

T.P.No. 74.295



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 21,339
FECHA : MARZO 31 DE 2000

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00029421 00000000 Folios: 105
Fecha (AMD): 2000-04-24 17:06:36
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	Nº. PAGO	Vr. PAGO
ALVARO CORREA ORDONEZ	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00024-9	950432	18,995,000.00

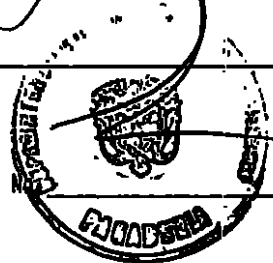
***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL :	608,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE N°



Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colom

4 4

EFFECTOS SINÉRGICOS DE LA AMLOPIDINA Y ATORVASTATINA O
5 METABOLITO DE LA ATORVASTATINA COMO BASE PARA UNA TERAPIA
COMBINADA

Referencias cruzadas de Solicitudes relacionadas

10 Esta solicitud reivindica prioridad sobre las
siguientes cuatro solicitudes de patente provisionales: la
Solicitud U.S. No. 60/130.665, presentada el 23 de abril de
1999; la Solicitud U.S. No. 60/145.305, presentada el 23 de
julio de 1999; la Solicitud U.S. No. 60/151.121, presentada
15 el 27 de agosto de 1999; y la Solicitud U.S. No. 60/166.592
presentada el 19 de noviembre de 1999.

Campo del Invento

El presente invento está relacionado con composiciones
20 y combinaciones farmacéuticas para tratar enfermedades
coronarias y arteriales y trastornos relacionados.

Antecedentes del Invento

La enfermedad coronaria (CAD) es la principal causa de
25 mortalidad en el mundo desarrollado, e igualmente está

5
X

asociada con una morbilidad significativa. Usualmente, el paciente con CAD tiene varias condiciones concomitantes dentro de las cuales están la hipertensión, la diabetes, y la dislipidemia, las cuales incrementa el riesgo general de obtener pobres resultados y complicar así el tratamiento.

Entre las terapias antihipertensivas, el besilato de amlodipina (AML), un bloqueador de los canales de calcio tipo dihidropiridina lipofílica, es un agente bien tolerado con un registro establecido de seguridad y efectividad para el tratamiento de la hipertensión y la angina. Un papel terapéutico potencial para el AML, en el tratamiento de pacientes con enfermedad coronaria, fue recientemente demostrado en el Estudio Evaluación Prospectiva Aleatoria de los Efectos Vasculares del Norvasc® (AML) (PREVENT). Este estudio de tres años evaluó los efectos del AML comparado con un placebo en el desarrollo y progresión de las lesiones ateroscleróticas en las arterias coronarias y carótidas entre los pacientes con enfermedad coronaria documentada (Byington RP, Miller ME, Herrington D, et al., Razón fundamentada, diseño y características generales del Estudio Evaluación Prospectiva Aleatoria de los Efectos Vasculares del Norvasc® (PREVENT), *Am. J. Cardiol.* 1997; 80:1087-1090). Los resultados de PREVENT mostraron

9

beneficios clínicos importantes con la terapia con AML
incluyendo una reducción general del 30% en los principales
eventos o procedimientos documentados (Byington RP, Chen J,
Furberg CD, Pitt B. Efectos de la Amlodipina sobre los
5 eventos y procedimientos cardiovasculares. *J. Am. Coll.*
Cardiol. 1999; 33:314A). La terapia con AML también fue
asociada con una reducción significativa en la progresión
de la aterosclerosis de la carótida, tal como se midió por
los registros ecográficos modo-B (Byington R, Riley W,
10 Booth D, et al., Efecto de la amlodipina en la progresión
de la aterosclerosis carotídea en pacientes con enfermedad
cardiaca documentada. *Am. J. Hypertens.* 1999; 12:42A-43A).
Los beneficios clínicos observados con AML en CAD no habían
sido reportados previamente con otros bloqueadores de
15 canales de calcio (CCB's), incluyendo los agentes tipo
dihidropiridina, los cuales habían sido utilizados para
examinar este tema. (Waters D, Lesperance J, Francetich M,
et al., Un estudio clínico controlado para medir el efecto
de un bloqueador de canales de calcio en la progresión de
20 la aterosclerosis coronaria. *Circulation* 1990; 82:1940-
1953; Lichtlen PR, Hugenholtz PG, Rafflenbeul W, et al.
Retardo de la enfermedad coronaria en humanos mediante el
bloqueador de canales de calcio, nifedipina: Resultados
del estudio INTACT (Estudio Internacional de Nifedipina en

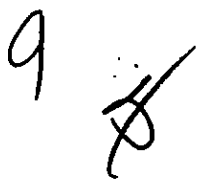
2

la Terapia Antiateroesclerótica). *Cardiovasc. Drugs Ther.* 1990; 4:S1047-S1068; Borhani NO, Mercuri M, Borhani PA, et al. Resultados finales del Estudio Multicentro Isradipina Diurética de la Aterosclerosis (MIDAS). Un estudio controlado aleatoriamente. *JAMA* 1996; 276:785-791). Esta observación ha llevado a un interés en las propiedades antiaterogénicas potenciales del AML, entre las cuales incluimos los efectos antioxidantes los cuales son independientes de la modulación de los canales de calcio (Mason RP, Leeds PR, Jacob RF, et al. Inhibición de la apoptosis neuronal excesiva por la amlodipina, antagonista del calcio, y los antioxidantes en células granulares del cerebelo. *J. Neurochem.* 1999; 72:1448-1456; Tulenko TN, Laury-Kleintop L, Walter MF, Mason RP. Colesterol, calcio y aterosclerosis: ¿Existe un papel para los bloqueadores de los canales de calcio en la ateroprotección? *Int. J. Cardiol.* 1997; 62 (2 Suppl):55S-66S; Kramsch DM, Sharma RC. Límites de la terapia de disminución de lípidos: Los beneficios de la amlodipina como agente anti-ateroesclerótico. *J. Hum. Hypertens.* 1995; (Suppl 1):S3-S9).

La terapia hipolipidémica también se ha demostrado ser muy útil en reducir morbilidad y mortalidad asociada con

8

enfermedad coronaria. Entre los inhibidores de la HMG-CoA reductasa, el atorvastatina (AT) ha demostrado en ser muy efectivo como terapia hipolipidémica (Nawrocki JW, Weiss SR, Davidson MH, et al. Reducción del colesterol LDL entre un 25% y 60% en pacientes con hipercolesterolemia primaria con atorvastatina, un nuevo inhibidor de la HMG-CoA reductasa. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15:678-682; Bakker-Arkema RG, Davidson MH, Goldstein RJ, et al. Eficacia y seguridad de un nuevo inhibidor de la HMG-CoA reductasa, atorvastatina, en pacientes con hipertrigliceridemia. *JAMA* 1996; 275:128-133). En un reciente estudio clínico que involucraba pacientes con enfermedad coronaria estable y avanzada, una terapia agresiva reductora de lípidos con atorvastatina retardó el tiempo significativamente hacia un primer evento isquémico y redujo, en un 36%, la incidencia general de los eventos cardiovasculares, al compararlos con la angioplastia con un cuidado médico usual (Pitt B, Waters D, Brown WV, et al. Terapia agresiva reductora de lípidos combinada con angioplastia en enfermedad coronaria estable. *N. Engl. J. Med.* 1999; 341:70-76). Adicionalmente, los metabolitos hidroxilados de la AT han demostrado en exhibir efectos antioxidantes en preparaciones de lipoproteínas (Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL, Newton RS. Atorvastatina y

9 
metabolitos de gemfibrozilo, pero no las drogas
precursoras, son antioxidantes potentes contra la oxidación
de lipoproteinas. *Atherosclerosis* 1998; 138:271-280).

5 Sin embargo, actualmente no existe ninguna composición
farmacéutica para tratar ambas la hipertensión y la
hiperlipidemia. Tal composición farmacéutica tendría
varios beneficios. Por ejemplo, los múltiples factores de
riesgo de las enfermedades cardiacas y otras relacionadas
10 que usualmente están presentes en un paciente podrían ser
simultáneamente atacados. Adicionalmente, la facilidad de
tomar una dosis combinada podría significativamente realzar
el acatamiento del paciente con los regímenes terapéuticos.

15 Por consiguiente, es un objeto de este invento ofrecer
una terapia combinada que trate los múltiples procesos
patológicos involucrados en la enfermedad arterial y
enfermedades cardiacas relacionadas. Estas incluyen, pero
no están limitadas a la hipertensión y la hiperlipidemia.
20 Es también un objeto de este invento desarrollar niveles y
formas de dosificación útiles y convenientes de tal
combinación terapéutica. Preferiblemente, esta combinación
farmacéutica tendría efectos sinérgicos sobre estas marcas
de contraste de las enfermedades arteriales y cardiacas

relacionadas, de tal manera que los efectos individuales de los componentes de esta combinación serían realizados por su combinación.

5 Por lo tanto, este invento abarca un objetivo terapéutico para el tratamiento de la enfermedad coronaria que acarrea el desarrollo de fármacos que puedan simultáneamente atacar múltiples procesos patológicos subyacentes que contribuyen a la aterosclerosis, y así
10 alterando la trayectoria de la enfermedad. Por consiguiente, al utilizar este invento, la terapia de la enfermedad coronaria podrá tener mayores resultados positivos si el uso de un agente antihipertensivo y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa fuera combinado en un
15 sistema de entrega único.

Resumen del Invento

De manera inesperada, al combinarse AML y AT, ellos tuvieron un efecto sinérgico en la prevención de la
20 peroxidación lípida en lipoproteínas de baja densidad humana (LDL) y membranas lípidas; este efecto ocurrió adicionalmente a sus efectos terapéuticos muy establecidos para la dislipidemia y la hipertensión. La actividad de la combinación es considerada sinérgica puesto que el efecto

12

medido excedió de manera significativa cualquier efecto
aditivo de las dos drogas. Por consiguiente, estos agentes
tienen hasta ahora efectos antioxidantes sinérgicos no
reconocidos, una propiedad que permitiría a estos agentes
5. incrementar la resistencia de LDL y membranas celulares
vasculares a la modificación oxidativa durante la
aterogénesis. Efectivamente, la modificación oxidativa de
los lípidos es una causa muy bien establecida del daño al
endotelio y al músculo liso subyacente (Ross R.
10 Aterosclerosis - Una enfermedad inflamatoria. *N. Engl. J.
Med.* 1999; 340:115-126; Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney
JF. Los antioxidantes y la enfermedad cardíaca
ateroesclerótica. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337:408-416). Los
agentes lipofílicos que protegen contra la peroxidación
15 lípida han demostrado en reducir el desarrollo de lesiones
en varios modelos de aterosclerosis como también estudios
clínicos (Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF. Los
antioxidantes y la enfermedad cardíaca aterosclerótica. *N.
Engl. J. Med.* 1997; 337:408-416). Igualmente, el beneficio
0 asociado con la terapia hipolipidémica es atribuido a ambos
su efecto sobre niveles en el plasma de lipoproteínas de
muy baja densidad (VLDL), LDL, y lipoproteínas de alta
densidad (HDL) y, como consecuencia, a una reducción en la
formación potencial de lipoproteínas oxidadas aterogénicas.

2
12

Los análisis científicos que soportan el uso combinado de AML (Norvasc®) y AT (Lipitor®) en un sistema de entrega único para el tratamiento de la enfermedad cardiovascular están descritos en este invento. Específicamente, las actividades antioxidantes sinérgicas del bloqueador de canales de calcio, AML, y el inhibidor de la HMG-CoA reductasa, AT, incluyendo su metabolito hidroxilado activo, (ATM), fueron evaluadas en LDL y membranas lípidas humanas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), el objetivo clave del daño oxi-radical en la aterosclerosis. Los efectos sinérgicos de estos agentes fueron demostrados en membranas preparadas en presencia del colesterol. La combinación de AML y ATM efectuó una reducción dramática y sostenida en el daño oxi-radical de lípidos a concentraciones tan bajas como 10.0 nM. La actividad antioxidante dependiente de la dosis, asociada con la combinación de estas drogas a niveles terapéuticos fue altamente sinérgica y no pudo ser efectivamente reproducida por el agente endógeno, la vitamina E. La inhibición sinérgica de la peroxidación lípida también fue observada con la combinación de AML y AT. Sin embargo, la actividad antioxidante no fue observada cuando el AML fue combinado con otros inhibidores de la HMG-CoA reductasa, incluyendo

13

la lovastatina y la mevastatina. Tal como se determina mediante difracción por rayos X y análisis químicos, la actividad diferente descrita para esta combinación de fármacos puede ser atribuida a interacciones fisicoquímicas fuertes con la bicapa de la membrana que son independientes de los efectos bastante característicos de estos fármacos sobre el transporte del calcio y el metabolismo del colesterol. Este beneficio antioxidante sinérgico constituye un nuevo mecanismo de acción farmacológico para estos compuestos y una razón fundamental urgente para el uso combinado de los ingredientes activos en Norvasc® y Lipitor® en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares al reducir los niveles de LDL en plasma y mejorar la protección de LDL y las membranas celulares contra la oxidación. Esta nueva propiedad complementa los efectos establecidos de estos fármacos con relación a la hipertensión y la dislipidemia.

Otros objetos, características y ventajas del presente invento serán aparentes a partir de la siguiente Descripción Detallada de las Realizaciones Preferidas tomadas conjuntamente con los dibujos acompañantes en donde:

Breve Descripción de los Dibujos

14. 

La Figura 1 muestra los efectos sinérgicos de AML y ATM sobre la peroxidación lípida a una baja concentración terapéutica de la droga (100.0 nM) en membranas que contienen niveles fisiológicos de colesterol. x es el porcentaje de inhibición de la peroxidación lípida e y es el tratamiento con amlodipina (AML), metabolito de atorvastatina (ATM), y la combinación de ambos (AML + ATM) a un nivel de 100 nM. Los valores son la media±desviación estándar para n = 6. *** indica $p < 0.001$ versus control y otros tratamientos.

La Figura 2 muestra el efecto antioxidante dependiente de la dosis, de la combinación de AML y ATM sobre una amplia gama de concentraciones (0.01 hasta 10.0 μ M). x es el porcentaje de inhibición de la peroxidación lípida e y es el tratamiento con la combinación de AML y ATM en las concentraciones micromolares indicadas. Los valores son la media±desviación estándar para n = 6. *** indica $p < 0.001$ versus control y otros tratamientos.

La Figura 3 muestra la actividad antioxidante superior de la combinación AML/ATM comparado con la vitamina E como

4
15

una función del tiempo a una concentración idéntica (10.0 μM). x es el porcentaje de inhibición de la peroxidación lípida e y es el tratamiento con la combinación de amlodipina y metabolito de atorvastatina (AML + ATM), columna oscurecida, o vitamina E(E), columna con líneas entrecruzadas, ambos a 10 μM . Los valores son la media $\pm$ desviación estándar para n = 6 hasta 12. *** indica $p < 0.001$ versus control y otros tratamientos.

La Figura 4 muestra la actividad antioxidante comparativa del AML/ATM versus AML/AT a dos diferentes concentraciones. x es el porcentaje de inhibición de la peroxidación lípida e y es el tratamiento con la combinación de amlodipina y metabolito de atorvastatina (AML + ATM), columna oscurecida, o amlodipina y atorvastatina (AML + AT), columna con líneas entrecruzadas, a las concentraciones micromolares indicadas. Los valores son la media $\pm$ desviación estándar para n = 5 hasta 6. *** indica $p < 0.001$ versus control y otros tratamientos.

20

La Figura 5 muestra los sitios de abstracción de protones (S1, S2, y S3) del ATM que contribuye a la actividad antioxidante en el gráfico 5A conjuntamente con

los cálculos de estabilización de resonancia (gráficos 5B hasta 5D).

16

La Figura 6 muestra los efectos comparativos de la actividad antioxidante del AML al combinarse con diferentes inhibidores de la HMG-CoA reductasa a la misma concentración. x es el porcentaje de inhibición de la peroxidación lípida e y es el tratamiento con la combinación de amlodipina y metabolito de atorvastatina (AML + ATM), columna oscurecida; amlodipina y atorvastatina (AML + AT), columna oscurecida; amlodipina y mevastatina (AML + M), columna con líneas entrecruzadas; o amlodipina y lovastatina (AML + L), ninguna inhibición de la peroxidación lípida; todos a 1.0 μ M. Los valores son la media $\pm$ desviación estándar para n = 6 hasta 12. *** indica p < 0.001 versus control y otros tratamientos.

La Figura 7 muestra los efectos antioxidantes sinérgicos de AML y ATM en muestras de LDL humanas, al compararlos con Trolox C (vitamina E soluble). En el gráfico A, x es la formación de sustancias reactivas tiobarbitúricas (TBARS) medida a una absorbancia de 532 nm e y es el tiempo en horas. El control está indicado

17

mediante círculos rellenos con líneas sólidas, Trolox C
(vitamina E soluble) está indicado por triángulos
invertidos rellenos con pequeñas líneas intermitentes, AML
solo está indicado por diamantes abiertos con largas líneas
5 intermitentes, ATM solo está indicado por círculos abiertos
con líneas intermitentes largas y cortas alternándose, y
AML y ATM está indicado por cuadrados rellenos con líneas
intermitentes. En el gráfico B, x es la formación de
substancias reactivas tiobarbitúricas (TBARS) medida a una
10 absorbancia de 532 nm e y es el tratamiento con la
combinación de amlodipina (AML), columna oscurecida;
atorvastatina (ATM), columna con líneas entrecruzadas; o
amlodipina y metabolito de atorvastatina (AML + ATM),
columna oscurecida, a una concentración de 3.0 μ M. Los
15 valores son la media $\pm$ desviación estándar. *** indica
 $p < 0.001$ versus control y otros tratamientos.

La Figura 8 muestra las entalpías computadas para ATM,
AML y sus respectivas especies radicales.

La Figura 9 muestra la determinación por difracción
con rayos X de las interacciones, separadas versus
combinadas, de membranas lípidas de AML y ATM. X es

18

densidad relativa de electrones e^- y es angstroms de la mitad de la bicapa lípida. En todas las tres gráficas, el control es la línea continua. En la gráfica A, AML es la línea discontinua; en la gráfica B, ATM es la línea discontinua; en la gráfica C, la combinación de AML y ATM es la línea discontinua. Las áreas oscurecidas en cada gráfica son la diferencia en densidades electrónicas entre los perfiles de densidad electrónica del control y del tratamiento.

10

La Figura 10 muestra los efectos separados versus combinados de AML y ATM en las dimensiones de la bicapa de la membrana tal como se determina mediante análisis de difracción por rayos x. Δx es el cambio en el ancho de la membrana en angstroms e^- y es el tratamiento con AML, columna oscurecida; ATM, columna con líneas entrecruzadas; AT, columna oscurecida; y la combinación de AML y ATM, columna con líneas diagonales. Los valores son la media $\pm$ desviación estándar. *** indica $p < 0.001$ versus control y otros tratamientos.

Descripción Detallada de las Realizaciones

Efectos Antioxidantes Sinérgicos de Amlodipina con Atorvastatina/Metabolito de Atorvastatina en Membranas

X
3X

19

Lípidas: Las actividades antioxidantes dependientes de dosis combinadas y separadas, de AML, AT y ATM fueron probadas en vesículas de membrana reconstituidas a partir de fosfolípidos enriquecidos con colesterol y el PUFA, dilinoleoilo fosfatidilcolina, a una relación molar de 0.5:1. Las vesículas de membrana fueron utilizadas en estos experimentos por las siguientes razones: 1) este sistema está bien definido y altamente reproducible; 2) el ácido linoleico representa el objetivo primario del daño oxidativo y es común en membranas celulares vasculares y partículas lipoproteicas; 3) este sistema de membrana no contiene canales de calcio o la enzima HMG-CoA reductasa y; 4) la peroxidación lípida en este sistema puede ser espontáneamente iniciada a 37°C en ausencia de iniciadores químicos exógenos, tales como en el caso de altos niveles de hierro y ascorbato. En estos experimentos, la oxidación ocurrió de manera gradual y dependiente del tiempo, y fue medida espectrofotométricamente por un periodo de 72 horas.

En la Figura 1, la actividad antioxidante sinérgica de AML y ATM fue demostrada en vesículas de membrana compuestas de colesterol y fosfolípidos a niveles que reproducen condiciones parecidas a las fisiológicas (Tulenکو TN, Chen M, Mason PE, Mason RP. Efectos físicos

20

del colesterol sobre las membranas del músculo liso
arterial: Evidencia de dominios de colesterol inmiscibles
y alteraciones en el ancho de la bicapa durante la
aterogénesis. *J. Lipid. Res.* 1998; 39:947-956). A 100.0
5 nM, solamente ATM produjo separadamente alguna inhibición
significativa (9% del control) de la peroxidación lípida en
esta preparación de membrana enriquecida con colesterol.
Sin embargo, cuando los agentes fueron combinados, el grado
de la inhibición aumentó hasta un 33%, un efecto
10 significativamente mayor ($p < 0.01$) comparado al si fueran
medidos los agentes separadamente. La actividad
antioxidante de la combinación fue muy aparente: las
drogas inhibieron la formación del peróxido lípido ($> 5 \times 10^2$
 μM) a una concentración de 100.0 nM (el nivel de control de
15 la formación de peróxido lípido fue de 1.6mM). Esta
combinación farmacológica produjo un efecto que era
altamente dependiente en la dosis sobre un amplio rango de
concentraciones (Figura 2). La inhibición significativa
($p < 0.05$) fue observada a niveles tan bajos como 10.0 nM con
20 un IC_{50} de 500.0 nM. Una inhibición superior al 90% ($> 1 \text{ mM}$
formación de peróxido lípido) fue observada a una
concentración de 10.0 μM para la combinación (Figura 2). El
hecho que la inhibición fuera observada a niveles sub-

micromolares indica que el beneficio observado con la combinación de AML y ATM tiene aplicabilidad terapéutica.

21

El efecto antioxidante de la combinación persistió en
5 el tiempo de manera que no pudo ser reproducido por la
vitamina E, aún a una concentración elevada (10.0 μ M)
(Figura 3). Esta observación es coherente con el concepto
que la vitamina E o α -tocoferol es gradualmente consumida
durante el proceso de peroxidación lípida. Por contraste,
10 la actividad de la combinación de AML/ATM no fue afectada
por el término del periodo de incubación en donde el nivel
de peróxido lípido total aumentó a 2.2 mM a las 72 horas.

La combinación de AML y ATM fue significativamente más
15 efectiva en inhibir la formación de peróxido lípido
comparado con la combinación de AML y AT (Figura 4). A
niveles de 100.0 nM y 1.0 μ M, el efecto de la combinación de
AML con ATM fue del 45% y 86% mayor, respectivamente,
comparado con lo que se observó con la combinación de AML
20 con AT. La polaridad aumentada de ATM, mediada por su
grupo hidroxilo adicional, puede facilitar interacciones
más fuertes con el AML normalmente cargado, conduciendo a
distintas interacciones con moléculas fosfolípidas, tal

como se puede evidenciar mediante análisis por difracción con rayos X. El grupo hidroxilo adicional asociado con ATM también ofrece un protón abstraible adicional el cual puede ser donado a moléculas de radicales libres (Figura 5).

5 Luego de la pérdida del protón, el electrón restante puede ser efectivamente estabilizado en estructuras de resonancia del metabolito, tal como se muestra en la Figura 5. La actividad antioxidante notable de la combinación de AML con ATM está indicada por la observación que un efecto similar
10 no podía ser reproducido cuando AML era combinado con cada una de las otras estatinas (mevastatina y lovastatina), tal como lo demuestra la Figura 6.

Los resultados de las investigaciones *in vivo* han
15 indicado un papel importante para los antioxidantes lipofílicos en reducir la morbilidad y la mortalidad cardiovascular, especialmente la enfermedad coronaria. Las partículas LDL que tienen mayor resistencia al daño oxidativo exhiben una citotoxicidad reducida, interfieren
0 menos con la producción de óxido nítrico derivado a partir del endotelio, y no contribuyen a la formación de células espumosas (Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF. Antioxidantes y enfermedad cardíaca aterosclerótica. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337:408-416). El suplemento con un

23

antioxidante también ha demostrado incrementar la
resistencia de LDL a la modificación oxidativa y reducir la
citotoxicidad celular endotelial (Belcher JD, Balla J,
Balla G, et al. Vitamina E, LDL, y el endotelio. El
5 suplemento vitamínico oral breve previene lesiones
vasculares mediadas por LDL oxidadas. *Arterioscler. Thromb.*
1993; 13:1779-1789). El probucol, un antioxidante
lipofílico, atenuó la formación de placas ateroscleróticas
en primates alimentados con colesterol, un efecto que se
10 correlacionó con una resistencia aumentada de LDL al daño
oxidativo (Sasahara M, Raines EW, Chait A, et al.
Inhibición de la aterosclerosis inducida por la
hipercolesterolemia en el primate no humano por probucol.
I. Está el grado de aterosclerosis relacionado con la
15 resistencia de LDL a la oxidación? *J. Clin. Invest.* 1994;
94:155-164). Este antioxidante inhibió la formación de
lesiones en conejos hiperlipidémicos hereditarios Watanabe
(WHHL), un modelo animal bastante caracterizado de la
aterosclerosis, independiente de los efectos que
0 disminuyen el colesterol (Carew TE, Schwenke DC, Steinberg
D. Efecto antiaterogénico del probucol no relacionado con
su efecto hipocolesterolémico: Evidencia que los
antioxidantes in vivo pueden selectivamente inhibir la
degradación de lipoproteínas de baja densidad en fibras

48
24

grasas ricas en macrófagos y retardar la progresión de la aterosclerosis en el conejo hiperlipidémico hereditario Watanabe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 84:7725-7729). Más allá de estos estudios animales, un estudio clínico controlado por placebos demostró que el probucol reducía la restenosis en un 47% en pacientes con enfermedad coronaria después de una angioplastia coronaria con balón, presumiblemente debido a sus efectos antioxidantes (Tardif JC, Cote G, Lesperance J, et al. Probucol y multivitaminas en la prevención de la restenosis después de angioplastia coronaria. Grupo de Estudio de Multivitaminas y Probucol. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337:365-372). En un estudio separado, se demostró que probucol, a diferencia de vitaminas antioxidantes, tenía un efecto benéfico sobre remodelación vascular en pacientes que habían sido sometidos a una angioplastia, tal como se determinó mediante técnicas ecográficas intravasculares (Cote G, Tardif J-C, Lesperance J, et al. Efectos del probucol sobre la remodelación vascular después de angioplastia coronaria. *Circulation* 1999;99:30-35).

Por consiguiente, una revisión de los datos disponibles ofrece una razón fundamental mecanicista para el uso de antioxidantes lipofílicos para interferir con los

25

procesos inflamatorios asociados con la enfermedad coronaria. Al incrementar la resistencia de LDL y las membranas celulares oxidativas al daño oxidativo, los agentes con actividad antioxidante podrán efectivamente

5 interferir con las alteraciones patológicas en la pared del vaso durante la aterogénesis. Estos procesos incluyen, pero no están limitados a la formación de células espumosas, disfunción y toxicidad endotelial, adhesión de leucocitos y plaquetas, y vasoespasmo arterial, secundarios

10 a una pérdida en la producción normal de óxido nítrico. Estas observaciones celulares apoyan los análisis epidemiológicos que indican una asociación inversa entre los niveles de suero de ciertos antioxidantes y resultados adversos asociados con enfermedad coronaria (Stampfer MJ,

15 Hennekens CH, Manson JE, Colditz GA, Rosner B, Willett WC. Consumo de vitamina E y el riesgo de enfermedad coronaria en la mujeres. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328:1450-1456; Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Giovannucci E, Colditz GA, Willett WC. Consumo de vitamina E y el riesgo de enfermedad

0 coronaria en los hombres. *N. Engl. J. Med.* 1993; 328:1450-1456; Enstrom JE, Kanim LE, Klein MA. Consumo de vitamina C y mortalidad entre una muestra de la población de los Estados Unidos. *Epidemiology* 1992;3:194-202; Riemersma RA, Wood DA, Macintyre CC, Elton R, Gey KF, Olivir MF. Bajos

25

26

niveles de vitaminas E y C en plasma. Riesgo aumentado de angina en hombres escoceses. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*

1989;570:291-295; Ramirez J, Flowers NC. Acido ascórbico en leucocitos y su relación con enfermedad coronaria en

5 hombres. *Am. J. Clin. Nutr.* 1980; 33:2079-2087; Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, et al. Falta de efecto de una suplementación a largo plazo con beta caroteno sobre la incidencia de neoplasmas malignos y enfermedad cardiovascular. *N. Engl. J. Med.* 1996; 334:1145-1149;

10 Losonczy KG, Harris TB, Havlik RJ. El uso y riesgo de suplementos de vitaminas E y C en la mortalidad por enfermedad coronaria de múltiples etiologías en la tercera edad: Las Poblaciones Establecidas para Estudios Epidemiológicos para la Tercera Edad. *Am. J. Clin. Nutr.*

15 1996; 64:190-196). Varios de estos estudios epidemiológicos mostraron un beneficio con la vitamina E, un antioxidante con capacidad limitada para interferir con la modificación oxidativa. Los resultados de este estudio pronosticarían que la combinación de AML y ATM sería
0 significativamente más efectiva que la vitamina E en reducir lesiones vasculares asociadas con enfermedad coronaria.

27

Efectos Antioxidantes Sinérgicos de Amlodipina con el Metabolito de Hidroxil-Atorvastatina en Lipoproteínas de Baja Densidad Humanas:

Los efectos antioxidantes separados y combinados de AML y ATM también fueron evaluados en

5 preparaciones de LDL humana. La habilidad de estos agentes en inhibir la peroxidación de LDL fue medida *in vitro*

después de la adición de cobre (10.0 μM) al medir los niveles de sustancias reactivas tiobarbitúricas (TBARS),

un rótulo de la peroxidación lípida. A Figura 7 muestra

10 que la tasa de oxidación de LDL fue caracterizada por cinética de curva sigmoidea con una fase de retardo inicial

seguida por una propagación aguda y una fase final en

meseta (Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. El

papel de la peroxidación lípida y los antioxidantes en la

15 modificación oxidativa de LDL. *Free Radic. Biol. Med.*

1992;13:341-390). Después de un periodo de incubación de 4 horas, los efectos diferenciales de estos compuestos podían

ser claramente observados a una concentración de 3.0 μM .

Comparado con la peroxidación lípida del control (100%

20 formación de TBARS), la formación de TBARS para AML y ATM

fue de $93.3 \pm 6\%$ y $65.6 \pm 7\%$, respectivamente. Sin embargo,

al combinarse, la formación de TBARS fue de solamente 29.3

$\pm 6\%$, niveles significativamente inferiores ($p < 0.01$) a los

observados para cualquiera de los fármacos tomados solos.

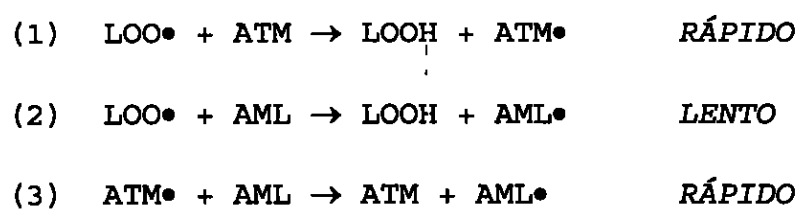
El efecto antioxidante sinérgico de la combinación persistió más allá del marcador de tiempo de 6 horas.

Estas averiguaciones ofrecen más evidencia de la actividad sinérgica la cual es coherente con aquella observada en las vesículas de membrana, puesto que la combinación farmacológica produjo un nivel de inhibición que excedió de manera substancial su efecto aditivo esperado. La actividad antioxidante de la vitamina E fue similar a aquella observada para ATM por si solo, en estos experimentos.

Mecanismos Químicos para la Actividad Sinérgica de Amlodipina y Metabolito de Atorvastatina: La actividad antioxidante sinérgica observada para esta combinación farmacológica en LDL y membranas lípidas reconstituidas sugiere que estos compuestos interactúan directamente entre sí para secuestrar radicales lípidos. Con base en consideraciones termodinámicas (Figura 8), se propone que ATM reaccione más rápidamente con radicales lípidos (ecuación 1) comparado con AML, tal como se describe en la ecuación 2. Si estas son las dos únicas trayectorias disponibles para estos fármacos al sumarlos entre sí al sistema, entonces su efecto combinado solamente sería

29

aditivo. Sin embargo, la combinación de ambos compuestos ofrece la posibilidad de una tercera trayectoria (ecuación 3), una alternativa que es apoyada por los resultados de los experimentos de peroxidación en lipoproteínas de baja densidad y en membranas lípidas. La combinación de las trayectorias 1 y 3 producirían un efecto sinérgico puesto que ocurre más rápidamente que la trayectoria 2. Efectivamente, un cálculos semi-empíricos sugieren que la reacción 3 es un proceso exotérmico favorable ($\Delta H_f = -40.7$ kJ/mol). Por consiguiente, la presencia del inhibidor rápido (ATM) permite al inhibidor más lento remover radicales libres más rápidamente comparado con si él reaccionara con los radicales lípidos por sí solo. Las tres trayectorias que describen estas interacciones son las siguientes, en donde $LOO\bullet$ representa un radical lípido:



Como resultado de esta sinergia entre AML y ATM, el metabolito reciclado ahora está disponible para secuestros adicionales de radicales lípidos. En general, las diferencias en las tasas de inhibición entre AML y ATM se

30

basan, en parte, en las entalpías calculadas para estos compuestos y sus radicales respectivos (Figura 8). A menor (es decir, más negativo) valor de ΔH_f , más favorable será la abstracción de hidrógeno asociada con la formación de radicales. Una vez formado, el radical sin pareja asociado con especies radicales puede ser estabilizado en estructuras de resonancia.

Interacciones Moleculares de Membrana de Amlodipina y

10 *Atorvastatina/Metabolito de Atorvastatina:* Se utilizaron enfoques de difracción de rayos X de ángulo pequeño para examinar las interacciones moleculares de membrana de la combinación de AML y ATM. Esta técnica altamente cuantitativa ofrece información directa de la estructura de la bicapa lípida de la membrana en ausencia y presencia de los fármacos. Se ha reportado previamente que AML tiene una alta afinidad por los lípidos de las membranas ($K_p > 10^3$) bajo condiciones ateroscleróticas, comparado con otros CCB's (Mason RP, Moisey DM, Shajenko L. Cholesterol altera la unión de bloqueadores de canales de Ca^{2+} a la bicapa lípida de las membranas. *Mol. Pharmacol.* 1992; 41:315-321). La lipofilicidad distinta de AML es atribuida a su estructura química anfifílica la cual guía la molécula hacia una localidad ventajosa en la membrana donde luego

31

puede interferir con la propagación de radicales libres por mecanismos biofísicos y bioquímicos, tal como está descrito previamente (Mason RP, Leeds PR, Jacob RF, et al.

Inhibición de apoptosis neuronal excesiva por la

5 amlodipina, antagonista de calcio, y antioxidantes en

células granulares del cerebelo. *J. Neurochem.* 1999;

72:1448-1456; Mason RP, Moisey DM, Shajenko L. El

colesterol altera la unión de bloqueadores de canales de calcio a la bicapa lípida de las membranas. *Mol. Pharmacol.*

10 1992; 41:315-321; Mason RP, Campbell SF, Wang SD, Herbette

LG. Comparación de sitio y unión del antagonista de canal

de calcio tipo 1,4-dihidropiridina cargada positivamente,

amlodipina con fármacos sin carga de esta clase en

membranas cardíacas. *Mol. Pharmacol.* 1989; 36:634-640;

15 Mason RP, Walter MF, Trumbore MW, Olmstead Jr. EG, Mason

PE. Efectos antioxidantes de la membrana del antagonista de calcio tipo dihidropiridina cargada, amlodipina. *J.*

Mol. Cell. Cardiol. 1999; 31:275-281). En las membranas

que no están enriquecidas con colesterol, la amlodipina

20 inhibió la peroxidación lípida de manera que no pudo ser

reproducida por otros CCBs o el inhibidor de la enzima

convertidora de angiotensina (ECA), captopril (Mason RP,

Walter MF, Trumbore MW, Olmstead Jr. EG, Mason PE. Efectos

antioxidantes de la membrana del antagonista de calcio tipo

32

dihidropiridina cargada, amlodipina. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999; 31:275-281). De la misma manera, la estructura química del metabolito de atorvastatina tiene propiedades anfifílicas que permitiría al fármaco interactuar fuertemente con la bicapa lípida de la membrana, tal como se reportó recientemente por mi laboratorio (Mason RP. Inhibición del daño oxidativo en LDL's y membranas aisladas por atorvastatina y su metabolito activo. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000; 35:317A).

10

Para estos estudios, la combinación de AML y ATM fue añadida en vesículas de membrana reconstituidas a partir de colesterol y fosfolípido a una relación molar de 0.5:1 (Figura 9). El análisis de difracción de los rayos X de las muestras de membranas produjo patrones de difracción fuertes y reproducibles para muestras representativas de control y muestras con fármaco. En la ausencia del fármaco, el grosor total de la bicapa de la membrana, incluyendo la hidratación de la superficie, fue de 55.5 angstroms con una separación dentro de la bicapa de 44 angstroms. La adición de los dos fármacos juntos a una relación de fármaco a fosfolípido de 1:15, produjo distintos cambios en la estructura y organización de la bicapa fosfolípida, comparado con las drogas añadidas por

20

~~33~~

33

separado (Figura 9). En presencia de la combinación farmacológica, el grosor total de la bicapa de la membrana, incluyendo la hidratación de la superficie, se redujo a 53.5 angstroms con una separación entre cabezas de la bicapa de 41 angstroms. Visto separadamente, los grosores de la bicapa de membranas que contenían AML y ATM por sí solo, fueron de 54.8 angstroms y 58.0 angstroms, respectivamente (Figura 10). Estas observaciones estructurales ofrecen evidencia directa que la combinación de estos agentes modulan de manera diferencial la estructura de las moléculas lipídicas, comparado con sus efectos por separado.

La substracción directa entre los perfiles de densidad electrónica de las membranas (angstroms vs. electrones/angstroms³) demostró grandes diferencias en la estructura lípida que podría ser atribuida a la presencia de los fármacos (Figura 9). Específicamente, la adición de la combinación farmacológica produjo un amplio aumento en la densidad electrónica asociado con la región del núcleo de hidrocarburos superiores/grupo hidratado de la bicapa de la membrana, $\pm$ 11-31 angstroms desde la mitad de la bicapa. Este gran aumento en la densidad electrónica distribuida sobre 10 angstroms es atribuida al sitio en equilibrio de

4/3
34

los fármacos en la membrana. Concomitante con este cambio se observó un efecto desordenador asociado con la región del núcleo hidrocarburo central de la membrana, $\pm 0-11 \text{ \AA}$. Esta disminución en la densidad electrónica se debe a un incremento en el volumen molecular que resulta de la inserción de las moléculas farmacológicas dentro de una región de alta densidad molecular cerca del núcleo de hidrocarburos de la membrana/interfase con agua. Por consiguiente, se puede concluir a partir de estos datos que la inserción de la combinación farmacológica dentro de la bicapa de la membrana altera las restricciones de empaque intermolecular de las moléculas fosfolípidas de manera similar a la que se observa al reducir el contenido del colesterol o al aumentar la temperatura de la muestra (Tulenko TN, Chen M, Mason PE, Mason RP. Efectos físicos del colesterol sobre las membranas del músculo liso arterial: Evidencia de dominios de colesterol inmiscibles y alteraciones en el grosor de la bicapa durante la aterogénesis. *J. Lipid. Res.* 1998; 39:947-956; Chang HM, Reitstetter R, Mason RP, Gruener R. La atenuación de la cinética y la conductancia de los canales por el colesterol: Una interpretación utilizando estrés estructural como concepto unificante. *J. Membr. Biol.* 1995; 143:51-63). Tales cambios en las propiedades biofísicas

han demostrado interferir con la propagación de radicales libres a través de la matriz de la bicapa lípida (McLean LR, Hagaman KA. El efecto del estado físico del lípido sobre la tasa de peroxidación de los liposomas. *Free Radic. Biol. Med.* 1992;12:113-119).

DS
35

De manera separada, AML y ATM efectuaron distintos cambios en la estructura de la membrana, comparado con la combinación farmacológica, debido a interacciones específicas con moléculas fosfolípidas constituyentes (Figuras 9 y 10). Mientras que la combinación farmacológica efectuó una disminución de 2Å o un 4% ($p < 0.01$) en el grosor total de la membrana, el ATM por si solo produjo un incremento del 5% ($p < 0.01$) en el grosor (2.5 Å) mientras que AML por si solo no alteró de manera significativa las dimensiones de la membrana, incluyendo la separación entre cabezas de la bicapa. Comparado con AML por si solo, el ATM produjo una reducción mayor en la densidad electrónica del núcleo de hidrocarburo. Este efecto sobre la estructura de la membrana puede contribuir a su potencia antioxidante mayor, comparado con AML. La combinación de AML y ATM efectuó un nuevo sitio de interacción con la bicapa lípida de la membrana,

adicionalmente a sus localidades distintas en la membrana
(Figura 9).

36

Por lo tanto, este invento describe una composición
5 farmacéutica la cual comprende amlodipina y un compuesto de
atorvastatina. Estos agentes farmacéuticos en si pueden
ser formulados en combinación, o por separado, en sales,
formas y dosificaciones que produzcan respuestas
terapéuticas máximas. Esta terapia combinada está diseñada
10 para tratar las varias manifestaciones patofisiológicas de
las enfermedades arteriales y cardíacas relacionadas,
incluyendo la hipertensión, hiperlipidemia,
ateroesclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria,
infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva,
15 accidentes cerebro vasculares y angina del pecho. De
manera específica, esta terapia combinada será diseñada
para disminuir la tensión arterial y las concentraciones
lipídicas sistémicas como también los resultados
patofisiológicos relacionados debido a la falta de su
0 regulación, incluyendo, pero no limitándose al
debilitamiento arterial y el depósito de plaquetas. Los
efectos de estos agentes sobre estos eventos y procesos
relacionados con enfermedades cardíacas y arteriales, al
usarlos combinadamente, pueden ser aditivos y/o sinérgicos.

~~37~~
37

En este momento será aparente para aquellos expertos en el estado de la técnica que otras realizaciones, mejoras, detalles, y usos pueden ser hechos de manera que sean consistentes con el principio de la divulgación anterior y dentro del alcance de esta patente y las reivindicaciones anexas.

Métodos Experimentales

Se obtuvieron de Avanti Polar Lipids Inc. (Alabaster, AL) dilinoleoilo fosfatidilcolina (DLPC), 1-palmitoil-2-oleoil fosfatidilcolina (POPC) y colesterol no esterificado y fueron almacenados a -80°C. Alícuotas de LDL (L-2139) de plasma humana fueron obtenidos a partir de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Se compraron columnas de Sephadex G-25 M (PD-10) de Pharmacia Biotech Inc. (Piscataway, NJ). El besilato de amlodipina se obtuvo en Pfizer Central Research (Groton, CT) mientras que el calcio de atorvastatina y su hidroximetabolito fue suministrado por Parke Davis (Ann Arbor, MI). Vitamina E, Trolox (un análogo de vitamina E), lovastatina, y mevastatina fueron comprados en Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO).

Análisis de Peroxidación Lípida de la Membrana: Las actividades antioxidantes dependientes de la dosis combinadas y separadas de estos agentes fueron examinadas en membranas enriquecidas con PUFA preparadas a una relación molar de colesterol a fosfolípido de 0.5 (Mason RP, Walter MF, Trumbore MW, Olmstead Jr. EG, Mason PE. Efectos antioxidantes de la membrana del antagonista de calcio tipo dihidropiridina cargada, amlodipina. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999; 31:275-281). El lípido (dilinoleoilo

39

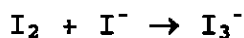
fosfatidilcolina y colesterol) usado para estas muestras fue disuelto en cloroformo grado-HPLC (25.0 mg/ml). Una alícuota de los lípidos (1.0 mg) fue añadida en tubos probetas de vidrio de 13 x 100ml y el cloroformo fue
5 removido mediante secado *shell* bajo una corriente constante de gas N₂. Los lípidos fueron secados en ausencia o presencia de fármacos disueltos en etanol. El solvente residual fue removido bajo vacío mientras que las muestras fueron protegidas de la luz. Las vesículas de membrana
10 fueron producidas al mezclar rápidamente los lípidos secos a temperatura ambiente luego de la adición de 1.0 ml de salina amortiguada HEPES (0.5 mM HEPES y 154.0 mM NaCl, pH 7.2). La concentración fosfolípida final fue de 1.0 mg/ml de buffer y la concentración final del fármaco osciló entre
15 10.0 nM y 10.0 µM.

La peroxidación lípida de la membrana fue llevada a cabo a 37°C en un baño maría agitado sin la adición de estimulante exógenos, tal como se describió anteriormente
20 (Mason RP, Walter MF, Trumbore MW, Olmstead Jr. EG, Mason PE. Efectos antioxidantes de la membrana del antagonista de calcio tipo dihidropiridina cargada, amlodipina. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1999; 31:275-281). A diferentes intervalos de tiempo (24, 48, 65, 72 horas), una alícuota de muestra

~~40~~
40

5 lípida (entre 10 y 100 µl) fue removida antes de que 25 µl de 5.0 mM de ácido etilendiaminatetracético (EDTA) y 20 µl de 35.0 mM de hidroxitolueno butilado (BHT) fueran inmediatamente añadidos a la muestra para parar la reacción de peroxidación.

El alcance de la peroxidación lípida de la membrana fue medida mediante el ensayo de CHOD-Yoduro tal como se describió previamente en detalle (El-Saadani M, Esterbauer H, el-Sayed M, Goher M, Nassar AY, Jurgens G. Un ensayo espectrofotométrico de peróxidos lípidos en lipoproteínas de suero usando un reactivo comercialmente disponible. *J. Lipid. Res.* 1989; 30:627-630). La cantidad de I₃ fue medida a partir de la siguiente reacción en donde L representa una molécula fosfolípida:



Una alícuota de la muestra de membrana fue removida durante diferentes puntos en el tiempo y luego añadidas a 1.0 ml de reactivo colorante CHOD (E.M. Science, Gibbstown, NJ) que incluye 20.0 µM de BHT, 24.0 µM de EDTA, y 0.2% de Triton-X. La muestra fue luego cubierta con papel de

2/A
41

aluminio e incubada por 2 horas en ausencia de luz antes de medir la absorbancia de la muestra a 365 nm ($\epsilon = 2.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). La muestra de fondo fue corrida junto con las muestras de prueba en triplicado y contiene 76.7 μl de 0.652 mM de HEPES, 20.0 μl de 5.0 mM de EDTA y 3.3 μl de agua DDI. El alcance de la peroxidación lípida fue medida en triplicado para cada concentración farmacológica y comparada con las muestras de control que no contuvieran el fármaco. La significación estadística de estos experimentos fueron evaluada por la prueba t de Student de datos no apareados. La significación fue aceptada en $p < 0.05$.

Determinación de la Oxidación de LDL: Además de membranas lipídicas, la actividad antioxidante de AML y ATM fue evaluada en lipoproteínas de baja densidad humanas (LDL). El contenido de EDTA de las muestras LDL obtenidas a partir de plasma humano fue removido mediante filtración en gel con columnas de filtración PD-10 Sephadex G25-M; se utilizó como eluente PBS (purgado con nitrógeno). Las muestras LDL (50 μg de proteína/mL) fueron luego preincubadas con o sin fármaco (3.0 μM) por 30 minutos a 37°C. La oxidación de LDL luego fue inducida mediante la

42

42

adición de 10.0 μM de CuSO_4 . La cronología de la oxidación de LDL, medida por la formación de TBARS, fue seguida por 6 horas a 37°C (Mak IT, Kramer JH, Weglicki WB. La potenciación del daño peroxidativo lipídico inducido por radicales libres en membranas del sarcolema por amfifilos lipídicos. *J. Biol. Chem.* 1986; 261:1153-1157). La oxidación de LDL, tal como se determina por los métodos TBARS, siguió las cinética de curvas sigmoideas con una fase inicial de retardo, seguido por una propagación aguda y una fase final de meseta (Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G. El papel de la peroxidación lípida y los antioxidantes en la modificación oxidativa del LDL. *Free Radic. Biol. Med.* 1992; 13:341-390). El contenido proteico de LDL fue determinado utilizando un kit de ensayo Coomassie Protein Plus de la Pierce Chemical (Bradford MM. Un método rápido y sensible para la cuantificación de cantidades en microgramos de proteína utilizando el principio de unión de colorantes para la detección de proteínas. *Anal. Biochem.* 1976; 72:248-254).

Análisis de difracción de los rayos X en ángulo

pequeño: Análisis de difracción de los rayos X en ángulo pequeño fueron utilizados para examinar directamente las interacciones moleculares en la membrana de AML, AT y ATM.

~~43~~
43

Los lípidos (1-palmitoil-2-oleoil fosfatidilcolina y
colesterol) utilizados para estas muestras fueron disueltos
en cloroformo de grado-HPLC (10.0 mg/ml). Las vesículas de
membrana fueron producidas a partir de estos lípidos por el
5 mismo método descrito para los experimentos de
peroxidación. La concentración final fosfolípida fue de
5.0 mg/ml de buffer y la relación molar de fármaco a
fosfolípido fue de 1:15. Las muestras de membrana fueron
orientadas para análisis de difracción al someterlas a
10 centrífuga tal como se describió anteriormente (Chester DW,
Herbette LG, Mason RP, Joslyn AF, Triggle DJ, Koppel DE.
Difusión de antagonistas de los canales de calcio tipo
dihidropiridina en múltiples bicapas lipídicas del
sarcolema cardiaco. *Biophys. J.* 1987; 52:1021-1030).
15 Brevemente, las vesículas fueron colocadas en celdas de
sedimentación que contenían un substrato de papel de
aluminio. Las vesículas fueron sedimentadas en un rotor
SW-28 (Beckman Instruments, Fullerton, CA) a 35,000 x g por
1.5 horas a 5°C. Luego de la centrifugación, el
20 sobrenadante fue removido de los pelets y las muestras
fueron luego montadas sobre soportes de vidrio curvos. Las
muestras fueron colocadas en recipientes sellados para
controlar la humedad relativa y la temperatura durante los
experimentos de difracción, tal como se describió

SA
44

anteriormente (Chester DW, Herbette LG, Mason RP, Joslyn AF, Triggle DJ, Koppel DE. Difusión de antagonistas de los canales de calcio tipo dihidropiridina en múltiples bicapas lipídicas del sarcolema cardiaco. *Biophys. J.* 1987;

5 52:1021-1030).

Los experimentos con difracción de los rayos X fueron realizados al alinear las muestras a una incidencia rasante con respecto a una fuente de rayos X monocromática con

10 filtro de níquel colimada ($\text{CuK}_\alpha = 1.54\text{\AA}$) producida por un generador microfocal de ánodo giratorio de alto brillo

(Rigaku Rotaflex RU-200, Danvers, MA). El rayo de

geometría fija consistía de un único espejo Franks

recubierto con níquel para definir una fuente de línea en

15 donde $K_{\alpha 1}$ y $K_{\alpha 2}$ están sin resolver. Los datos de difracción

fueron recolectados en un detector electrónico

unidimensional sensible a la posición (Innovative

Technologies, Newburyport, MA) colocado a una distancia de

150 mm de la muestra. Cada pico de difracción meridional

20 estaba corregido con la muestra Lorentz y la muestra de

fondo, tal como se describió anteriormente (Mason RP, Gonye

GE, Chester DW, Herbette LG. Partición y posición de Bay K

8644, agonista de canales de calcio tipo 1,4-

dihidropiridina, en membranas modelo y biológicas.

~~QZ~~
45

Biophys. J. 1989; 55:769-778). Las fases de los datos de
cuatro clasificaciones fueron determinadas mediante
análisis de dilatación (Moody MF. Patrón de difracción de
los rayos X de la mielina: Un método para determinar las
5 fases. *Science* 1963; 142:1173-117). Se generaron
transformaciones fourier de los datos a partir de los datos
de difracción con software Origin (Microcal Software,
Northampton, MA).

REIVINDICACIONES:

~~4~~
4b

1. Una composición farmacéutica la cual comprende:

a/b/c

5 (a) una cantidad terapéuticamente efectiva de
amlodipina; ^①

(b) una cantidad terapéuticamente efectiva de un
compuesto de atorvastatina ^② y metabolito de atorvastatina ^③
hidroxilado; y

10 (c) agentes de formulación farmacéuticamente
aceptables.

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en
donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente
efectivo de la amlodipina.

15

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 en
donde el derivado terapéuticamente aceptable de la
amlodipina comprende besilato de amlodipina.

20 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en
donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado
terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

25
47

5. La composición farmacéutica de la reivindicación 4 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

5 6. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

10 7. La composición farmacéutica de la reivindicación 6 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del
15 miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión
20 arterial.

9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8 en donde dicha composición farmacéutica ^{efecto terapéutico} reduce la tensión arterial a un nivel consistente con un riesgo reducido de

enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas
relacionadas.

~~58~~
48

10. La composición farmacéutica de la reivindicación 8 en
5 donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión
arterial a un nivel estadísticamente equivalente a lo
normal.

11. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en
10 donde dicha composición farmacéutica reduce las
concentraciones lipídicas sistémicas.

12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11 en
donde dicha composición farmacéutica reduce las
15 concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente
con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y
enfermedades cardiacas relacionadas.

13. La composición farmacéutica de la reivindicación 11 en
20 donde dicha composición farmacéutica reduce las
concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel
estadísticamente equivalente a lo normal.

~~88~~
49

14. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas.

5 15. La composición farmacéutica de la reivindicación 14 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

10

16. La composición farmacéutica de la reivindicación 14 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

15

17. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en donde dicha composición farmacéutica concomitantemente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas.

20

18. La composición farmacéutica de la reivindicación 17 en donde dicha composición farmacéutica concomitantemente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de

enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas
relacionadas.

~~50~~
50

19. La composición farmacéutica de la reivindicación 17 en
5 donde dicha composición farmacéutica concomitantemente
reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al
normal.

10 20. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 en
donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce
la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas.

15 21. La composición farmacéutica de la reivindicación 20 en
donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce
la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de
enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas
20 relacionadas.

22. La composición farmacéutica de la reivindicación 20 en
donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce
la tensión arterial y las concentraciones lipídicas

sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

51

23. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 17, 18, y 19 en donde la disminución de manera concomitante de la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.

24. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 20, 21, y 22 en donde la disminución de manera sinérgica de la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.

15

25. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de amlodipina;

(b) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilado; y

(c) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables ~~en donde~~ dicha composición farmacéutica reduce

la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas. } 


52

26. La composición farmacéutica de la reivindicación 25 en
5 donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente
efectivo de la amlodipina. ✓

27. La composición farmacéutica de la reivindicación 26 en
donde el derivado terapéuticamente aceptable de la
10 amlodipina comprende besilato de amlodipina. ✓

28. La composición farmacéutica de la reivindicación 25 en
donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado
terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina. ✓

15

29. La composición farmacéutica de la reivindicación 28 en
donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto
de atorvastatina es una sal de hemicalcio. ✓



20 30. La composición farmacéutica de la reivindicación 24 en
donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de 
enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas
relacionadas.

45
53

31. La composición farmacéutica de la reivindicación 30 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

7

32. La composición farmacéutica de la reivindicación 25 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

33. La composición farmacéutica de la reivindicación 25 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

34. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 25 a la 33 en donde la disminución de la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.

50
54

35. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de amlodipina; ⁽¹⁾/

5 (b) una cantidad terapéuticamente efectiva de ^(un)
compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina ⁽²⁾
y un ⁽²⁾metabolito de atorvastatina hidroxilado; y

(c) agentes de formulación farmacéuticamente
aceptables [en donde dicha composición farmacéutica reduce
10 la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas, por lo menos parcialmente, como resultado de
una oxidación lipídica reducida.]

36. La composición farmacéutica de la reivindicación 35 en
15 donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente
efectivo de la amlodipina.✓

37. La composición farmacéutica de la reivindicación 36 en
donde el derivado terapéuticamente aceptable de la
20 amlodipina comprende besilato de amlodipina.✓

38. La composición farmacéutica de la reivindicación 35 en
donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado /
terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

39. La composición farmacéutica de la reivindicación 38 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

5 

40.⁹ La composición farmacéutica de la reivindicación 35 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

10

41. La composición farmacéutica de la reivindicación 40 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

15

42. La composición farmacéutica de la reivindicación 35 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

20

43. La composición farmacéutica de la reivindicación 35 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

5

44. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de amlodipina;

(b) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilado; y

(c) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas.

45. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

20

46. La composición farmacéutica de la reivindicación 45 en donde el derivado terapéuticamente aceptable de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

57

47. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

5 48. La composición farmacéutica de la reivindicación 47 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

+

49. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 en
10 donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

50. La composición farmacéutica de la reivindicación 49 en
15 donde [↓]dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente
20 cerebro vascular, y angina del pecho.

51. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas

sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

50
58

5 52. La composición farmacéutica de la reivindicación 44 en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

10

53. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 44 hasta la 52 en donde la disminución de manera sinérgica de la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.

9

54. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de amlodipina;

(b) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilado; y

(c) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables en donde dicha composición farmacéutica

~~59~~
59

sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas, por lo menos parcialmente, como resultado de una oxidación lipídica reducida.

5

55. La composición farmacéutica de la reivindicación 54 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

10 56. La composición farmacéutica de la reivindicación 55 en donde el derivado terapéuticamente aceptable de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

15 57. La composición farmacéutica de la reivindicación 54 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

20 58. La composición farmacéutica de la reivindicación 57 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

59. La composición farmacéutica de la reivindicación 54 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de

enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas
relacionadas.

60

60. La composición farmacéutica de la reivindicación 59 en
5 donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades
cardiacas relacionadas están entre las siguientes;
hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis,
arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del
miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente
10 cerebro vascular, y angina del pecho.

61. La composición farmacéutica de la reivindicación 54 en
donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce
la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
15 sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de
enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas
relacionadas.

62. La composición farmacéutica de la reivindicación 54 en
20 donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce
la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al
normal.

63. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina y un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilada; y

(b) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables.

64. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

65. La composición farmacéutica de la reivindicación 64 en donde el derivado terapéuticamente aceptable de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

66. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

67. La composición farmacéutica de la reivindicación 66 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

68. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

5

69. La composición farmacéutica de la reivindicación 68 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

10

70. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial.

15

71. La composición farmacéutica de la reivindicación 70 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

20

72. La composición farmacéutica de la reivindicación 70 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

4
63

5 73. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde dicha composición farmacéutica reduce las concentraciones lipídicas sistémicas.

10 74. La composición farmacéutica de la reivindicación 73 en donde dicha composición farmacéutica reduce las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

15 75. La composición farmacéutica de la reivindicación 73 en donde dicha composición farmacéutica reduce las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

20 76. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas.

SP
64

77. La composición farmacéutica de la reivindicación 76 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades
5 arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

78. La composición farmacéutica de la reivindicación 76 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un
10 nivel estadísticamente equivalente al normal.

79. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde dicha composición farmacéutica reduce concomitantemente la tensión arterial y las concentraciones
15 lipídicas sistémicas.

80. La composición farmacéutica de la reivindicación 79 en donde dicha composición farmacéutica reduce concomitantemente la tensión arterial y las concentraciones
20 lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades
cardíacas relacionadas.

65

81. La composición farmacéutica de la reivindicación 79 en donde dicha composición farmacéutica reduce concomitantemente la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente
5 equivalente al normal.

82. La composición farmacéutica de la reivindicación 63 en donde dicha composición farmacéutica reduce sinérgicamente la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
10 sistémicas.

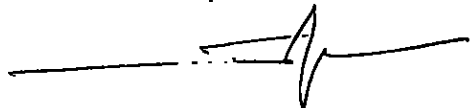
83. La composición farmacéutica de la reivindicación 82 en donde dicha composición farmacéutica reduce sinérgicamente la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
15 sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

84. La composición farmacéutica de la reivindicación 82 en
20 donde dicha composición farmacéutica reduce sinérgicamente la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

70
66

85. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 79, 80 y 81 en donde la disminución de manera concomitante de la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos
5 parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.

86. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 82, 83 y 34 en donde la disminución de manera sinérgica de la tensión arterial y de las
10 concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.



87. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una
15 combinación de amlodipina y un compuesto de atorvastatina
seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de
atorvastatina hidroxilada; y

(b) agentes de formulación farmacéuticamente
aceptables en donde dicha composición farmacéutica reduce
20 la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas.

88. La composición farmacéutica de la reivindicación 87 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

67

5 89. La composición farmacéutica de la reivindicación 88 en donde el derivado terapéuticamente aceptable de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

90. La composición farmacéutica de la reivindicación 87 en
10 donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

91. La composición farmacéutica de la reivindicación 90 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto
15 de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

92. La composición farmacéutica de la reivindicación 87 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas
20 relacionadas.

93. La composición farmacéutica de la reivindicación 92 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas están entre las siguientes;

hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis,
arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del
miocardio, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente
cerebro vascular, y angina del pecho.

5

94. La composición farmacéutica de la reivindicación 87 en
donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión
arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un
nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades
10 arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

95. La composición farmacéutica de la reivindicación 94 en
donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión
arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un
15 nivel estadísticamente equivalente al normal.

96. La composición farmacéutica de cualquiera de las
reivindicaciones 87 hasta la 95 en donde la disminución de
la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas
20 sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una
oxidación lipídica reducida.

97. Una composición farmacéutica la cual comprende:

69

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina y un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilada; y

5 (b) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables [en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas, por lo menos parcialmente, como resultado de una oxidación lipídica reducida.]

10

98. La composición farmacéutica de la reivindicación 97 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

15

99. La composición farmacéutica de la reivindicación 98 en donde el derivado terapéuticamente aceptable de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

20

100. La composición farmacéutica de la reivindicación 97 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

101. La composición farmacéutica de la reivindicación 100 en donde el derivado terapéuticamente aceptable del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

+

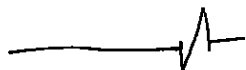
5 102. La composición farmacéutica de la reivindicación 97 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

10 103. La composición farmacéutica de la reivindicación 102 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas están entre las siguientes; 
hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis,
arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del
15 miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

104. La composición farmacéutica de la reivindicación 97 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión
20 arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

105. La composición farmacéutica de la reivindicación 97 en donde dicha composición farmacéutica reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al normal.

5



106. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina y un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilada; y

10

(b) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas.

15

107. La composición farmacéutica de la reivindicación 106 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

20

108. La composición farmacéutica de la reivindicación 107 en donde el derivado terapéuticamente aceptable de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

Handwritten marks: a stylized signature and the number 72.

109. La composición farmacéutica de la reivindicación 106
/ en donde el compuesto de atorvastatina comprende un
derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de
atorvastatina.

5

110. La composición farmacéutica de la reivindicación 109
en donde el derivado terapéuticamente aceptable del
compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

Handwritten mark: a checkmark.

10 111. La composición farmacéutica de la reivindicación 106
en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de
enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas
relacionadas.

Handwritten mark: a question mark.

15 112. La composición farmacéutica de la reivindicación 111
en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades
cardíacas relacionadas están entre las siguientes;
hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis,
arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del
● 20 miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente
cerebro vascular, y angina del pecho.

113. La composición farmacéutica de la reivindicación 106
en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente

reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardiacas relacionadas.

5

114. La composición farmacéutica de la reivindicación 113 en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al

10 normal.

115. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 106 hasta la 114 en donde la disminución de manera sinérgica de la tensión arterial y de las

15 concentraciones lipídicas sistémicas resulta, por lo menos parcialmente, de una oxidación lipídica reducida.

116. Una composición farmacéutica la cual comprende:

(a) una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina⁽¹⁾ y un compuesto de atorvastatina⁽²⁾ seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilada⁽³⁾; y

(b) agentes de formulación farmacéuticamente aceptables [en donde dicha composición farmacéutica

✓
74

sinérgicamente reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas, por lo menos parcialmente, como resultado de una oxidación lipídica reducida.

5

117. La composición farmacéutica de la reivindicación 116 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

10 118. La composición farmacéutica de la reivindicación 117 en donde el derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

15 119. La composición farmacéutica de la reivindicación 116 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

20 120. La composición farmacéutica de la reivindicación 119 en donde el derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

121. La composición farmacéutica de la reivindicación 116 en donde la composición farmacéutica reduce el riesgo de

enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas
relacionadas. ?

JS

122. La composición farmacéutica de la reivindicación 121
5 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades
cardíacas relacionadas están entre las siguientes;
hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis,
arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del
miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente
10 cerebro vascular, y angina del pecho.

123. La composición farmacéutica de la reivindicación 116
en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente
reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
15 sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de
enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas
relacionadas.

124. La composición farmacéutica de la reivindicación 116
20 en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente
reduce la tensión arterial y las concentraciones lipídicas
sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente al
normal.

~~XX~~
76

61
125. Un método para tratar enfermedades arteriales y
enfermedades cardíacas relacionadas al administrar una
cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de
amlodipina y un compuesto de atorvastatina seleccionado
5 entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina
hidroxilado.

61
126. El método de la reivindicación 125 en donde la
amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo
10 de la amlodipina.

61
127. El método de la reivindicación 126 en donde el
derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina
comprende besilato de amlodipina.

15
61
128. El método de la reivindicación 127 en donde el
compuesto de atorvastatina comprende un derivado
terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

61
20 129. El método de la reivindicación 128 en donde el
derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de
atorvastatina es una sal de hemicalcio.

78
77

61-

130. El método de la reivindicación 125 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis, enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

62

131. El método de la reivindicación 125 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en el mismo tratamiento.

63

132. El método de la reivindicación 125 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados como tratamientos distintos.

64

133. El método de la reivindicación 125 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados al mismo tiempo.

20

65

134. El método de la reivindicación 125 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en momentos diferentes.

57
78

135. Un método para disminuir la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina y un compuesto de atorvastatina
5 seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilado.

136. El método de la reivindicación 135 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo
10 de la amlodipina.

137. El método de la reivindicación 136 en donde el derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

15 138. El método de la reivindicación 135 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

20 139. El método de la reivindicación 138 en donde el derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

140. El método de la reivindicación 135 en donde la
amlodipina y el compuesto de atorvastatina son
administrados en el mismo tratamiento.

5 141. El método de la reivindicación 135 en donde la
amlodipina y el compuesto de atorvastatina son
administrados como tratamientos distintos.

10 142. El método de la reivindicación 135 en donde la
amlodipina y el compuesto de atorvastatina son
administrados al mismo tiempo.

15 143. El método de la reivindicación 135 en donde la
amlodipina y el compuesto de atorvastatina son
administrados en momentos diferentes.

144. El método de la reivindicación 135 en donde dicha
composición farmacéutica disminuye la tensión arterial y
las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel
20 consistente con un riesgo reducido de enfermedades
arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

145. El método de la reivindicación 144 en donde dichas
enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas

17
80

relacionadas están entre las siguientes; hipertensión,
hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis,
enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia
cardiaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina
5 del pecho.

146. El método de la reivindicación 135 en donde dicha
composición farmacéutica disminuye la tensión arterial y
las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel
10 estadísticamente equivalente a lo normal.

147. El método según cualquiera de las reivindicaciones 135
hasta la 146 en donde la disminución de la tensión arterial
y de las concentraciones lipídicas sistémicas es resultado,
15 por lo menos en parte, de una oxidación lipídica reducida.

148. Un método para disminuir sinérgicamente la tensión
arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas el cual
comprende administrar una cantidad terapéuticamente
20 efectiva de una combinación de amlodipina y un compuesto de
atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un
metabolito de atorvastatina hidroxilado.

149. El método de la reivindicación 148 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

5 150. El método de la reivindicación 149 en donde el derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

10 151. El método de la reivindicación 148 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

15 152. El método de la reivindicación 151 en donde el derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

153. El método de la reivindicación 148 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en el mismo tratamiento.

20 154. El método de la reivindicación 148 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados como tratamientos distintos.

6f.
155. El método de la reivindicación 148 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados al mismo tiempo.

5 6f.
156. El método de la reivindicación 148 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en momentos diferentes.

10 6f.
157. El método de la reivindicación 148 en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente disminuye la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

15 6f.
158. El método de la reivindicación 157 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis,
20 enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.

↗

83

6f.
159. El método de la reivindicación 148 en donde dicha composición farmacéutica sinérgicamente disminuye la tensión arterial y las concentraciones lipídicas sistémicas a un nivel estadísticamente equivalente a lo normal.

5

6f.
160. El método según cualquiera de las reivindicaciones 148 hasta la 159 en donde la disminución sinérgica de la tensión arterial y de las concentraciones lipídicas sistémicas es resultado, por lo menos en parte, de una oxidación lipídica reducida.

10

cf.
161. Un método para inhibir la oxidación lipídica el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina y un compuesto de atorvastatina seleccionado entre atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilado.

15

6f.
162. El método de la reivindicación 161 en donde la amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina.

20

6f.
163. El método de la reivindicación 162 en donde el derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

84

61
164. El método de la reivindicación 161 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

5

61
165. El método de la reivindicación 164 en donde el derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

10

61
166. El método de la reivindicación 161 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en el mismo tratamiento.

15

61
167. El método de la reivindicación 161 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados como tratamientos distintos.

20

61
168. El método de la reivindicación 161 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados al mismo tiempo.

61
169. El método de la reivindicación 161 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en momentos diferentes.

4/85

170. El método de la reivindicación 161 en donde dicha
composición farmacéutica inhibe la oxidación lipídica a un
nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades
5 arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

171. El método de la reivindicación 170 en donde dichas
enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas
relacionadas están entre las siguientes; hipertensión,
10 hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis,
enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia
cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina
del pecho.

172. Un método para inhibir sinérgicamente la oxidación
lipídica el cual comprende administrar una cantidad
terapéuticamente efectiva de una combinación de amlodipina
y un compuesto de atorvastatina seleccionado entre
atorvastatina y un metabolito de atorvastatina hidroxilado.

20

173. El método de la reivindicación 172 en donde la
amlodipina comprende un derivado terapéuticamente efectivo
de la amlodipina.

174. El método de la reivindicación 173 en donde el derivado terapéuticamente efectivo de la amlodipina comprende besilato de amlodipina.

5 175. El método de la reivindicación 172 en donde el compuesto de atorvastatina comprende un derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina.

10 176. El método de la reivindicación 175 en donde el derivado terapéuticamente efectivo del compuesto de atorvastatina es una sal de hemicalcio.

15 177. El método de la reivindicación 172 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en el mismo tratamiento.

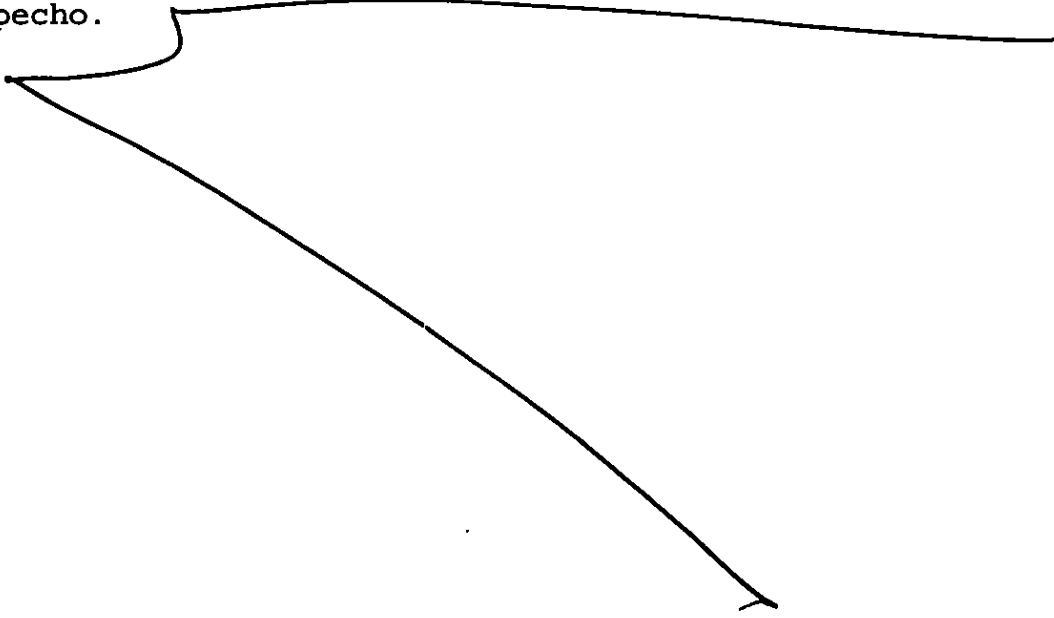
178. El método de la reivindicación 172 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados como tratamientos distintos.

20 179. El método de la reivindicación 172 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados al mismo tiempo.

180. El método de la reivindicación 172 en donde la amlodipina y el compuesto de atorvastatina son administrados en momentos diferentes.

5 181. El método de la reivindicación 172 en donde dicha composición farmacéutica inhibe sinérgicamente la oxidación lipídica a un nivel consistente con un riesgo reducido de enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas.

10 182. El método de la reivindicación 181 en donde dichas enfermedades arteriales y enfermedades cardíacas relacionadas están entre las siguientes; hipertensión, hiperlipidemia, aterosclerosis, arterioesclerosis,
15 enfermedad coronaria, infarto del miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebro vascular, y angina del pecho.



Resumen de la Divulgación

[Handwritten signature]
[Handwritten initials]

La combinación de la amlodipina con atorvastatina o un metabolito de la atorvastatina muestra un efecto antioxidante sinérgico sobre la peroxidación lipídica en las lipoproteínas de baja densidad humanas y las vesículas de membrana enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados. La inhibición del daño oxi-radical por esta combinación farmacológica fue observada a niveles terapéuticos de una manera no reproducible por la combinación de amlodipina con otras estatinas o el antioxidante natural, la vitamina E. La base de esta actividad potente es atribuida a las estructuras químicas de estos compuestos y sus interacciones moleculares con moléculas fosfolípidas, tal como se determina mediante análisis de difracción de los rayos X. Esta terapia combinada puede ser utilizada para tratar trastornos cardiovasculares, especialmente la enfermedad coronaria, al incrementar la resistencia de las lipoproteínas de baja densidad y de las membranas celulares vasculares contra la modificación oxidativa.

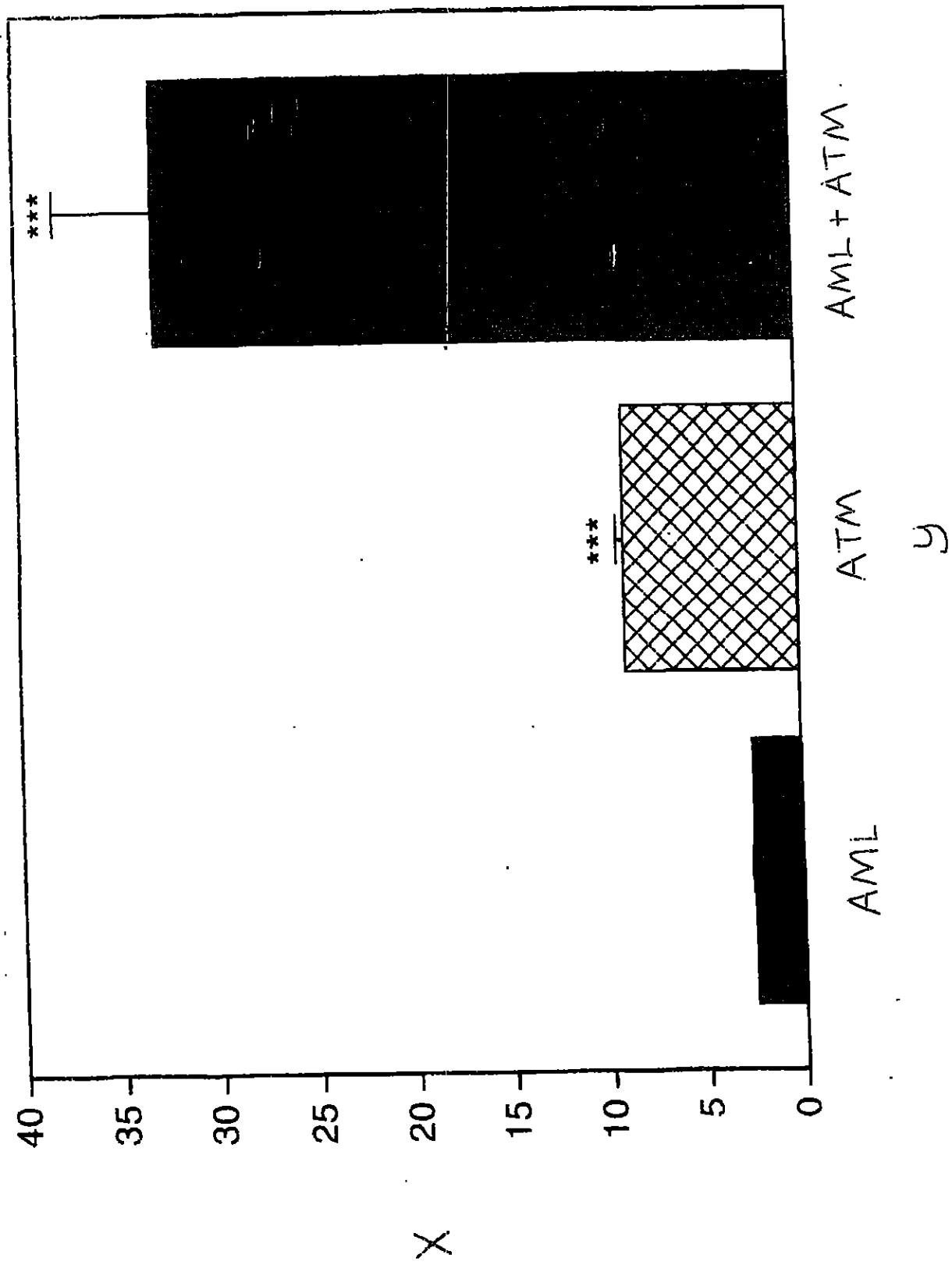


Figure 1

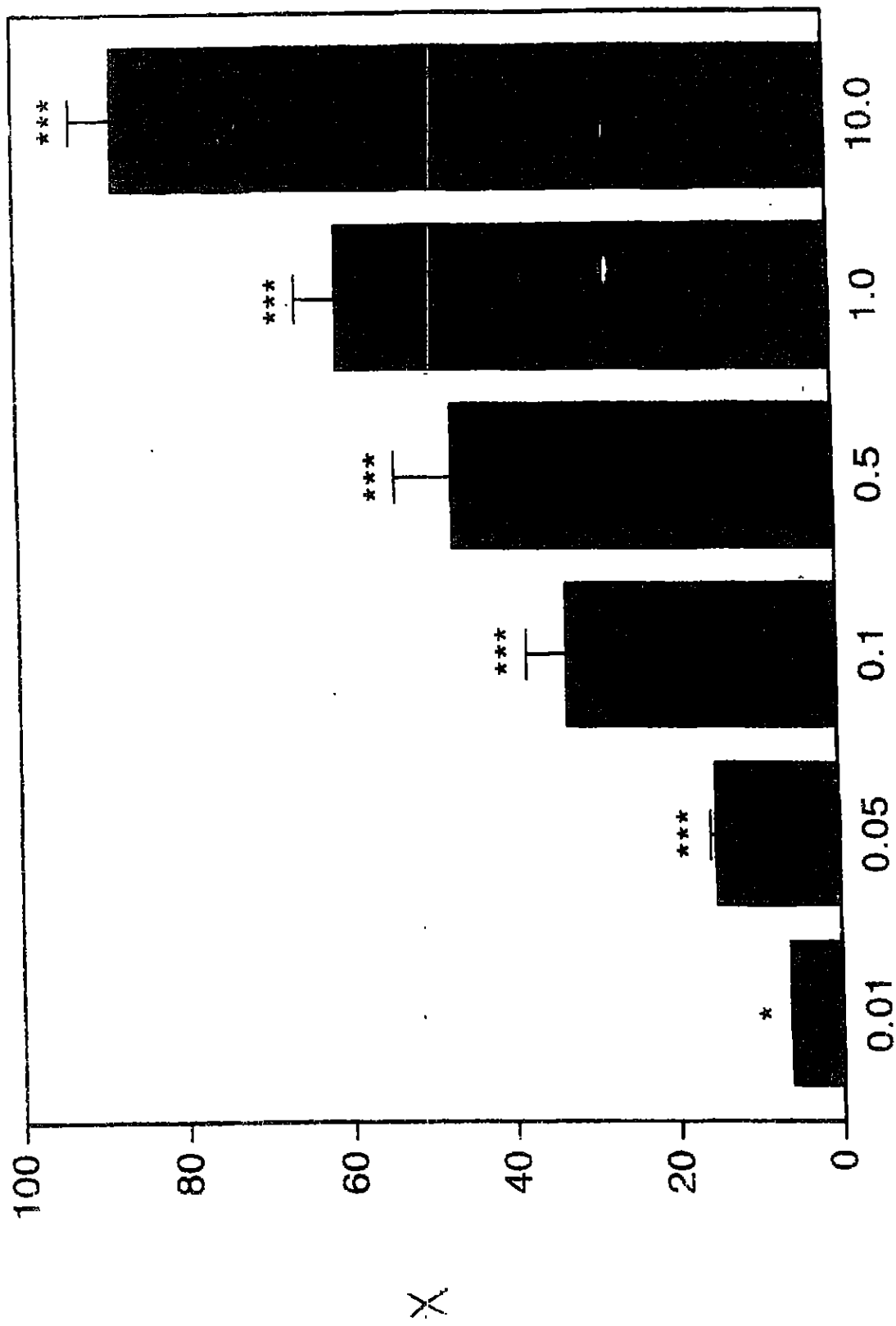


Figure 2

16

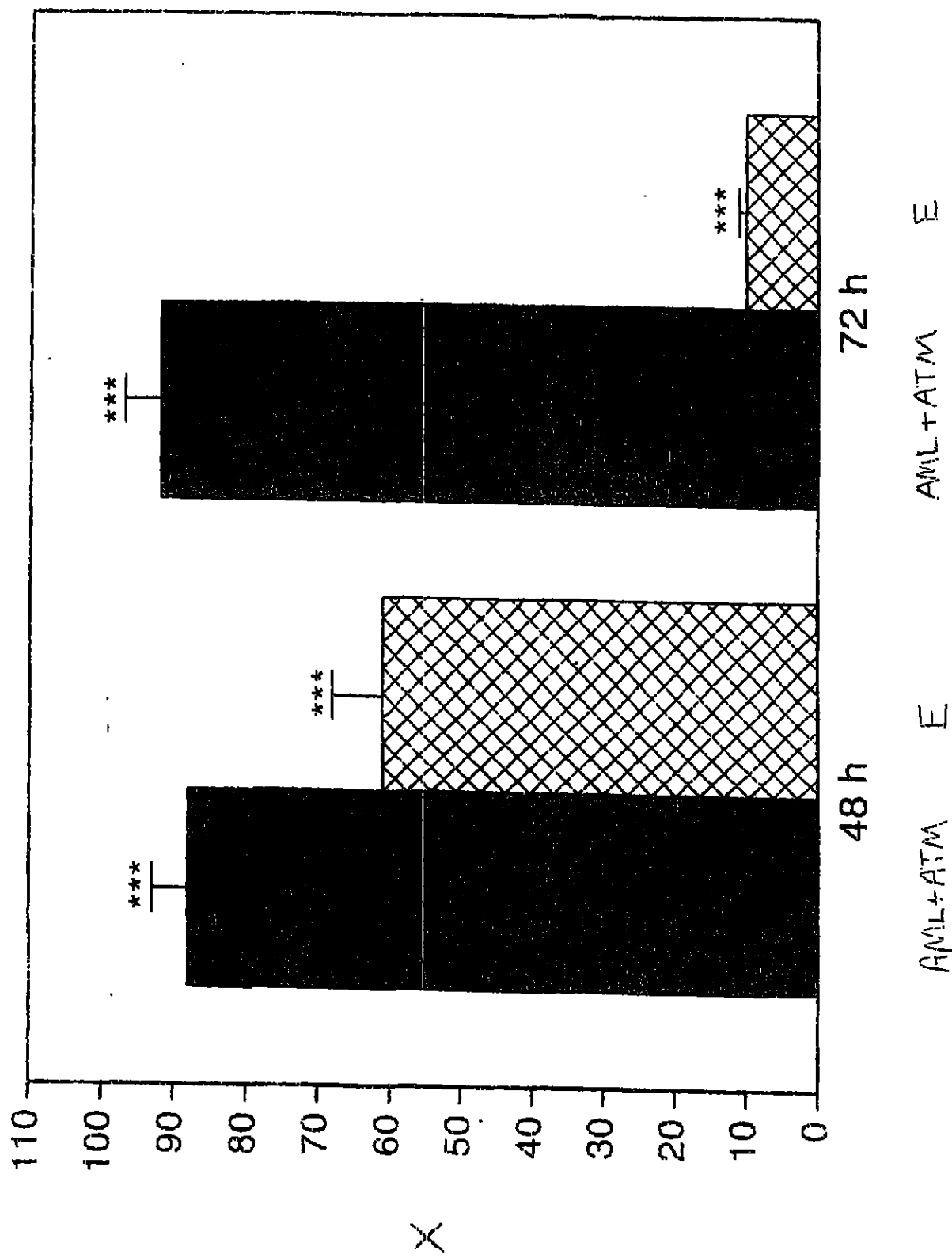
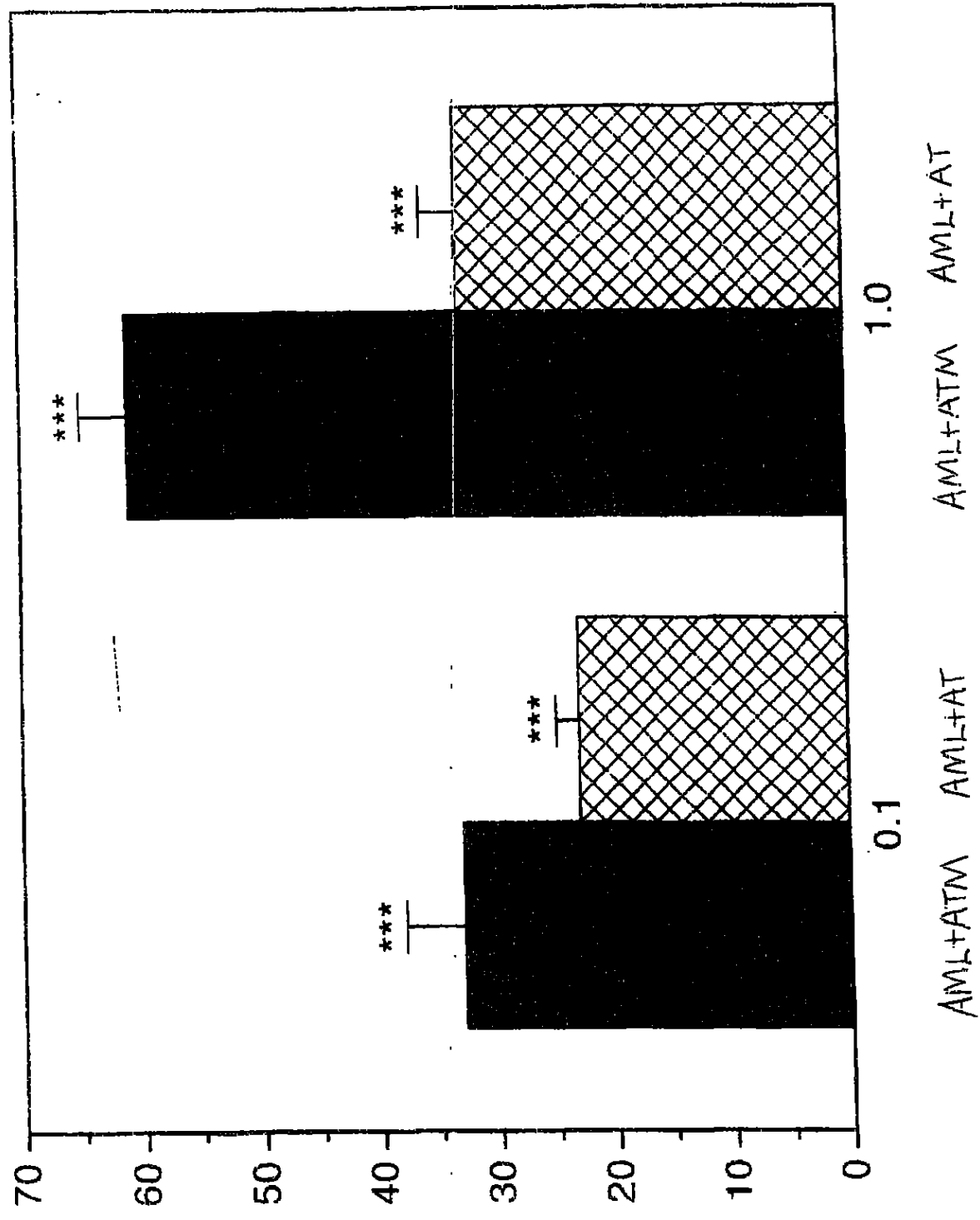


Figure 3

At



y
Figure 4

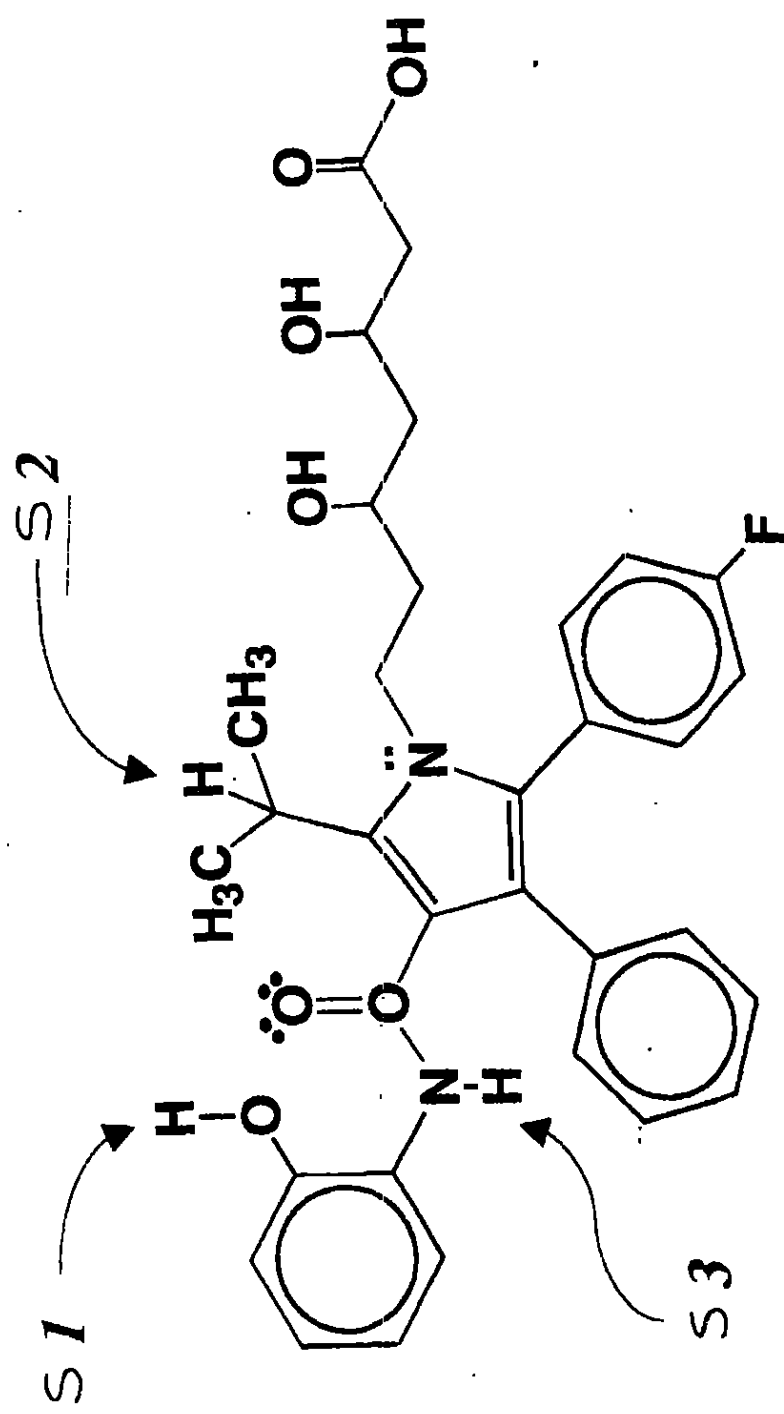


Figure 5A

927

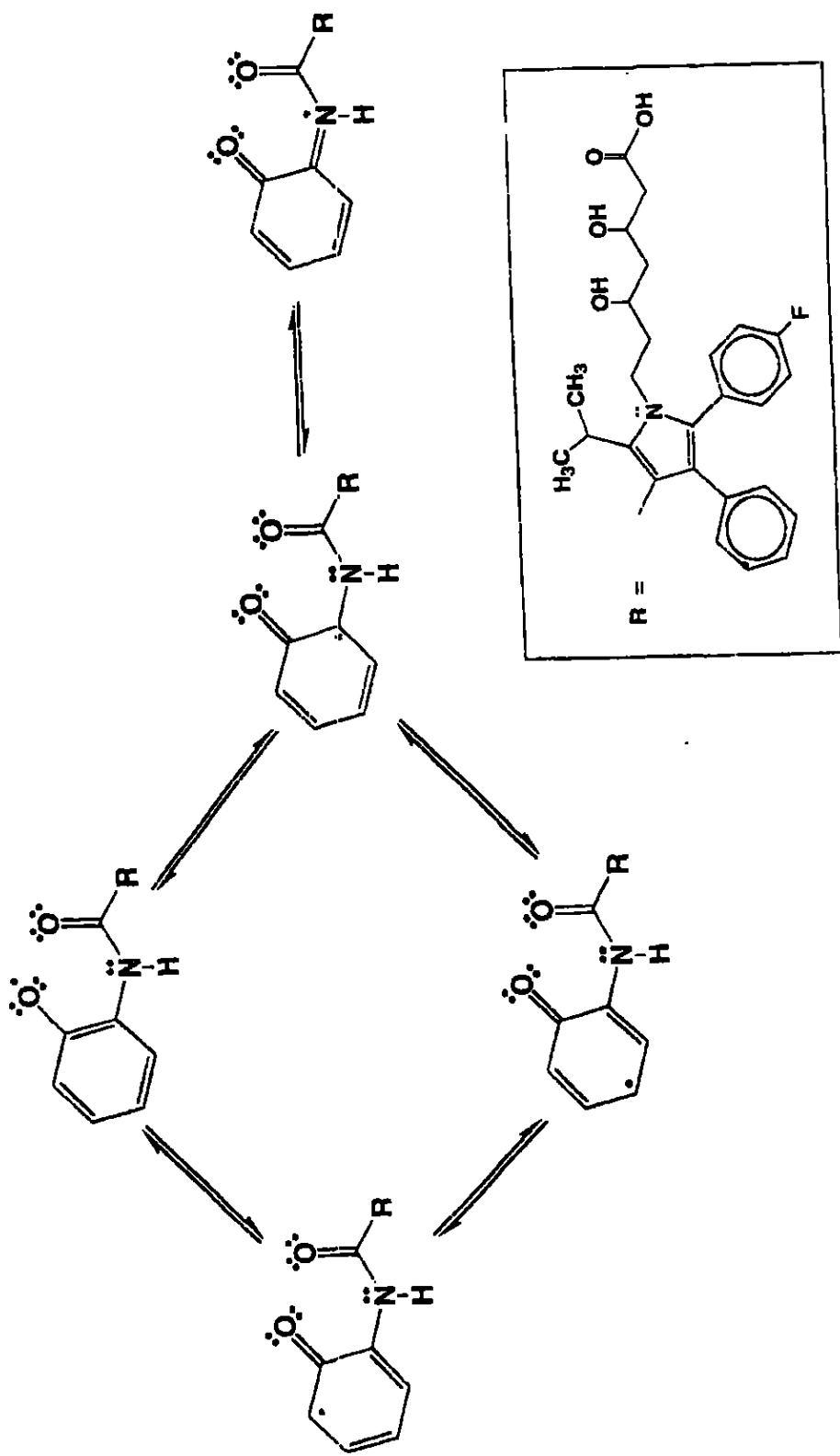


Figure 5B ~~64~~

95-28

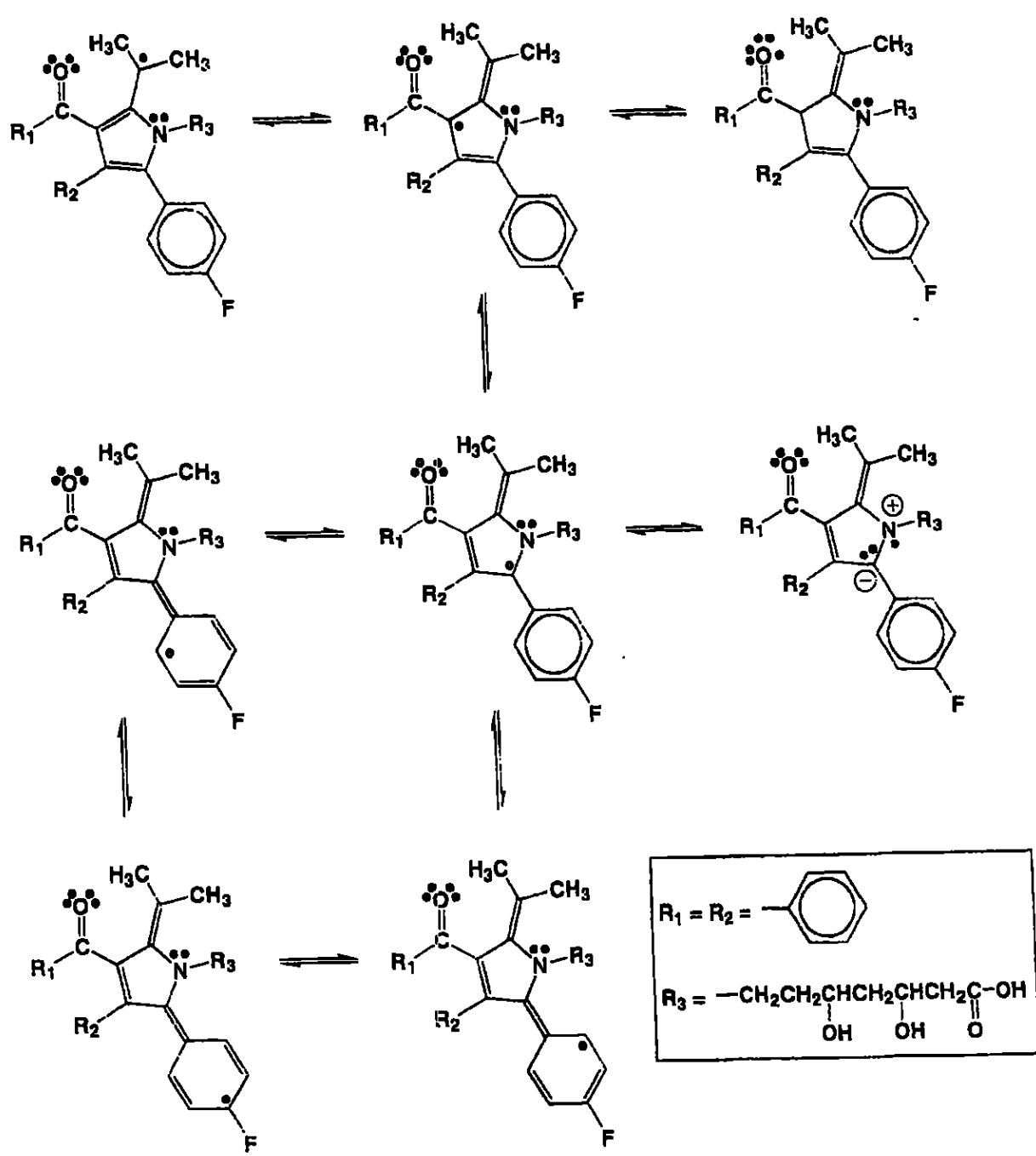


Figure 5C

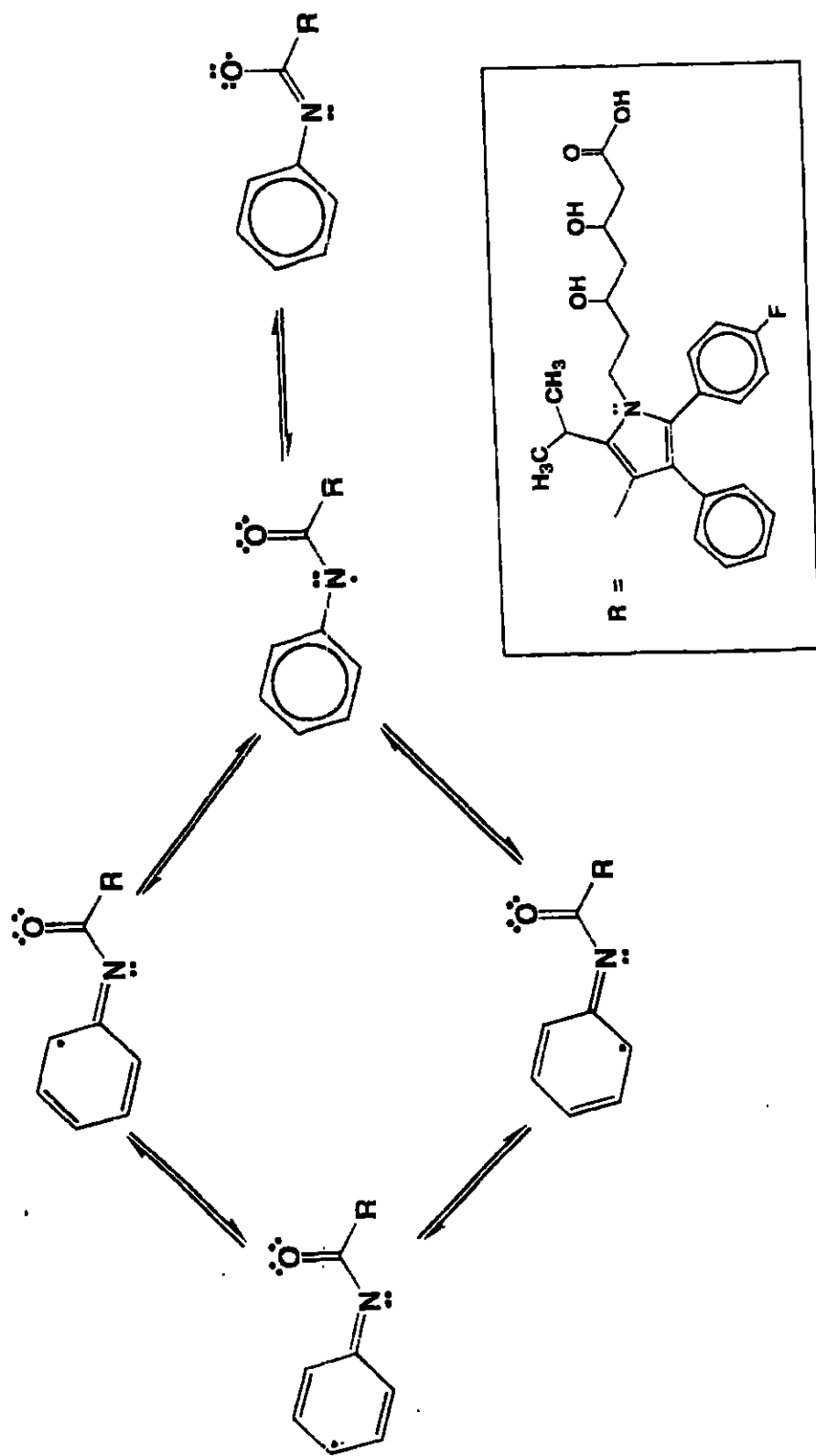
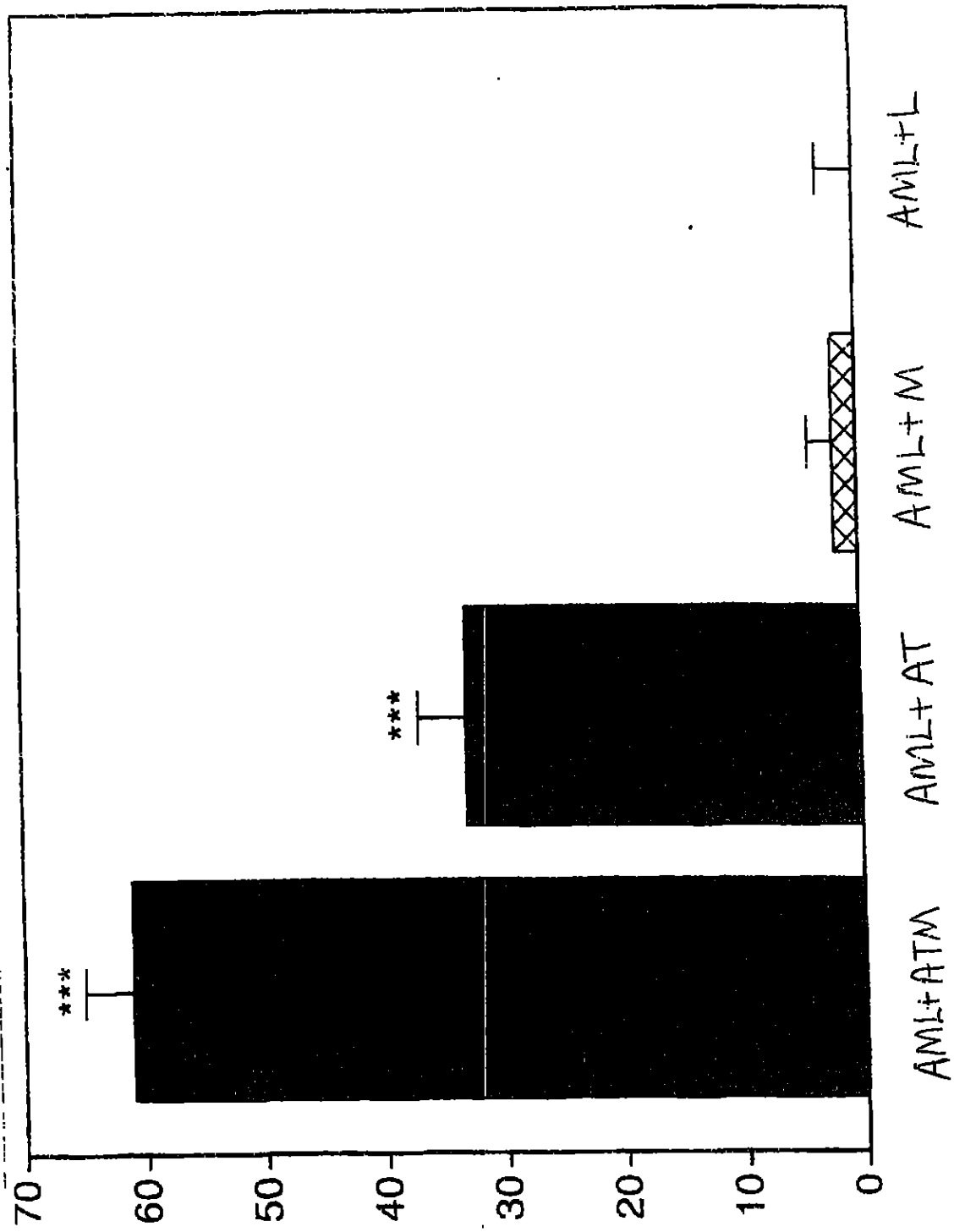


Figure 5D ~~φ~~



y
Figure 6

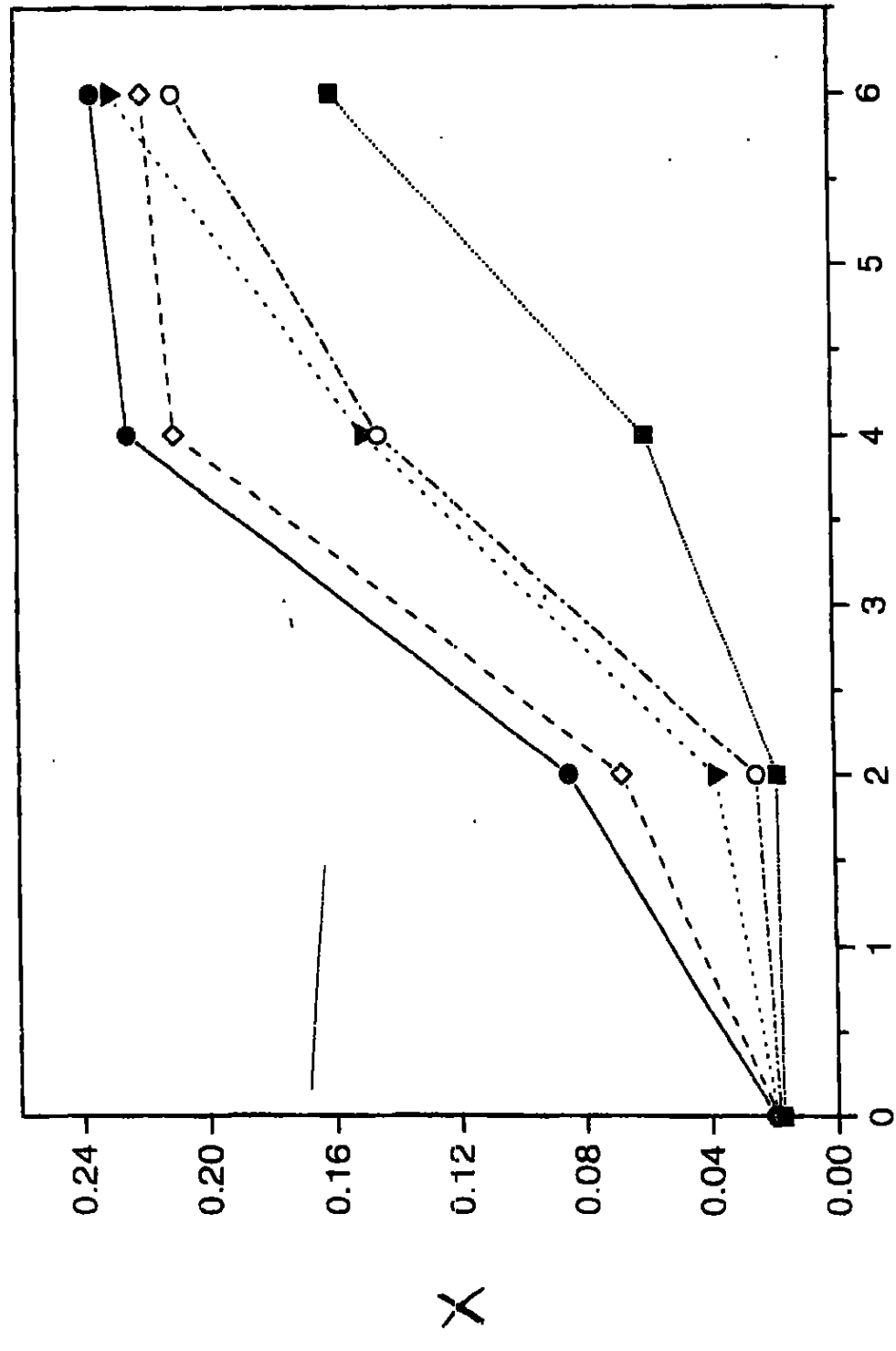


Figure 7A

Handwritten signature

99
5/

Figura 8

Entalpías Computadas de la

Formación de Radicales*

del Metabolito de Atorvastatina

Molécula	ΔH_f (kcal/mol)
Radical de Carbono	-209.50
Radical de Oxígeno	-199.89
Radical de Nitrógeno	-192.55
Radical de Metilo	-193.51
Radical de Fenilo	-176.05
Diradical de Carbono/Oxígeno	-182.07
Diradical de Carbono/Nitrógeno	-174.25

5 *A menor (es decir, más negativo) valor de ΔH_f , más fácil la abstracción del átomo de H de ese sitio.

Entalpías Computadas de la Formación de Radicales de

Amlodipina*

Molécula	ΔH_f (kcal/mol)
Radical de Carbono	-164.28
Radical de Nitrógeno	-148.27

10 *A menor (es decir, más negativo) valor de ΔH_f , más fácil la abstracción del átomo de H de ese sitio.

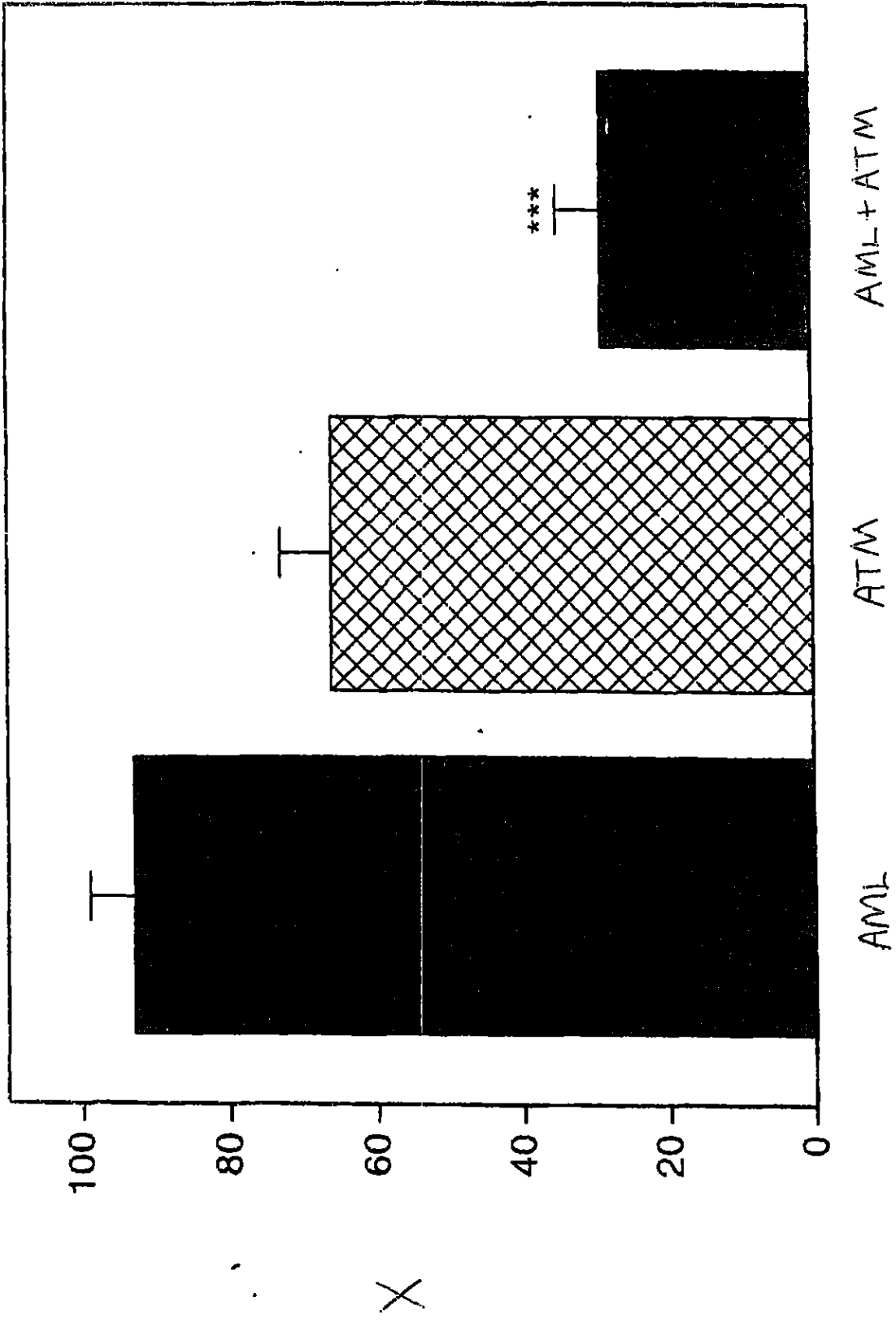


Figure 7B

101

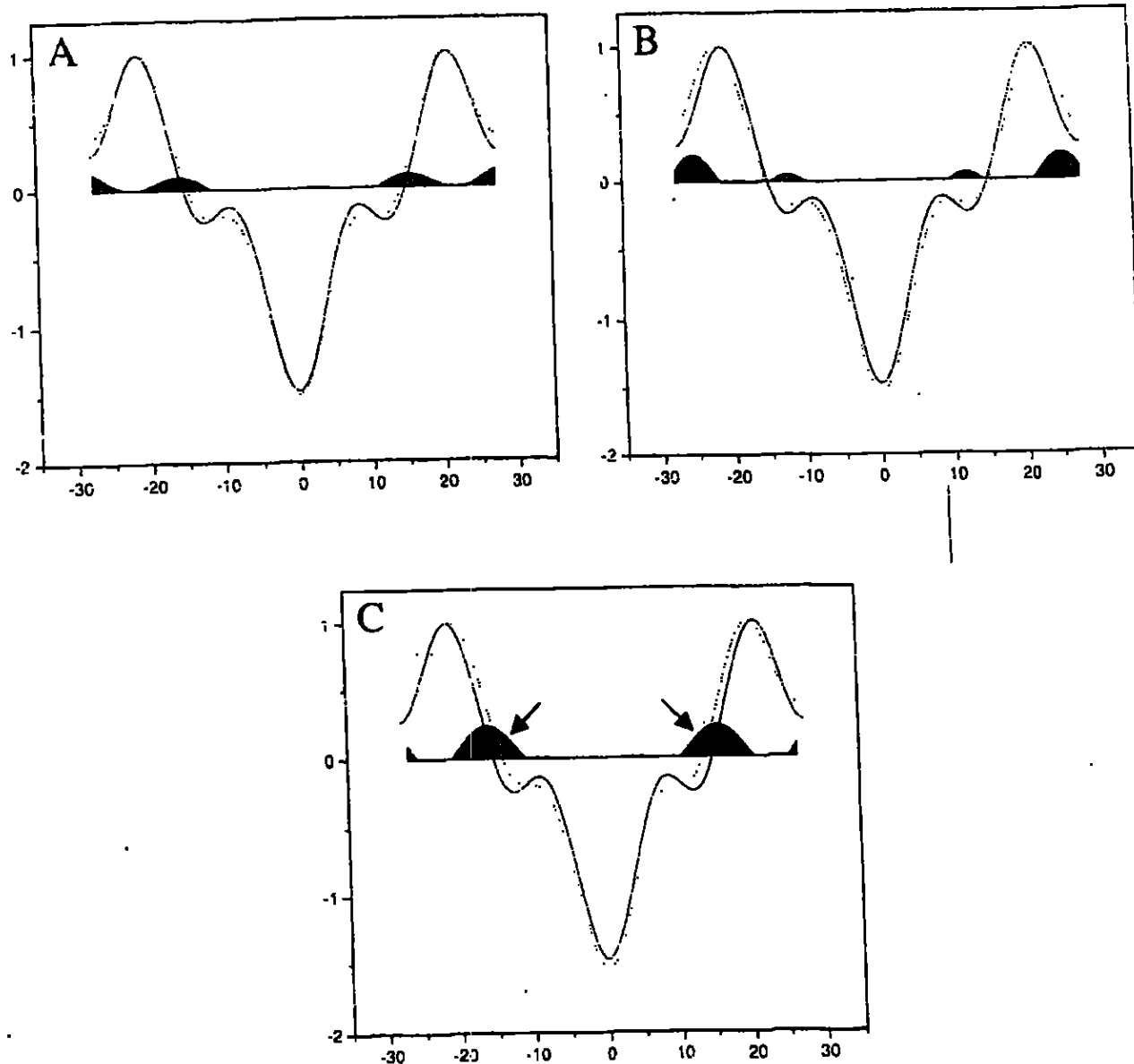
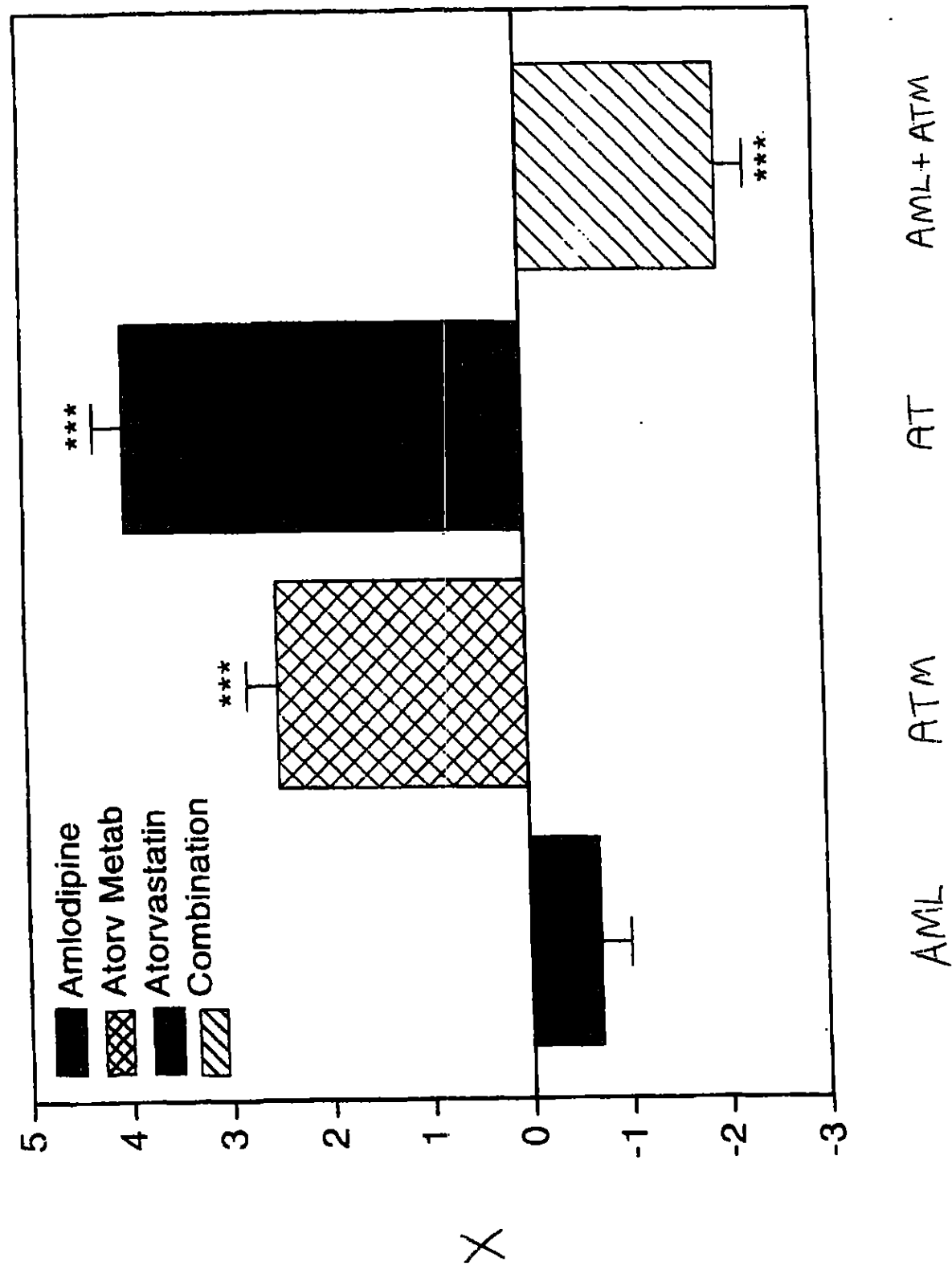


Figure 9



y

Figure 10

20

✓ Por folios 103 y 104 con fecha ~~2020122~~
* may 19/2000.

El folio 105 Extracto para publicación,
fue retirado.

Marzo 21/02



103

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 00029421 00000000

Folios: 105 Comercio

Fecha (APP): 2000-04-24 17:06:36

Trasite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAR

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

D E N C I A

REQUISITOS MINIMOS PARA COMERCIALIZAR

103

PATENTE DE INVENCION []

MODELO DE UTILIDAD []

- Nombre e identificación del Solicitante 1 []
- Nombre e identificación del Inventor 1 []
- Título o nombre de la Invención 1 []
- Descripción 18 []
- Reivindicaciones 47 []
- Resumen 88 []
- Comprobante de Pago 3 []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- Nombre e identificación del peticionario []
- Nombre e identificación del inventor o diseñador []
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse []
- Representación gráfica []
- Comprobante de pago []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha: _____

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

104

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

SI [] NO [x] NO APLICABLE [] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).

SI [x] NO [] **EXTEMPORANEAMENTE []** Reivindicó prioridad, dentro del
plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio
de París.

SI [] NO [x] NO APLICABLE [] Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.).

OBSERVACIONES JURIDICAS CONVENIO DE PARIS: En todo caso, deberá presentar copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, **en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses**, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud posterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

SI [] NO [X] Se ajusta a los aspectos **FORMALES** indicados en la Decisión 344 y por tanto,

SI [] NO [x] Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Santafé de Bogotá, D.C., 25 de abril del 2000.

EXAMINADOR JURIDICO

1º EXAMEN DE FORMA

Radicación nº 00-29421

CONCEPTO TÉCNICO Nº 746

IPC: A61K 31/41, 31/44

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
- SI ☐ NO ☐ Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
- SI ☐ NO ☒ Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94.
- SI ☐ NO ☐ Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94.
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☐ NO ☒ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

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

Santa Fe de Bogotá, D.C., 19 de mayo de 2000

202012

1º EXAMEN DE FORMA

CONCEPTO TÉCNICO Nº 746

EXPEDIENTE Nº 00-29421

IPC: A61K 31/41; 31/44

- -Las reivindicaciones 6 a 24 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener.
- -Las reivindicaciones 1 y 25 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 2 y 26, 3 y 27, 4 y 28, 5 y 29 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 30 a 34 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.
- -Las reivindicaciones 40 a 43 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener.
- -Las reivindicaciones 35 y 44 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 36 y 45, 37 y 46, 38 y 47, 39 y 48 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 49 a 53 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.
- -Las reivindicaciones 35, 44 y 54 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 36, 45 y 55; 37, 46 y 56; 38, 47 y 57; 39, 48 y 58 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 59 a 62 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.
- -Las reivindicaciones 1, 25 y 63 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 2, 26 y 64; 3, 27 y 65; 4, 28 y 66; 5, 29 y 67 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 68 a 86 tratan de definir la composición en términos de efectos

110
107

terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.

- -Las reivindicaciones 35, 44, 54 y 87 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 36, 45, 55 y 88; 37, 46, 56 y 89; 38, 47, 57 y 90; 39, 48, 58 y 91 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 92 a 96 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.
- -Las reivindicaciones 35, 44, 54 y 97 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 36, 45, 55 y 98; 37, 46, 56 y 99; 38, 47, 57 y 100; 39, 48, 58 y 101 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 102 a 105 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.
- -Las reivindicaciones 35, 44, 54, 97 y 106 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 36, 45, 55, 98 y 107; 37, 46, 56, 99 y 108; 38, 47, 57, 100 y 109; 39, 48, 58, 101 y 110 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.
- -Las reivindicaciones 111 a 115 tratan de definir la composición en términos de efectos terapéuticos a obtener o de efectos farmacológicos a obtener; una composición se debe definir técnicamente como únicamente en función de sus componentes y proporciones perfectamente delimitados.
- -Las reivindicaciones 35, 44, 54, 97, 106 y 116 reclaman exactamente la misma materia, igualmente las reivindicaciones 36, 45, 55, 98, 107 y 117; 37, 46, 56, 99, 108 y 118; 38, 47, 57, 100, 109 y 119; 39, 48, 58, 101, 110 y 120 son grupos de reivindicaciones redundantes, lo que quiere decir que cada una reivindica exactamente la misma materia ya reivindicada.

El capítulo reivindicatorio debe ser modificado de tal forma que el capítulo reivindicatorio debe ser:

a)-las reivindicaciones deben definir la invención por medio de sus características técnicas, definiendo de manera clara la materia para la cual se solicita protección las

reivindicaciones deben:

b) ser clara, precisas y concisas

La claridad: es primordial que la composición se caracterizarse técnicamente por medio de elementos estructurales y la relación o proporción.

Un método se define por sus características técnicas especiales como tal, con todos sus parámetros; las expresiones y términos usados en las reivindicaciones deben ser comprensibles y tener el significado habitual que se les da en el campo técnico correspondiente.

-Concisas -en cuanto a que el texto de la reivindicación no este cargado de términos superfluos e irrelevantes. Además el número de reivindicaciones debe mantenerse en concordancia con la realidad de lo que es la invención; osea que la exigencia de concisión en las reivindicaciones se refiere tanto al número total de reivindicaciones como al contenido de cada reivindicación.

202012

Santa Fe de Bogotá D.C., 19 de mayo de 2000.

112
109

EXPEDIENTE 00-029421

AUTO 1182

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al doctor XXXXX, como apoderado del solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a los 23 MAY 2000

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Santafé de Bogotá D.C. 25 MAY 2000 notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI ____ NO ____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA