

(19)



(10) **LT 5524 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patent numeris: **5524** (51) Int. Cl. (2006): **A61K 31/15**
A61K 31/18
A61K 31/513
- (21) Paraiškos numeris: **2008 003**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2008 01 18**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2008 07 25**
- (45) Patent paskelbimo data: **2008 10 27**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/LV2006/000005**
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **2006 08 08**
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2008 01 18**
- (30) Prioritetas: **P-05-95, 2005 08 15, LV**
- (72) Išradėjas:
Vija KLUSHA, LV
Sergejs ISAJEVS, LV
Jolanta PUPURE, LV
Juris RUMAKS, LV
Valentina GORDJUSHINA, LV
Immanuels TAIVANS, LV
Ivars KALVINSH, LV
- (73) Patent savininkas:
Latvian Institute of Organic Synthesis, Aizkraukles Street 21, LV-1006 Riga, LV
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Reda ŽABOLIENĖ, Advokatės Redos Žabolienės kontora METIDA, Verslo centras VERTAS, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Farmacinė kompozicija, kurios pagrindą sudaro atvirkštinės transkriptazės inhibitorius ir meldoniumas
- (57) Referatas:

Naujos farmacinės kompozicijos, kurios turi vieną arba kelis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius, t.y. zidovudino, lamivudino arba stavudino kliniškai veiksmingą kiekį, ir meldoniumo, o taip pat farmaciškai priimtinių nešiklių. Buvo įrodyta, kad meldoniumo įtraukimas į šias farmacines kompozicijas iš esmės sumažina atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus kardo ir neurotoksiškumą.

Technikos sritis

Šis išradimas susijęs su meldoniumo ir farmacinių kompozicijų, skirtų toksiškumo, sukkelto atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus tipo vaistų, sumažinimui, nauju terapiniu panaudojimu.

Žinomas technikos lygis

Yra žinoma, kad žmogaus imunodeficito viruso infekcija yra viena iš dažniausiai pasitaikančių labai pavojingų infekcijų, sudarančių apkrėstųjų 37,7 milijonų suaugusiųjų ir 2,2 milijonų vaikų 2004 pabaigoje. (Brocklehurst, P. et. al. Antiretrovirals for Reducing the Risk of Mother-to-Child Transmission of HIV Infection. Cochrane Database Syst Rev. 2002, No.2).

Plačiausiai ŽIV/AIDS gydyme yra naudojami zidovudinas (AZR), stavudinas ir lamivudinas, kurie slopina polimerazę γ , fermentą, atsakingą už ŽIV-1 mitochondrijų dezoksiribonukleino rūgšties (mtDNA) replikaciją. Taigi, zidovudinas ir stavudinas ir lamivudinas blokuoja mitochondrijos formavimąsi ir sukelia kitus šalutinius poveikius.

Meldoniumas, chemiškai 3-(2,2,2-trimetilhidrazino)propionatas yra aprašytas US 4481218 (INST Organicheskogo Sintezas AK (SU)) 1982.07.08.

Meldoniumas yra plačiai taikomas medicinoje kaip antiišeminis ir antistresinis vaistas įvairių širdies-kraujagyslių ligų ir kitų patologijų, įskaitant išemiją, gydymui.

Zidovudinas, chemiškai 3'-azido-3'-deoksitimidinas; azidotimidinas; arba AZT yra atvirkštinės transkriptazės inhibitorius. Zidovudino ir giminingų junginių terapiniai panaudojimai ir jų gavimo būdai buvo atskleisti US 4724232 (Burroughs Wellcome Co (US)) 1985.09.17.

Zidovudino prekyboje galima įsigyti kaip 100 mg kapsules, 300 mg tabletes, 10 mg/ml 20 ml vienkartinio naudojimo buteliuke ir 50 mg/5ml 240 ml sirupe.

Lamivudinas, chemiškai (2R-cis)-4-amino-1-[2-(hidroksimetil)-1,3-oksatiolan-5-il]-2(IH)-pirimidinonas; (-)-2'-deoksi-3'-tiacitidinas; (-)-1-[(2R,5S)-2-(hidroksimetil)-1,3-oksatiolan-5-il]citozinas; arba 3TC yra atvirkštinės transkriptazės inhibitorius. Lamivudino ir giminingų junginių terapiniai panaudojimai ir jų gavimo būdai yra atskleisti WO 9117159 (IAF Biochem INT (CA)) 1991.05.02.

LT 5524 B

Lamivudino prekyboje galima įsigyti kaip 100 mg, 150 mg ir 300 mg tabletes; 10 mg/ml 240 ml geriamo tirpalo.

Stavudinas, chemiškai 2',3'-didehidro-3'-deoksitimidinas; 1-(2,3-dideoksi-β-glicero-pent-2-enofuranozil)timinas; 3'-deoksi-2'-timidinenas yra atvirkštinės transkriptazės inhibitorius. Stavudino ir giminingų junginių terapiniai panaudojimai ir jų gavimo būdai buvo atskleisti US 5130421 (Bristol Myers Co (US)) 1991.04.29.

Stavudino prekyboje galima įsigyti kaip 15 mg, 20 mg, 30 mg ir 40 mg kapsules; ir 1 mg/ml 200 ml geriamo tirpalo.

Yra žinomas keletas būdų kaip gali būti apribotos neigiamos reakcijos, sukeltos zidovudino, stavudino ir lamivudino toksiškumu. Nepaisant to, nė vienas iš jų tuo pačiu metu nedaro poveikio tiek kardiomiocitų, tiek neuronų funkcionavimui.

Siekiant sumažinti mitochondrijų pakenkimą, konkrečiais atvejais yra rekomenduojamas papildomas antioksidantų, pvz., didelėmis dozėmis vitamino C ir vitamino E, panaudojimas (Brocklehurst, P, et al. Antiretrovirals for Reducing the Risk of Mother-to-Child Transmission of HIV Infection. Cochrane Database Syst Rev., 2002, no. 2; Fichtenbaum, C. J. Coronary Heart Disease Risk, Dyslipidemia, and Management in HIV-Infected Persons. HIV Clin Trials. 2004 Nov-Dec, vol. 5, No. 6, p. 416-433).

Bandymais su pelėmis yra įrodyta, kad vitamino C 1250 mg/ml dienos dozės ir vitamino E 75 mg/kg dienos dozės apsaugo mitochondriją nuo oksidacinio streso, o taip pat sumažina aspartato aminotransferazės (AST) ir laktato dehidrogenazės (LDH) aktyvumą ir taip pat apriboja nuo mitochondrinės ultrastruktūros pažeidimo. Kreatino kinazės (CK) aktyvumas taip pat sumažėja, kuris pastiprinamas zidovudino taikymo atveju (Peters, B. S. et al. Mitochondrial Myopathy Associated with Chronic Zidovudine Therapy in AIDS. Q J Med. 1993 Jan. vol. 86, No. 1, p. 5-15).

Kofermentas Q10 gali būti laikomas kaip kita medžiaga, galinti turėti teigiamos įtakos zidovudino neigiamų reakcijų sutrukdymui, aktyvuojant elektronų pernešimą kvėpavimo grandinėje; manoma, kad riboflavinai, tokoferolis, sukcinatai, askorbino rūgštis, menadionas ir nikotinamidas slopina kvėpavimo grandinės blokavimą (Larsson, N. G., et al. Mitochondrial Myopathies. Acta Physiol Scand. 2001, No.171, p. 225-233);

WO 9705864 (Sigma TAU IND Farmaceuti (IT); Mendes SRL (IT); Moretti Sonia (IT) 1996.07.19 pateikia informaciją, liečiančią naują L-karnitino, jo darinių ir jų farmakologiškai priimtinių druskų derinyje su antiretrovirusiniais vaistais, skirtų keramido lygių sumažinimui, padidinant aukščiau minėtų antiretrovirusinių vaistų aktyvumą,

LT 5524 B

panaudojimą ŽIV ir AIDS infekcijos terapiniam gydymui ir imuninės sistemos, veikiamos šių vaistų, sustiprinimui.

EP0560275 A (Sigma TAU IND Farmaceuti (IT)) 1993.03.09 buvo atskleistas L-karnitino ir jo farmakologiškai priimtinių druskų naujas panaudojimas ŽIV serologiškai teigiamų pacientų karnitino išsekimo gydymui.

Išradimo aprašymas**Technikos uždavinys**

Zidovudinas (AZT), stavudinas ir lamivudinas, kurie slopina polimerazę γ, fermentą, atsakingą už ŽIV-1 mitochondrijų dezoksiribonukleininės rūgšties replikaciją, yra plačiausiai naudojami AIDS gydymui. Tokiu būdu zidovudinas ir stavudinas ir lamivudinas blokuoja naujos mitochondrijos susidarymą.

Tačiau vaistų dozės formos ir kompozicijos, turinčios AZT, stavudino ir lamivudino, turi didelį trūkumą dėl jų riboto panaudojimo, susijusio su AZT, stavudino ir lamivudino toksiškumo neigimais poveikiais (Lewis, W, et al. Zidovudine Induces Molecular, Biochemical, and Ultrastructural Changes in Rat Skeletal Muscle Mitochondria. *Journal of Clin Invest.* 1992 Apr, vol. 89, No. 4. p. 1354-1210; Szabados, E, et al. Role of Reactive Oxygen Species and Poly-ADP-ribose Polymerase in the Development of AZT-induced Cardiomyopathy in Rat. *Free Radic Biol Med.* 1999 Feb, vol. 14, No. 3-4, p. 189-197; Blanco, F. First-line Therapy and Mitochondrial Damage: Different Nucleosides, Different Findings. *HIV Clin Trials.* 2003 Jan-Feb, vol. 4, No. 1, p. 11-19; Bishop, J. B, et al. Mitochondrial Damage Revealed by Morphometric and Semiquantitative Analysis of Mouse Pup Cardiomyocytes Following in Utero and Postnatal Exposure to Zidovudine and Lamivudine. *Toxicol Sci.* 2004, vol. 81, No. 2, p. 512-517).

AZT toksiškumas didžia dalimi yra taip pat susijęs su jo gebėjimu įsiskverbti į mitochondrijas (Nusbaum, N. J. AZT Incorporation into Mitochondria: Study in Human Myeloid Cell Line. *DNA Cell Biol.*, 1996, No. 15, p. 363-366), kas sukelia mtDNR ir citochromo C (CYC) eliminavimą jose. Šiuo metu yra pastebėtas oksidacinio fosforilavimo fermentų mažėjantis aktyvumas. Tai sukelia mitochondrijų gaminamo adenosino trifosfato (ATP) lygio sumažėjimą ir reaktyviųjų deguonies formų (ROS) akumuliaciją, todėl ląstelių anaerobinis kvėpavimas intensyvėja ir kaupiasi laktatas.

Zidovudino ir lamivudino toksiniai poveikiai kliniškai atsiranda kaip raumenų ląstelių miopatija, kurią sukelia mitochondrijų patologijos, kurios, be to, atsiranda dėl

pačios ŽIV infekcijos (Peters, B. S. et al. Myopathy Associated with Chronic Zidovudine Therapy in AIDS. *Q J Med.* 1993 Jan, vol. 86, No. 1, p. 5-15; Bakker, H. D. et al. Vitamin-Responsive Complex-1 Deficiency in a Myopathic Patient with Increased Activity of the Terminal Respiratory Chain and Lactic Acidosis. *J Inherit Metab Dis.* 1994, No. 17, p. 196-204; Sulkowski, M. S. et al. Hepatic Steatosis and Antiretroviral Drug Use Among Adults Co-infected with HIV and Hepatitis C Virus. *AIDS.* 2005 Mar 24, vol. 19, No. 6, p. 585-592; Lichterfeld, M., et al. Fatty Liver and Increased Serum Lactate in a Woman with HIV. *Dtsch Med Wochenschr.* 2003 Jan 17, vol. 98, No. 3, p. 81-84; De la Asuncion, J. G., et al. AZT Induces Oxidative Damage to Cardiac Mitochondria: Protective Effect of Vitamins C and E. *Life Sci.* 2004 Nov 19, vol. 76, No. 1, p. 29-56; Bishop, J. B., et al. Mitochondrial Damage Revealed by Morphometric and Semiquantitative Analysis of Mouse Pup Cardiomyocytes Following in Utero and Postnatal Exposure to Zidovudine and Lamivudine. *Toxicol Sci.* 2004, vol. 81, No. 2, p. 512-517).

Mitochondrijos pažeidimas paprastai pradžioje veikia raumenų ląstelių funkcionavimą, kadangi pastarosios pasižymi dideliu energijos sukaupimu (Larsson, N. G. et al. Mitochondrial Myopathies. *Acta Physiol Scand.* 2001, No. 171, p. 225-233).

Tai yra širdies raumuo, kuris yra labiausiai veikiamas miopatijų (Szabados, E., et al. Role of Reactive Oxygen Species and Poly-ADP-ribose Polymerase in the Development of AZT-induced Cardiomyopathy in Rat. *Free Radic Biol Med.* 1999 Feb, No. 14, p. 3-4 and 189-197; Bishop, J. B., et al. Mitochondrial Damage Revealed by Morphometric and Semiquantitative Analysis of Mouse Pup Cardiomyocytes Following in Utero and Postnatal Exposure to Zidovudine and Lamivudine. *Toxicol Sci.* 2004, vol. 81, No. 2, p. 512-517; Gerschenson, M., et al. Fetal Mitochondrial Heart and Skeletal Muscle Damage in Erythrocebus Patas Monkeys Exposed in Utero to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2000 May 1, vol. 16, No. 7, p. 635-626).

Zidovudinas ir kiti nukleozidų atvirkštinės transkriptazės inhibitoriai (NRTIs) (lamivudinas ir stavudinas) taip pat dažnai sukelia sensorinę neuropatiją, kas prisideda prie paciento gyvenimo kokybės pablogėjimo (Cherry et al., *J Clin Virol* 2003, 26:195-207).

Pagrindinė problema yra surasti agentus, kurie mažina toksiškumą, sukeltą atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus tipo vaistais. Tokie agentai įgalintų panaudoti atvirkštinės transkriptazės inhibitorių veiksmingas dozes su nedideliais neigiamais poveikiais.

Techninis sprendimas

Kol buvo dedamos pastangos pagaminti farmacinę kompoziciją, skirtą retrovirusų infekcijos gydymui, pasižyminčią iš esmės nedideliu toksiškumu, mes netikėtai suradome, kad dozės, adekvačios terapinėms, naudojamoms klinikoje su farmacinėmis kompozicijomis, turinčiomis meldoniumo [3-(2,2,2-trimetilhidrazin)propionato dihidratas], vaisto, skirto širdies nepakankamumo gydymui, skiriamo kartu su arba naudojamo farmacinėje kompozicijoje su zidovudinu, lamivudinu arba stavudinu arba bet kuriuo kitu kliniškai priimtinu atvirkštinės transkriptazės inhibitoriumi, veiksmingai užkerta kelią miocitų, konkrečiai kardiomiocitų pažeidimui, kurį sukelia atvirkštinė transkriptazės inhibitoriai, įskaitant zidovudiną, lamivudiną ir stavivudiną.

Buvo pasiūlyta eilė medžiagų, skirtų atvirkštinės transkriptazės inhibitorių toksiškumo sumažinimui.

Taigi, meldoniumo, kuris yra žinomas kaip žeminantis karnitino lygį ir mažinantis karnitino palmitoiltransferazės aktyvumą, kardioapsauginis poveikis buvo nelauktas ir stebinantis (Dambrova, M., et al. Mildronate: Cardioprotective Action through Carnitine-Lowering Effect. Trends Cardiovasc Med. 2002, No. 9, p. 155-159).

Šioje srityje yra gerai žinomos farmacinės kompozicijos, turinčios atvirkštinės transkriptazės inhibitorių ir karnitino, ir atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus panaudojimas derinyje su karnitinu.

Karnitinas ir meldoniumas struktūriškai yra labai panašūs. Tačiau meldoniumo farmakologinis poveikis buvo priskirtas kaip veikiantis prieš karnitino poveikį. Taigi, šios srities specialistui nėra akivaizdu sujungti atvirkštinės transkriptazės inhibitorių su meldoniumu.

Netikėtas meldoniumo poveikis taip pat negali būti paaiškintas kitu aktyvumu. Kadangi meldoniumas nėra oksiduotas šiltakraujų gyvūnų ir žmonių organizme, jis negali būti laikomas kaip tiesioginio poveikio antioksidantas, kas iš principo išskiria jį iš redukuojančių vitaminų arba metabolitų, plačiai naudojamų zidovudino, lamivudino ir stavudino neigiamų reakcijų sutrukdymui.

Literatūroje nėra nurodyta, kad meldoniumas, kaip molekulė, gali dalyvauti elektronų pernešime mitochondrijų kvėpavimo grandinėje. Taigi, tai iš esmės taip pat skiriasi nuo kofermento Q10, nikotinamido ir panašių medžiagų, galimai turinčių tokį

LT 5524 B

veikimo mechanizmą. Taip pat nėra duomenų, kad meldoniumas turi kurias nors antivirusines savybes.

Todėl netikėtai mes atradome meldoniumo, vieno arba terapinėse kompozicijose, turinčiose atvirkštinės transkriptazės inhibitorių, pvz., zidovudina, lamivudina ir stavudina, ir meldoniumo arba jo farmaciškai priimtinių druskų, gebėjimą iš esmės slopinti toksiškus neigiamus poveikius, sukeltus šiais antivirusiniais vaistais, konkrečiu atveju kardiomiopatiją ir neurotoksiškumą, nesusilpninat jų prieš tai nežinomo specifinio antivirusinio aktyvumo, ir tai iš esmės skiriasi nuo žinomų kompozicijų, turinčių atvirkštinės transkriptazės inhibitorių.

Yra visiems žinoma, kad meldoniumas, kaip farmakologiškai aktyvi medžiaga, pasižymi ypač mažu toksiškumu (daugiau negu 25000 mg/kg peroraliai pelei), jis nėra nei teratogeninis, embriotoksinis, nei kancerogeninis ir praktiškai nedaro neigiamo poveikio žmogaus organizmui.

Mes atradome, kad tai yra taip pat chemiškai pakankamai inertinė medžiaga, kuri gali būti susijungusi į kompozicijas netgi su tokiomis sudėtingomis ir chemiškai jautriomis medžiagomis, kaip nukleozidų analogai, įskaitant zidovudina, lamivudina ir stavudina.

Mes atradome, kad terapinėje kompozicijoje meldoniumo santykis su atvirkštinės transkriptazės inhibitoriumi gali būti nuo 1:100 iki 100:1. Eksperimentuose su kompozicijomis, turinčiomis, pavyzdžiui, zidovudino, lamivudino arba stavudino ir meldoniumo, mes nustatėme, kad meldoniumo santykis su zidovudinu, lamivudinu arba stavudinu gali įvairuoti nuo 1:5 iki 5:1, vis dėlto santykiai nuo 1:2 iki 2:1 yra geresni.

Farmacinės kompozicijos taip pat gali būti paruoštos meldoniumo ir kitų atvirkštinės transkriptazės inhibitorių pagrindu; meldoniumo arba jo farmaciškai priimtinių druskų ir zidovudino, lamivudino arba stavudino kompozicijos nėra ribojantys pavyzdžiai.

Geriamose dozės formose zidovudino, lamivudino arba stavudino kiekis yra 5-500 mg tabletėje, kapsulėje arba kitoje tinkamoje dozės formoje.

Terapinės kompozicijos, turinčios zidovudino, lamivudino arba stavudino ir meldoniumo, gali būti pagamintos tiek peroraliniam, tiek parenteraliniam įvedimui. Konkrečiais atvejais taip pat gali būti naudojamos transderminio įvedimo formos.

Peroraliniam įvedimui gali būti naudojamos kapsulės, tabletės, žirneliai, milteliai, sirupai ir kitos dozės formos, turinčios zidovudino, lamivudino arba stavudino ir meldoniumo ir tinkamos peroraliniam įvedimui, kurios, be zidovudino, lamivudino arba

LT 5524 B

stavudino ir meldoniumo apima farmaciškai priimtinus užpildus. Šios terapinės formos gali būti paruošiamos plačiai žinomais peroralinės dozės formų būdais.

Zidovudino, lamivudino arba stavudino kiekis ir nurodyta zidovudino, lamivudino arba stavudino su meldoniumu kompozicijos dienos dozė duoda pakankamą zidovudino, lamivudino arba stavudino lygį žmogaus organizme ir paprastai sudaro 1-15 mg/kg žmonėms, atitinkamai 10-150 mg/kg pelėms. Tais atvejais, kai pateiktos kompozicijos atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra zidovudinas, lamivudinas arba stavudinas, tabletės, kapsulės arba kitos zidovudino, lamivudino arba stavudino ir meldoniumo tinkamos peroraliniam vartojimui formos kompozicijos įprastai turi 10-300 mg zidovudino, lamivudino arba stavudino ir 5-1000 mg meldoniumo. Naudojant parenteralinį įvedimą, šiai dozės formai rekomenduojama 10-20 mg/ml koncentracijos zidovudino, lamivudino arba stavudino ir 50-400 mg/ml koncentracijos meldoniumo.

Farmacinės kompozicijos gali būti sudarytos meldoniumo ir kitų atvirkštinės transkriptazės inhibitorių, iliustruotų, bet nesiribojančių zidovudinu, lamivudinu arba stavudinu, pagrindu, kur atvirkštinės transkriptazės inhibitorius turi tokį patį santykį su meldoniumu kaip zidovudino, lamivudino arba stavudino ir meldoniumo arba jo farmaciškai priimtinių druskų farmacinėse kompozicijose.

Išradimo esmė yra iliustruota, bet nesiribojanti sekančiais pavyzdžiais.

Zidovudino ir meldoniumo farmacinių kompozicijų kardiotoksinis poveikis buvo ištirtas, įvedant jas į vyriškos lyties peles, kurių pradinė masė $15,69 \pm 1,56$ g per dvi savaites. Eksperimento metu gyvūnai buvo laikomi standartinėse laboratorinėse sąlygose $22 \pm 0,5$ °C temperatūroje ir 12 valandų šviesos/tamsos ciklu, maitinami standartiniu laboratoriniu gyvūnų maistu. Kontrolinei grupei (n=6) kasdien (1-oji ir 12-oji grupė) per pilvaplovę buvo įvedama 10 ml 0,9% NaCl vandeninio tirpalo.

Eilėje eksperimentų gyvūnų bandomosioms grupėms (įskaitant kiekvienas 6 peles) per pilvaplovę kasdien buvo skiriami sekantys tirpalai.

Eksperimentų serijos Nr. 1:

1-oji grupė - kontrolinė;

2-oji grupė – 100 mg/kg meldoniumo 0,9% NaCl tirpale;

3-oji grupė – 50 mg/kg zidovudino 0,9% NaCl tirpale;

4-oji grupė – 150 mg/kg farmacinės kompozicijos, susidedančios iš zidovudino ir meldoniumo 1:2 (nuo masės), ištirpintos 0,9% NaCl vandeniame tirpale;

5-oji grupė - 100 mg/kg meldoniumo 0,9% NaCl tirpale ir 50 mg/kg zidovudino 0,9% NaCl tirpale;

Eksperimentų serijos Nr. 2:

6-oji grupė – 50 mg/kg stavudino 0,9% NaCl tirpale;

7-oji grupė – 50 mg/kg lamivudino 0,9% NaCl tirpale;

8-oji grupė – 150 mg/kg farmacinės kompozicijos, susidedančios iš stavudino ir meldoniumo 1:2 (nuo masės), ištirpintos 0,9% NaCl vandeniniame tirpale;

9-oji grupė – 150 mg/kg farmacinės kompozicijos, susidedančios iš lamivudino ir meldoniumo 1:2 (nuo masės), ištirpintos 0,9% NaCl vandeniniame tirpale;

10-oji grupė – 100 mg/kg meldoniumo 0,9% NaCl tirpale;

11-oji grupė - 100 mg/kg meldoniumo 0,9% NaCl tirpale ir 50 mg/kg stavudino 0,9% NaCl tirpale;

12-oji grupė - 100 mg/kg meldoniumo 0,9% NaCl tirpale ir 50 mg/kg lamivudino 0,9% NaCl tirpale;

13-oji grupė – kontrolinė.

15-ąją tyrimo dieną gyvūnai buvo numarinti, buvo išimtos širdys ir patalpintos į 10% formalino tirpalą. Imuno-histocheminiam tyrimui organai buvo fiksuoti parafinu ir supjaustyti 4 μ m storio ruošiniais, kurie buvo nuspalvinti avidino-biotino imuno-histocheminiu būdu, naudojant DAKO LSAB reagentų rinkinį. Turėdami nuo riebalų atskirtus preparatus, mes fiksavome juos su reagentus blokuojančia peroksidaze (vandenilio peroksidas ir natrio azidas 0,015 mol/l) 10 min., praplovėme izotoniniu buferiu (pH 7,6) ir po to inkubavome drėgnoje kameroje su triušio polikloniniais NF-kBp65 antikūnais (Abcam, Ltd) (1:200) 4 °C 12 valandų.

Mes inkubavome preparatus su biotinilintu anti-ožkos IgG 30 min. kambario temperatūroje. Po to dalys buvo inkubuotos su fermentu žymėtu streptavidinu. Imunoperoksidazės spalvotos reakcijos vyko inkubuojant su diaminobenzidinu. Vykstant nuspalvinimo procedūroms, kaip teigiama kontrolė buvo pastoviai naudojami plaučių parenchima (olveolių makrofagai) ir kaip neigiama kontrolė buvo naudojamas audinys be pradinio apdorojimo pirminiais antikūnais. NF-kBp65 teigiamų ląstelių skaičius (tiek citoplazminiame, tiek branduoliniame nuspalvinimuose) buvo nustatytas akluoju būdu. Kiekybiniam įvertinimui buvo naudojama vaizdų analizės programinė įranga Motic Image, Motic ir Image ProPlus, Leica, 4000B. Visi ląstelių skaičiavimai buvo išreikšti kaip ląstelės per 1 mm². Širdyje NF-kBp65 teigiami kardiomiocitų branduoliai buvo skaičiuojami padidinto galingumo laukuose (x400) ir buvo užfiksuotas jų bendras skaičius.

LT 5524 B

Rezultatai buvo pateikti kaip vidurkis $\pm$ SEM. Statistinio patikimumo analizei buvo naudojamas neporinis t-testas (Mann-Whitney U testas) pasitikėjimo lygiu $P < 0,05$.

Buvo atrasta, kad palyginus su kontroline, AZT, stavudinas arba lamivudinas sukelia perivaskulinę edemą, miokardo riebalinio audinio degeneraciją ir infiltraciją su leukocitais, kas inicijuoja kardiomiocitų nekrozę. Meldoniumas, kuris buvo skiriamas kartu su AZT, lamivudinu arba stavudinu, ir meldoniumo/AZT, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino kompozicijos santykiu, pvz. 2:1, žymiai sumažino perivaskulinę arba griaučių edemą, apsaugojo nuo kardiomiocitų nekrozės, miokardo riebalinio audinio degeneracijos ir leukocitų infiltracijos.

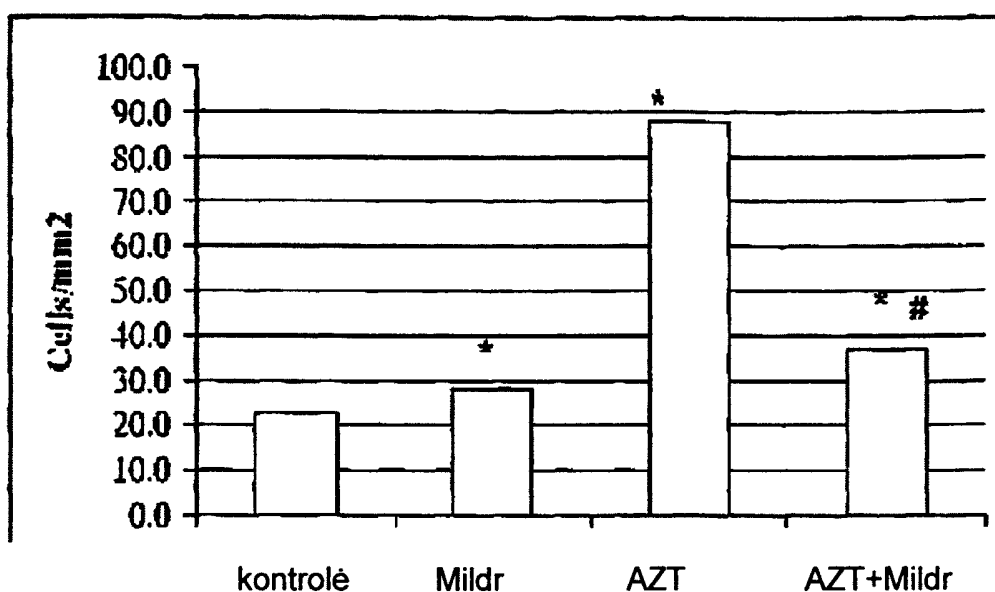


Fig. 1. Bendras NF-kB teigiamų ląstelių skaičius širdies audinyje. Paaiškinimai: kontrolė – kontrolinė grupė, Mildr – meldoniumo grupė, AZT – AZT grupė, AZR+Mildr – meldoniumo/AZT farmacinės kompozicijos grupė. Statistinis patikimumas buvo apskaičiuotas kaip * $P < 0,05$ santykinai kontrolinei grupei; # $P < 0,05$ AZT grupei.

1 lentelė

NF-kBp65 teigiamos ląstelės pelės širdies audinyje, mm2				
	Kontrolinė	Meldoniumo	AZT	Meldoniumo ir AZT
Vidurkis	22,7	27,9	88,1	36,8

Fig. 1 ir 1 lentelėje yra parodyti rezultatai, kurie patvirtina bendrą (lokalizuotą branduolyje ir citozolyje) NF-kBp65 aktyvaciją, sukeltą AZT, kuri yra statistiškai patikima

LT 5524 B

($P < 0,05$), tuo tarpu meldoniumo/AZT farmacinė kompozicija pažeidžia miokardą iš esmės mažiau, ką akivaizdžiai parodo tas faktas, kad NF-kB aktyvumas, naudojant meldoniumo/AZT kompoziciją žymiai sumažėja, palyginus su AZT grupe. Toks pats rezultatas buvo gautas su grupe, kuriai meldoniumas ir AZT buvo skiriami atskirai. Be to, kai meldoniumo ir meldoniumo/AZT kompozicijų pasiūlytas medicininis pritaikymas buvo panaudotas, NF-kBp65 aktyvumas nežymiai skyrėsi nuo sveikų kontrolinės grupės gyvūnų parametru.

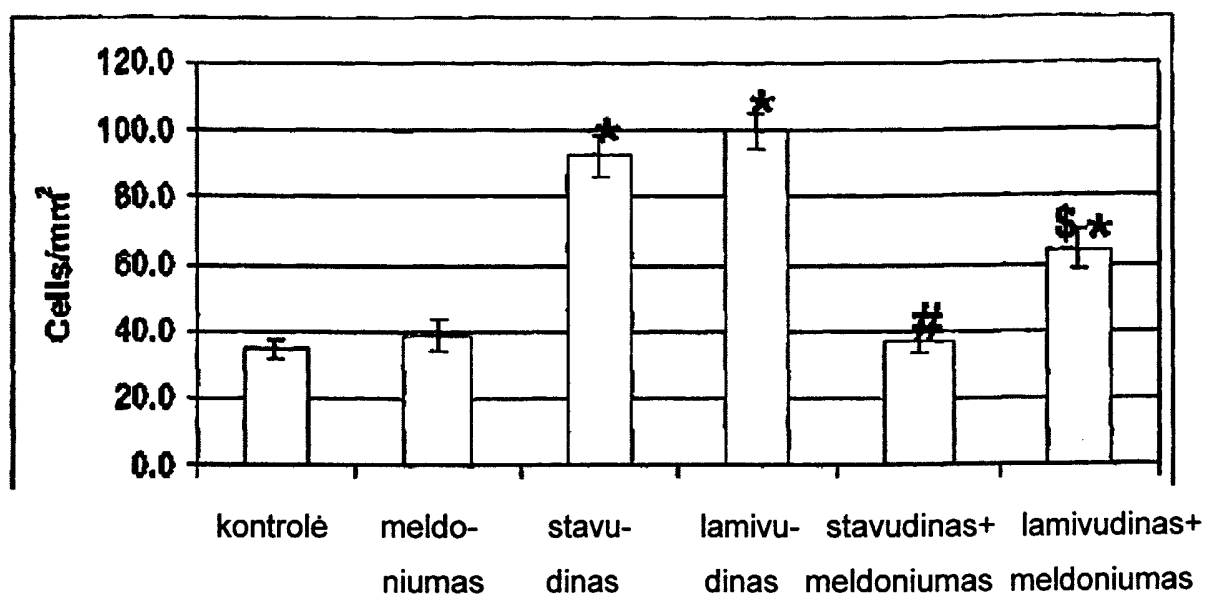


Fig. 2. bendras NF-kB teigiamų ląstelių skaičius širdies audinyje. Paaiškinimai: kontrolė - kontrolinė grupė, meldoniumas - meldoniumo grupė, stavudinas - stavudino grupė, lamivudinas - lamivudino grupė, stavudinas+meldoniumas - stavudino/meldoniumo farmacinės kompozicijos grupė, lamivudinas+meldoniumas - lamivudino/meldoniumo farmacinės kompozicijos grupė. Statistinis patikimumas yra apskaičiuotas kaip * $P < 0,05$ santykinai kontrolinei grupei; # $P < 0,05$ stavudino grupei; \$ $P < 0,05$ lamivudino grupei.

2 lentelė

NF-kBp65 teigiamos ląstelės pelės širdies audinyje, mm2						
	Kontrolinė	Meldoniū mo	Stavudi no	Lamuvi dino	Stavudino+ meldoniumo	Lamuvidino+ meldoniumo
Vidurkis	34,7	38,8	92,5	100,1	36,6	64,3

Fig. 2 ir 2 lentelėje yra parodyti rezultatai, kurie patvirtina bendrą (lokalizuotą branduolyje ir citozolyje) NF-kBp65 aktyvaciją, sukeltą stavudino ir lamivudino, kuri yra statistiškai patikima ($P < 0,05$), tuo tarpu meldoniumo/stavudino farmacinė kompozicija arba meldoniumo/lamivudino farmacinė kompozicija pažeidžia miokardą žymiai mažiau, ką akivaizdžiai parodo tas faktas, kad NF-kB aktyvumas, naudojant meldoniumo/stavudino kompoziciją arba meldoniumo/lamivudino kompoziciją žymiai sumažėja, palyginus su stavudino ir lamivudino grupe. Tokie patys rezultatai buvo gauti su grupėmis, kur meldoniumas ir lamivudinas arba stavudinas buvo skiriami atskirai. Be to, kai buvo naudojamos pasiūlytos kompozicijos, NF-kBp65 aktyvumas nežymiai skyrėsi nuo sveikų kontrolinės grupės gyvūnų parametrų.

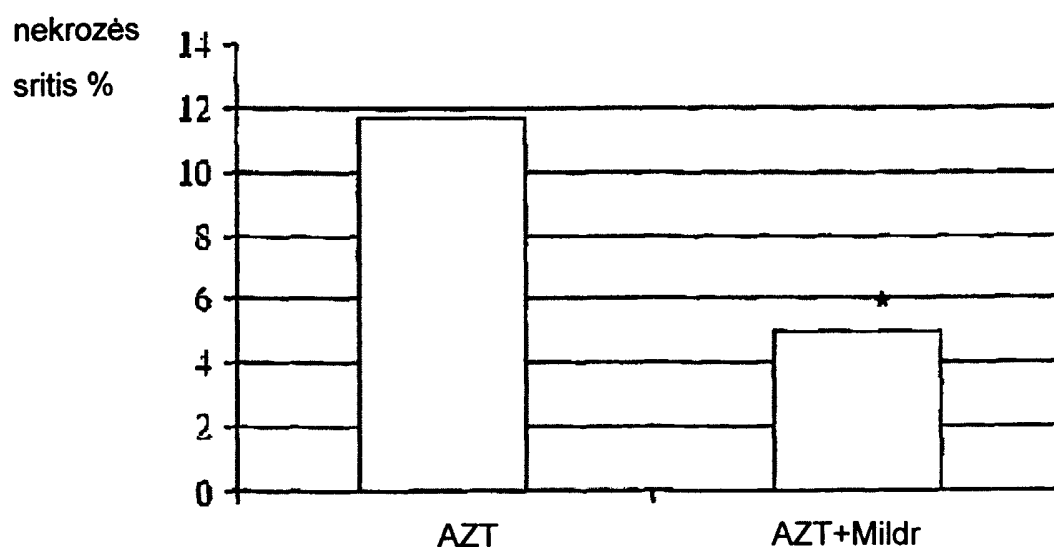


Fig. 3. NF-kB teigiami kardiomiocitai pelės miokardo audinyje. Statistinis patikimumas yra apskaičiuotas kaip * $P < 0,05$ santykinai AZT grupei.

3 lentelė

Nekrozės sritis %		
	AZT	AZT+meldoniumas
Vidurkis	11,7	5

NF-kBp65 aktyvacija, lokalizuota kardiomicitų branduolyje (Fig. 3 ir 3 lentelė) buvo stebima tik AZT ir AZT+meldoniumas grupėse. Konkrečiai šiuo apibrėžto

LT 5524 B

meldoniumo ir AZT farmacinės kompozicijos panaudojimo atveju, NF-kB aktyvumo lygis buvo žymiai mažesnis, palyginus su AZT grupės parametrais ($P < 0,05$). Toks pats rezultatas buvo gautas su grupe, kurioje meldoniumas ir AZT buvo skiriami atskirai.

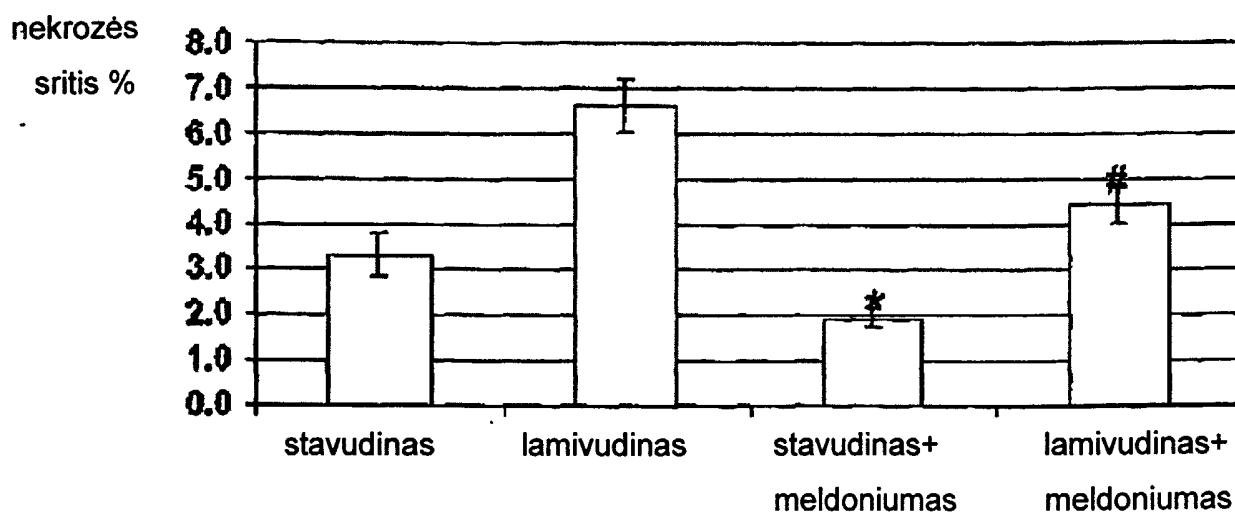


Fig. 4. NF-kB teigiami kardiomiocitai pelės miokardo audinyje. Statistinis patikimumas buvo apskaičiuotas kaip * $P < 0,05$ santykinai stavudino grupei. Statistinis patikimumas buvo apskaičiuotas kaip # $P < 0,05$ santykinai lamivudino grupei.

4 lentelė

Nekrozės sritis %				
	Stavudino	Lamivudino	Stavudino+meldoniumo	Lamivudino+meldoniumo
Vidurkis	3,3	6,6	2,0	4,4

NF-kBp65 aktyvacija, lokalizuota kardiomicitų branduolyje (Fig. 3 ir 3 lentelė) buvo stebima tik stavudinui ir lamivudinui ir meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino farmacinėms kompozicijoms. Konkrečiai šiuo apibrėžto meldoniumo/stavudino ir meldoniumo/lamivudino farmacinės kompozicijos panaudojimo atveju, NF-kB aktyvumo lygis buvo žymiai mažesnis, palyginus su stavudino ir lamivudino grupių parametrais ($P < 0,05$). Toks pats rezultatas buvo gautas su grupėmis, kuriose meldoniumas ir AZT buvo skiriami atskirai.

Tyrimas parodė, kad AZT iš esmės padidina tiek bendrą NF-kBp65 teigiamų ląstelių skaičių širdies audinyje, tiek NF-kBp65 kardiomicito branduolyje. Nežiūrint to,

LT 5524 B

nurodytas paralelinis meldoniumo ir AZT, stavudino arba lamivudino skyrimas ir meldoniumo ir AZT, meldoniumo ir stavudino farmacinė kompozicija arba meldoniumo ir lamivudino farmacinė kompozicija žymiai sumažina tiek bendrą NF-kBp65 teigiamų ląstelių skaičių širdies audinyje, tiek NF-kBp65 kardiomicito branduolyje.

Taip pat buvo gauti teigiami rezultatai su kitais meldoniumo/AZT, meldoniumo stavudino arba meldoniumo/lamivudino santykiniais farmacinėje kompozicijoje, minimalūs atvirkštiniai poveikiai buvo nustatyti, jeigu meldoniumo/AZT, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino santykiai buvo nuo 5:1 iki 1:2.

Kadangi meldoniumo biotinkamumas yra labai aukštas vartojant jį peroraliai, buvo nustatyti meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino farmacinių kompozicijų daug mažesni toksiniai poveikiai, negu AZT, lamivudino arba stavudino terapinių formų, tiek įvedant parenteraliai, tiek enteraliai.

Taigi, rezultatai rodo, kad meldoniumo ir AZT, lamivudino arba stavudino skyrimas kartu ir farmacinių kompozicijų, turinčių meldoniumo, AZT, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino skyrimas yra iš esmės skirtingi nuo AZT, lamivudino arba stavudino dėl toksinio poveikio miokardui ir neuronams. AZT, lamivudinas arba stavudinas iš esmės sukelia miokardo riebalų degeneraciją ir NF-kBp65 aktyvaciją širdies audiniuose, tuo tarpu analogiškos AZT, lamivudino arba stavudino dozės farmacinėse kompozicijose su meldoniumu arba paralelinis naudojimas neduoda statistiškai patikimų duomenų apie miokardo pažeidimą.

Buvo atliekami tolesni eksperimentai tam, kad įsitikinti ar paralelinio meldoniumo arba AZT/meldoniumo kompozicijos, lamivudino/meldoniumo farmacinės kompozicijos arba stavudino/meldoniumo farmacinės kompozicijos panaudojimo taikymas turi kokį nors pranašumą, palyginus su AZT, stavudino, lamivudino panaudojimu NRTI neurotoksinių poveikių atžvilgiu. Šiam tikslui analogiško modulio eksperimente dvi savaites buvo nustatomos eksperimentinių gyvūnų neurologinės reakcijos. Šiam nustatymui buvo atliktas įprastas skausmo latentinio periodo riboto suspaudimo modelyje testas, o taip smegenų žievės neuronų degeneracinės transformacijos įvertinimas (molekuliniuose ir išorinių granulių sluoksniuose).

Eksperimentai parodė, kad AZT, stavudinas arba lamivudinas išprovokuoja ryškią algeziją ir tuo pačiu sukelia trigubą (3 kartus didesni) padidėjimą smegenų žievės degeneruotuose neuronuose, palyginus su kontroliniu. Tuo pačiu metu bendras meldoniumo panaudojimas su AZT, lamivudinu arba stavudinu arba AZT/meldoniumo, lamivudino/meldoniumo arba stavudino/meldoniumo farmacinių kompozicijų

LT 5524 B

panaudojimas, palyginus su sveikų kontrole, nesukėlė statistiškai žymaus degeneravusių neuronų skaičiaus padidėjimo smegenų žievėje, kas iš esmės parodo aprašytų kompozicijų pranašumą, palyginus su AZT, stavudino arba lamivudino panaudojimu.

Taigi, AZT/meldoniumo, lamivudino/meldoniumo arba stavudino/meldoniumo farmacinės kompozicijos arba bendras meldoniumo, AZT, lamivudino arba stavudino skyrimas pozityviai skiriasi nuo AZT, stavudino arba lamivudino tuo, kad aprašyta kompozicija praktiškai nedaro esminio toksinio poveikio arba širdies, arba smegenų audiniams, jeigu dozės, turinčios AZT kiekis, kuris paimtas vienas sukelia esminio širdies ir smegenų žievės audinio pažeidimą, yra taikomas per 14 dienų. Dėl to AZT/meldoniumo, lamivudino/meldoniumo arba stavudino/meldoniumo kompozicijos arba bendras meldoniumo skyrimas su AZT, lamivudinu ir stavudinu skiriasi žymiai aukštesniu saugumo laipsniu, kai yra naudojamos jo kliniškai tinkamos dozės.

Meldoniumo/AZT, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino farmacinės kompozicijos gali būti sudarytos tiek peroraliniam ir parenteraliniam, tiek vietiniam vartojimui.

Parenteralinėms vartojimo formoms meldoniumo/AZT, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino kompozicija yra paruošiama arba kaip sausi sterilūs milteliai, skirti injekcijoms su arba be farmaciškai priimtino nešiklio, arba kaip tirpalai, skirti injekcijai/I.V. infuzijai. Injekcinėms tirpalų formoms yra paruošiami meldoniumo ir AZT, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino tirpalai vandenyje, 0,9% NaCl, atitinkamos koncentracijos gliukozės vandeniniame tirpale arba farmaciškai priimtiniuose buferiniuose tirpaluose, suderinamuose su abiem aktyviomis medžiagomis. Meldoniumo koncentracija injekcijų dozės formose gali būti iki 40%, tuo tarpu maksimali AZT, lamivudino arba stavudino koncentracija priklauso nuo AZT, lamivudino arba stavudino tirpumo atitinkamame tirpiklyje.

AZT/meldoniumo, meldoniumo/stavudino arba meldoniumo/lamivudino farmacinių kompozicijų peroralinio vartojimo formos (tabletės su arba be apvalkalo, kapsulės, dražė, žirneliai, granulės, milteliai arba tirpalai) ir panašiai yra paruošiamos žinomais peroralinių terapinių formų paruošimo būdais, kur farmaciškai priimtini užpildai (priedai) yra parenkami iš tokių, kurie yra chemiškai suderinami su AZT, lamivudinu arba stavudinu ir meldoniumu. AZT, lamivudino arba stavudino kiekis kiekvienoje peroralinio vartojimo dozėje yra 5-500 mg, geriau 15-40 mg arba 100-300 mg, tuo tarpu meldoniumo yra 5-4500 mg, geriau 20-600 mg.

LT 5524 B

Galima farmacinė kompozicija, skirta peroraliniam vartojimui, iliustruojanti bet neapribojanti šio išradimo, yra sekanti tablečių gamybos forma:

	Pavyzdys 1	Pavyzdys 2	Pavyzdys 3	Pavyzdys 4	Pavyzdys 5
AZT	100 mg	300 mg	300 mg	0	0
Lamivudinas	0	0	0	100 mg	150 mg
Meldoniumas	250 mg	600 mg	60 mg	200 mg	300 mg
Kraskmolas	20 mg	40 mg	20 mg	20 mg	25 mg
Talkas	10 mg	20 mg	10 mg	10 mg	15 mg
Ca stearatas	1 mg	2 mg	1 mg	1 mg	1 mg

	Pavyzdys 6	Pavyzdys 7	Pavyzdys 8	Pavyzdys 9	Pavyzdys 10
Lamivudinas	300 mg	0	0	0	0
Stavudinas	0	15 mg	20 mg	30 mg	40 mg
Meldoniumas	60 mg arba 600 mg	5 mg arba 30 mg	4 mg arba 100 mg	60 mg	80 mg
Kraskmolas	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg
Talkas	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
Ca stearatas	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg	1 mg

Galima farmacinė kompozicija, skirta peroraliniam vartojimui, iliustruojanti bet neapribojanti šio išradimo, yra sekanti kapsulių gamybos forma:

	Pavyzdys 11	Pavyzdys 12	Pavyzdys 13	Pavyzdys 14	Pavyzdys 15
AZT	100 mg	0	0	0	0
Lamivudinas	0	100 mg	0	0	0
Stavudinas	0	0	15 arba 20 mg	30 mg	40 mg
Meldoniumas	200 mg arba 250 mg	200 mg arba 250 mg	30 arba 40 mg	5, 15 arba 60 mg	20, 40 arba 80 mg
Aerozolis	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg	5 mg

LT 5524 B

Laktozė	66 mg	66 mg	66 mg	66 mg	66 mg
Talkas	7 mg	7 mg	7 mg	7 mg	7 mg
Ca stearatas	3 mg	3 mg	3 mg	3 mg	3 mg

Galima farmacinė kompozicija, skirta peroraliniam vartojimui, iliustruojanti bet neapribojanti šio išradimo, yra sekanti tirpalo arba/ir sirupo gamybos forma:

	Pavyzdys 16	Pavyzdys 17	Pavyzdys 18
AZT	10 mg/ml	20 mg/ml	50 mg/ml
Meldoniumas	5 mg/ml arba 20 mg/ml	5 mg/ml arba 40 mg/ml	10 mg/ml arba 100 mg/ml
Metil-p-hidroksibenzoatas	0,20-0,60 g	0,20-0,60 g	0,20-0,60 g
Propil-p-hidroksibenzoatas	0,01-0,1 g	0,01-0,1 g	0,01-0,1 g
Propilenglikolis	6,15-8,30 g	6,15-8,30 g	6,15-8,30 g
Sorbitas	120,00-150,50 g	120,00-150,50 g	120,00-150,50 g
Glicerinas	10,00-15,00 g	10,00-15,00 g	10,00-15,00 g
Išvalytas vanduo	150 ml	150 ml	150 ml

	Pavyzdys 19	Pavyzdys 20
Atvirkštinės transkriptazės inhibitorius	10 mg/ml lamivudino	1 mg/ml stavudino
Meldoniumas	5 mg/ml arba 20 mg/ml	1 mg/ml arba 5 mg/ml arba 40 mg/ml
Metil-p-hidroksibenzoatas	0,20-0,60 g	0,20-0,60 g
Propil-p-hidroksibenzoatas	0,01-0,1 g	0,01-0,1 g
Propilenglikolis	6,15-8,30 g	6,15-8,30 g
Sorbitas	120,00-150,50 g	120,00-150,50 g
Glicerinas	10,00-15,00 g	10,00-15,00 g
Išvalytas vanduo	150 ml	150 ml

Pramoninis pritaikomumas

Farmacinės kompozicijos, skirtos retrovirusų infekcijų gydymui, kurios turi vieną iš atvirkštinės transkriptazės inhibitorių, t.y. zidovudino, lamivudino arba stavudino, kliniškai veiksmingą kiekį ir meldoniumo arba jo farmakologiškai priimtinos druskos, o taip pat farmaciškai priimtinių nešiklių, gali būti panaudotos standartinėje farmacinėje pramonėje.

**FARMACINĖ KOMPOZICIJA, KURIOS PAGRINDĄ SUDARO ATVIRKŠTINĖS
TRANSKRIPTAZĖS INHIBITORIUS IR MELDONIUMAS**

APIBRĖŽTIS

1. Farmacinė kompozicija, besiskirianti tuo, kad ji apima atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus kliniškai veiksmingą kiekį ir meldoniumą arba jo farmaciškai priimtinos druską ir taip pat farmaciškai priimtinus užpildus.
2. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra parinktas iš grupės, susidedančios iš zidovudino (AZT) (chemiškai: 3'-azido-3'-deoksitimidinas), lamivudino (chemiškai: (2R-cis-)-4-amino-1-[2-(hidroksimetil)-1,3-oksatiolan-5-il]-2(1H)-pirimidonas) ir stavudino (chemiškai: 2',3'-didehidro-3'-deoksitimidinas).
3. Farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad apima meldoniumą ir/arba jo druską(as) tokiu kiekiu, kad meldoniumo/druskos(u) masių santykis su atvirkštinės transkriptazės inhibitoriumi yra nuo 100:1 iki 1:100, geriau nuo 20:1 iki 1:20, dar geriau nuo 5:1 iki 1:5, geriausiai nuo 2:1 iki 1:2.
4. Farmacinė kompozicija pagal 3 punktą besiskirianti atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus 1-500 mg kiekiu ir meldoniumo ir/arba jo druskos(u) 5-2500 mg kiekiu.
5. Farmacinė kompozicija pagal 4 punktą besiskirianti zidovudino 10-300 mg kiekiu ir meldoniumo ir/arba jo druskos(u) 5-600 mg kiekiu.
6. Farmacinė kompozicija pagal 4 punktą besiskirianti lamivudino 10-300 mg kiekiu ir meldoniumo ir/arba jo druskos(u) 5-600 mg kiekiu.
7. Farmacinė kompozicija pagal 4 punktą besiskirianti stavudino 1-40 mg kiekiu ir meldoniumo ir/arba jo druskos(u) 1-300 mg kiekiu.
8. Farmacinė kompozicija pagal 1 arba 2 punktą besiskirianti jos paruošimu peroraliniam įvedimui arba po liežuviu ir tuo, kad ji yra tabletės (su arba be

apvalkalo), kapsulės, dražė, žirnelio, miltelių arba tirpalo formos, kuri turi 0,1-5,0 g veikliųjų medžiagų, remiantis kiekvienos tabletės, kapsulės, žirnelio, piliulės arba miltelių formos mase, arba yra 0,5-40% tirpalas arba sirupas, skirtas peroraliniam vartojimui.

9. Farmacinė kompozicija pagal 1 arba 2 punktą besiskirianti jos paruošimu parenteraliniam įvedimui ir tuo, kad ji yra sterilūs milteliai, kurie turi 0,1-5,0 g veikliųjų medžiagų kiekvienoje parenteralinio įvedimo dozėje.
10. Farmacinė kompozicija pagal 1 arba 2 punktą besiskirianti jos paruošimu parenteraliniam įvedimui ir tuo, kad ji yra injekcinis tirpalas, kuris turi 1-200 mg/ml atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus ir 1-400 mg/ml meldoniumo ir/arba jo druskos(u).
11. Farmacinė kompozicija pagal 10 punktą, besiskirianti tuo, kad meldoniumas ir/arba jo druska yra naudojami 0,9% NaCl tirpalo formos.
12. Meldoniumo arba jo farmaciškai priimtinos druskos panaudojimas gamybai vaisto, skirto neigiamo poveikio reakcijų sumažinimui arba eliminavimui, konkrečiai mitochondrijų pažeidimų sumažinimui arba išvengimui, ypač kardio- ir/arba neurotoksiškumo, sukulto atvirkštinės transkriptazės inhibitoriais farmacinėse kompozicijose, sumažinimui arba išvengimui.
13. Panaudojimas pagal 12 punktą, besiskiriantis tuo, kad meldoniumas ir/arba jo druska yra skiriami mišinyje su vienu arba keliais atvirkštinės transkriptazės inhibitoriais arba atskirai vienu metu arba netrukus prieš arba netrukus po atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus(ių) skyrimo, geriau 0,9% NaCl tirpalo formos.
14. Panaudojimas pagal 12 arba 13 punktą, besiskiriantis tuo, kad vartojimas yra peroralinis, parenteralinis arba vietinis.
15. Panaudojimas pagal 12 arba 13 arba 14 punktą, besiskiriantis tuo, kad meldoniumas ir/arba jo druska yra skiriami kliniškai veiksmingo kiekio.