

①⑨

LATVIJAS REPUBLIKAS
PATENTUVALDE

①① LV 14848 B

⑤① Int.Cl A61K31/205

Latvijas patents uz izgudrojumu
2007.g. 15.februāra Latvijas Republikas likums

①②

Īsziņas

②① Pieteikuma numurs: P-12-163

②② Pieteikuma datums: 25.10.2012

④① Pieteikuma publikācijas datums: 20.05.2014

④⑤ Patenta publikācijas datums: 20.06.2015

⑦③ Īpašnieks(i):
LATVIJAS ORGANISKĀSINTĒZESINSTITŪTS,
Aizkraukles iela 21, Rīga LV-1006, LV

⑦② Izgudrotājs(i):
Ivars KALVIŅŠ (LV),
Maija DAMBROVA (LV),
Edgars LIEPIŅŠ (LV),
Elīna ŠKAPARE (LV),
Osvalds PUGOVIČS (LV),
Solveiga GRĪNBERGA (LV),
Eduards SEVOSTJANOVŠ (LV)

⑦④ Pilnvarotais vai pārstāvis:
Kristīne ČAPASE JASTRŽEMBSKA,
Latvijas Organiskās sintēzes institūts,
Aizkraukles iela 21, Rīga LV-1006, LV

⑤④ Virsraksts: FARMACEITISKA KOMPOZĪCIJA TRIMETILAMĪNA-N-OKSĪDA LĪMEŅA PAZEMINĀŠANAI

⑤⑦ Kopsavilkums: Izgudrojums apraksta 3-(2,2,2-trimetilhidrazīni)propionāta dihidrāta saturošas farmaceutiskas kompozīcijas pielietošanu trimetilamīna N-oksīda līmeņa pazemināšanai organismā.

IZGUDROJUMA APRAKSTS

Izgudrojums attiecas uz medicīnu, konkrēti uz meldoniju ((meldonium, INN) (3-(2,2,2-trimetilhidrazīnija)propionāta dihidrāts)) saturošu farmaceitisko kompozīciju pielietošanu.

Viena no neatrisinātām medicīnas problēmām ir nieru mazspējas slimnieku ārstēšana, it īpaši tās terminālajās stadijās, kad slimniekam ir nepieciešama pastāvīga hemodialīze. Ir labi zināms, ka šie pacienti, papildus pamatsaslimšanai, pastiprināti cieš no sirds-asinsvadu slimībām.

Ir zināms, ka šādu slimnieku organismā ir vērojama trimetilamīna un trimetilamīna-N-oksīda uzkrāšanās [1]. Tomēr tikai 2011. gadā tika noskaidrots, ka pastāv pozitīva korelācija starp trimetilamīna-N-oksīda līmeni cilvēka asinīs un to saslimšanu ar vienu, divām vai trim sirds-asinsvadu slimībām vienlaicīgi [2]. Līdz ar to aktuāls kļuva jautājums par tādu zāļu radīšanu, kas spētu samazināt trimetilamīna-N-oksīda līmeni cilvēku asinīs, tādējādi novēršot ar lipīdu vielmaiņu tieši nesaistītu sirds-asinsvadu slimību attīstību.

Kaut arī ir zināms, ka trimetilamīna-N-oksīda līmeni asinīs dzīvniekiem var samazināt, lietojot plaša spektra antibiotikas, šāda ārstēšana antibiotiku rezistences problēmu un iespējamo blakņu dēļ, kā arī tāpēc, ka nav guvis apstiprinājumu pieņemums, ka šādā veidā varētu samazināt atkārtotas sirds-asinsvadu slimību izpausmes, nav plaši pielietojama hroniskiem sirds-asinsvadu slimniekiem [3-5].

Alternatīvs risinājums varētu būt probiotisku mikroorganismu ievadīšana [6], taču šī pieeja vēl nav guvusi apstiprinājumu klīniskajos pētījumos, kas ir ļoti būtiski, jo cilvēku kuņģa-zarnu mikroflora pēc sastāva būtiski atšķiras no grauzēju kuņģa-zarnu trakta mikrofloras.

Tādējādi, līdz mūsu pētījumam nebija zināma neviena zāļu viela, kura varētu samazināt trimetilamīna-N-oksīda līmeni cilvēka organismā, kā arī būtu lietojama profilaktiski tādu cilvēku veselības saglabāšanai, kuri uzturā lielos daudzumos lieto dzīvnieku izcelsmes produktus.

Līdz ar to izgudrojuma mērķis bija atklāt tādu farmaceitisku kompozīciju, kas spētu nodrošināt būtisku un stabilu trimetilamīna-N-oksīda koncentrācijas samazināšanos organismā, tādējādi pasargājot no paaugstināta riska saslimt ar sirds-asinsvadu slimībām, kā arī iespēju novērst citu slimību rezultātā paaugstināta trimetilamīna-N-oksīda līmeņa negatīvo ietekmi uz cilvēka veselību, piemēram, slimniekiem ar nieru mazspēju.

Negaidīti mums izdevās atklāt, ka sirds-asinsvadu līdzeklis meldonijs bez tā jau zināmās ietekmes uz enerģētisko vielmaiņu cilvēkiem ir spējīgs izraisīt būtisku trimetilamīna-N-oksīda līmeņa samazināšanos organismā pat pēc samērā neilgas lietošanas.

Meldonijs ir sirds-asinsvadu līdzeklis, ko plaši lieto valstīs, kas atrodas bijušās PSRS teritorijā, un kura iedarbības mehānisms sirds-asinsvadu slimību terapijā balstās uz *gamma*-butirotetamīna hidroksilāzes inhibīciju un ar to saistītajām izmaiņām karnitīna koncentrāciju līmenī kā asinīs, tā audos [7]. Karnitīna līmeņa samazināšanās tiek saistīta ar *beta*-taukskābju oksidēšanās ātruma samazināšanos un skābekļa ekonomiju išēmizētos audos, kas pozitīvi ietekmē sirds mazspējas, stenokardijas un citu ar išēmiju saistītu patoloģiju ārstēšanu. Tāpat ir zināmi pētījumi, kuros parādīta meldonija ietekme uz cukura vielmaiņu [8]. Kā arī ir norādes uz to, ka meldonijam varētu būt ietekme uz slāpekļa monoksīda (NO) sintēzi dažādos audos [9]. Literatūrā ir dati arī par to, ka meldonijs samazina aterosklerotisko pangu veidošanos pro-aterosklerotiskos dzīvniekos, kas tiek saistīts ar meldonija ietekmi uz taukskābju metabolismu [10].

Tomēr nekas nav zināms par to, vai meldonija lietošana izsauc tādu metabolītu līmeņu izmaiņas cilvēka organismā, kas nebūtu saistītas ar enerģētisko metabolismu vai NO regulētajām norisēm cilvēka organismā.

Mēs negaidīti atklājām, ka 7 dienas pēc kārtas perorāli ievadot meldoniju saturošu farmaceitisku kompozīciju 2 reizes dienā pa 500 mg, trimetilamīna-N-oksīda līmenis cilvēkiem, kuri uzturā lieto ar trimetilamīna-N-oksīda avotiem bagātu pārtiku [11], statistiski ticami samazinās par 47 %, salīdzinot ar trimetilamīna-N-oksīda līmeni pirms meldonija pielietošanas. Vienlaikus mēs atklājām, ka statistiski ticami un būtiski (par 25 %) pieaug ar urīnu izvadītā trimetilamīna-N-oksīda daudzums. Tas nozīmē, ka meldonijs nodrošina trimetilamīna-N-oksīda pastiprinātu izdalīšanos no organisma jeb pašattīrīšanos no šī kaitīgā vielmaiņas produkta, kura koncentrācija organismā korelē ar cilvēka saslimšanu vienlaicīgi ar vairākām sirds-asinsvadu slimībām [12].

Nemot vērā meldonija ārkārtīgi zemo toksicitāti un zemo blakņu līmeni pacientiem, mūsu atklājums atklāj meldonija lietošanu nolūkā samazināt trimetilamīna-N-oksīda līmeni kā veseliem cilvēkiem, tā arī tādiem pacientiem, kuru slimību patoģenēzes mehānisms varētu būt saistīts ar šī metabolīta līmeņa pieaugumu asinīs, piemēram, nieru mazspējas slimniekiem, kuriem pamatsaslimšanas ārstēšanas nolūkā tiek veikta hemodialīze. It īpaši meldonijs būtu piemērots saslimstības profilaksei ar vairākām sirds-asinsvadu slimībām vienlaicīgi. Meldonijs varētu tikt lietots trimetilamīna-N-oksīda līmeņa pieauguma profilaksei cilvēkiem,

kas lieto uzturā tādus produktus, kas satur fosfatidilholīnu, betaīnu un trimetilamīnu bagātus produktus, kā arī citas tādas uzturvielas, kuru metabolisms noved pie trimetilamīna-N-oksīda veidošanās [13]. Īpaši tas attiecas uz tādām iedzīvotāju kategorijām, kas uzturā lieto lielus daudzumus dzīvnieku izcelsmes produktus, piemēram, sportistiem.

Patentējamo izgudrojumu raksturo, bet neierobežo sekojoši piemēri.

Pētījumā tika iekļauti 8 veseli brīvprātīgie – 4 sievietes un 4 vīrieši. Pētījums veikts saskaņā ar Helsinku deklarāciju, un tā atbilstību bioētikas normām apstiprinājusi Centrālā medicīnas ētikas komiteja. Visi pētījuma dalībnieki parakstījuši informētas piekrišanas formu. Izslēgšanas kritēriji dalībai pētījumā bija: uztura bagātinātāju lietošana, smēķēšana, grūtniecība un alkohola atkarība. Pētījuma sākumā tika ievākta informācija par pētījuma dalībnieku vecumu, medikamentu lietošanu, augumu un svaru.

Pirms pētījuma dalībnieki 7 dienas uzturā nelietoja zivis un zivju produktus. Tad pētījuma dalībniekiem paņēma venozās asins, vakara un rīta urīna paraugus. Pētījuma dalībnieki eksperimenta pirmajā posmā 7 dienas reizi dienā pusdienās apēda 150 g zivju, kas kalpoja kā avots trimetilamīna-N-oksīda pastiprinātai veidošanai organismā [11].

Lai noteiktu meldonija ietekmi uz trimetilamīna-N-oksīda koncentrāciju asins plazmā un urīnā, nākamajā eksperimenta posmā papildus ar trimetilamīna-N-oksīda avotu bagātai barībai 7 dienas divas reizes dienā (no rīta un vakarā) eksperimenta dalībnieki lietoja farmaceitisku kompozīciju, kas saturēja 500 mg meldonija. Asins paraugi tika ņemti pēc 7 dienu ar trimetilamīna avotiem bagātas pārtikas lietošanas un 7 dienu ar trimetilamīna avotiem bagātas pārtikas lietošanas uz meldoniju saturošas farmaceitiskās kompozīcijas ievadīšanas fona. Urīna paraugi tika ņemti no rīta un vakarā visās 14 pētījuma dienās. Urīns un plazmas paraugi līdz analizēšanas brīdim tika uzglabāti -20 °C.

Trimetilamīna-N-oksīda koncentrācija plazmas un urīna paraugos noteikta ar ultraaugstas efektivitātes šķidrums hromatogrāfijas-tandēma masspektrometrijas metodi. Paraugu hromatogrāfiskā sadalīšana veikta ar hromatogrāfisko sistēmu *Acquity (Waters)*, izmantojot kolonnu *Acquity HILIC BEH (2,1x100 mm, 1,7 μm)(Waters)*. Kustīgā fāze: acetnitrils – 10 mM; amonija acetāts (pH4) ar lineāru gradientu no 75 % līdz 55 % acetnitrila, plūsmas ātrums 0,25 ml/min, injekcijas tilpums 5 μl. Trimetilamīna-N-oksīda detektēšana un satura noteikšana veikta, izmantojot masspektrometru *Quattro Micro™ (Micromass)* jonu reakciju monitoringa (trimetilamīna-N-oksīda jonu pāreja m/z 75,8 > m/z 58,3, IS jonu pāreja m/z 175,4 > m/z 86,0) pozitīvās elektroizsmidzināšanas režīmā (konusa

spriegums 26 V, sadursmju enerģija 14 eV, sadursmju gāze – argons). Datu uzkrāšanai un apstrādei izmantota programmatūra *MassLynx* V4,1 (*Waters*).

25 µl eksperimentu dalībnieku asins plazmas tika pievienoti 500 µl iekšējā standarta (IS) 3-(2,2-dimetil-2-prop-1-il-hidrazīnija)propionāta (200 ng/ml) šķīduma acetonitrila/metanola (3:1) maisījumā, pēc parauga centrifugēšanas (10 min, 13000 apgr./min) dzidrais slānis tika atdalīts no nogulsniem un ievadīts hromatogrāfiskajā sistēmā.

Urīna paraugi pirms analīzes tika atšķaidīti ar dejonizētu ūdeni attiecībā 1/50. Atšķaidītajam paraugam (100 µl) tika pievienots 700 µl iekšējā standarta (IS) 3-(2,2-dimetil-2-prop-1-il-hidrazīnija)propionāta (200 ng/ml) šķīduma acetonitrila/metanola (3:1) maisījumā, pēc parauga centrifugēšanas (10 min, 13000 apgr./min) dzidrais slānis tika atdalīts no nogulsniem un ievadīts hromatogrāfiskajā sistēmā.

Trimetilamīna-N-oksīda koncentrācija paraugā tika aprēķināta, izmantojot lineāru sakarību trimetilamīna-N-oksīda smailes laukums/IS smailes laukums – trimetilamīna-N-oksīda koncentrācija ar datu apstrādes programmu *QuanLynx* V4,1 (*Waters*).

Kreatinīna noteikšana urīna paraugos.

Kreatinīna koncentrācija tika noteikta atbilstoši *Jaffe* metodei [14] ar nelielām izmaiņām. 135 µl reakcijas maisījums, kas sastāvēja no 1 daļas 0,6 % pikrīnskābes ūdens šķīduma un 5 daļām 1 M NaOH (sajaukts tieši pirms mērīšanas), tika pievienots 15 µl atšķaidītiem urīna paraugiem vai kreatinīna standartšķīdumiem (0 – 0,2 mg/ml). Pēc 10 min ilgas inkubācijas istabas temperatūrā absorbciju noteica 492 nm, izmantojot *µQuant*TM daudzlauciņu platīšu spektrofotometru (*BioTek Instruments*, ASV).

Dati tika attēloti kā vidējās aritmētiskās vērtības ± vidējās standartklūdas (*SEM*). Grupu salīdzināšanai izmantoja Stjudenta t-testu rezultātu ticamības pārbaudei. Kopējais ar urīnu izvadītais trimetilamīna-N-oksīda daudzums 7 dienu laikā tika noteikts, aprēķinot trimetilamīna-N-oksīda urīna koncentrāciju kopējo zemlīknes laukumu. Rezultātus uzskatīja par ticamiem, ja p vērtība bija mazāka par 0,05. Datu apkopošanā un statistiskajā analīzē tika izmantots *Microsoft Excel* 2003, *GraphPad Prism* 3.0 (*GraphPad Software Inc.*, ASV) un *SPSS* 19.0 (*SPSS*, Chicago, IL, ASV) programmnodrošinājums.

Veicot analīzes, tika noskaidrots, ka trimetilamīna-N-oksīda koncentrācija veselu brīvprātīgo asins plazmā pirms eksperimenta jeb izejas līmenī bija $4,9 \pm 1,3$ nmol/ml. Pēc 7 dienu ar trimetilamīna avotiem bagātas pārtikas lietošanas tā koncentrācija statistiski ticami palielinājās, sasniedzot $81,5 \pm 8,6$ nmol/ml. Mēs atklājām, ka, ja trimetilamīna-N-oksīda

avotiem bagātu pārtiku lieto vienlaicīgi ar meldonija ievadīšanu, trimetilamīna-N-oksīda (TMANO) koncentrācija asins plazmā statistiski ticami samazinās par 47 % līdz $43,0 \pm 3,8$ nmol/ml (1. attēls un 1. tabula).

1. tabula. TMANO koncentrācija brīvprātīgo asins plazmā

TMANO, nmol/ml	
Pirms eksperimenta	$4,9 \pm 1,3$
TMANO	$81,5 \pm 8,6^*$
TMANO + meldonijs	$43,0 \pm 3,8^{*,\#}$

* $p < 0,05$ salīdzinot ar mērījumu pirms eksperimenta

$p < 0,05$ salīdzinot ar TMANO uzņemšanu

Izmantojot TMANO koncentrācijas mērījumus veselu brīvprātīgo urīnā, tika noteikts kopējais izvadītais TMANO daudzums. Pirms eksperimenta veseli brīvprātīgie izvadīja vidēji $2,8 \pm 0,6$ μ mol TMANO uz mg kreatinīna katru dienu 7 dienās. Pēc diētas, kas raksturīga ar paaugstinātu trimetilamīna-N-oksīda veidošanās daudzumu, vidēji 7 dienās ar urīnu izvadītais TMANO daudzums bija statistiski ticami lielāks ($18,2 \pm 2,2$ μ mol uz 1mg kreatinīna katru dienu 7 dienās). Salīdzinoši - pēc diētas ar augstu trimetilamīna-N-oksīda veidošanās avotu saturu un meldonija vienlaikus uzņemšanu vidēji 7 dienās ar urīnu izvadītais trimetilamīna-N-oksīda daudzums bija statistiski ticami vēl lielāks ($24,3 \pm 1,5$ μ mol uz 1 mg kreatinīna katru dienu 7 dienās) (2. attēls un 2. tabula).

2. tabula. Kopējais ar urīnu izvadītais TMANO daudzums

TMANO, μ mol/mg kreatinīna katru dienu 7 dienās	
Pirms eksperimenta	$2,8 \pm 0,6$
TMANO	$18,2 \pm 2,2^*$
TMANO + meldonijs	$24,3 \pm 1,5^{*,\#}$

* $p < 0,05$ salīdzinot ar mērījumu pirms eksperimenta

$p < 0,05$ salīdzinot ar TMANO uzņemšanu

Tādējādi mums negaidīti izdevās atklāt, ka meldoniju saturoša farmaceitiskā kompozīcija samazina trimetilamīna-N-oksīda līmeni asinīs un var tikt izmantota tādu slimību

profilaksei un ārstēšanai, kuru patoģenēze ir saistīta ar trimetilamīna-N-oksīda līmeņa pieaugumu. Pie tādām slimībām pieder ateroskleroze, it īpaši tās aterosklerozes formas, kurām nav raksturīgas būtiskas holesterīna līmeņa izmaiņas. Tāpat ir zināms, ka terminālās stadijas nieru mazspējas slimniekiem, kuriem kā ārstēšanas metode tiek izmantota hemodialīze, meldoniju saturošas farmaceitiskās kompozīcijas varētu tikt lietotas, lai samazinātu trimetilamīna-N-oksīda līmeni uz ar to saistīto paaugstināto saslimšanas risku ar vienu vai vairākām sirds-asinsvadu slimībām. Meldoniju saturošas farmaceitiskās kompozīcijas varētu tikt lietotas arī profilaktiski, lai samazinātu risku cilvēkiem, kas lieto dzīvnieku izcelsmes barību, kas bagāta ar betaīnu, trimetilamīnu vai citiem trimetilamīna-N-oksīda līmeni paaugstinošiem komponentiem, saslimt ar vienu vai vairākām sirds-asinsvadu slimībām. Meldoniju saturošas kompozīcijas var tikt lietotas arī cilvēkiem, kuri ar barību uzņem citus trimetilamīna-N-oksīda līmeni paaugstinošus savienojumus vai arī tiem ir vielmaiņas izmaiņas, kuru rezultātā trimetilamīna-N-oksīda līmenis to organismā palielinās, tai skaitā, lai nodrošinātu trimetilamīna-N-oksīda pastiprinātu izvadīšanos no organisma.

Tādējādi patentējamā farmaceitiskā kompozīcija ļauj sasniegt izgudrojuma mērķi – nodrošināt būtisku un stabilu trimetilamīna-N-oksīda koncentrācijas samazināšanos organismā, tādējādi pasargājot no paaugstināta riska saslimt ar sirds-asinsvadu slimībām, kā arī iespēju novērst citu slimību rezultātā paaugstināta trimetilamīna-N-oksīda līmeņa negatīvo ietekmi uz cilvēka veselību, piemēram, slimniekiem ar nieru mazspēju.

Tā kā meldonijs ir viegli šķīstošs ūdenī, tad ir ērti pagatavojams un trimetilamīna-N-oksīda koncentrācijas pazemināšanai var tikt lietotas arī meldonija injekciju formas – kā ūdenī, tā arī fizioloģiskajā NaCl šķīdumā, glikozes vai buferšķīdumos.

Pateicoties meldonija betaīna tipa struktūrai, tas viegli uzsūcas arī transdermāli. Tāpēc patentējamās farmaceitiskās kompozīcijas var tikt izgatavotas un ir derīgas arī transdermālai vai ārējai lietošanai kā plāksteri, ziedes, krēmi, geli, želejas, emulsijas, šķīdumi un citas piemērotas ārstnieciskās formas.

Savukārt perorālai vai sublingvālai lietošanai ir piemērotas meldonija farmaceitiskās kompozīcijas ar vai bez pārklājuma, kapsulu, kaplešu, tablešu, granulu, dražeju formā vai arī šķīdumu, sīrupu un citu perorāli ievadāmu ārstniecisko formu veidā. To izgatavošanā var tikt izmantoti tradicionālie zāļu formu izgatavošanas paņēmieni. Šis izgudrojums attiecas arī uz farmaceitiskajām kompozīcijām, kas kā aktīvo vielu satur vismaz vienu no izgudrojumā minētajiem nehigroskopiskajiem meldonija sāļiem un farmaceitiski akceptējamās cietās un/ vai šķidrās palīgvielas, kādas lieto zāļu formu izgatavošanā.

Priekšroka tiek dota cietajām kompozīcijām, kuras ir piemērotas, lai izgatavotu perorāli ievadāmas ārstnieciskās formas, kā arī sīrupiem un šķīdumiem, kas satur patentējamās sāļus un palīgvielas.

Piemēram, viena no iespējamām farmaceitiskajām kompozīcijām, kas ilustrē doto izgudrojumu, ir sekojoša kompozīcija tablešu ražošanai:

meldonijs	500 mg,
ciete	40 mg,
talks	20 mg,
Ca-stearāts	2 mg,
kopā	562 mg.

Kapsulu ražošanai piemērotas kompozīcijas sastāva ilustrācija ir sekojoša:

meldonijs	500 mg,
laktoze	122 mg,
ciete	52 mg,
talks	14 mg,
Ca-stearāts	6 mg,
kopā	694 mg.

Gadījumā, kad aktīvā viela (meldonijs vai tā farmaceitiski akceptējams sāls) tiek ievadīta injekciju veidā vai pilienū, sīrupa vai dzēriena veidā perorāli, tad saskaņā ar šo izgudrojumu farmaceitiskā kompozīcija satur meldonija dihidrātu vai tā farmaceitiski akceptējamo sāli ar kopējo daudzumu 0,5 līdz 60 masas % un kādu no farmaceitiski pieļaujamiem šķīdinātājiem, piemēram, destilētu ūdeni, izotonisko, glikozes vai buferšķīdumu.

Gadījumā, kad aktīvā viela tiek ievadīta tabletēs, kapletēs, dražējās, granulās, pulveros vai kapsulās, tās satur meldonija dihidrātu vai tā farmaceitiski akceptējamu sāli ar kopējo daudzumu no 0,5 līdz 5,0 g tabletē, kapletē, dražējā, kapsulā vai vienā porcijā pulvera vai granulū.

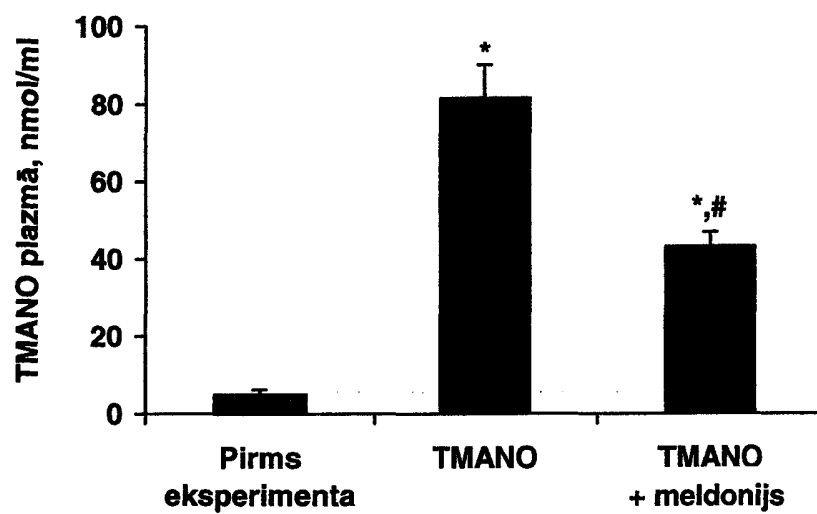
Gadījumā, kad aktīvā viela tiek ievadīta transdermāli, tās saturs ziedē vai plāksterī ir 0,5 – 40 masas %.

1. M.A.Bain, R.Faull, G.Fornasini, R.W.Milne, A.M.Evans. Accumulation of trimethylamine and trimethylamin-N-oxide in end-stage renal disease patients undergoing haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 21: 1300-1304, (2006).
2. Z.Wang, E.Klipfell, B.J.Bennet, R.Koeth, B.S.Levison, B.DuGar, A.E.Feldstein, E.A.Britt, Xiaoming Fu, Yoon-Mi Chung, Yuping Wu, P.Schauer, J.D.Smith, H.Alleayee, W.H.Wilson Tang, J.A.DiDonato, A.J.Lusis, S.L.Hazen. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 472, 57-63, (2011).
3. C.M. O'Connor *et al.*, Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events – the WIZARD study: a randomized controlled trial. *J.Am.Med. Assoc.*, 290, 1459-1466, (2003).
4. C.P. Cannon *et al.*, Antibiotic treatment of *Chlamydia pneumonia* after acute coronary syndrome. *N.Engl.J.Med.* 352, 1646-1654, (2005).
5. R.Andraws, J.S.Berger, D.L.Brown. Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J.Am.Med.Assoc.* 293, 2641-2647, (2005).
6. F.P.Martin *et al.*, Probiotic modulation symbiotic gut microbial-host metabolic interactions in humanized microbiome model. *Mol Syst.Biol.*, 4, 157, (2008).
7. Dambrova M., Liepinsh E., Kalvinsh I., Mildronate. Cardioprotective Action through Carnitine-Lowering Effect, *Trends Cardiovasc. Med.*, 275-279, (2002).
8. Liepinsh E, Vilskersts R, Zvejniece L, Svalbe B, Skapare E, Kuka J, Cirule H, Grinberga S, Kalvinsh I, Dambrova M. Protective effects of mildronate in an experimental model of type 2 diabetes in Goto-Kakizaki rats. *Br. J. Pharmacol.*, 157(8), 1549-1556, (2009).
9. Sjakste N, Gutcaits A, Kalvinsh I. Mildronate: an antiischemic drug for neurological indications. *CNS Drug Rev.*, 11(2):151-68, (2005).
10. Vilskersts R, Liepinsh E, Mateuszuk L, Grinberga S, Kalvinsh I, Chlopicki, Dambrova M. Mildronate, a regulator of energy metabolism, reduces atherosclerosis in apoE/LDLR-/- mice. *Pharmacology*, 83(5), 287-293, (2009).

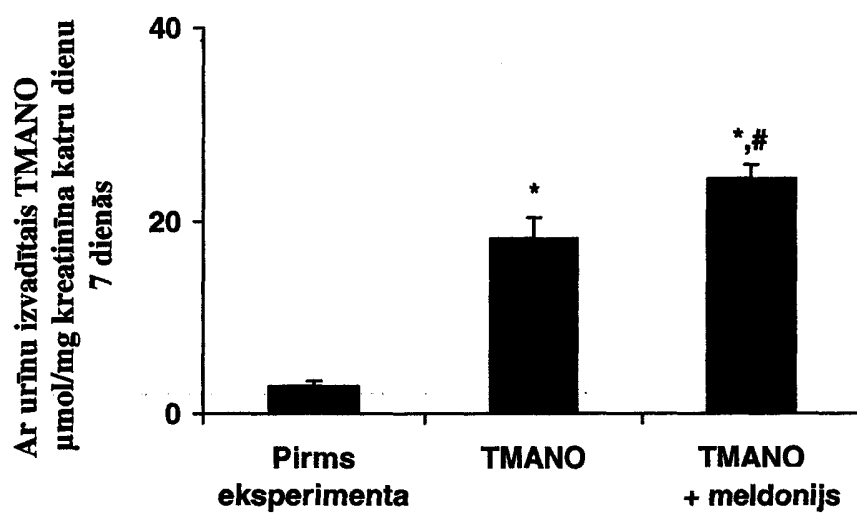
11. Amines in Fish Muscle. VI. Trimethylamine Oxide Content of Fish and Marine Invertebrates W. J. Dyer Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 8c(5):314-324, 10.1139/f50-020, (1952).
12. Z.Wang, E.Klipfell, B.J.Bennet, R.Koeth, B.S.Levison, B.DuGar, A.E.Feldstein, E.A.Britt, Xiaoming Fu, Yoon-Mi Chung, Yuping Wu, P.Schauer, J.D.Smith, H.Alleayee, W.H.Wilson Tang, J.A.DiDonato, A.J.Lusis, S.L.Hazen. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. Nature, 472, 57-63, (2011).
13. B.A.Seibel, P.J.Walsh. Trimethylamine oxide accumulation in marine animals: relationship to acylglycerol storage. J Exp Biol. 205, 297-306, (2002).
14. Jaffe M. Ueber die Niederschlag, welchen Pikrinsaure in normalem Ham erzeugt und uber eine neue Reaction des Kreatinins. Z physiol Chem., 10: 391-400, (1886).

Pretenzijas

1. Farmaceitiska kompozīcija, kas kā aktīvo vielu satur 3-(2,2,2-trimetilhidrazīnija)propionāta dihidrātu (meldoniju) tādu slimību vai traucējumu profilaksei vai ārstēšanai, kas ietver asinsvadu endotēlija disfunkciju, aterosklerozi un nieru mazspēju, pacientiem ar paaugstinātu trimetilamīna-N-oksīda līmeni organismā vai cilvēkiem, kuri pastiprināti lieto dzīvnieku izcelsmes produktus pārtikā.
2. Farmaceitiskā kompozīcija saskaņā ar 1. pretenziju atšķiras ar to, ka tā paredzēta perorālai vai sublingvālai ievadīšanai un tai ir tabletes (ar vai bez pārklājuma), kapsulas, kapletes, dražejas, granulas, pulvera vai šķīduma forma, kura satur 0,5 – 5,0 g aktīvās vielas katrā tabletē, kapsulā, dražejā, granulu vai pulvera devā, vai arī tas ir 0,5 – 40 % šķīdums vai sīrups perorālai ievadīšanai.
3. Farmaceitiskā kompozīcija saskaņā ar 1. pretenziju atšķiras ar to, ka tā paredzēta parenterālai ievadīšanai un tā ir šķīdums, kas satur 0,5 – 60 masas % aktīvās vielas katrā parenterālās ievadīšanas devā kopā ar farmaceitiski akceptējamu šķīdinātāju, kas izvēlēts no grupas, kas sastāv no fizioloģiskā NaCl šķīduma, glikozes vai buferšķīduma farmakoloģiski akceptējamā koncentrācijā.
4. Farmaceitiskā kompozīcija saskaņā ar 1. pretenziju atšķiras ar to, ka tā paredzēta transdermālai ievadīšanai kā plāksteris, ziede, krēms, gels, želeja, emulsija vai šķīdums, kurš satur 0,5 – 40 masas % aktīvo vielu.



1. attēls. TMANO koncentrācija veselu brīvprātīgo asins plazmā



2. attēls. Kopējais ar urīnu izvadītais TMANO daudzums