

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202100194** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2023.01.31**

(51) Int. Cl. *C07C 59/265* (2006.01)  
*A61K 31/194* (2006.01)  
*A61P 3/00* (2006.01)  
*A61P 39/06* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2021.07.07**

---

(54) **СЫРЬЕ ДЛЯ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ "ИЗОЛИМОННАЯ КИСЛОТА" -  
МОНОКАЛИЕВАЯ СОЛЬ трео-DS-(+)-ИЗОЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ**

---

(96) **2021000077 (RU) 2021.07.07**

(71)(72) Заявитель и изобретатель:  
**КОЛИН ДМИТРИЙ  
АЛЕКСАНДРОВИЧ (RU)**

---

(57) Область техники, к которой относится изобретение: биологически активные добавки и лекарственные препараты, косметология, стоматология. Раскрытие сущности изобретения: изолимонная кислота относится к группе регуляторов энергетического обмена веществ, обладает антистрессовыми, антиоксидантными и антигипоксическими свойствами, уменьшает токсическое действие алкоголя. За счет стимуляции окислительно-восстановительных реакций, процессов дыхания и синтеза АТФ препарат активирует физиологические функции органов и тканей, стимулирует адапционные и компенсаторно-защитные возможности организма, снимает хроническую усталость и напряжение после длительных физических нагрузок, повышает работоспособность. Изолимонная кислота липопротеинлипазу и тем самым ингибировать липогенез, размягчает фиброзные образования, способствует восстановлению правильной структуры коллагенового матрикса. Изолимонная кислота полностью метаболизируется до воды и углекислого газа, накопление в организме не происходит. Выявлена новая область применения изолимонной кислоты (ИЛК). Установлено, что ИЛК влияет на митохондрии и сукценатдегидрогеназу, устраняет ингибирование сукцинатдегидрогеназы (СДГ) развивающееся в митохондриях (МХ) печени и мозга. Экспериментальный стресс является принятой моделью патологических состояний организма. Предупреждение ингибирования СДГ необходимо для поддержания оптимального функционирования состояния тканей, повышения устойчивости к патогенным факторам, снижения вероятности развития опухолей и даже повышения продолжительности жизни. Изолимонная кислота является оригинальной и нигде в мире не производится для медицинских целей ввиду высокой себестоимости процесса. Указанная изолимонная кислота производится методом, позволяющим получить физиологически активный стереоизомер, а не рацемическую смесь, которую можно применять в биологически активных пищевых добавках, лекарственных препаратах, косметологии.

**A1**

**202100194**

**202100194**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

**Сырье для пищевой промышленности «Изолимонная кислота» -  
Монокалиевая соль трео-DS-(+)-изолимонной кислоты**

индекс рубрики действующей  
редакции Международной  
патентной классификации -  
A61P

- 1. Название изобретения** - Сырье для пищевой промышленности «Изолимонная кислота» - Монокалиевая соль трео-DS-(+)-изолимонной кислоты
- 2. Область техники, к которой относится изобретение:** биологически активные добавки и лекарственные препараты, косметология, стоматология
- 3. Уровень техники:**
  - Янтарная кислота: производится в России и за рубежом методом химического синтеза, используется в таких препаратах как Янтавит, Пали-Пали, Дарсил, Кардиобаланс, Лимонтар, Янтарная кислота, Реамберин
  - Поливиноградная кислота: производится за рубежом методом химического синтеза, используется в составе косметических средств для пилинга
  - Альфа-кетоглутаровая кислота: производится за рубежом, методом химического синтеза, метод сложный и взрывоопасный. Участвует в цикле Кребса (механизм утилизации жирных кислот) иставляет углеводный скелет для молекулы глутамина. Сочетание лейцина и солей Альфа-кетоглутаровой кислоты ускоряет метаболизм и улучшает работу нервной системы в период сильного стресса. Препарат «Гепасол А» компании «Нemopharm D.D.»
- 4. Раскрытие сущности изобретения:** изолимонная кислота относится к группе регуляторов энергетического обмена веществ, обладает антистрессовыми, антиоксидантными и антигипоксическими

свойствами, уменьшает токсическое действие алкоголя. За счет стимуляции окислительно-восстановительных реакций, процессов дыхания и синтеза АТФ препарат активирует физиологические функции органов и тканей, стимулирует адапционные и компенсаторно-защитные возможности организма, снимает хроническую усталость и напряжение после длительных физических нагрузок, повышает работоспособность. Изолимонная кислота липопротеинлипазу и тем самым ингибировать липогенез, размягчает фиброзные образования, способствует восстановлению правильной структуры коллагенового матрикса.

Изолимонная кислота полностью метаболизируется до воды и углекислого газа, накопление в организме не происходит.

Выявлена новая область применения Изолимонной кислоты (ИЛК). Установлено, что ИЛК влияет на митохондрии и сукценатдегидрогеназу, устраняет ингибирование сукцинатдегидрогеназы (СДГ) развивающееся в митохондриях (МХ) печени и мозга. Экспериментальный стресс является принятой моделью патологических состояний организма. предупреждение ингибирования СДГ необходимо для поддержания оптимального функционирования состояния тканей, повышения устойчивости к патогенным факторам, снижения вероятности развития опухолей и даже повышения продолжительности жизни.

Устранение ингибирования СДГ ИЛК перспективно для лечебно-профилактического использования ИЛК. Установлено влияние ИЛК на мембранный потенциал митохондрий, измеряемый в изолированных митохондриях и гомогенатах. Хорошо сопряженные митохондрии в присутствии субстрата окисления имеют высокий мембранный потенциал. При добавлении низких концентраций искусственного разобщителя (СССР) всегда наблюдается снижение мембранного потенциала. ИЛК обладает рассопрягающим действием. В присутствии ИЛК резко возрастает действие 6-кетохолестанола:

повышение мембранного потенциала происходит с более высокой скоростью и до более высокого значения.

Митохондрии способны накапливать ионы кальция, транспортируя их внутрь энергозависимым путем. При максимальных нагрузках кальцием митохондрии набухают и разрываются. В связи с этим измерение кальциевой емкости митохондрий определяет функциональное состояние митохондрий и показывает их устойчивость к интенсивным нагрузкам.

При разобщении митохондрий низкими концентрациями разобщителя, добавление ИЛК приводит к повышению мембранного потенциала митохондрий. ИЛК показан при «старении» митохондрий.

Свежевыделенный гомогенат печени поддерживает мембранный потенциал митохондрии в течение длительного времени (более 10-20 минут) при инкубации с янтарной кислотой. При длительном (более 4-5 часов) хранении гомогената печени наблюдается спонтанное снижение мембранного потенциала митохондрий. При окислении сукцината мембранный потенциал спонтанно падает в течение первых минут инкубации. Добавление ИЛК приводит к 2-3 – кратному удлинению времени сохранения максимального значения мембранного потенциала. Значение рассопрягающего действия ИЛК может быть связано с поддержанием энергетического состояния митохондрий на нормальном физиологическом уровне при появлении протонной проницаемости митохондриальной мембраны. Эти данные показывают, что ИЛК оказывает защитное действие на митохондрии.

Один из факторов повреждения действия активных форм кислорода связан с индукцией процессов перекисного окисления липидов мембран митохондрий и эндоплазматического ретикулума. В результате спонтанного, а также ферментативного окисления липидов образуется высокотоксичный продукт малоновый диальдегид. Малоновый диальдегид обладает высокой окислительной

активностью и является эндогенным мутагеном, так как может непосредственно вступать в реакцию с ДНК. Процессы перекисного окисления липидов и образование малонового диальдегида активируются в условиях, способствующих образованию активных форм кислорода в митохондриях. Известно, что наибольшее количество активных форм кислорода образуется в сопряженном состоянии при низкой скорости дыхания.

Исследование образований малонового диальдегида в изолированных митохондриях и в гомогенатах печени при окислении янтарной кислоты и в присутствии ИЛК показали, что уровень сопряжения изменялся добавлением низких концентраций разбавителя и контролировался измерением мембранного потенциала митохондрий; малоновый диальдегид измерялся тиобарбитуратным методом. Было показано, что ИЛК снижает перекисное окисление липидов в митохондриях и гомогенатах.

Серотонин оказывает на дыхание МХ мозга ингибирующее влияние - снижение скорости АДФ-стимулируемого дыхания без снижения дыхательного контроля. Введение ИЛК на фоне серотонина активирует дыхание в присутствии сукцината до нормы. При введении серотонина и ИЛК - сопрягающий эффект ИЛК (повышение мембранного потенциала) наблюдался при действии ИЛК как *in vivo*, так и *in vitro*.

На выделенных митохондриях при сильных воздействиях выявлено регуляторное действие ИЛК, состоящее в устранении торможения фермента СДГ, окисляющего янтарную кислоту. Окисление янтарной кислоты является самым мощным процессом энергообеспечения, от которого зависит физиологическое состояние организма. Поэтому активность СДГ является важным функциональным показателем в биологии и медицине. Однако, МХ, даже выделенные современными методами, утрачивают некоторые нативные свойства, присущие им в организме. Из-за того, что полностью разрушается их структурная

организация в клетке, они теряют устойчивость к внешним воздействиям, и наблюдаемые реакции смещены в сторону большего повреждения, чем в организме.

Разработан метод измерения активности СДГ, гораздо полнее сохраняющий состояние МХ, чем их выделение из клетки. За основу взят распространенный метод измерения активности СДГ в МХ лимфоцитов в мазках крови по восстановлению нитросинего тетразолия. Его преимуществом является сохранение структурного состояния МХ. Благодаря этому удалось выявить начальную фазу изменения активности СДГ в ответ на сильные воздействия в организме. Эта фаза состоит в гиперактивации ферментативной активности СДГ, которая при длительном поддержании может привести к патологическому гипертоническому состоянию и другим гиперэргическим процессам, например, воспалению.

Таким образом, сопоставление данных на выделенных МХ и на МХ в лимфоцитах, мы отчетливо выявляем два типа регуляторного влияния ИЛК на активность СДГ - устранение ингибирования — активацию, и устранения гиперактивации - торможение. В обоих случаях ИЛК возвращает активность СДГ в область нормы. Несмотря на кажущееся противоречие в эффектах ИЛК при разных состояниях, механизм его действия позволяет объяснить эти эффекты. Причина гиперактивации, как и причина более глубокого ингибирования активности СДГ - одна и та же - ослабление энергетического контроля скорости дыхания в МХ. ИЗЛ обеспечивает энергонезависимый «легкий» приток электронов и протонов в дыхательную цепь, доступный и при значительном расходе энергии при сильном воздействии. Это поддерживает уровень энергизации МХ и предупреждает развитие как начальной деэнергизации, проявляющейся гиперактивацией, так и более глубокой деэнергизации, приводящей к ингибированию СДГ.

Таким образом, установлено, что ИЛК:

-оказывает сопрягающее действие на разобщенные митохондрии и усиливает ресопрягающий эффект стероидного гормона 6-кетохолестанола;

-увеличивает устойчивость митохондрий к нагрузке ионами кальция, кальциевая емкость митохондрий в присутствии ИЛК возрастает в 3-4 раза; -обладает антиоксидантным действием, снижая перекисное окисление липидов в митохондриях и гомогенатах;

- оказывает ярко выраженное предупреждение начальной фазы гиперактивации в ответе СДГ на сильные воздействия, выявляемое на МХ в лимфоцитах крови;

- оказывает регуляторное воздействие на ключевой фермент дыхательной цепи - СДГ.

Полученные результаты дают основание предположить, что в условиях патологии ИЛК может снимать метаболическое ингибирование СДГ — одного из ключевых ферментов энергетического метаболизма. Уровень активации зависит от исходного уровня активности фермента и степени тяжести патологического процесса. Чем ниже исходная активность, тем ИЛК действует сильнее. Также ИЛК противодействует факторам, вызывающим повреждение митохондрий, что позволяет судить о перспективности ее применения в качестве лечебно-профилактического средства. Выявленный механизм защитного действия ИЛК на МХ важен для разработки рекомендаций по лечебному применению. Ввиду того, что определение активности СДГ проводится в медицинской практике, этот показатель может использоваться для индивидуального назначения препарата.

Влияние ИЛК на алкогольное поражение печени: к алкогольным поражениям печени относятся стеатоз, гепатит, цирроз и рак печени, которые являются различными стадиями прогрессирования алкогольной болезни. Согласно современной классификации алкогольных поражений печени, при морфологическом изучении

выделяются следующие этапы: алкогольная гематомегалия (без патоморфологических проявлений), жировой гепатоз (диффузное ожирение гепатоцитов), алкогольный гепатит (дистрофия и некроз гепатоцитов и другие признаки), фиброз печени, цирроз печени, гепатоцеллюлярная карцинома.

Печень является основным органом, в котором осуществляется синтез и катаболизм всех классов липидов и их транспортных форм липопротеидов (ЛП). По структурным особенностям различают несколько групп липидов: жирные кислоты, триглицериды (ТГ), фосфолипиды (ФЛ) и холестерин (ХС). Они образуют липидную матрицу плазматических мембран клеток и их органелл, являются источником энергии в клетках и практически все синтезируются в печени.

Острые поражения печени различной этиологии вызывают нарушения показателей липидного обмена в сыворотке крови и ткани печени.

Этанол при длительном поступлении в организм повышает в печени уровень эфиров холестерина (ЭХ), свободного холестерина (ХС), лизофосфатидилхолина, фосфатидилсерина, уменьшает содержание фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Этанол тормозит активность дегидрогеназ Цикла Кребса, что характерно для многих видов токсических поражений печени.

Обмен холестерина, играющий важную роль в развитии атеросклероза, наименее изучен при патологиях печени. Холестерин представляет собой обязательный структурный компонент любых клеточных мембран, обеспечивающих их стабильность, из него синтезируются желчные кислоты, холестерин является предшественником стероидных гормонов.

ИЛК нормализует липидный обмен, нарушенный под воздействием алкоголя. При хроническом алкогольном поражении печени ИЛК оказывает гепатопротекторное действие, выражающееся в

нормализации липидного обмена печени и поддержания содержания ферментов АлАТ и АсАТ в сыворотке крови на уровне контроля.

Изолимонная кислота в организме образуется в результате ферментативного превращения из лимонной кислоты. Преимущество готовой изолимонной кислоты в том, что не тратится время и энергия на ферментативное превращение из лимонной кислоты, то есть изолимонная кислота поступает в организм уже в виде готового субстрата. Кроме того, в противопоказаниях к лимонтару числятся такие заболевания как артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца и др. В то время как изолимонная кислота положительно влияет на пациентов с ИБС.

Изолимонная кислота является оригинальной и ни где в мире не производится для медицинских целей ввиду высокой себестоимости процесса. Указанная изолимонная кислота производится методом позволяющим получить физиологически активный стереоизомер, а не рацемическую смесь, которую можно применять в биологически активных пищевых добавках, лекарственных препаратах, косметологии.

Следует отметить, что в ответ на стрессовые воздействия у человека включаются защитные механизмы (стресс-реакции), мобилизующие энергетические и структурные ресурсы организма., активирующие функции кровообращения и дыхания. Функционирование таких реакций сопряжено с резким увеличением энергозатрат. Чрезмерная или затянувшаяся стресс-реакция сопровождается прогрессивным истощением организма, что в свою очередь приводит к патологическим изменениям внутренних органов и тканей. В этих условиях актуальной становится разработка фармацевтических средств, увеличивающих сопротивляемость организма влиянию стрессовых и гипоксических факторов, способствующих максимальному использованию поступающего в организм кислорода, увеличивающих выработку энергетических субстратов и

защищающих внутренние органы от патологических изменений. Такие средства могут быть созданы на основе биологически активной природной дикарбоновой кислоты, а именно трео-Ds-изолимонной.

Прошито, пронумеровано на

9 (девети) листах

*Д.А. Колин* Д.А. Колин

## **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

**Сырье для пищевой промышленности «Изолимонная кислота» -  
Монокалиевая соль трео-DS-(+)-изолимонной кислоты**



**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202100194**

**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

*C07C 59/265 (2006.01)*  
*A61K 31/194 (2006.01)*  
*A61P 3/00 (2006.01)*  
*A61P 39/06 (2006.01)*

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)  
C07C 59/265, A61K 31/194, A61P 3/00, A61P 39/06

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
EAPATIS, Espacenet, Patentscope, USPTO, Reaxys, Google

**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	IGOR G. MORGUNOV et al. Investigation of the effect of biologically active threo-Ds-isocitric acid on oxidative stress in <i>Paramecium caudatum</i> . PREPARATIVE BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY, 2018, Vol. 48, No. 1, p. 1-5 DOI: 10.1080/10826068.2017.1381622 весь документ	1
X	SVETLANA V. KAMZOLOVA et al. Microbial production of (2R,3S)-isocitric acid: state of the arts and prospects. APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, 2019, Vol. 103, p. 9321-9333 DOI: 10.1007/s00253-019-10207-4 весь документ	1
A	RU 2747583 C1 (КОЛИН Д.А. и др.) 2021-05-11 весь документ	1

последующие документы указаны в продолжении

\* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **10/02/2022**

Уполномоченное лицо:  
Заместитель начальника Управления экспертизы  
Начальник отдела химии и медицины

  
А.В. Чебан