



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21)(22) Заявка: 2014103073/15, 30.01.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
30.01.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.01.2014

(45) Опубликовано: 20.01.2015 Бюл. № 2

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: (см. прод.)

Адрес для переписки:

141100, Московская обл., г. Щелково, пл. Ленина,  
1, кв. 183, Князева Любовь Александровна

(72) Автор(ы):

Поляков Николай Александрович (RU),  
Дубинская Валентина Алексеевна (RU),  
Сидельников Николай Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное научное учреждение  
Всероссийский научно-исследовательский  
институт лекарственных и ароматических  
растений Россельхозакадемии (ГНУ ВИЛАР  
Россельхозакадемии) (RU)

**(54) СМЕСЬ БОРНИЛАЦЕТАТА И КАМФЕНА ОБЛАДАЮЩАЯ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИМ  
ДЕЙСТВИЕМ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к холинергическому средству. Смесь борнилацетата и камфена, взятые в определенном соотношении, обладающая

холинергическим действием. Вышеописанная смесь обладает выраженным холинергическим действием. 3 табл., 2 пр.

(56) (продолжение):

Паслен сладко-горький-Лекарственные растения. Перечень данных [он-лайн]28.11.2010 [Найдено 2014.09.15]-найдено из Интернет:URL: [http://anfisapujoduge.blogspot.ru/2010\\_11\\_01\\_archive.html](http://anfisapujoduge.blogspot.ru/2010_11_01_archive.html)\par US 20110076346 A1, 31.03.2011\par ГРАНИК В.Г. Основы медицинской химии, 2-е изд., Москва, 2006, 384 \par

RU  
2 539 373  
C1

RU  
2 539 373  
C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 539 373**<sup>(13)</sup> **C1**

(51) Int. Cl.  
*A61K 36/15* (2006.01)  
*A61P 25/00* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2014103073/15, 30.01.2014

(24) Effective date for property rights:  
30.01.2014

Priority:

(22) Date of filing: 30.01.2014

(45) Date of publication: 20.01.2015 Bull. № 2

Mail address:

141100, Moskovskaja obl., g. Shchelkovo, pl. Lenina,  
1, kv. 183, Knjazeva Ljubov' Aleksandrovna

(72) Inventor(s):

Poljakov Nikolaj Aleksandrovich (RU),  
Dubinskaja Valentina Alekseevna (RU),  
Sidel'nikov Nikolaj Ivanovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Gosudarstvennoe nauchnoe uchrezhdenie  
Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut  
lekarstvennykh i aromaticseskikh rastenij  
Rossel'khozakademii (GNU VILAR  
Rossel'khozakademii) (RU)

(54) **MIXTURE OF BORNYL ACETATE AND CAMPHENE POSSESSING CHOLINERGIC ACTION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to the  
pharmaceutical industry, namely to a cholinergic agent.

A mixture of bornyl acetate and camphene taken in a

certain ratio possessing the cholinergic action.

EFFECT: above mixture possesses the pronounced  
cholinergic action.

3 tbl, 2 ex

R U 2 5 3 9 3 7 3 C 1

R U 2 5 3 9 3 7 3 C 1

Изобретение касается смеси борнилацетата и камфена, входящих в состав эфирных масел хвойных деревьев, например пихты и сосны сибирской, и может быть использовано в фармакологии для коррекции заболеваний связанных с заболеванием вегетативной и центральной нервной системе, гладкомышечных клеток желудочно-кишечного тракта, гладкой мускулатуры бронхов, сердца и др., также повышает тонус мочевого пузыря.

Лекарственные средства, обладающие холинергическим действием, синтетического происхождения, например пирацетам, ареколина гидрохлорид, термопсин, платифиллин, применяемые в настоящее время для лечения данных заболеваний ЦНС, имеют недостаточную терапевтическую эффективность, обладают рядом побочных эффектов (повышенная раздражительность, беспокойство, нарушение сна, тремор, повышение сухожильных рефлексов, головокружение, диспептические расстройства, усиление коронарной недостаточности, повышение артериального давления, субфебрилитет, аллергические реакции, изменение картины крови и состояния внутренних органов), ограничивающих возможность их применения, особенно в условиях непрекращающейся трудовой деятельности. Средства на основе сырья растительного происхождения могут сыграть существенную роль в решении этой проблемы.

Наиболее близким к предлагаемому решению является средство растительного происхождения, а именно физостигмин - главный алкалоид калабарских бобов [Граник В.Г. Основы медицинской химии. - 2-е изд. -М.: 2006. - 384 с.].

Выявление новых источников содержания биологически активных веществ, обладающих холинергическим действием - важное направление в ряде отраслей производства и потребления.

Задачами данного изобретения является расширение арсенала средств борьбы с заболеваниями, связанными с изменением активности вегетативной и центральной нервной системы, получаемых из растительного сырья, а также для увеличения когнитивной способности человека.

Решение поставленных задач достигается за счет использования смеси борнилацетата и камфена при соотношении компонентов 3:1, обладающей холинергическим действием.

Эфирное масло пихты сибирской имеет сложный состав из 31 компонентов, в котором основными являются борнилацетат и камфен. Благодаря содержащимся компонентам эфирное масло регулирует увеличение концентрации легких отрицательных ионов, благоприятно действующих на человека и выполняющих функцию по "обеспечению" атмосферного воздуха биологически активным кислородом, и оказывающих благоприятное действие на эмоциональное состояние человека.

**КАМФЕН** - единственный кристаллический углеводород, найденный в природных эфирных маслах. Встречается довольно часто, но в небольших количествах в двух оптически активных и рацемической формах.

Определен в масле сибирской сосны и сибирской пихты, кипариса, камфорного дерева, лимона, апельсина, лаванды-спики, мускатного ореха, имбиря, цейлонской цитронеллы, валерианы. Легко подвергается интрамолекулярным перегруппировкам. Присоединяя молекулу воды, он превращается в борнеол и, главным образом, изоборнеол, причем промежуточным продуктом этой гидратации является третичный спирт - камфенгидрат. Окисление камфена приводит к образованию камфенгликоля, камфеновой и камфениловой кислот, которые далее дают камфенилон. Легко дает различные бинарные химические смеси с другими соединениями. Синтетический камфен и обогащенные фракции из натуральных эфирных масел, содержащие камфен используют для низкосортных ароматизаторов и отдушек в технических приложениях.

**БОРНИЛАЦЕТАТ** - важный компонент эфирного масла ряда хвойных: *Abies alba*,

*Pinus pumilo*, *P. sylvestris*. В эфирном масле хвои пихты сибирской содержится 30-40% борнилацетата. Найден также в эфирном масле кориандра и корня валерианы. Борнилацетат имеет типичный запах хвои с нотой свежести, и поэтому широко используется для ароматизации мыл, ингаляторов, распылителях для ванн. Иногда

используется в медицинских препаратах. Эфирные масла, полученные из древесной зелени хвойных деревьев, обладают антисептическим, противовоспалительным, спазмолитическим, седативным, обезболивающим, противоязвенным и ранозаживляющим действием [Хвойные целители / Ю.Г. Тагильцев [и др.] - Хабаровск: изд-во ХКЦПЗ, 2004. - 52 с.].

Известно, что биологически активные вещества, содержащиеся в эфирных маслах пихты сибирской, включающие борнилацетат и камфен, обладают антиоксидантной активностью, подавляют рост инфекций, вирусов, обладают мочегонным, возбуждающим и тонизирующим действием (пат РФ 2426452). Кроме того, борнилацетат обладает ростстимулирующим и фунгицидными свойствами (пат. РФ №№2469539, 2199861). Известно бальзамическое средство, содержащее борнилацетат, обладающее антимикробным, противовоспалительным и болеутоляющим действием (пат РФ 2088214).

В доступных источниках научно-технической и патентной информации не выявлены сведения об холинергической активности борнилацетата и камфена - основных компонентов эфирного масла хвойных деревьев. Поэтому предлагаемое техническое решение обладает новизной и соответствует критерию патентоспособности "изобретательский уровень".

В литературе редко встречается совместное описание состава эфирного масла и его биологического действия. Упоминается эфирное масло как таковое и идет речь о его биологических свойствах, при этом полностью отсутствуют данные о химическом составе того образца, с которым проводились те или иные испытания. Выявление биологической активности эфирных масел должно сопровождаться детальным исследованием их состава, выделением и изучением свойств отдельных компонентов, которые обуславливают как полезные свойства растений, так и отрицательные, вызывающие побочные эффекты.

Эфирное масло для данных исследований получали из древесной зелени пихты сибирской методом исчерпывающей гидропародистилляции в течение 20 часов с использованием цельнометаллической установки с насадкой Клевенджера. Разовая загрузка сухого исходного сырья составляла не менее 1,00 кг. Фракции эфирного масла отбирали в процессе получения эфирного масла следующим образом: первую фракцию получали в течение 30 минут от начала выделения масла; вторую - после двух часов; третью - через четыре часа; четвертую - после 5 часов; пятую - через восемь часов.

Концентрация различных соединений в процессе отгонки эфирного масла меняться. Поэтому проводили анализ компонентного состава фракций эфирного масла, отобранных в процессе получения из древесного растительного сырья пихты сибирской (табл.1).

Таблица 1					
Состав отдельных фракций эфирного масла пихты сибирской					
Компонентный состав, %					
Компонент	Фракция 1	Фракция 2	Фракция 3	Фракция 4	Фракция 5
борнилацетат	50,1±1,5	55,0±2,0	53,9±1,7	44,2±1,1	25,6±0,8
камфен	18,3±0,6	18,2±0,8	17,2±0,3	13,1±0,1	5,4±0,2
альфа-терпинен	6,6±0,2	6,5±0,3	7,2±0,2	7,8±0,1	6,3±0,1
лимонен	7,1±0,2	5,7±0,4	5,9±0,3	7,5±0,2	0,3±0,0

	альфа-пинен	5,3±0,2	5,7±0,3	6,6±0,5	6,5±0,5	2,5±0,1
	борнеол	5,9±0,3	2,9±0,2	1,4±0,1	1,4±0,1	-
	α-кариофиллен	-	-	0,3±0,0	1,3±0,1	4,1±0,2
	трициклен	1,2±0,0	1,3±0,0	1,5±0,1	1,4±0,1	0,5±0,0
5	сантен	1,2±0,0	1,0±0,0	1,1±0,0	1,7±0,1	1,0±0,0
	β-пинен	0,7±0,0	0,5±0,0	0,6±0,0	1,0±0,0	1,1±0,0
	α-терпинеол	0,9±0,0	1,0±0,0	0,9±0,0	0,9±0,0	0,9±0,0
	4-терпинеол	0,2±0,0	0,1±0,0	0,1±0,0	-	-
	α-терпинеол	-	-	0,1±0,0	0,2±0,0	0,7±0,0
	α-бизаболен	-	0,2±0,0	0,8±0,0	5,3±0,2	17,9±0,4
10	транс-кариофиллен	0,3±0,0	0,2±0,0	0,4±0,0	2,1±0,1	6,7±0,2
	β-бизаболен	0,1±0,0	0,2±0,0	0,4±0,0	0,5±0,0	2,3±0,1
	лонгифолен	0,2±0,0	0,1±0,0	0,3±0,0	0,9±0,0	0,1±0,0

Результаты определения компонентного состава показывают, уменьшение содержания некоторых химических соединений в последних 4 и 5 фракции. Например, содержание борнилацетата и камфена в начале получения эфирного масла составляла соответственно 50,0 и 18,3%, а к концу времени отгонки снизилась до 25,6 и 5,4%. В то же время, такие компоненты как α-кариофиллен, α-бизаболен в последующих фракциях значительно возрастают.

Использование известных высокочувствительных ферментных тест-систем *in vitro* позволило определить не только биологическую активность эфирного масла в целом, но и отобранных фракций, что дало возможность выявить соединения, обладающие повышенной биологической активностью и определить направленность их действия.

Холинергические свойства борнилацетата и камфена и их смеси определяли с помощью биотест-систем на основе фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ), в условиях *in vitro*, по соотношению скорости ферментативной реакции на тест-объекте после добавления вещества и скорости ферментативной реакции до добавления вещества, которое должно быть в случае холинергического действия меньше значения контроля (<100%). И чем меньше это значение, тем выше холинергические свойства вещества. [Ферментная тест-система *in vitro* для направленного поиска холинергических веществ и изучения механизма их действия В.А. Дубинская, М.Ф. Минеева, В.Е. Вахнина, Л.Б. Ребров, В.А. Быков. Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии, №2, 2007 с.32-37]. АХЭ - фермент, катализирующий реакцию гидролиза природного нейромедиатора ацетилхолина, принимающего участие в процессе передачи импульса нервными волокнами. Усиление действия ацетилхолина, благодаря накоплению его в органах и тканях, может быть достигнуто путем ингибирования АХЭ. Ингибиторы АХЭ обладают обширным спектром терапевтического действия, в том числе холинергическим действием.

Новое свойство смеси борнилацетата с камфеном обнаружено в результате проведенного экспериментального изучения холинергического действия состава, содержащего борнилацетат и камфен при различных соотношениях от 2:1 до 5:1.

Отличительные признаки проявили в заявляемой совокупности новые свойства, явным образом не вытекающие из уровня техники в данной области и неочевидные для специалиста. Впервые установлено, что в качестве средства, обладающего повышенным холинергическим действием, можно использовать заявляемую смесь.

Предлагаемое средство с успехом может быть использовано в практическом здравоохранении для коррекции патологических изменений активности вегетативной и центральной нервной системы, обладающих повышенным холинергическим действием, получаемых из растительного сырья. А также для увеличения производительности когнитивной деятельности человека. Правильно выбранные фракции эфирного масла

позволят, кроме экономии времени и средств на производство, получить наиболее активную смесь борнилацетата и камфена. Оптимальное соотношение борнилацетата и камфена 3:1. При соотношении 2:1 наблюдается снижение холинергического действия. При соотношении борнилацетата и камфена 5:1 производство смеси становится экономически нецелесообразным.

Пример 1. Определение холинергической активности компонентов борнилацетата и камфена в эфирном масле пихты сибирской.

Сопоставляя полученные данные химического состава фракций эфирного масла и определения их биологической активности, можно определить основные соединения, влияющие на холинергическое действие заявляемой смеси. В табл.2 приведены результаты определения биологической активности фракций исследуемого эфирного масла с использованием биотест-систем *in vitro*.

Значения скорости ферментативных реакций для контроля (без добавления эфирного масла) являются следующими: АХЭ-513,3 мк моль/ мин·мг, что соответствует 100%.

Табл. 2 Основные компоненты отдельных фракций эфирного масла пихты сибирской и их влияние на скорость ферментативных реакций.

Компоненты	Скорость реакции АХЭ	
	Мк моль/мин*мг	%
Контроль	513,3±30,7	100
Фр.1	79,2±1,9	15,4
Фр.2	71,4±2,1	13,9
Фр.3	66,0±2,5	12,9
Фр.4	132,4±11,3	25,8
Фр.5	275±11,3	53,7
Цельное масло	138,2±5,7	26,9
Борнилацетат	87,2±3,9	17,0
Камфен	84,2±3,6	16,4

Примечание: \* - достоверность отличия от контроля при  $p < 0,05$

Исследуемые фракции эфирного масла пихты сибирской ингибируют фермент АХЭ и, следовательно, обладают холинергическим действием. При добавлении в инкубационную среду фракций 2 и 3 скорость АХЭ реакции является наивысшей, так как в значительной степени ингибирует фермент: 13,9 и 12,9% во 2-ой и 3-ей фракции. Снижение биологического действия масла в 4-ой и 5-ой фракции выражается в уменьшении способности ингибировать фермент. Также и чистые борнилацетат и камфен обладают способностью ингибировать фермент меньше, чем фракции 4-ая и 5-ая эфирного масла.

Если сопоставить эти данные с составом фракций эфирного масла, то, вероятно, снижение способности ингибировать АХЭ связано, главным образом, с уменьшением содержания основных компонентов борнилацетата и камфена и увеличение влияния примесей.

Достоверность влияния борнилацетата и камфена на холинергическую активность эфирного масла пихты сибирской определяли, выявляя зависимость между содержанием борнилацетата и камфена в эфирном масле и его биологическим действием на АХЭ. Достоверность влияния, таким образом, выявленных компонентов: борнилацетата и камфена на холинергическую активность эфирного масла пихты сибирской, составляла 0,864 и 0,869.

Выявление компонентов (борнилацетата и камфена), обладающих холинергическим действием, основывалось на изменении концентрации различных соединений в процессе

отгонки эфирного масла. В эфирном масле пихты содержание борнилацетата и камфена уменьшается в последних 4 и 5 фракции. В то же время, содержание других, например таких компонентов как  $\alpha$ -кариофиллен,  $\alpha$ -бизаболен в последующих фракциях значительно возрастают. Сопоставляя полученные данные химического состава фракций эфирного масла и определения их биологической активности, можно определить основные соединения, влияющие на холинергическое действие заявляемой смеси.

Аналогичные данные были получены при использовании другого растительного сырья (сосны сибирской и багульника болотного) для получения эфирных масел, содержащих борнилацетат и камфен.

Пример 2. Влияние на обучение и память предлагаемой смеси исследовали при выработке и воспроизведении условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Методика УРПИ /Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. - М.: Высшая школа, 1991. - 175-177./ основана на подавлении врожденного рефлекса предпочтения темного пространства у грызунов. Для амнестического воздействия использовали внутрибрюшинное введение смеси борнилацетата и камфена при соотношении 3:1 в дозе 1,5 мг/кг за 30 мин до воспроизведения УРПИ. Оценку антиамнестического эффекта исследуемой смеси и эталонного препарата с холинергическим действием физостигмина проводили по изменению двух основных показателей УРПИ - латентного периода захода в темный отсек и времени нахождения там.

Экспериментальная установка представляет камеру, состоящую из двух отсеков - большого (светлого) и малого (темного). Животное помещают в светлый отсек и через некоторое время оно переходит в темный, после чего отверстие, соединяющее оба отсека, перекрывают дверкой и на пол темного отсека, представляющего собой решетку из параллельных чередующихся электродов, подают электрический ток импульсами продолжительностью 50 мс частотой 5 Гц и амплитудой 50 мА. Через 10 с дверку открывают и животное может выскочить в светлый отсек с обычным полом. В результате описанной процедуры у животных вырабатывали условный рефлекс избегания темного пространства. При проверке рефлекса животное помещали в угол камеры светлого отсека, противоположный от входа, и наблюдали в течение 3 мин. Регистрировали время первого захода в темный отсек (латентное время захода), суммарное время пребывания в темном отсеке, количество животных с выработанным рефлексом. Критерием наличия рефлекса считали отсутствие захождения животного в темный отсек в течение 3 мин с момента помещения мыши в светлую камеру. Проверку сохранности рефлекса осуществляли через 24 ч, 2 недели после выработки рефлекса.

Предлагаемая смесь увеличивает сохранность условного рефлекса пассивного избегания и способствует воспроизводимости рефлекса до 100% при проверке через 24 ч, 14 суток после выработки у нормальных животных (табл.3).

Группа наблюдений, доза	Доля животных при сохранившемся рефлексе при проверке, %		Примечание
	24 ч после выработки	14 сут после выработки	
Интактный контроль	40	40	поведенческого отчаяния
Борнилацетат: Камфен=3:1	100	90	двигательная активность, мышечный тонус
Пихтовое эфирное масло	75	60	Вялость, замедленность движения
Борнилацетат	80	65	Вялость, замедленность движения
Камфен	75	60	Вялость, замедленность движения
Аналог физостигмин	85	60	Побочное действие - расстройство желудочно-кишечного тракта

Таким образом, в результате исследования установлено наиболее выраженное холинергическое действие смеси борнилацетата и камфена при соотношении компонентов 3:1 на некоторые показатели состояния ЦНС экспериментальных животных (увеличение сохранности условного рефлекса пассивного избегания при  
5 отсутствию влияния на двигательную активность у нормальных животных).

На основании проведенных экспериментальных исследований можно сделать вывод о том, что применение средства, содержащего смесь борнилацетата и камфена, является перспективным для получения более высокого лечебного эффекта.

Положительный эффект достигнут благодаря использованию смеси, содержащей  
10 борнилацетат и камфен, в качестве препарата с холинергическим действием, что позволило расширить арсенал средств с повышенной специфической активностью.

В результате проведенных исследований установлено, что на фоне применения заявляемой смеси борнилацетата и камфена в остром периоде расстройства ЦНС при  
15 цереброваскулярной патологии различной этиологии происходит реконструкция функциональной нормы памяти, поведенческих реакций и двигательной активности, мышечного тонуса и устранение проявления выраженности неврологических дефицитов с полным восстановлением психоневрологического статуса при курсовом введении  
препарата на достаточно ранних стадиях течения болезни.

#### 20 Формула изобретения

Смесь борнилацетата и камфена при соотношении компонентов 3:1, обладающая холинергическим действием.

25

30

35

40

45