



(12)

## BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2012 00218**

(22) Data de depozit: **27/03/2012**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **27/04/2018** BOPI nr. **4/2018**

(41) Data publicării cererii:  
**30/12/2013** BOPI nr. **12/2013**

(73) Titular:

- **IONIȚĂ ANA CORINA,**  
STR. NICOLAE FILIMON NR. 32, BL. 16,  
AP. 34, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
- **MITITELU MAGDALENA,**  
STR. MUSCELULUI NR. 84B, CÂMPINA,  
PH, RO;
- **MOROȘAN ELENA,**  
STR. CONSTANTIN MARINESCU NR. 10,  
BL. A 38, SC. 1, AP. 26, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- **IONIȚĂ ANA CORINA,**  
STR. NICOLAE FILIMON NR. 32, BL. 16,  
SC.1, AP. 34, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;

- **MITITELU MAGDALENA,**  
STR. MUSCELULUI NR. 84B, CÂMPINA,  
PH, RO;
- **MOROȘAN ELENA, STR. C. MARINESCU**  
NR. 10, BL. A 38, SC. 1, AP. 26,  
BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:

**RO 122619 B1; RO 83095; NAGAI T. ȘI**  
**ALȚII, "PREPARATION AND FUNCTIONAL**  
**PROPERTIES OF EXTRACT FROM BEE**  
**BREAD", NAHRUNG-FOOD, NR. 48,**  
**VOL. 3, 2004**

(54) **TINCTURĂ DE PĂSTURĂ**



# RO 129062 B1

Invenția se referă la un extract hidroalcoolic din păstură, destinat utilizării interne sau externe în diverse scopuri terapeutice, cu acțiune antimicrobiană, antifungică, antiinflamatoare, imunomodulatoare, calmantă și cicatrizantă.

Sunt cunoscute diverse tincturi obținute din produse naturale, utilizate pentru prevenirea sau tratarea diverselor afecțiuni: tinctura de propolis, tinctura de afin, tinctura de echinacea, tinctura de brusture etc. Tincturile sunt extrase hidroalcoolice obținute din diverse produse naturale, prin extracție cu alcool etilic de diverse concentrații. Acestea au o compoziție complexă. Una dintre cele mai utilizate în practica medicală este tinctura de propolis. Tinctura de propolis și-a dovedit în timp eficiența în tratarea bolilor infecțioase, a enteritelor, faringitelor și gingivitelor.

Se cunoaște, din brevetul **RO 122619 B1**, un preparat pe bază de polen și *Lactobacillus sp.*, care este constituit din 10...40% polen, 0,1...10% miere, 0,1x10<sup>5</sup>...10x10<sup>6</sup> UFC/ml tulpini de *Lactobacillus sp.*, 1...10% acid lactic și 20...80% apă distilată, procente fiind exprimate în greutate. Acest preparat este asimilat păsturii, și are proprietățile terapeutice ale unui produs probiotic prin aportul de aminoacizi, enzime și vitamine.

În documentul de brevet **RO 83095** se face referire la un procedeu de prelucrare a polenului pentru obținerea de păstură, prin tratarea polenului cu tampon acetat până la obținerea unei suspensii de 66% polen, care, după incubare la 37°C, timp de 50 h, se usucă la temperatura de maximum 45°C, timp de 30 h.

Problema tehnică, pe care o rezolvă invenția, constă în valorificarea principiilor active ale păsturei sub forma unui produs cu efecte terapeutice.

Invenția înlătură dezavantajele menționate prin faptul extractul hidroalcoolic este constituit din păstură și alcool etilic, într-un raport de asociere de 20...30% păstură și 70...80% alcool etilic alimentar 70°.

Propolisul și tinctura de propolis au fost studiate ca intermediari pentru obținerea de produse destinate ca adjuvante în următoarele tratamente:

- în afecțiunile dentare și igiena orală, pentru reducerea încărcăturii bacteriene bucale, în periodontite, pentru accelerarea vindecării inflamațiilor și rănilor, în ulcere aftoase, reducerea formării tartrului;

- ca adjuvant în tratamentul herpesului genital, sub formă de unguente;

- ca adjuvant în procedeele ionoforetice de ameliorare a reumatismelor de diferite etiologii;

- drept antiseptic (antibacterian și antiparazitic) în afecțiuni ale tubului digestiv, inclusiv ulcere gastrointestinale cauzate de către *Helicobacter pylori*;

- drept adjuvant în tratamentul distrugerilor determinate de herpesul corneal;

- drept adjuvant în tratamentul răcelilor și congestiilor nazale.

Invenția se referă la un extract hidroalcoolic din păstură, respectiv, tinctura de păstură, obținut în urma extracției prin macerare cu alcool etilic alimentar 70°, într-un raport de asociere, părți în greutate de: 20...30% păstură:70...80% alcool etilic 70°.

Principalele avantaje ale tincturii de păstură, conform invenției, sunt următoarele:

- este un produs naturist, cu o compoziție complexă, care îmbogățește gama de preparate apicole cu efecte terapeutice multiple;

- datorită diversității de principii active pe care le conține, prezintă o serie de efecte terapeutice deosebite: crește capacitatea de apărare a organismului (imunostimulator, imunomodulator); antiinflamator, antialergic, cicatrizant, radioprotector, chemoprotector, detoxifiant, chelator de metale grele, antiviral, antibacterian, remineralizant;

- produsul nu prezintă toxicitate;

- are proprietăți organoleptice plăcute.

Proprietățile terapeutice ale tincturii de păstură sunt determinate de principiile active extrase din păstură. 1

Păstura sau "pâinea" albinelor este polenul depozitat în fagure și acoperit cu un strat de ceară. Păstura se obține prin fermentarea polenului în condițiile microflorei bacteriene a stupului. Polenul trece printr-o serie de transformări biochimice, sub influența substanțelor adăugate de albine, a microorganismelor, a temperaturii și umidității din stup. 3 5

Se cunoaște faptul că proprietățile tonifiante, imunostimulatoare și detoxifiante ale polenului sunt preluate și de păstură [Dr. biochim. C. Mateescu, Institutul de Cercetare Dezvoltare pentru Apicultură, Rev. Săptămâna medicală, nr. 82; 94; 102/2010]. Se pare chiar că acțiunea terapeutică a așa-numitei pâini a albinelor este mai rapidă și mai intensă decât acțiunea polenului. Proprietățile terapeutice ale păsturii se datorează conținutului ridicat de aminoacizi esențiali, enzime, vitamina K și zaharuri simple. Datorită cantității mari de acid lactic și proprietăților antibiotice, păstura poate fi păstrată timp îndelungat, fără a se observa modificări majore, cantitative sau calitative. 7 9 11 13

Acest produs se bucură în prezent de o atenție sporită din partea cercetătorilor, pentru efectele obținute prin aplicarea lui în diverse afecțiuni; în actualul stadiu de experimentare se pare că există suficiente premise care justifică afirmația specialiștilor că păstura este un produs natural apicol cu mari perspective de folosire în scopul sănătății omului. 15 17

Păstura acoperă toată gama de recomandări ale polenului: afecțiuni hepatice, anemii, stres, reumatism, reglarea tranzitului intestinal, afecțiunile de colon, mai ales cele însoțite de constipații (enterocolite, colite de fermentație sau putrefacție, constipații cronice de diverse etiologii), însă acțiunea ei este mult mai rapidă și mai puternică. Păstura este un produs natural, cu însușiri mai valoroase decât ale polenului datorită conținutului mai mare în zaharuri simple, vitamina K, enzime și aminoacizi, precum și a acidității sporite ce o face ușor asimilabilă. Față de polen, valoarea nutritivă și antibiotică este de 3 ori mai mare. 19 21 23 25

În vederea respectării condițiilor de calitate fizico-chimice și microbiologice pentru tinctura de păstură, cerute de normativele în vigoare, păstura utilizată ca materie primă va fi analizată în laboratoare acreditate, înainte de a fi achiziționată. 27

Dacă materia primă corespunde din punct de vedere calitativ, va fi achiziționată, după care va fi depozitată corespunzător, în loc uscat și rece. 29

S-a investigat acțiunea antiinflamatoare a gelului cu tinctură de păstură 3% și 5%, prin două metode experimentale care au vizat modul în care acestea influențează exsudatul inflamator din modelul experimental al edemului indus în laba de șobolan cu diferite substanțe edemogene, cu posibilitatea orientării asupra mecanismului de acțiune a acestora (1,2). 31 33

Tinctura de păstură a fost încorporată în gel de carbopol 1% în concentrație de 3% și 5%. Baza de încorporare a tincturii de propolis, hidrogelul de carbopol, s-a preparat din: carbopol 940 1 g, glicerină 5 g, trietanolamină 2,5 g, soluție conservantă până la 100 g. 35 37

Carbopolul se triturează cu glicerină, după care se adaugă 80 g soluție conservantă și se omogenizează. Amestecul se neutralizează cu 2,5 g trietanolamină adăugată treptat, și apoi se completează cu soluție conservantă la 100 g. Se lasă în repaus 24 h, pentru gelificare completă. 39 41

Testările au fost efectuate prin două metode experimentale de inflamație acută: edemul indus în laba de șobolan cu suspensie de caolin 10%, și cu soluție de dextran 6% (1,2,3,4). 43

Prin injectarea de caolin în laba de șobolan, este stimulată formarea de prostaglandine, cu provocarea inflamației și edemului local. Edemul indus de dextran se datorează în principal eliberării de histamină și serotonină, și poartă denumirea de edem anafilactoid. 45

Edemul a fost indus prin injectarea intraplantară a 0,1 ml suspensie de caolin 10% și 0,2 ml soluție de dextran. 47

# RO 129062 B1

S-a utilizat pentru fiecare agent edemogen câte patru loturi de 10 șobolani masculi, rasa Wistar, în greutate de  $170 \pm 15$  g. Un lot a constituit lotul martor, un lot a fost tratat cu gelul de tinctură de păstură 3%, un lot a fost tratat cu gelul de tinctură de păstură 5%, și un lot a fost tratat cu gelul cu fenilbutazonă 4%.

Animalele aduse din crescătorie au fost ținute în condițiile laboratorului timp de 2 zile, pentru a se obișnui cu noul habitat și cu regimul de hrană.

La toate animalele a fost administrat agentul edemogen. Pe laba în care a fost indus edemul a fost aplicat preparatul de testat (aplicare uniformă, în strat subțire  $\sim 0,25$  g gel).

Evaluarea efectului antiinflamator al gelurilor luate în studiu s-a făcut față de preparatul cu fenilbutazonă 4% (în bază similară) aplicat pe laba cu edem, în aceleași condiții expuse anterior.

Determinările s-au făcut față de loturi martor (indivizi netratați).

Volumul labei de șobolan s-a măsurat pletismometric, după injectarea intraplanară a agentului edemogen, fiind efectuate în continuare măsurări pletismometrice, la intervale: 2 h, 4 h, 6 h, 24 h (pentru agentul edemogen suspensie de caolin 10%) și la intervale: 30 min, 60 min, 90 min, 120 min de la inducerea edemului (pentru agentul edemogen soluție de dextran 6%).

S-a calculat valoarea medie a edemului antiinflamator (exprimat în ml), eroarea standard și procentul de inhibare a edemului pentru fiecare lot, conform formulei:

$$\text{Inhibare edem, \%} = (1 - X_{\text{substanță}} / X_{\text{martor}}) \times 100$$

unde:

X substanță - valoarea medie a edemului produs de substanță testată;

X martor - valoarea medie a edemului produs la martor în același interval de timp de la administrarea agentului edemogen.

Evaluarea statistică a rezultatelor s-a făcut prin testul t (Student) (5,6).

Gelul cu tinctură de păstură 3% a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 2 h de la inducerea edemului, inflamația produsă cu suspensie de caolin 10% fiind scăzută cu 33,19%.

Gelul cu tinctură de păstură 5% a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 2 h de la inducerea edemului, inflamația produsă cu suspensie de caolin 10% fiind scăzută cu 42,85%.

Gelul cu fenilbutazonă a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 2 h de la inducerea edemului, inflamația produsă cu suspensie de caolin 10% fiind scăzută cu 68,57% (tabelul 1).

*Tabelul 1*

*Efectul antiinflamator al gelurilor cu tinctură de păstură luate în studiu  
asupra edemului inflamator produs cu suspensie de caolin 10%*

Produs testat	Edem 2 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 4 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 6 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 24 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )
Martori	0,238 $\pm$ 0,01	0,276 $\pm$ 0,03	0,340 $\pm$ 0,02	0,293 $\pm$ 0,01
Gel cu tinctură de păstură 5%	0,136 $\pm$ 0,04**	0,173 $\pm$ 0,01**	0,229 $\pm$ 0,03**	0,201 $\pm$ 0,02**
Efect %	-42,85	-37,31	-32,64	-31,39

Tabelul 1 (continuare)

Produs testat	Edem 2 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 4 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 6 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 24 h (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )
Gel cu tinctură de păstură 3%	0,159 ± 0,01**	0,189 ± 0,01**	0,231 ± 0,02**	0,211 ± 0,03**
Efect %	- 33,19	- 31,52	- 32,05	- 27,98
Gel cu fenilbutazonă	0,076 ± 0,01**	0,103 ± 0,03**	0,135 ± 0,02**	0,104 ± 0,04**
Efect %	- 68,57	- 62,65	- 60,05	- 64,50

$\bar{x} \pm SD$  = media ± deviație standard; \*\*p < 0,05.

În modelul experimental al edemului produs cu soluție de dextran 6%, gelul cu tinctură de păstură 5% a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 90 min de la inducerea edemului (46,82%).

Gelul cu tinctură de păstură 3% a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 60 min de la inducerea edemului, inflamația produsă cu soluție de dextran 6% fiind scăzută cu 37,00%.

Gelul fenilbutazonă a prezentat efectul antiinflamator cel mai intens după 30 min de la inducerea edemului, inflamația produsă cu soluție de dextran 6% fiind scăzută cu 72,41% (tabelul 2).

Tabelul 2

*Efectul antiinflamator al gelurilor cu tinctură de păstură luate în studiu asupra edemului inflamator produs cu soluție de dextran 6%*

Produs testat	Edem 30 min (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 60 min (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 90 min (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )	Edem 120 min (ml) ( $\bar{x} \pm SD.$ )
Martori	0,203 ± 0,02	0,227 ± 0,02	0,252 ± 0,03	0,265 ± 0,03
Gel cu tinctură de păstură 5%	0,114 ± 0,01**	0,128 ± 0,01**	0,134 ± 0,01**	0,151 ± 0,01**
Efect %	- 43,84	- 43,61	- 46,82	- 43,01
Gel cu tinctură de păstură 3%	0,129 ± 0,01**	0,143 ± 0,02**	0,163 ± 0,01**	0,177 ± 0,03**
Efect %	- 36,45	- 37,00	- 35,31	- 33,73
Gel cu fenilbutazonă	0,056 ± 0,04**	0,065 ± 0,01**	0,074 ± 0,02**	0,074 ± 0,01**
Efect %/inițial	- 72,41	- 71,36	- 70,63	- 72,07

$\bar{x} \pm SD$  = media ± deviație standard; \*\*p<0,05.

Prin testarea acțiunii antiinflamatoare a gelurilor luate în studiu, s-a constatat că gelul cu tinctură de păstură 5% prezintă efecte antiinflamatoare semnificative atât asupra edemului produs de suspensie de caolin 10%, cât și asupra edemului produs de soluția de dextran 6%. Aceasta se datorează compoziției complexe a tincturii de păstură (polifenoli, flavone).

# RO 129062 B1

În cazul edemului produs cu suspensie de caolin 10%, efectul antiinflamator cel mai intens s-a produs după 2 h de la inducerea edemului, pentru toate gelurile luate în studiu, precum și pentru fenilbutazonă.

În cazul edemului produs cu soluție de dextran 6%, s-a remarcat efectul antiinflamator cel mai intens după 90 min de la inducerea edemului pentru gelul cu tinctură de păstură 5%, după 60 min de la inducerea edemului pentru gelul cu tinctură de propolis 3%, și după 30 min pentru gelul cu fenilbutazonă.

Se prezintă în continuare un exemplu de realizare a invenției:

## Exemplu

Păstura este supusă extracției prin macerare cu alcool etilic alimentar 70°, în raportul cantitativ 20...30% păstură și 70...80% agent de extracție. Extracția principiilor active din păstură se face la rece, 15...18° C, timp de 15 zile. Amestecul supus extracției se agită zilnic de 2...3 ori pe toată durata extracției.

Produsul rezultat în urma extracției este depozitat la rece și, înainte de ambalare, supus unei operații de filtrare, în vederea îndepărtării eventualelor impurități mecanice. Filtratul este ambalat, cu respectarea normelor sanitar-veterinare, în ambalaje individuale, din sticlă brună, închise etanș.

Depozitarea se efectuează în condiții specifice: în incinte uscate și ferit de lumină.

Caracteristicile organoleptice ale tincturii de păstură sunt:

Aspectul, consistența și culoarea	Lichid limpede, de culoare brună
Mirosul	Caracteristic, mascat de mirosul alcoolului folosit ca agent de extracție
Gustul	Caracteristic, mascat de gustul alcoolului folosit ca agent de extracție

Caracteristicile fizico-chimice sunt:

Solubilitatea	Complet solubilă în apă
Densitatea (g/cm <sup>3</sup> )	0,8
pH	4,5... 5,5
Conținut apă (% vol)	20...25%
Conținut de etanol (% vol)	50...55%
Impurități mecanice	Lipsă

## Utilizare:

1. În regim obișnuit de viață, toamna și primăvara, pentru întărirea imunității, cure interne de 3-4 săptămâni: adulți: 2 x 1 ml/zi; copii sub 14 ani: 2 x 0,5-1 ml/zi; copii sub 3 ani: 1 picătură/kg corp/zi, administrată în 2 prize.

Se administrează amestecată cu miere de albine sau picurată pe tărațe de grâu, zahăr brun, pâine, biscuiți etc., dimineața și seara, pe stomacul gol.

2. Pentru persoane cu probleme de sănătate: dozele se majorează după indicațiile unui medic apifitoterapeut.

Uz extern: dezinfectant, cicatrizant; apă de gură: clătire cu soluție de 20...30 picături tinctură la 20...30 ml apă (utilă și în parodontoză).

# RO 129062 B1

Testarea acțiunii antimicrobiene și antifungice s-a făcut prin metoda difuzimetrică:	1
Ca medii de cultură, s-au utilizat:	
- pentru bacterii - geloza nutritivă, repartizată în plăci Petri;	3
- pentru fungi - mediu Sabouraud solid, repartizat în plăci Petri.	
Inocul:	5
- pentru bacterii - culturi bacteriene de 24 h în bulion nutritiv, diluate 1/100;	
- pentru fungi - culturi de 24 h în mediu Sabouraud lichid, diluate 1/100 pentru levurile	7
din genul <i>Candida</i> ; cultură de 48 h în mediu Sabouraud lichid, diluate 1/100 pentru <i>Cryptococcus neoformans</i> ; suspensie în apă distilată de spori de <i>Aspergillus niger</i> .	9
Produs analizat:	
- s-a evaporat la sec, la temperatura camerei, o probă de tinctură de păstură, după care	11
reziduul s-a dizolvat în apă distilată în raport 1 p la 2 p apă distilată;	
- ca martor s-a folosit solventul, apa distilată.	13
Tehnica de lucru:	
Microorganisme test au fost însămânțate prin microîncorporare în mediul respectiv	15
fluidificat și răcit la 56...60°C. S-a procedat astfel: într-o placă Petri sterilă s-a repartizat aseptice	
1 ml inocul, peste care s-au turnat 15 ml mediu fluidificat și răcit la 56...60°C. S-a omogenizat	17
inoculul prin mișcări circulare și perpendiculare ale plăcii în plan orizontal. S-a așteptat	
solidificarea mediului astfel însămânțat, apoi, cu un tub de sticlă steril, având diametrul de 8	19
mm, s-au decupat în stratul de mediu godeuri. Cu o spatulă sterilă s-au introdus în godeuri	
probe de analizat. Plăcile au fost incubate la 37°C pentru bacterii și levuri, timp de 48 h, și la	21
28°C, timp de 5 zile, pentru fungul filamentos <i>Aspergillus niger</i> .	
Pentru interpretarea rezultatelor s-a măsurat diametrul (mm) zonelor de inhibiție a	23
creșterii microbiene din jurul rondelor impregnate cu produsele testate. Diametrul zonelor de	
inhibiție a creșterii microorganismelor test (mm) este redat în tabelul următor:	25

Microorganism	Tinctură 10%	Tinctură 20%	Tinctură 30%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	28	32	27
<i>Bacillus subtilis</i>	19	32	36	29
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	20	24	30	
<i>Candida albicans</i>	3	22	24	31
<i>Candida tropicalis</i>	8	22	25	
<i>Candida pseudotropicalis</i>	16	26	30	33
<i>Candida krusei</i>	16	28	31	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	18	34	38	35
<i>Aspergillus niger</i>	16	32	35	

Se remarcă o acțiune antimicrobiană și antifungică puternică pentru tinctura de păstură cu concentrația 30%.

# RO 129062 B1

1

## Revendicare

3

Extract hidroalcoolic din păstură, pe bază de păstură și alcool etilic, **caracterizat prin aceea că** este constituit din păstură și alcool etilic, într-un raport de asociere de 20...30% păstură și 70...80% alcool etilic alimentar 70°, procentele fiind exprimate în greutate.

5



