



**REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL**  
MINISTÉRIO DA ECONOMIA  
**INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**

CARTA PATENTE Nº BR 102013030587-1

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

**(21) Número do Depósito:** BR 102013030587-1

**(22) Data do Depósito:** 28/11/2013

**(43) Data da Publicação Nacional:** 24/03/2015

**(51) Classificação Internacional:** A61K 36/88; A61P 11/06; B01D 11/00.

**(66) Prioridade Interna:** BR102013002510-0 de 01/02/2013.

**(54) Título:** OBTENÇÃO DE EXTRATOS OU FRAÇÕES DE INFLORESCÊNCIAS OU PRODUTOS DE MUSA PARADISIACA L., USO DOS EXTRATOS OU FRAÇÕES DE INFLORESCÊNCIAS OU PRODUTOS DE MUSA PARADISIACA L. E FORMULAÇÕES COM EXTRATOS E FRAÇÕES DE INFLORESCÊNCIAS OU PRODUTOS DE MUSA PARADISIACA L.

**(73) Titular:** UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ. CGC/CPF: 75095679000149. Endereço: Rua João Negrão, 280 2º Andar, Curitiba, PR, BRASIL(BR), 80010-200

**(72) Inventor:** FERNANDA BOVO; IARA JOSÉ DE MESSIAS REASON; JULIANA BELLO BARON MAURER; SELMA FARIA ZAWADZKI BAGGIO; ELISA PEREZ; ITAMAR FRANCISCO ANDREAZZA.

**Prazo de Validade:** 20 (vinte) anos contados a partir de 28/11/2013, observadas as condições legais

**Expedida em:** 05/01/2021

Assinado digitalmente por:

**Liane Elizabeth Caldeira Lage**

Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

OBTENÇÃO DE EXTRATOS OU FRAÇÕES DE INFLORESCÊNCIAS OU  
PRODUTOS DE *Musa paradisiaca* L., USO DOS EXTRATOS OU  
FRAÇÕES DE INFLORESCÊNCIAS OU PRODUTOS DE *Musa paradisiaca*  
L. E FORMULAÇÕES COM EXTRATOS E FRAÇÕES DE INFLORESCÊNCIAS  
5 OU PRODUTOS DE *Musa paradisiaca* L.

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção se insere nas áreas da Química, Farmacologia, Dermatologia, Cosmetologia, Medicinal, Terapêutica, Homeopática e Veterinária, mais  
10 especificamente no campo dos fitoterápicos, uma vez que se refere à obtenção de extratos e frações de inflorescências de *Musa paradisiaca* L., ao uso dos extratos, frações e desenvolvimento de formulações a partir de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. como antiasmático, anti-  
15 inflamatório e imunomodulador em asma aguda e crônica.

DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA

A ocorrência da asma tem aumentado dramaticamente tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento (CARLSEN, 2003). No Brasil, a asma é  
20 considerada um problema de saúde pública, onde ocorrem mais de 350 mil hospitalizações e, aproximadamente, 2500 mortes, por ano (JARDIM, 2007).

Resultados do "International Study of Asthma and Allergies in Childhood" realizado nas cidades de Curitiba  
25 (PR), Itabira (MG), Recife (PE), Salvador (BA), São Paulo (SP), Porto Alegre (RS) e Uberlândia (MG) mostraram que escolares entre 06 e 07 anos apresentaram um índice de 72% de asmáticos e entre adolescentes 13 e 14 anos este índice aumenta para 93% (SOLÉ et al., 2000). A asma interfere no  
30 lazer e no trabalho, motiva atendimentos repetidos em

pronto-socorros e em ambulatórios brasileiros, provoca hospitalizações e pode levar a óbito (CAMPOS; LEMOS, 2008).

Essa doença se mostra como um dos principais motivos de falta no trabalho e escola (PONTE et al., 2006),  
5 conseqüentemente diminui o rendimento dos indivíduos, desta forma esses relatos despertam o interesse tanto econômico como em benefício da saúde pública geral.

O tratamento da asma, atualmente, em curto prazo é obtido com broncodilatadores, fármacos que aumentam o  
10 calibre das vias aéreas ao relaxarem a sua musculatura lisa. Dentre estes fármacos, os estimulantes dos receptores  $\beta$ -adrenérgicos são os mais amplamente utilizados. A teofilina, uma metilxantina, e os fármacos antimuscarínicos também são utilizados para reverter a constrição das vias  
15 aéreas. O controle em longo prazo é mais frequentemente obtido com fármacos anti-inflamatórios, como corticoesteroides. Outros fármacos também são utilizados como os inibidores da via dos leucotrienos e inibidores de degranulação de mastócitos (KATZUNG, 2006).

20 No Brasil, porém, grande parte da população afetada não tem acesso aos medicamentos específicos, fato que resulta em um número exagerado de pacientes frequentando os prontos-socorros, faltando às escolas e trabalho. Isto leva ao somatório de dois custos: (i) os custos diretos,  
25 representados por aqueles que estão associados diretamente à intervenção, como compra de medicamentos para as crises de asma, custos das hospitalizações, salários dos profissionais envolvidos no atendimento; e (ii) os custos indiretos: representados pela ausência à escola e trabalho,  
30 as despesas de idas ao pronto-socorro, além das despesas

referentes ao acompanhante. Na área da saúde ainda tem-se o que se chama de custos intangíveis, que são difíceis de serem mensurados, como o sofrimento pessoal ou familiar (JARDIM, 2007). Assim, considerando a alta prevalência de asma no Brasil, bem como os custos e efeitos indesejados da terapia alopática convencional utilizada atualmente, estudos fitoterápicos como alternativa para o tratamento e/ou prevenção apresentam importância em saúde pública. Acrescenta-se a isso, a biodisponibilidade de espécies vegetais no Brasil e a possibilidade de tratamento com excelente relação custo/benefício bem como menor ocorrência de efeitos colaterais.

Portanto, o tratamento de asma alérgica com inflorescências de *Musa paradisiaca* L. proposto pela presente invenção mostra-se de grande importância, uma vez descrito que existem poucos fármacos utilizados para o tratamento desta patologia e que os mesmos apresentam efeitos colaterais importantes. É válido lembrar também que não há, no mercado brasileiro, medicamento fitoterápico antiastmático, registrado na ANVISA.

Não é conhecida nenhuma anterioridade envolvendo a utilização de inflorescências de *Musa paradisiaca* L. em processos inflamatórios pulmonares nem mesmo o tratamento de asma alérgica, como é proposto pela presente invenção.

As referências utilizadas nas informações supracitadas foram: CARLSEN, K.H. Can asthma and allergy be prevented in real life? *Allergy* v. 58, p. 730-732, 2003; JARDIM, J.R. A farmacoconomia e o tratamento da asma. *J Bras Pneumol.* - Editorial. V. 33, n. 1, p. 1-3, 2007; SOLÉ D, YAMADA E, VANA A.T, WERNECK G, SOLANO DE FREITAS L,

- SOLOGUREN MJ, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian schoolchildren. *J Investigat Allergol Clin Immunol.*, v. 11, n. 2, p. 123-8, 2000; Campos HS, Lemos ACM. A asma e a DPOC na visão do pneumologista. *J Bras Pneumol.*, v. 35, n. 4, p. 301-309, 2009; Ponte EV, Franco R, Nascimento HF, Souza-Machado A, Cunha S, Barreto ML, et al. Lack of control of severe asthma is associated with co-existence of moderate-to-severe rhinitis. *Allergy.*, v. 63, n. 5, p. 564-9, 2008; KATZUNG, B. G. *Farmacologia Básica & Clínica*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009; JARDIM, J.R. A farmacoeconomia e o tratamento da asma. *J Bras Pneumol. - Editorial.*, v. 33, n. 1, p. 1-3, 2007; ROGERIO, A. P.; FONTANARI, C; BORDOCCHI, E. et al. Anti-inflammatory effects of *Lafoensia pacari* and ellagic acid in a murine model of asthma: *European Journal of Pharmacology*, v. 580, p. 262-270, 2008.

#### BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere à obtenção de extratos e frações a partir de inflorescências de *Musa paradisiaca* L. e da utilização do extrato aquoso, hidroalcoólico ou frações na produção de medicamento para asma aguda e/ou crônica, por conta das suas propriedades antiasmática e anti-inflamatória e diminuição da resposta Th<sub>2</sub> (atividade imunomoduladora). Adicionalmente, a invenção se refere a formulações com extratos e frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L..

As referidas propriedades foram demonstradas através da diminuição da inflamação broncoalveolar (comprovada por histopatológico) e sistêmica (diminuição do número de



leucócitos) de camundongos asmáticos e de diminuição nos níveis de interleucinas padrão Th<sub>2</sub>.

#### BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

5 A figura 1A se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais asmáticos estudados no experimento 1 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

10 A figura 1B se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais não asmáticos estudados no experimento 1 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam  
15 regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 1C se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo EAQ (extrato aquoso de *M. paradisiaca* L.) estudados no experimento 1  
20 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 1D se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas  
25 peribroncoalveolares dos animais do grupo EHA (extrato hidroalcoólico de *M. paradisiaca* L.) estudados no experimento 1 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

30 A figura 1E se refere a imagens de fotomicrografias de

cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo Dexa (animais tratados com dexametasona) estudados no experimento 1 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 2A se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais asmáticos estudados no experimento 2 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 2B se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais não asmáticos estudados no experimento 2 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 2C se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo EAQ (extrato aquoso de *M. paradisiaca* L.) estudados no experimento 2 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 2D se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo EHA (extrato hidroalcoólico de *M. paradisiaca* L.) estudados no experimento 2 (terapia curativa). Coloração com

Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 2E se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo Dexa (animais tratados com dexametasona) estudados no experimento 2 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

10 A figura 3A se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais asmáticos estudados no experimento 3 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam  
15 regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 3B se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais não asmáticos estudados no experimento 3 (terapia preventiva). Coloração com  
20 Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 3C se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo FHEX (fração resultante das partições *n*-hexânicas) estudados no experimento 3 (terapia preventiva). Coloração com  
25 Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 3D se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas  
30 de



peribroncoalveolares dos animais do grupo FBUT (fração resultante da partição com n-butanol) estudados no experimento 3 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam 5 regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 3E se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo Dexa (animais tratados com dexametasona) estudados no experimento 3 10 (terapia preventiva). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 4A se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas 15 peribroncoalveolares dos animais asmáticos estudados no experimento 4 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 4B se refere a imagens de fotomicrografias 20 de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais não asmáticos estudados no experimento 4 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 4C se refere a imagens de fotomicrografias 25 de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo FAC (fração resultante da partição com acetato de etila) estudados no experimento 4 (terapia curativa). Coloração com 30 Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam

regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 4D se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo FBUT (fração resultante da partição com *n*-butanol) estudados no experimento 4 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 4E se refere a imagens de fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares das áreas peribroncoalveolares dos animais do grupo Dexa (animais tratados com dexametasona) estudados no experimento 4 (terapia curativa). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

A figura 5A se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL4 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 5B se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL5 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 5C se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL6 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 5D se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL12 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 5E se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL17 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 5F se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina TNF- $\alpha$  realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 6 se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de IgE realizadas em soro de camundongos suíços do experimento 5 (terapia preventiva com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 7A se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL4 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 7B se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL5 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 7C se refere a representações gráficas dos

resultados do experimento de determinação de citocina IL6 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

5 A figura 7D se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL12 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

10 A figura 7E se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL17 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

15 A figura 7F se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina TNF- $\alpha$  realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

20 A figura 8 se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de IgE realizadas em soro de camundongos suíços do experimento 6 (terapia curativa com EAQ e EHA). Dosagem por ELISA.

A figura 9A se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL4 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

A figura 9B se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL5

realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

5 A figura 9C se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL6 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

10 A figura 9D se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL12 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

15 A figura 9E se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL17 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

20 A figura 9F se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina TNF- $\alpha$  realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

25 A figura 10 se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de IgE realizadas em soro de camundongos suíços do experimento 7 (Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

30 A figura 11A se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL4 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo



experimento 8 (Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT).  
Dosagem por ELISA.

5 A figura 11B se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL5 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 8 (Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT).  
Dosagem por ELISA.

10 A figura 11C se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL6 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 8 (Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT).  
Dosagem por ELISA.

15 A figura 11D se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL12 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 8 (Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT).  
Dosagem por ELISA.

20 A figura 11E se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina IL17 realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 8 (Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT).  
Dosagem por ELISA.

25 A figura 11F se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de citocina TNF- $\alpha$  realizadas em soluções de macerados de pulmões obtidos pelo experimento 8 (Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT).  
Dosagem por ELISA.

30 A figura 12 se refere a representações gráficas dos resultados do experimento de determinação de IgE realizadas em soro de camundongos suíços do experimento 8 (Terapia

Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT). Dosagem por ELISA.

#### DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção descreve a obtenção de extratos e frações a partir de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. e da utilização do extrato aquoso, hidroalcoólico ou frações na produção de medicamento para asma aguda e crônica (preferencialmente por via oral), por conta das suas propriedades antiasmática e anti-inflamatória e diminuição da resposta Th2. Além disso, a invenção descreve formulações contendo extratos e frações de *Musa paradisiaca* L. para asma aguda ou crônica.

#### ***Obtenção de extratos e frações de inflorescências de Musa paradisiaca L.***

A invenção se refere a extratos aquosos e hidroalcoólicos e de frações obtidas a partir de inflorescências de *Musa paradisiaca* L.

Os extratos são obtidos por extrações dos produtos de inflorescências de *Musa paradisiaca* L., por métodos de cozimento, turbólise, prensagem, decocção, osmose, infusão, hidroalcoólico, alcoólico, trituração, seguidos de prensagem, ou repouso, decantação, com uso de reagentes químicos, naturais, ou por método somente químico, físico, físico-químico, biológico ou orgânico, para obtenção do extrato e substrato, essência, tintura, seiva, massa, sumo, pó, frações, para emprego ou comercialização total ou parcial com finalidades de aplicação nas áreas da química, farmacologia, dermatologia, cosmetologia, medicinal, terapêutica, homeopática, fitoterápica, veterinária nas formas hipocrática e galênica, natural ou sintética, o extrato, substrato, a essência, a tintura. Os extratos são

preferencialmente obtidos por decocção, maceração e trituração.

**Uso dos extratos e frações de inflorescências de *Musa paradisiaca* L. como antiasmático, anti-inflamatório e imunomodulador (diminuição de interleucinas padrão  $Th_2$ ) na asma aguda e crônica.**

Os extratos e frações obtidos por extração dos produtos e de inflorescências de *Musa paradisiaca* L. podem ser utilizados para preparação de medicamentos para asma aguda e crônica, conforme comprovado abaixo, no item exemplo de concretização/comprovação da invenção.

No referido item (exemplo de concretização/comprovação da invenção), tais extratos quando administrados por via oral em camundongos suíços asmáticos demonstraram propriedades anti-inflamatória, antiasmática, e de diminuição de interleucinas padrão  $Th_2$  (imunomodulação) comprovadas através da diminuição da inflamação pulmonar e sistêmica, tanto na asma aguda como em asma crônica.

**20 Formulações com extratos e frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L.**

A presente invenção propõe a utilização de uma formulação fitoterápica, preferencialmente na forma farmacêutica de grânulos, a partir do extrato ou frações de inflorescências de *Musa paradisiaca*.

A forma farmacêutica compreende de 1 a 8% de extrato seco de inflorescência ou de produto de *Musa paradisiaca* L. (ativo); de 0,01 a 1% de conservante antimicrobiano; de 0,01 a 1% de antioxidante; de 1 a 15% de edulcorante sorbitol; de 15 a 80% de edulcorante sacarose; de 0,5 a 5%

de adsorvente.

O extrato seco ativo pode ser constituído de: extrato aquoso, hidroalcoólico ou das frações *n*-hexânica, clorofórmica, acetato de etila e *n*-butanólica obtidos de inflorescência ou produto de *Musa paradisiaca* L. É utilizado preferencialmente o extrato seco.

O conservante antimicrobiano é preferencialmente o Benzoato de Sódio.

O antioxidante é preferencialmente o Ácido Ascórbico.

O adsorvente é preferencialmente o Dióxido de Silício Coloidal.

Um exemplo de concretização da invenção compreenderia: 2,67 g de extrato seco de inflorescência de *Musa paradisiaca* L. (ativo); 0,3 g de Benzoato de Sódio (conservante antimicrobiano); 0,3 g de Ácido Áscorbico (antioxidante); 4 g de Sorbitol (edulcorante); 30,03 g de Sacarose (edulcorante); 0,7 g de Dióxido de silício coloidal (adsorvente); totalizando 38g (equivalente a 100%). Esta forma será armazenada preferencialmente como sachê granulado em envelopes separados. O sachê deve ser diluído em água até completar um volume de 90 ml, correspondente a 6 doses de 15 ml. Cada dose de 15 ml contém a necessidade diária de extrato seco para um adulto de 70 Kg.

No exemplo em questão, o prazo de validade após diluição corresponde a 6 dias.

**Exemplo de Concretização/Comprovação da Invenção - Efeitos Anti-inflamatório e Antiasmático**

Procedência do material vegetal in natura

Inflorescências de *M. paradisiaca* L. foram coletadas

no município de Maringá (PR), em novembro de 2008 e foram utilizadas como material vegetal para preparação dos extratos.

Uma exsicata da planta foi depositada no Museu Botânico Municipal de Curitiba-PR (MBM) sob registro MBM: 367379. A identificação taxonômica foi realizada pelo curador do Herbário do MBM.

Preparação do extrato aquoso de *M. paradisiaca* L.

O extrato aquoso utilizado nos demais ensaios, foi preparado com 80 g de material vegetal *in natura*, previamente lavado e cortado em pedaços de aproximadamente 2 cm. Em seguida, submeteu-se o material à descontaminação com etanol aquoso 70% (v/v), por 2 min, com posteriores lavagens rápidas com água destilada. Ao material descontaminado foram adicionados 200 mL de água destilada. O conteúdo foi submetido a uma turbólise e levado ao banho-maria a 70°C durante 1 h. O material foi filtrado e o extrato obtido, denominado EAQ, foi devidamente identificado, congelado e mantido a -20°C.

20 Preparação do extrato hidroalcoólico de *M. paradisiaca* L.

O extrato hidroalcoólico foi preparado com 80 g de material vegetal *in natura*, previamente lavado e cortado em pedaços de aproximadamente 2 cm. Em seguida, submeteu-se o material à descontaminação com etanol aquoso 70% (v/v), por 25 2 min, com posteriores lavagens rápidas com água destilada. Ao material descontaminado foram adicionados 200 mL de etanol aquoso 70% (v/v), e submetido à turbólise por 10 min. O material resultante deste processo foi deixado em maceração em frasco âmbar, fechado, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 10 dias. O material foi filtrado sob 30



pressão reduzida. O filtrado foi concentrado, até secura, em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, a 40°C. O material obtido foi ressuscendido em 200 mL de água destilada, sendo acondicionado em frasco âmbar, congelado e mantido a -20°C. Este extrato foi denominado EHA.

Preparação do extrato metanólico de *M. paradisiaca* L.

O material vegetal (2,8 kg) foi triturado sob turbólise até fragmentos de aproximadamente 1 cm. Em seguida, 2,8 L de metanol aquoso a 80% (v/v) foram adicionados ao material e este foi mantido sob maceração em recipiente fechado, no escuro, à temperatura ambiente, com agitações diárias por inversão durante 14 dias. Após isso, o material foi filtrado sequencialmente, em algodão e em papel de filtro qualitativo a vácuo. O filtrado obtido foi concentrado em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, a 60°C, até aproximadamente 300 mL. O extrato resultante (EMET) foi submetido ao fracionamento por partição utilizando solventes com diferentes polaridades, como descrito a seguir.

Preparação das frações Hexânica, Clorofórmica, Acetato de etila, Butanólica

O EMET foi, primeiramente, fracionado com n-hexano na proporção 1:1 (v/v), em funil de separação e após agitação vigorosa, a fase hexânica foi separada. Este processo foi repetido novamente. As duas partições n-hexânicas foram adicionadas a um único frasco e armazenadas a 4°C, para destituição da emulsão formada, a qual foi retirada em funil de separação. A fração resultante foi denominada de FHEX, a qual foi mantida a - 20°C.

Na sequência, o extrato residual foi fracionado com

clorofórmio, na proporção 1:1 (v/v), em funil de separação e após agitação vigorosa, a fase clorofórmica foi separada. O procedimento foi repetido novamente, resultando a fração denominada FCLO, a qual foi mantida a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Este mesmo  
5 procedimento foi realizado para o posterior fracionamento com os solventes, acetato de etila e *n*-butanol, obtendo-se as frações denominadas FAC e FBUT, respectivamente.

As frações FHEX, FCLO, FAC e FBUT foram concentradas separadamente em evaporador rotatório, sob pressão  
10 reduzida, a  $40^{\circ}\text{C}$ , até aproximadamente 40 mL. O volume das frações foi completado com qsp 50 mL com os respectivos solventes. Para os ensaios utilizando o modelo experimental de asma, 10 mL das frações FHEX, FCLO, FAC e FBUT foram novamente concentradas, em separado, em evaporador  
15 rotatório, sob pressão reduzida, a  $40^{\circ}\text{C}$ , até secura. O material resultante foi ressuspenso em 20 mL de água destilada.

Indução da Inflamação: Imunização dos animais com ovoalbumina (OVA)

20 Utilizaram-se camundongos suíços machos, 6 animais por grupo. Os animais foram imunizados nos dias 0, 7, 14 e 21 com injeção intraperitoneal de 28  $\mu\text{g}$  OVA e 1,6 mg de hidróxido de alumínio diluídos em 0,4 mL de salina estéril, seguidas de duas instilações nasais de 70  $\mu\text{g}$  de OVA  
25 diluídos em 50  $\mu\text{L}$  de salina (dias 14 e 21). O grupo não asmático não foi imunizado nem com OVA nem com hidróxido de alumínio, correspondendo ao grupo controle. Os animais foram sacrificados no 22<sup>o</sup> dia.

Demonstração do efeito antiasmático e anti-inflamatório de  
30 *M. paradisiaca* L. na terapia preventiva e curativa da asma

Para avaliação do efeito dos diferentes extratos ou frações no modelo experimental de asma, foram realizados os experimentos testes, utilizando o protocolo supracitado, os quais estão descritos a seguir:

5       **Experimentos 1 e 5** - Avaliação dos EAQ e EHA, na terapia preventiva. Os EAQ e EHA (50 µL), foram administrados, via oral, uma vez ao dia nos 21 dias dos experimentos. Os grupos experimentais estão descritos na Tabela 1.

10       **Experimentos 2 e 6** - Avaliação dos EAQ e EHA, na terapia curativa. Os EAQ e EHA (50 µL) foram administrados via oral, uma vez ao dia nos anos dias 19, 20 e 21 dos experimentos. Os grupos experimentais estão descritos na Tabela 1.

15       **Experimentos 3 e 7** - Avaliação das FHEX, FCLO, FAC, FBUT, na terapia preventiva. As FHEX, FCLO, FAC, FBUT (50 µL), foram administrados, via oral, uma vez ao dia nos 21 dias dos experimentos. Os grupos experimentais estão descritos na Tabela 2.

20       **Experimentos 4 e 8** - Avaliação das FCLO, FAC, FBUT, na terapia curativa. As, FCLO, FAC, FBUT (50 µL), foram administrados via oral, uma vez ao dia nos dias 19, 20 e 21 dos experimentos. A FHEX não foi utilizada no experimento 4. Os grupos experimentais estão descritos na Tabela 2.

25       **TABELA 1:** GRUPOS EXPERIMENTAIS DE CAMUNDONGOS SUIÇOS DESAFIADOS COM OVA E TRATAMENTOS REALIZADOS COM EAQ E EHA NOS EXPERIMENTOS 1 e 5 (PREVENTIVO) e 2 e 6 (CURATIVO)

Grupos experimentais	Imunização	Número de animais	Tratamento
<b>Grupo Asmático</b>	<b>sim</b>	<b>6</b>	<b>nenhum</b>

Grupo Saudável	não	6	nenhum
<b>Grupo Salina</b>	<b>sim</b>	<b>6</b>	<b>Salina por 21 dias</b>
Grupo EAQ Experimentos 1 e 5	sim	6	EAQ 21 dias
<b>Grupo EHA Experimentos 1 e 5</b>	<b>sim</b>	<b>6</b>	<b>EHA 21 dias</b>
Grupo EAQ Experimentos 2 e 6	sim	6	EAQ 3 dias
<b>Grupo EHA Experimentos 2 e 6</b>	<b>sim</b>	<b>6</b>	<b>EHA 3 dias</b>
Grupo DEXA	sim	6	Dexametasona 0,5mg/Kg 18 e 21 dias

Os grupos controles utilizados nos experimentos acima: Grupo asmático: animal imunizado e não tratado; Grupo saudável: animal não imunizado, não tratado; Grupo salina: animal imunizado tratado com salina diariamente (terapia preventiva), ou nos dias 19, 20, 21 (terapia curativa); Grupo dexa: animal imunizado e tratado nos dias 18 e 21 com dexametasona 0,5 mg/Kg intramuscular.

**TABELA 2:** GRUPOS EXPERIMENTAIS DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS DESAFIADOS COM OVA E PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS/TRATAMENTOS REALIZADOS COM FHEX; FCLO, FAC, FBUT NOS EXPERIMENTOS 3 e 7 (TRATAMENTO PREVENTIVO) E EXPERIMENTOS 4 e 8 (TRATAMENTO CURATIVO)

Grupos experimentais	Imunização	Número de animais	Tratamento
<b>Grupo Asmático</b>	<b>sim</b>	<b>6</b>	<b>nenhum</b>
Grupo Saudável	não	6	nenhum
<b>Grupo Salina</b>	<b>sim</b>	<b>6</b>	<b>Salina 21 dias</b>
Grupo HEX	sim	6	FHEX 21 dias

---

Experimentos 3 e 7			
<b>Grupo CLO</b> Experimentos 3 e 7	sim	6	<b>FCLO 21 dias</b>
Grupo AC Experimentos 3 e 7	sim	6	FAC 21 dias
<b>Grupo BUT</b> Experimentos 3 e 7	sim	6	<b>FBUT 21 dias</b>
Grupo CLO Experimentos 4 e 8	sim	6	FCLO 3 dias
<b>Grupo AC</b> Experimentos 4 e 8	sim	6	<b>FAC 3 dias</b>
Grupo BUT Experimentos 4 e 8	sim	6	FBUT 3 dias
<b>Grupo DEXA</b>	sim	6	<b>Dexametasona 0,5mg/Kg 18 e 21 dias</b>

---

Os grupos controles utilizados nos experimentos acima:  
 Grupo asmático: animal imunizado e não tratado; Grupo  
 saudável: animal não imunizado, não tratado; Grupo salina:  
 animal imunizado tratado com salina diariamente (terapia  
 5 preventiva), ou nos dias 19, 20, 21 (terapia curativa);  
 Grupo dexa: animal imunizado e tratado nos dias 18 e 21 com  
 dexametasona 0,5 mg/Kg intramuscular.

Para todos os experimentos citados, no 22º dia, depois  
 de adequada anestesia com xilazina/quetanina, o sangue dos  
 10 animais foi coletado por punção cardíaca. O sangue foi  
 centrifugado, por 5 min 5000 rpm, o soro separado e  
 refrigerado a -80 °C para posterior quantificação de IgE.



Os pulmões foram seccionados e o lobo superior direito de cada animal foi fixado com fixador Carnoy (metanol:ácido acético, 3:1, v/v) e posteriormente analisados por exame histopatológico.

5 Nos exames histopatológicos os pulmões foram analisados através de 3 parâmetros: Infiltrado Inflamatório no tecido pulmonar (II), Infiltrado Inflamatório no lúmen brônquico (IIL) e Edema. Tais parâmetros foram  
10 quantificados em cruzes (+) onde o mínimo é 0 e o máximo são +++.

Análise histopatológica dos pulmões - experimento 1

Os animais tratados com EAQ e EHA mostraram importante diminuição do quadro inflamatório em relação ao controle asmático. A melhora do quadro aconteceu tanto nas áreas  
15 peribrônquicas como nas áreas perialveolares, onde pode-se verificar uma diminuição de infiltrado inflamatório característico da asma. No parâmetro "II" tanto o grupo EAQ quanto EHA demonstraram melhoras superiores ao do grupo  
20 dexta, e no parâmetro "Edema", a melhora foi comparável ao grupo dexta (Figuras 1A, 1B, 1C, 1D, 1E e Tabela 3).

As figuras 1A, 1B, 1C, 1D, 1E se referem a  
fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares dos animais dos grupos estudados do experimento 1 - terapia  
25 preventiva. As fotos indicam áreas peribroncoalveolares de pulmões dos animais asmáticos (A); não asmáticos (B); grupo EAQ (C); grupo EHA (D) e Dexta (E). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam  
regiões ricas em células inflamatórias.

**Tabela 3:** Leitura dos histopatológicos de pulmões de  
30 camundongos suíços, em modelo experimental de asma,

tratados com as diferentes frações de *M. paradisiaca* L. por 21 dias (Experimento 1).

Grupos Experimentais	II	Edema	IIL
Asmático	+++	+	+
Saudável	+	0	0
EAQ	+	+	+
EHA	+	+	+
dexa	++	+	0

Nota: \*Infiltrado Inflamatório (II); Infiltrado Inflamatório Luminal (IIL)

#### 5 Terapia Curativa com EAQ e EHA - Experimento 2

##### **Análise histopatológica (Experimento 2)**

Os animais tratados com EAQ e EHA mostraram importante diminuição do quadro inflamatório em relação ao controle asmático. A melhora pode ser verificada pela diminuição de infiltrado inflamatório característico da asma (Figura 2A, 2B, 2C, 2C e 2E). No parâmetro "Edema" tanto o grupo EAQ quanto EHA demonstraram melhoras comparáveis ao grupo dexa. No parâmetro "II" o grupo EAQ demonstrou melhora superior ao grupo dexa, sendo no grupo EHA a melhora comparável ao grupo dexa (Figuras 2A, 2B, 2C, 2D e 2E e Tabela 4).

As figuras 2A, 2B, 2C, 2D e 2E se referem a fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares dos animais dos grupos estudados do experimento 2 - terapia curativa. As fotos indicam áreas peribroncoalveolares de pulmões dos animais asmáticos (A) e não asmáticos (B). grupo EAQ (C); grupo EHA (D) e dexa (E). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

**Tabela 4:** Leitura dos histopatológicos de pulmões de camundongos suíços, em modelo experimental de asma, tratados com as diferentes frações de *M. paradisiaca* L. nos dias 19 20 e 21 (experimento 2).

Grupos Experimentais	II	Edema	IIL
Asmático	+++	+	+
Saudável	+	0	0
EAQ	+	+	+
EHA	++	+	+
Dexa	++	+	0

5 Nota: \*Infiltrado Inflamatório (II); Infiltrado Inflamatório Luminal (IIL)

Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT - Experimento

3

#### **Análise histopatológica (Experimento 3)**

10 Os animais tratados com FHEX mostraram importante diminuição do quadro inflamatório em relação ao controle asmático. A melhora do quadro aconteceu tanto nas áreas peribrônquicas como nas áreas perialveolares, onde se pode verificar uma diminuição de infiltrado inflamatório

15 característico da asma. No parâmetro "II" o grupo FHEX demonstrou melhora superior ao do grupo dexa. Nos demais parâmetros a melhora foi comparável ao grupo dexa. Os animais tratados com FBUT não demonstraram melhora do quadro geral inflamatório quando comparado ao grupo dexa

20 (Figuras 3A, 3B, 3C, 3D e 3E e Tabela 5).

As figuras 3A, 3B, 3C, 3D e 3E são fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares dos animais dos grupos estudados do experimento 3 - terapia preventiva. As fotos

indicam áreas peribroncoalveolares de pulmões dos animais asmáticos (A) e não asmáticos (B); grupo FHEX(C); grupo FBUT (D) e grupo dexta (E). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam 5 regiões ricas em células inflamatórias.

**Tabela 5:** Leitura dos histopatológicos de pulmões de camundongos suíços, em modelo experimental de asma, tratados com as diferentes frações de *M. paradisiaca* L. por 21 dias (Experimento 3).

Grupos Experimentais	II	Edema	IIL
Asmático	+++	+	+
Saudável	+	0	0
FHEX	+	+	+
FCLO	ND	ND	ND
FAC	ND	ND	ND
FBUT preventivo	++	++	+++
Dexta	++	+	0

10 Nota: ND: Leitura não realizada devido baixa de qualidade na fixação do tecido. \*Infiltrado Inflamatório (II); Infiltrado Inflamatório Luminal (IIL)

Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT (Experimento 4)

#### **Análise histopatológica (Experimento 4)**

15 Pode-se verificar uma melhora no quadro geral inflamatório dos grupos tratados FAC e FBUT. A melhora, tanto nos grupo FAC quanto no FBUT aconteceu nos três parâmetros, Infiltrado Inflamatório (II); Infiltrado Inflamatório Luminal (IIL). Sendo que em ambos os grupos a  
20 melhora foi superior à observada com a medicação padrão

dexametasona. É importante ressaltar que no parâmetro "IIL" somente na terapia curativa foi possível diminuir o IIL até zero. Também é válido ressaltar que dentre todas as leituras, nos 4 experimentos, o FBUT na terapia curativa foi o que apresentou os melhores resultados nos exames histopatológicos. (Figuras 4A, 4B, 4C, 4D e 4E e Tabela 6).

As figuras 4A, 4B, 4C, 4D e 4E são fotomicrografias de cortes histológicos pulmonares dos animais dos grupos estudados do experimento 4 (terapia curativa). As fotos indicam áreas peribroncoalveolares de pulmões dos animais asmáticos (A) e não asmáticos (B); grupo FAC(C); grupo FBUT (D) e grupo dexta (E). Coloração com Hematoxilina/Eosina e aumento de 100X. As setas apontam regiões ricas em células inflamatórias.

**Tabela 6:** Leitura dos histopatológicos de pulmões de camundongos suíços, em modelo experimental de asma, tratados com as diferentes frações de *M. paradisiaca* L. nos dias 19,20 e 21 (Experimento 4).

Grupos Experimentais	II	Edema	IIL
Asmático	+++	+	+
Saudável	+	0	0
FC10	ND	ND	ND
FACT	+	+	0
FBU	0	+	0
dexta	++	+	0

ND: Leitura não realizada devido baixa de qualidade na fixação do tecido. \*Infiltrado Inflamatório (II); Infiltrado Inflamatório Luminal (IIL).



**Exemplo de Concretização/Comprovação da Invenção - Efeitos  
Imunomoduladores - Quantificação de citocinas e de IgE**

**Preparo das amostras para quantificação das citocinas**

As quantificações das citocinas IL4, IL5, IL6, IL12,  
5 IL17 e TNF $\alpha$  foram realizadas em soluções de macerados de  
pulmões. Os pulmões foram retirados do freezer e deixados à  
temperatura ambiente até total descongelamento. Estes foram  
então pesados individualmente e acondicionados em tubos de  
ensaio de polietileno, acrescentando-se então solução  
10 salina na proporção de 400 mg/mL. O material foi submetido  
à maceração automatizada com pistilo para ruptura física do  
tecido. O material foi centrifugado a 4500 rpm, por 8 min,  
a 4°C. As amostras foram analisadas em duplicata,  
utilizando kit comercial de ELISA (Ready-SET-GO!) da  
15 eBioscience (San Diego, CA, EUA), individualmente para cada  
citocina testada.

**Preparo das amostras para quantificação de IgE**

O sangue total obtido após punção cardíaca dos animais  
foi centrifugado a 4000 rpm por 5 min e o soro armazenado  
20 em alíquotas de 0,5 mL, a -20°C. Para a realização do ELISA  
o soro foi diluído 1:1000 em tampão diluente e 100  $\mu$ L/poço  
dessa diluição foram adicionados. As amostras foram  
analisadas em duplicata, utilizando kit comercial de ELISA  
(Ready-SET-GO!) da Shibayagi (Ishihara, Japão).

25 **Ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) para dosagem de  
citocinas e IgE**

Para o ensaio de ELISA, placas de poliestireno ("high  
binding protein" - catálogo n° 9018, Corning, Lowell, MA,  
EUA) com 96 orifícios, de fundo chato, foram sensibilizadas  
30 durante 18 h a 4°C, com 100  $\mu$ L/poço do anticorpo de captura

para cada citocina. No caso da dosagem de IgE foram utilizadas as placas pré-sensibilizadas do kit. As placas foram lavadas 5 vezes com 250 µL/poço de tampão de lavagem em lavadora de placas (marca Bio Tek, Winooski, EUA), e em seguida, a reação foi bloqueada com 200 µL/poço da solução de diluição.

Após 1 h de incubação à temperatura ambiente e 5 ciclos de lavagem das placas, 100 µL/poço das amostras (macerado pulmonar para as citocinas e soro para IgE) e padrões específicos para cada citocina/IgE foram adicionados. As placas foram novamente incubadas por 2 h à temperatura ambiente. Em seguida, essas foram lavadas 5 vezes com 250 µL/poço de tampão de lavagem, e o anticorpo de detecção adicionado (100 µL/poço). Passada 1 h de incubação à temperatura ambiente, as placas foram novamente lavadas 5 vezes com 250 µL/poço de tampão de lavagem. Adicionou-se 100 µL/poço da enzima Avidina-HRP ("horse radish peroxidase") e as placas foram novamente incubadas à temperatura ambiente por 30 min. Após 7 lavagens, 100 µL/poço do substrato cromógeno tetrametilbenzidina (TMBZ) foram adicionados e incubados no escuro, por 15 min à temperatura ambiente. A reação foi bloqueada com 50 µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a 1N e a leitura da absorbância realizada em espectrofotômetro para microplacas (marca Bio Tek, modelo EPOCH, Winooski, EUA) a 450 nm. A curva padrão foi preparada utilizando-se oito concentrações do padrão específico para cada citocina testada (IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 ou TNFα) ou IgE.

Determinação do efeito dos extratos e frações de *M. paradisiaca* L. na terapia preventiva e curativa da asma

**Experimento 5 - Determinação de citocinas IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 e TNF- $\alpha$  - Terapia Preventiva com EAQ e EHA**

O grupo de animais asmáticos (controles) mostraram altas concentrações das citocinas (IL4, IL5, IL6 e TNF- $\alpha$ ) e baixas concentrações das IL12 e IL17 quando comparados aos animais saudáveis. As determinações das citocinas estão mostradas nas figuras 5A (IL4), 5B (IL5), e 5C (IL6) e nas figuras 5D (IL12), 5E (IL17) e 5F (TNF- $\alpha$ ).

As altas concentrações das IL4, IL5 e IL6 eram esperadas, nos animais asmáticos, uma vez que são características de murinos asmáticos o aumento de interleucinas padrão Th<sub>2</sub> locais (nos pulmões) e sistêmica. O aumento na concentração de TNF- $\alpha$  também era esperado nestes animais asmáticos uma vez que é uma citocina pró-inflamatória. Pode-se verificar que as concentrações de IL4, IL5, IL6 e TNF- $\alpha$  continuam altas nos animais tratados com salina. Isso demonstra que não houve efeito importante da manipulação diária desses animais, e que o veículo utilizado no experimento não apresenta interferência nos níveis de IL4, IL5 e IL6 e TNF- $\alpha$  (figuras 5A (IL4), 5B (IL5), e 5C (IL6) e nas figuras 5D (IL12), 5E (IL17) e 5F (TNF- $\alpha$ )).

As baixas concentrações de IL12 nos grupos asmáticos estão dentro dos resultados esperados, uma vez que a IL12 é uma interleucina padrão Th<sub>1</sub> e, portanto deve estar inibida em doenças padrões Th<sub>2</sub> como a asma.

É importante salientar que as concentrações de IL4 diminuem nos grupos tratados com os extratos (figura 5A) e que as concentrações de IL4 após os tratamentos, ficam comparáveis às dos animais tratados com dexametasona,

medicação consagrada no tratamento de asma (figuras 5A).

Os animais tratados com o EHA preventivamente mostraram uma diminuição de IL5 maior que os animais tratados com o extrato aquoso. Porém, a diminuição encontrada foi menor do que a do grupo tratado com dexametasona (figura 5B (IL5)).

A concentração de IL6 dos animais tratados por 21 dias com os EAQ e EHA está mostrada na figura 5C (IL6). Pode-se verificar que houve uma diminuição, próxima à metade, das concentrações de IL6 nos grupos tratados com o EHA. Essa diminuição é comparável aos níveis dos animais tratados com dexametasona (figura 5C).

Assim, os dados mostrados nas figuras 5A (IL4), 5B (IL5), e 5C (IL6) mostram que os EAQ e EHA de *M. paradisiaca* L. têm efeito na diminuição das concentrações de interleucinas em camundongos sulcos imunizados com OVA. Em alguns casos a diminuição encontrada foi comparável à concentração de dexametasona. Estes dados são importantes, pois mostram que tais extratos são promissores para a utilização no tratamento de asma.

A terapia preventiva aqui testada simula um indivíduo que ainda não está exatamente na crise asmática. Ou seja, seria um tratamento na tentativa de impedir os indivíduos de entrarem na crise asmática.

A literatura mostra trabalhos experimentais utilizando extratos vegetais de diferentes plantas, *Lafoensia pacari*, por exemplo, com eficientes diminuições de níveis de interleucinas padrão Th<sub>2</sub> em animais asmáticos (ROGERIO et al., 2008). Porém, não há relatos na literatura de experimentos utilizando *M. paradisiaca* L., nesta doença.

As figuras 5A, 5B, 5C demonstram respectivamente, a determinação de IL4 (A), IL5 (B) E IL6 (C) em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 5 - terapia preventiva. Nota: Dosagem por ELISA

5 As figuras 5D, 5E, 5F representam graficamente, respectivamente, a determinação de IL12 (D), IL17 (E) E TNF- $\alpha$  (F) em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 5 - terapia preventiva. Nota: Dosagem por ELISA

#### 10 **Determinação de IgE**

A figura 6 se refere à determinação IgE em soro dos camundongos suíços do experimento 5 - terapia preventiva. No experimento 1 (terapia preventiva), a concentrações de IgE diminuiu significativamente no grupo tratado com EAQ, quando comparado ao controle asmático. A diminuição do nível de IgE nesse grupo foi comparável ao grupo tratado com dexametasona, que também mostrou diferença significativa quando comparada ao controle.

#### Experimento 6 - Terapia Curativa com EAQ e EHA

#### 20 **Determinação de Citocinas IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 e TNF- $\alpha$**

Assim como na terapia preventiva, na terapia curativa os animais imunizados com OVA também mostraram altos valores de citocinas, devido à reação imunológica ao antígeno, no caso desse experimento (OVA). Pode-se verificar que as concentrações de IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 e TNF- $\alpha$  continuam altas nos animais tratados com salina. Isso demonstra que não houve efeito importante da manipulação diária desses animais, e que o veículo utilizado no experimento não apresenta interferência nos



níveis de IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 e TNF- $\alpha$  (Figuras 7A, 7B, 7C, 7D, 7E, 7F, respectivamente).

Os dados da figura 7A mostram que o EHA diminuiu próximo à metade os níveis de IL4 dos animais tratados curativamente, quando comparado aos animais asmáticos. A diminuição foi comparável à dexametasona. O EAQ também provocou uma diminuição nos níveis de IL4, apesar de não ter diminuído tanto quanto o EHA (figura 7A).

A figura 7B, mostra que houve diferença significativa entre os níveis de IL5 dos animais saudáveis em relação aos asmáticos. Pode-se demonstrar ainda os EAQ e EHA provocaram diminuições, de mais da metade, nos níveis de IL5 quando comparados aos animais asmáticos (figura 7B).

A figura 7C mostra que não houve diminuição importante nos níveis de IL6 dos animais tratados com ambos os extratos.

Assim, é possível verificar que EAQ e EHA obtidos de inflorescência de *M. paradisíaca* L. apresenta promissor uso no tratamento curativo de asma.

As figuras 7A, 7B, 7C são a representação gráfica da determinação de IL4 (A), IL5 (B) e IL6 (C), respectivamente, em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 6 - terapia curativa. Nota: Dosagem por ELISA.

As figuras 7D, 7E e 7F se referem a representação gráfica referente a determinação de IL12 (D), IL17 (E) e TNF- $\alpha$  (F), respectivamente, em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 6 - terapia curativa. Nota: Dosagem por ELISA.

**30 Determinação de IgE**

A figura 8 se refere a uma representação gráfica da determinação IgE em soro dos camundongos suíços do experimento 6 - terapia curativa. Esta figura mostra que não houve diminuição estatisticamente significativa nas concentrações de IgE nos grupos tratados com EAQ e EHA, quando comparado ao controle asmático.

**Experimento 7 - Terapia Preventiva com FREX, FAC, FCLO, FBUT**

**Determinação de citocinas IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 e TNF- $\alpha$**

Os animais imunizados com OVA mostraram altos valores de IL4, IL5 e IL6. Isso é uma característica de indivíduos asmáticos, que têm suas IL4 altas, devido à reação imunológica ao antígeno, no caso desse experimento (OVA). Pode-se verificar que as concentrações de IL4, IL5 e IL6 continuam altas nos animais tratados com o veículo. Isso demonstra que não houve efeito importante da manipulação diária desses animais, e que o veículo utilizado no experimento não apresenta interferência nos níveis de IL4, IL5 e IL6 (figuras 9A, 9B, 9C, respectivamente).

A figura 9A demonstra que algumas frações de *M. paradisiaca* L. podem diminuir os níveis de IL4 de animais tratados preventivamente quando comparados aos animais asmáticos. Na fração, por exemplo, hexânica a diminuição foi próxima à metade (figura 9A). Outras frações, a acetato de etila, por exemplo, também foram capazes de diminuir as concentrações de IL4, porém não tão efetivamente do que a fração clorofórmica.

A figura 9B demonstra que houve diminuição significativa dos níveis de IL5 nos grupos saudáveis e

grupo tratado com a fração hexano, em relação ao grupo controle. Outras frações também foram capazes de diminuir a concentração de IL5, grupo tratado com hexano, por exemplo, porém a diminuição não significativa estatisticamente (figura 9B).

A figura 9C demonstra que algumas frações tratadas foram capazes de diluírem as concentrações de IL6. As frações clorofórmica, hexânica e butanólica apresentaram diminuição de próximo da metade destes níveis, quando comparados aos animais asmáticos. A diminuição das referidas frações foram comparáveis aos grupos tratados com dexametasona.

Assim, pode-se verificar que algumas das frações testadas são capazes de induzir a diminuição das concentrações de interleucinas padrão  $Th_2$ . É válido ressaltar ainda que a fração clorofórmica demonstrou ação importante em todas as interleucinas dosadas na terapia preventiva.

As figuras 9A, 9B, 9C são a representação gráfica da determinação de IL4 (A), IL5 (B) e IL6 (C), respectivamente, em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 7 - terapia preventiva. Nota: Dosagem por ELISA.

As figuras 9D, 9E, 9F são, respectivamente, as representações gráficas da determinação de IL12 (D), IL17 (E) e TNF- $\alpha$  (F), respectivamente, em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 7 - terapia preventiva. Nota: Dosagem por ELISA.

#### **Determinação de IgE**

A figura 10 é a representação gráfica da determinação

IgE em soro dos camundongos suíços do experimento 7 -  
terapia preventiva. Esta figura mostra que as concentrações  
de IgE diminuíram significativamente nos grupos tratados  
com FCLO, FHEX e FBUT, quando comparados ao controle  
5 asmático. A diminuição dos níveis de IgE nesses grupos foi  
comparável ao grupo tratado com dexametasona.

**Experimento 8 - Terapia Curativa com FREX, FAC, FCLO, FBUT**

**Determinação de citocinas IL4, IL5, IL6, IL12, IL17 e  
TNF- $\alpha$**

10 A figura 11A demonstra que as frações testadas  
apresentam efeitos na diminuição das concentrações de IL4,  
quando comparados aos grupos asmáticos curativamente. A  
fração butanólica apresentou uma diminuição próxima aos  
níveis do grupo tratado com dexametasona.

15 A figura 11B demonstra que as frações testadas  
apresentam efeitos na diminuição das concentrações de IL5,  
quando comparados aos grupos asmáticos curativamente. Todos  
os grupos tratados com as diferentes frações apresentaram  
diminuição próxima à metade quando comparados ao grupo  
20 asmático, e ainda a diminuição desses grupos foi próxima  
aos níveis do grupo tratado com dexametasona.

A figura 11C demonstra que as frações testadas  
apresentam efeitos na diminuição das concentrações de IL6,  
quando comparados aos grupos asmáticos curativamente. A  
25 fração clorofórmica apresentou a melhor diminuição, porém a  
diminuição não foi tão efetiva quanto à do grupo tratado  
com dexametasona.

A figuras 11A, 11B, 11C se referem a representação  
gráfica da determinação de IL4 (A), IL5 (B) E IL6 (C) em  
30 homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento

4 - terapia curativa. Nota: Dosagem por ELISA.

As figuras 11D, 11E, 11F se referem a representação gráfica da determinação de IL12 (D), IL17 (E) e TNF- $\alpha$  (F) em homogenato de pulmões dos camundongos suíços do experimento 8 - terapia curativa. Nota: Dosagem por ELISA.

#### **Determinação de IgE**

A figura 12 se refere à representação gráfica da determinação IgE em soro dos camundongos suíços do experimento 8 - terapia curativa. Esta figura demonstra que as concentrações de IgE não demonstraram diminuição estatisticamente significativa nos grupos tratados com as frações testes, quando comparados ao controle asmático. A diminuição foi significativa no grupo tratado com dexametasona.

Embora a invenção tenha sido amplamente descrita, é óbvio para aqueles versados na técnica que várias alterações e modificações podem ser feitas visando aprimoramento do projeto sem que as referidas alterações não estejam cobertas pelo escopo da invenção.



**REIVINDICAÇÕES**

- 1- Obtenção de extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. **caracterizado** pelo fato de ser por cozimento, turbólise, 5 prensagem, decocção, osmose, infusão, hidroalcoólico, alcoólico, trituração, seguidos de prensagem, ou repouso, decantação, com uso de reagentes químicos, naturais, ou por método somente químico, físico, físico-químico, biológico ou orgânico.
- 10 2- Obtenção de extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L., de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de ser obtido extrato e substrato, essência, tintura, seiva, massa, sumo, pó, frações.
- 15 3- Obtenção de extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L., de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato dos extratos serem obtidos por decocção, maceração ou trituração.
- 20 4- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. **caracterizado** por ser na preparação de um medicamento para tratar asma aguda.
- 5- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. **caracterizado** por ser na 25 preparação de um medicamento para tratar asma crônica.
- 6- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. **caracterizado** pela sua atividade anti-inflamatória.
- 7- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou 30 produtos de *Musa paradisiaca* L. **caracterizado** pela sua

atividade antiasmática.

8- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. caracterizado pela sua atividade imunomoduladora.

5 9- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. caracterizado pelo fato de ser para asma aguda.

10 10- Uso dos extratos ou frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L. caracterizado pelo fato de ser para asma crônica.

11- Formulação farmacêutica com extratos e frações de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L., caracterizado pelo fato de compreender de 1 a 8% de extrato seco de produto ou inflorescência de *Musa paradisiaca* L.;  
15 de 0,01 a 1% de conservante antimicrobiano; de 0,01 a 1% de antioxidante; de 1 a 15% de edulcorante sorbitol; de 15 a 80% de edulcorante sacarose; de 0,5 a 5 % de adsorvente.

12- Formulação, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato do extrato seco ser: o extrato  
20 aquoso, hidroalcoólico ou das frações n-hexânica, clorofórmica, acetato de etila e n-butanólica obtidos de inflorescências ou produtos de *Musa paradisiaca* L.

13- Formulação, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato do conservante antimicrobiano ser o  
25 benzoato de sódio.

14- Formulação, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato do antioxidante ser o ácido ascórbico.

15- Formulação, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato do adsorvente é preferencialmente o  
30

dióxido de silício coloidal.

16- Formulação, de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de ser apresentada na forma de grânulos.