



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102014004882-0 A2

(22) Data do Depósito: 28/02/2014

(43) Data da Publicação: 29/12/2015

(RPI 2347)



(54) **Título:** NANOEMULSÃO AQUOSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOEMULSÃO AQUOSA E MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS

(51) **Int. Cl.:** A01N 37/02; A01N 25/04; A01N 25/22

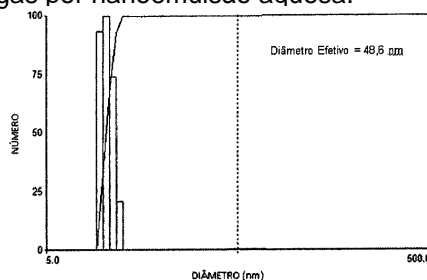
(52) **CPC:** A01N 37/02; A01N 25/04; A01N 25/22

(73) **Titular(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO - UFRJ

(72) **Inventor(es):** CAIO PINHO FERNANDES, MARCELO GUERRA SANTOS, CÍCERO BRASILEIRO DE MELLO NETO, MARIA DENISE FEDER, MARCELO SALABERT GONZALEZ, DEBORAH QUINTANILHA FALCÃO, LEANDRO MACHADO ROCHA

(74) **Procurador(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO - UFRJ

(57) **Resumo:** NANOEMULSÃO AQUOSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOEMULSÃO AQUOSA E MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS. A presente invenção apresenta uma nanoemulsão com atividade bioinseticida permite a incorporação de substâncias insolúveis em meio aquoso, através de uma formulação estável, fina e elegante. A possibilidade de solubilizar substâncias apolares em meio aquoso permite que a formulação seja utilizada na liberação de substâncias insolúveis bioativas, com potencial o ação inseticida frente à pragas agrícolas e/ou aplicação em focos de proliferação de larvas de *Aedes aegypti*, importante vetor da dengue. Ainda, a presente invenção apresenta processo de produção de nanoemulsão aquosa e método de controle de pragas por nanoemulsão aquosa.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

NANOEMULSÃO AQUOSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOEMULSÃO AQUOSA E MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS

Campo da Invenção

[001] A presente invenção descreve uma nova nanoemulsão aquosa compreendendo agente inseticida apolar em meio aquoso, mais especificamente, agente inseticida da classe dos terpenóides. Ainda, a presente invenção apresenta processo de produção de nanoemulsão aquosa e método de controle de pragas por nanoemulsão aquosa. A presente invenção se situa no campo da química.

Antecedentes da Invenção

[002] Diversas substâncias químicas têm sido utilizadas no controle de insetos, incluindo uma importante classe oriunda de produtos naturais, denominada terpenóides. Entretanto, as propriedades intrínsecas dessas substâncias revelam uma importante característica, que é a baixa solubilidade em água. Apesar dos diversos relatos de atividade inseticida relacionado à terpenóides, a baixa solubilidade em água tem inviabilizado o desenvolvimento de novos produtos, uma vez que diversos solventes capazes de solubilizá-los são tóxicos e de uso restrito (ex. clorofórmio, diclorometano), sendo portanto, a solubilidade em água fundamental para elaboração de um produto capaz de ser comercializado.

[003] Neste contexto, as nanoemulsões se configuram como uma excelente alternativa para disponibilização de substâncias apolares em água, como os terpenóides. As nanoemulsões são sistemas bifásicos no qual o tamanho das gotículas dispersas produzidas é extremamente pequeno (geralmente entre 20 e 200 nm). Além disso, o baixo tamanho de gotículas confere às nanoemulsões uma maior estabilidade, principalmente contra sedimentação e cremagem, além de viscosidade muito baixa, o que permite a geração de um produto facilmente pulverizável. Os processos relacionados à obtenção de nanoemulsões frequentemente têm sido associados à metodologias que empregam alto aporte

de energia, como homogeneizadores de alta pressão e equipamentos ultrassônicos.

[004] No âmbito patentário, foram localizados alguns documentos relevantes que serão descritos a seguir.

O documento US2012276182A1 revela novo método de tratamento de infecções causadas por fungos e ou leveduras em humanos, em que tal tratamento consiste na administração de uma composição nanoemulsão. Tal nanoemulsão compreende o uso de terpenos e alguns aditivos com mesmo efeito da presente invenção. Contudo, o documento US2012276182A1 não cita ou sugere o uso de substâncias do tipo amirina, tampouco o uso de tal nanoemulsão como meio aquoso para uso no controle de pragas.

[005] O documento WO2009052600A2 apresenta processo de obtenção de extrato com atividades anti-inflamatórias, antipiréticas e antinoceptiva, composição farmacêutica compreendendo dito extrato, e método de tratamento. Dentre os compostos presentes na composição farmacêutica, encontra-se a amirina e seus isômeros (ingrediente ativo), assim como alguns dos aditivos utilizados no preparo da nanoemulsão da presente invenção. Entretanto, o documento WO2009052600A2 difere da presente invenção por se tratar de composição diferente, esta não compreende acetatos de amirina e os aditivos da nanoemulsão da composição da presente invenção e, por ser utilizada em uma área diferente do controle de pragas em cultivo.

[006] Do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

Sumário da Invenção

[007] Em um aspecto, a presente invenção vem resolver o problema de solubilização de bioinseticidas apolares em meio aquoso por meio do uso de solventes não tóxicos e não restritos. Mais especificamente, a presente invenção procura resolver o problema de solubilização de terpenóides, classe de substâncias naturais, origem vegetal, em meio aquoso, preferivelmente como nanoemulsão.

[008] É, portanto, um objeto da presente invenção nanoemulsão aquosa compreendendo:

- água;
- pelo menos um agente inseticida apolar;
- pelo menos um conservante;
- pelo menos um óleo;
- pelo menos um emulsificante;
- pelo menos um co-solvente;

em que o agente inseticida compreende composto ativo da classe dos terpenóides e, em que as gotículas da nanoemulsão possuem dimensões nanométricas.

[009] Em uma realização preferencial, os terpenóides são derivados de amirina.

[010] Em uma realização preferencial, os derivados de amirina são compostos do grupo consistindo de alfa-amirina, beta-amirina, acetato de alfa amirina, acetato de beta-amirina, formiato de alfa-amirina, formiato de beta-amirina, propionato de alfa-amirina, propionato de beta-amirina, caproato de alfa-amirina, butirato de alfa-amirina, butirato de beta-amirina, caproato de beta-amirina, heptanoato de alfa-amirina, heptanoato de beta-amirina caprilato de alfa-amirina, caprilato de beta-amirina, palmitato de alfa-amirina, palmitato de beta-amirina, benzoato de alfa-amirina, benzoato de beta-amirina ou uma mistura desses.

[011] Em uma realização preferencial, o agente inseticida apolar compreende concentração acetato de amirina com concentração entre 0,1 a 10 % (p/p).

[012] Em uma realização preferencial, a água purificada compreende concentração entre 60 a 90 % (p/p).

[013] Em uma realização preferencial, o conservante é composto de uma mistura de metilparabeno compreendendo concentração entra 0,1 a 1 % (p/p), e propilparabeno compreendendo concentração entra 0,1 a 1 % (p/p).

[014] Em uma realização preferencial, o emulsificante é composto de uma mistura de monooleato de sorbitano compreendendo concentração na nanoemulsão entre 5 a 15 % (p/p). e polissorbato 80 compreendendo concentração na nanoemulsão entre 5 a 15 % (p/p).

[015] Em uma realização preferencial, os co-solventes incluem, mas não se limitam, a etoxidiglicol, etanol e ou uma mistura desses.

[016] Em uma realização preferencial, o óleo compreender óleos vegetais, miristato de isopropila, miristato de octildodecila e ou uma mistura desses.

[017] Em uma realização preferencial, a nanoemulsão compreende a seguinte composição:

- 87,8% (p/p) de água purificada;
- 2% (p/p) de agente inseticida;
- 5% (p/p) de óleo de miristato de octildodecila;
- 2% (p/p) de monooleato de sorbitano;
- 3% (p/p) polissorbato 80;
- 0,1% (p/p) de metilparabeno;
- 0,1% (p/p) de propilparabeno.

[018] É um objeto adicional da presente invenção, processo de produção de nanoemulsão aquosa compreendendo pelo menos uma das seguintes etapas:

- adição de óleo, emulsificante, conservantes e agente inseticida em um mesmo recipiente;
- separação da quantidade de água purificada em um segundo recipiente;
- aquecimento dos recipientes;
- mistura dos recipientes;
- resfriamento da nanoemulsão.

[019] Em uma realização preferencial, a etapa de adição do conteúdo do segundo recipiente ao primeiro recipiente compreende realização lenta sob agitação constante de 400 rpm por 10 minutos.

[020] Em uma realização preferencial, a etapa de resfriamento ocorre sob agitação constante de 400 rpm por 10 minutos.

[021] É, um objeto adicional, da presente invenção método de controle de praga compreendendo pulverização da nanoemulsão aquosa, conforme definida anteriormente, sobre plantas e ou animais.

[022] Em uma realização preferencial, a praga compreende larva de *Aedes aegypti*.

[023] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[024] A Figura 1 apresenta resultado do tamanho médio das gotículas e a polidispersão da nanoemulsão formada com água purificada, monooleato de sorbitano, polissorbato 80, miristato de octildodecila, metilparabeno, propilparabeno e terpenóides (acetatos de amirina).

[025] A Figura 2 apresenta o resultado do teste de inibição da acetilcolinesterase de peixe elétrico pela nanoemulsão contendo fisostigmina.

[026] A Figura 3 apresenta o resultado do teste de inibição da acetilcolinesterase de peixe elétrico pela nanoemulsão contendo terpenóides.

Descrição Detalhada da Invenção

[027] A presente invenção, uma nanoemulsão com atividade bioinseticida permite a incorporação de substâncias insolúveis em meio aquoso, através de uma formulação estável, fina e elegante. A possibilidade de solubilizar substâncias apolares em meio aquoso permite que a formulação seja utilizada na liberação de substâncias insolúveis bioativas, com potencial ação inseticida frente à pragas agrícolas e/ou aplicação em focos de proliferação de larvas de *Aedes aegypti*, importante vetor da dengue.

Nanoemulsão

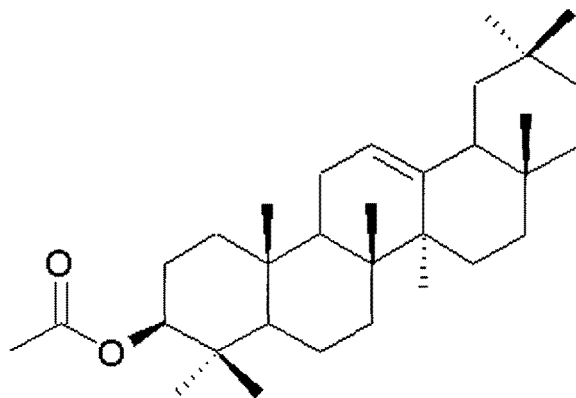
[028] As nanoemulsões são sistemas bifásicos no qual o tamanho das gotículas dispersas produzidas é extremamente pequeno (geralmente entre 20 e 200 nm). Além disso, o baixo tamanho de gotículas confere às nanoemulsões uma maior estabilidade, principalmente contra sedimentação e cremagem, além de viscosidade muito baixa, o que permite a geração de um produto facilmente pulverizável. A nanoemulsão da presente invenção compreende tamanho das gotículas na faixa de 40 a 200 nm.

[029] A nanoemulsão é constituída de 89,8% (p/p) de água purificada, 5% (p/p) do óleo miristato de octildodecila, 2% (p/p) de monooleato de sorbitano, 3% (p/p) de polissorbato 80, 0,1% (p/p) de metilparabeno e 0,1% (p/p) de

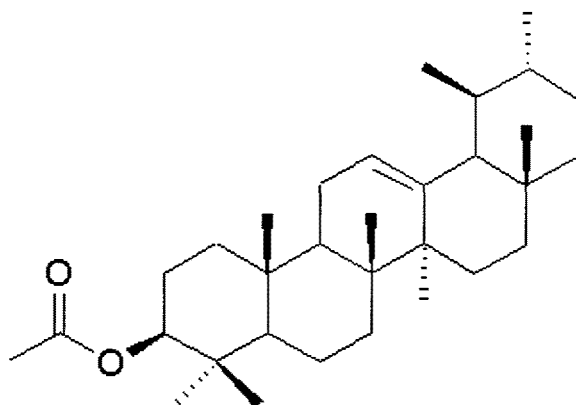
propilparabeno. A quantidade de terpenóide deve ser descontada da quantidade de água, por exemplo, se 1% (p/p) de terpenóide será adicionado na formulação, a quantidade adicionada de água deverá ser de 88,8% (p/p). Os conservantes incluem, mas não se limitam, ao metilparabeno (Nipagin), propilparabeno (Nipazol), ácido benzoico e cloreto benzalcônio. Os emulsificantes incluem, mas não se limitam, ao monooleato de sorbitano, polisorbato 80, trioleato de sorbitano, monooleato de glicerina, dioleato de polietilenoglicol 400, monooleato de polietilenoglicol 400, dioleato de polietilenoglicol 600 e ao monooleato de polietilenoglicol 600.

Terpenos

[030] Os terpenos, também denominados como terpenóides, compreendem uma classe de substâncias naturais, ou metabólitos secundários de origem vegetal. Na presente invenção, foram utilizados triterpenos, sendo estes um subgrupo dos terpenóides, tendo fórmula molecular $C_{30}H_{48}$. Os triterpenos utilizados são os isômeros do acetato de amirina, (α) acetato de amirina (fórmula I) e (β) acetato de amirina (fórmula II).



Fórmula (I)



Fórmula (II)

Método de Produção

[031] O miristato de isopropila, monooleato de sorbitano, polissorbato 80 e terpenóide são pesados e reunidos em um mesmo recipiente. A quantidade necessária de água purificada é pesada e adicionada em outro recipiente. Ambos os recipientes são aquecidos até 75 ± 5 °C. Em seguida, a água é lentamente adicionada sobre o recipiente contendo miristato de isopropila, monooleato de sorbitano, polissorbato 80 e terpenóide, sob agitação constante promovida por um agitador mecânico com haste dotada de hélices por 10 minutos. Após este período, a parte externa do recipiente é submetida à resfriamento, com agitação constante promovida por agitador mecânico com haste dotada de hélices por mais 10 minutos. A agitação aplicada pode estar na faixa de 100 a 1000 rpm, preferencialmente agitação constante de 400 rpm. Após este período, nanoemulsão com atividade bioinseticida pode ser recolhida e armazenada sob condições adequadas.

Inibição da Acetilcolinesterase

[032] Pesticidas químicos são amplamente utilizados como um meio efetivo para o controle de pragas agrícolas. Entretanto, muitas dessas substâncias são altamente tóxicas, especialmente em relação à espécies residentes em ambientes aquáticos. Alguns inseticidas são extremamente prejudiciais para peixes e um dos mecanismos propostos para esse efeito tóxico é a inibição da acetilcolinesterase. Portanto, inseticidas potenciais devem ser estudados quanto à inibição dessa enzima.

[033] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo, sem limitar o escopo da mesma.

Exemplo 1. Realização Preferencial

[034] Foi preparada uma nanoemulsão contendo água purificada, monooleato de sorbitano, polissorbato 80, miristato de octildodecila, metilparabeno, propilparabeno e triterpenos (terpenóides - acetatos de amirina).

[035] O tamanho médio da gotícula foi 48,6 nm e a polidispersão foi 0,148 (Figura 1 e Tabela 1) indicando que a formulação caracteriza-se como uma

nanoemulsão e com um bom indicativo de estabilidade do produto, que foi observada durante 60 dias e neste período não houve alteração das suas características, como viscosidade, pH e aspecto. Também não houve separação de fases nem cremagem.

Tabela 1 – Resultados do tamanho médio das gotículas e a polidispersão da nanoemulsão da realização preferencial conforme pode ser visto na figura 1.

Ensaio	Diâmetro efetivo (nm)	Meia largura (nm)	Polidispersão	Índice de referência
1	49,6	18,3	0,135	7,9/100,00%
2	48,8	16,5	0,115	7,9/100,00%
3	48,8	18,6	0,145	9,1/100,00%
4	48,1	20,3	0,179	9,8/100,00%
5	47,4	19,7	0,172	9,1/100,00%
Média	48,5	18,7	0,149	8,7/100,00%
Erro Padrão	0,4	0,7	0,012	0,4/0,00
Combinado	48,6	18,7	0,148	9,1/100,00%

[036] Foi preparada uma nanoemulsão contendo água purificada, monooleato de sorbitano, polissorbato 80, miristato de octildodecila, metilparabeno, propilparabeno e triterpenos (terpenóides - acetatos de amirina) e uma nanoemulsão contendo água purificada, monooleato de sorbitano, polissorbato 80, miristato de octildodecila, metilparabeno, propilparabeno e fisostigmina (inibidor conhecido da acetilcolinesterase). A influência destas nanoemulsões sobre a acetilcolinesterase de peixe elétrico foi avaliada segundo ensaio colorimétrico.

[037] A nanoemulsão contendo fisostigmina (inibidor conhecido da acetilcolinesterase) se mostrou capaz de liberar o inibidor em água e disponibilizá-lo para interação com a enzima (Figura 2). Visto que a fisostigmina é insolúvel em água, este ensaio permitiu observar que a formulação desenvolvida é capaz de disponibilizar substâncias insolúveis em meio aquoso.

[038] A nanoemulsão contendo triterpenos (terpenóides – acetatos de amirina) não exerceu inibição a enzima (Figura 3). Portanto, este ensaio indica que o

produto baseado em uma nanoemulsão contendo triterpenos (terpenóides – acetatos de amirina) não exerce efeito tóxico sobre enzima de peixe elétrico, indicando sua segurança frente a organismos aquáticos que podem estar expostos durante a aplicação do produto.

[039] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidos no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Nanoemulsão aquosa, **caracterizada** por compreender:

- água;
- pelo menos um agente inseticida apolar;
- pelo menos um conservante;
- pelo menos um óleo;
- pelo menos um emulsificante;
- pelo menos um co-solvente;

em que o agente inseticida compreende composto ativo da classe dos terpenóides e, em que as gotículas da nanoemulsão possuem dimensões nanométricas.

2. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelos terpenóides serem derivados de amirina.

3. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada** pelos derivados de amirina serem compostos do grupo consistindo de alfa-amirina, beta-amirina, acetato de alfa amirina, acetato de beta-amirina, formiato de alfa-amirina, formiato de beta-amirina, propionato de alfa-amirina, propionato de beta-amirina, caproato de alfa-amirina, butirato de alfa-amirina, butirato de beta-amirina, caproato de beta-amirina, heptanoato de alfa-amirina, heptanoato de beta-amirina, caprilato de alfa-amirina, caprilato de beta-amirina, palmitato de alfa-amirina, palmitato de beta-amirina, benzoato de alfa-amirina, benzoato de beta-amirina ou uma mistura desses.

4. Nanoemulsão, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada** pelo agente inseticida apolar compreender acetato de amirina com concentração na nanoemulsão entre 0,1 a 10 % (p/p).

5. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pela água ser purificada com concentração na nanoemulsão entre 60 e 90 % (p/p).

6. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo conservante ser uma mistura de metilparabeno compreendendo concentração na nanoemulsão entre 0,1 a 1 % (p/p) e, propilparabeno compreendendo concentração na nanoemulsão entre 0,1 e 1 % (p/p).

7. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo emulsificante ser uma mistura de monooleato de sorbitano compreendendo

concentração na nanoemulsão entre 5 a 15 % (p/p) e, polissorbato 80 compreendendo concentração na nanoemulsão entre 5 a 15 % (p/p).

8. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo co-solvente compreender etoxidiglicol, etanol e ou uma mistura desses.

9. Nanoemulsão, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** pelo óleo compreender óleos vegetais, miristato de isopropila, miristato de octildodecila e ou uma mistura desses.

10. Nanoemulsão, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizada** por compreender a seguinte composição:

- 87,8% (p/p) de água purificada;
- 2% (p/p) de agente inseticida;
- 5% (p/p) de óleo de miristato de octildodecila;
- 2% (p/p) de monooleato de sorbitano;
- 3% (p/p) polissorbato 80;
- 0,1% (p/p) de metilparabeno;
- 0,1% (p/p) de propilparabeno.

11. Processo de produção de nanoemulsão aquosa **caracterizado** por compreender pelo menos uma das seguintes etapas:

- adição de óleo, emulsificante, conservantes e agente inseticida em um mesmo recipiente;
- separação da quantidade de água purificada em um segundo recipiente;
- aquecimento dos recipientes;
- mistura dos recipientes;
- resfriamento da nanoemulsão.

12. Processo, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pela etapa de adição do conteúdo do segundo recipiente ao primeiro recipiente compreender realização lenta sob agitação constante de 400 por 10 minutos.

13. Processo, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizado** pela etapa de resfriamento compreender agitação constante de 400 rpm por 10 minutos.

14. Método de controle de praga, **caracterizado** por compreender a pulverização da nanoemulsão aquosa, conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 10, sobre plantas e ou animais.

15. Método, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pela praga ser a larva de *Aedes aegypti*.

Figuras

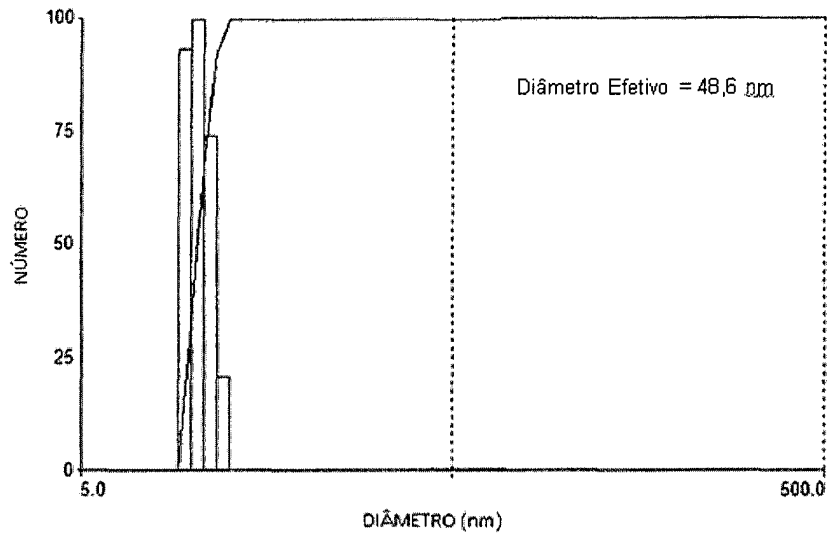


Figura 1

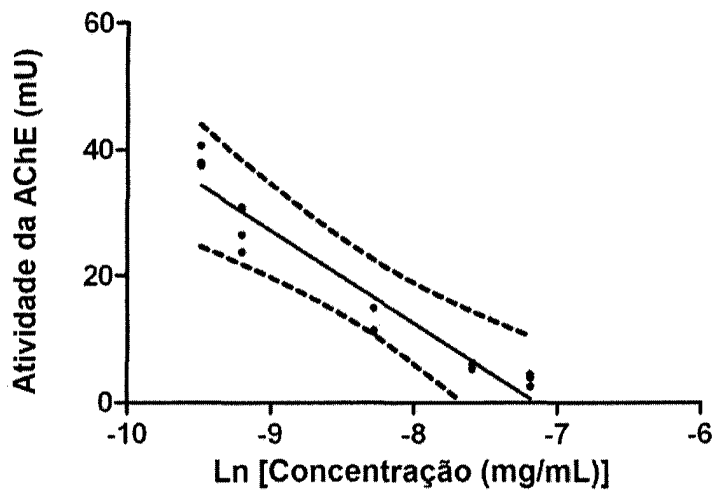


Figura 2

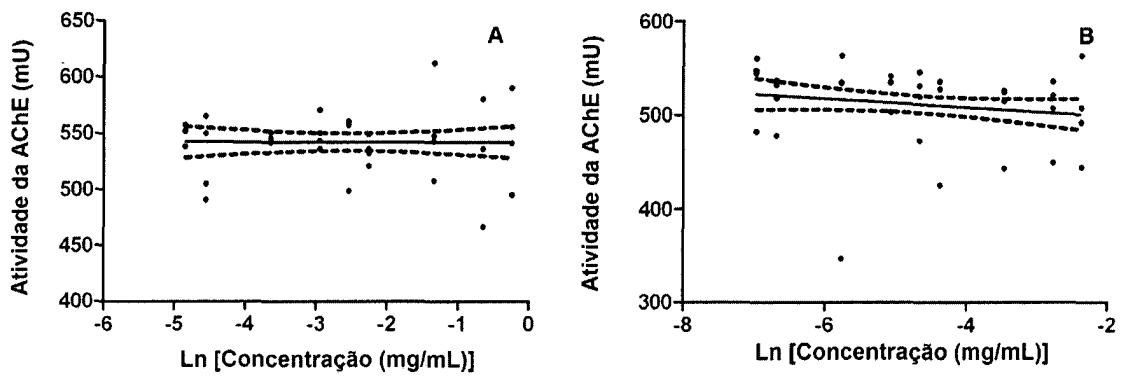


Figura 3

Resumo**NANOEMULSÃO AQUOSA, PROCESSO DE PRODUÇÃO DE NANOEMULSÃO
AQUOSA E MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS**

A presente invenção apresenta uma nanoemulsão com atividade bioinseticida permite a incorporação de substâncias insolúveis em meio aquoso, através de uma formulação estável, fina e elegante. A possibilidade de solubilizar substâncias apolares em meio aquoso permite que a formulação seja utilizada na liberação de substâncias insolúveis bioativas, com potencial ação inseticida frente à pragas agrícolas e/ou aplicação em focos de proliferação de larvas de *Aedes aegypti*, importante vetor da dengue. Ainda, a presente invenção apresenta processo de produção de nanoemulsão aquosa e método de controle de pragas por nanoemulsão aquosa.