



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2018 004603 9

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: FUNDACAO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 23951916000203

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Avenida Prefeito Tuany Toledo, 470 - Bairro Fátima I

Cidade: Pouso Alegre

Estado: MG

CEP: 37550-000

País: Brasil

Telefone: (35) 3449-9218

Fax:

Email: nit@univas.edu.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO Aedes

Utilidade (54): aegypti

Resumo: O presente pedido de patente de invenção diz respeito à um larvicida, que possui como princípio básico o composto bioativo de planta com formulação à base do extrato de Pitanga Preta (*Eugenia sulcata*), adequado para uso doméstico, aplicado em pratos de vasos, bromélias, ralos e qualquer recipiente que acumule água, não apresentando qualquer possibilidade de contaminação humana ou ambiental, por utilizar a glicerina como veículo de solubilização do extrato.

Figura a publicar: 3

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3

Nome: ADRIANA RODRIGUES DOS ANJOS MENDONÇA

CPF: 20067148808

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Rua Otto Piffer, Nº 185, apto 202, Bairro Santa Dorotéia

Cidade: Pouso Alegre

Estado: MG

CEP: 37550-000

País: BRASIL

Telefone: (35) 992 080089

Fax:

Email: drijar@hotmail.com

Inventor 2 de 3

Nome: DANIELA BARBOSA REIS NOGUEIRA

CPF: 08950982617

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Mestrando

Endereço: Rua Luciano Pereira Penha, Nº 258, apto 203, Bairro Centro

Cidade: Três Corações

Estado: MG

CEP: 37410-000

País: BRASIL

Telefone: (35) 998 984442

Fax:

Email: danielabarbosareis@yahoo.com.br

Inventor 3 de 3

Nome: VALTER HENRIQUE MARINHO DOS SANTOS

CPF: 34398500804

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Biólogo, biomédico e afins

Endereço: Rua Jaci Laraia Vieira, Nº 492, apto 103, Bairro Nova Pouso Alegre

Cidade: Pouso Alegre

Estado: MG

CEP: 37550-000

País: BRASIL

Telefone: (35) 996 236713

Fax:

Email: valter.vhmds@gmail.com

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	Comprovante de Pagamento.pdf
Desenho	Figuras patentes.pdf
Portaria	PORTARIA NOMEAÇÃO REITOR.pdf
Reivindicação	Reivindicação.pdf
Relatório Descritivo	Relatório descritivo.pdf
Resumo	Resumo.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

**30**
horas**Comprovante de pagamento de boleto**

Dados da conta debitada / Pagador Final

Agência/conta: 0676/91643-0

CPF/CNPJ: 23.951.916/0002-03

Empresa: **FUND ENS SUP VALE DO SAPUCAI****Dados do pagamento**

Identificação no meu comprovante:

BANCO DO BRASIL		00190 00009 02940 916188 02003 826175 6 74780000007000	
Beneficiário:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIED	CPF/CNPJ do beneficiário:	42.521.088/0001-37
Razão Social:	INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIED	Data de vencimento:	29/03/2018
		Valor do boleto (R\$):	70,00
		(-) Desconto (R\$):	0,00
		(+)Mora/Multa (R\$):	0,00
Pagador:	FUNDAÇÃO DE ENSINO SUPERIOR DO	(=) Valor do pagamento (R\$):	70,00
		Data de pagamento:	02/03/2018
Autenticação mecânica	1716C75EA125F7D1B47A506DF4452EE2A88DC6F0		Pagamento realizado em espécie:
			Não

Operação efetuada em 02/03/2018 às 16:30:26 via Sispag, CTRL 399308785000031.

recibou do pagador

BANCO DO BRASIL | 001-9 | 00190.00009 02940.916188 02003.826175 6 74780000007000

Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço		FUNDACAO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI CPF/CNPJ: 23951916000203	
Sacador/Avalista		AVENIDA PREFEITO TUANY TOLEDO 470 BAIRRO FATIMA I, POUSO ALEGRE -MG CEP:37550000	
Nosso Número	Nr Documento	Data de Vencimento	Valor do Documento
29409161802003826	29409161802003826	29/03/2018	70,00
Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ/Endereço		INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088.0001-37	
Apência/Código do Beneficiário		PRACA MAUA 7 - 14 ANDAR - SALA 1415 , RIO DE JANEIRO - RJ CEP: 20081240	
2234-9 / 333028-1		Autenticação Mecânica	

BANCO DO BRASIL | 001-9 | 00190.00009 02940.916188 02003.826175 6 74780000007000

Local de Pagamento		PAGÁVEL EM QUALQUER BANCO ATÉ O VENCIMENTO	
Nome do Beneficiário/CPF/CNPJ		INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUST CPF/CNPJ: 42.521.088.0001-37	
Data do Documento	Nr Documento	Espécie DOC	Aceite
28/02/2018	29409161802003826	DS	N
Uso do Banco	Carteira	Espécie	Quantidade
29409161802003826	17	RS	vValor
Informações de Responsabilidade do Beneficiário		Data de Vencimento	
A data de vencimento não prevalece sobre o prazo legal.		29/03/2018	
O pagamento deve ser efetuado antes do protocolo.		Agência/Código do Beneficiário	
Órgãos públicos que utilizam o sistema SIAFI devem utilizar o número da GRU n		2234-9 / 333028-1	
o campo Número de Referência na emissão do pagamento.		Nosso Número	
Serviço: 200-Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de		29409161802003826	
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT		(+) Valor do Documento	
		70,00	
		(-) Desconto/Abatimento	
		(-) Juros/Multa	
		(=) Valor Cobrado	
Nome do Pagador/CPF/CNPJ/Endereço		FUNDACAO DE ENSINO SUPERIOR DO VALE DO SAPUCAI CPF/CNPJ: 23951916000203	
Sacador/Avalista		AVENIDA PREFEITO TUANY TOLEDO 470 BAIRRO FATIMA I, POUSO ALEGRE-MG CEP:37550000	
		Codigo de Baixa	
		Autenticação Mecânica	
		Ficha de Compensação	



Figuras

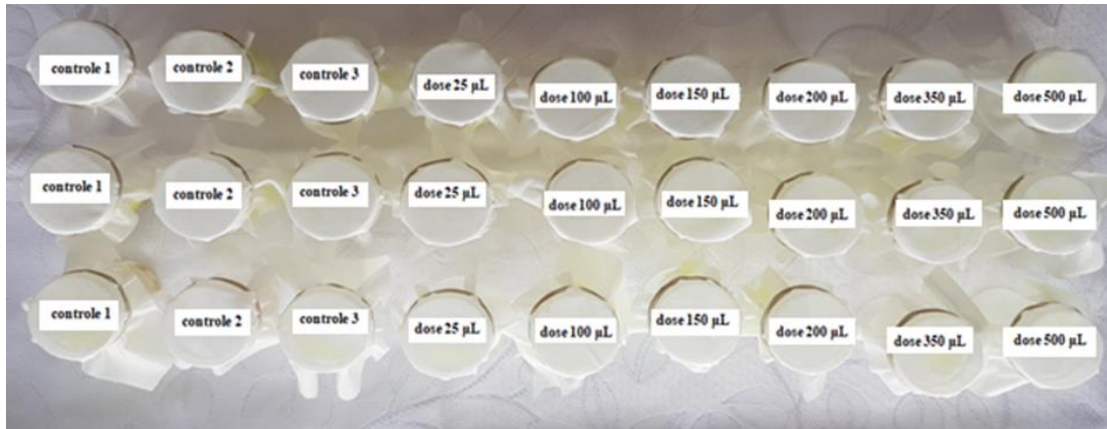


Figura 1

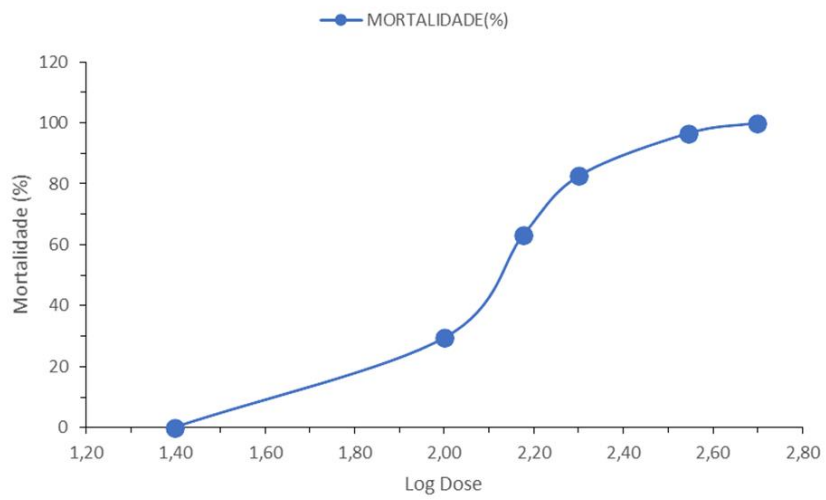
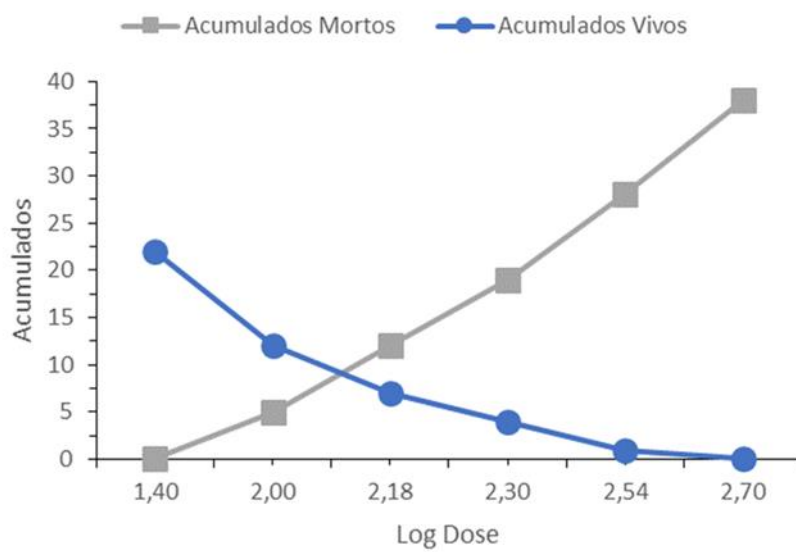


Figura 2

**Figura 3**

REITORIA

PORTARIA N.º 40/2014

O Professor Doutor Félix Carlos Ocáriz Bazzano, Reitor da Universidade do Vale do Sapucaí, no uso de suas atribuições legais e,

Considerando o disposto no artigo 26 do Estatuto da Univás e após cumprimento das formalidades legais e estatutárias,

RESOLVE:

Art. 1º - NOMEAR o Professor Mestre **Carlos de Barros Laraia** no cargo de Reitor da Universidade do Vale do Sapucaí – Univás.

Art. 2º - Esta Portaria entra em vigor nesta data e revoga todas as disposições em contrário.

Pouso Alegre, 30 de maio 2014.



Prof. Dr. Félix Carlos Ocáriz Bazzano
Reitor

REIVINDICAÇÕES

*“LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti*”*

- 1) “LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti*” caracterizado por ser um larvicida, que possui como princípio básico o composto bioativo de planta para controle do *Aedes aegypti*, solubilizado em glicerina.
- 2) “LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti*” de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição está na forma de larvicida extraído pelo álcool e solubilizado em glicerina.
- 3) “LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti*” de acordo com as reivindicações 1 e 2 caracterizado pelo fato de que o larvicida possui como princípio básico o composto bioativo da planta Pitanga Preta (*Eugenia sulcata*).
- 4) “LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO “*Aedes aegypti*”, de acordo com as reivindicações 1 a 3 caracterizado pelo fato de que o larvicida está na formulação de 156gr do extrato etanólico adicionado a 20gr de glicerina.
- 5) “LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti*”, de acordo com as reivindicações 1 a 4 está na forma de larvicida para o uso doméstico, aplicado em pratos de vasos, bromélias, ralos e outros locais que possam acumular água, na proporção de 15 gotas para cada 10ml de água.

“LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti*”

Campo de aplicação:

[001] O presente pedido de patente de invenção diz respeito à um larvicida, que possui como princípio básico o composto bioativo de planta com formulação à base do extrato de Pitanga Preta (*Eugenia sulcata*), adequado para uso doméstico, aplicado em pratos de vasos, bromélias, ralos e qualquer recipiente que acumule água.

Estado da técnica:

[002] A pitanga possui óleos essenciais, entre eles, os fenilpropanoides, substância aromática com uma cadeia lateral de 3 átomos de carbono ligada ao anel aromático, que na maioria das vezes compreendem os ácidos e seus derivados. Os ácidos cinâmicos servem como precursores da maioria das substâncias classificados como fenilpropanoides (SIMÕES et al., 2004).

[003] Outro componente são os terpenoides com origem biossintética, derivados de unidades de isopreno. A unidade isoprênica por sua vez origina-se a partir do ácido mevalônico. Os terpenoides são formados pela condensação de um número variável de unidades isoprênica, e nos óleos essenciais predominam através dos monoterpenos e sesquiterpenos (SIMÕES et al., 2004).

[004] Alguns estudos realizados em 2011 apontaram que o óleo essencial de *Eugenia sulcata* é capaz de aumentar significativamente a mortalidade de ninfas e adultos de *Oncopeltus fasciatus* e *Dysdercus peruvianus* por cerca de 14 e 10 dias, respectivamente, após o tratamento.

[005] Atualmente existem no mercado vários produtos com ação larvicida. Os inseticidas químicos convencionais ainda são utilizados no controle do *Aedes aegypti*, o que muitas vezes requer a aplicação de dosagens cada vez mais crescentes, ocasionando efeitos tóxicos com acúmulo nos tecidos de animais e humanos, além de uma importante contaminação ambiental (TORRES et al., 2014). Também foi evidenciado o aparecimento de populações de mosquitos resistentes a esses produtos.

[006] Diante desse impasse, percebe-se a necessidade de mudanças nas ações de controle e manejo destes produtos e, nesse contexto, apontam-se diversas espécies de plantas com potencial inseticida, que podem contribuir de maneira significativa para o controle do *Aedes aegypti*.

Problemas do estado da técnica:

[007] Os produtos que existem no mercado para conter a proliferação do *Aedes aegypti* são utilizados em doses cada vez maiores devido à resistência apresentada pela espécie, ocasionando efeitos tóxicos com acúmulo nos tecidos de animais e humanos, além de uma importante contaminação ambiental, não sendo indicado para o uso doméstico.

[008] Atualmente as extrações dos princípios ativos das folhas da Pitanga Preta são realizadas apenas com álcool, obtendo um produto insolúvel a outros componentes.

Vantagens da invenção:

[009] A presente invenção é formulada apenas com o extrato da Pitanga Preta (*Eugenia sulcata*), não apresentando qualquer possibilidade de contaminação humana ou ambiental, por utilizar a glicerina como veículo de solubilização do extrato. A extração dos princípios ativos da planta quando se utiliza apenas o álcool como extrator, o produto desta extração apresenta uma viscosidade muito grande dificultando sua mistura com outros componentes. A invenção apresentou uma ação muito rápida, matando as larvas do *Aedes aegypti* em até 24 horas e é indicada especialmente para o uso doméstico.

Breve descrição das Figuras:

[010] Figura 1 – Experimento do teste de toxicidade em triplicata.

[011] Figura 2- Taxa de mortalidade (%) das larvas do mosquito *Aedes aegypti* expostas por 24 horas a seis log doses diferentes do extrato glicólico da *Eugenia sulcata*.

[012] Figura 3- Estimativa da CL50 do extrato glicólico da *Eugenia sulcata* pelo método Reed-Muench a partir do acumulado de larvas mortas e vivas em função do logaritmo decimal da dose aplicada. A CL50 é o ponto de intersecção das duas curvas.

Descrição detalhada da invenção:

[013] O presente pedido de patente de invenção é uma composição na forma de larvicida extraído das folhas da Pitanga Preta (*Eugenia sulcata*), com a seguinte preparação: A preparação foi realizada com 20 g da folha triturada acondicionadas em cartucho de celulose e submetidos a extração com etanol 96°GL em aparelho de “soxhlet” durante 3 horas.

[014] Foram adicionados 20 g de glicerina a 156 g do extrato etanólico. Essa mistura foi submetida em evaporador rotatório com pressão reduzida à temperatura de 85°C e 90 rpm por 2 horas com a finalidade de substituir o solvente etanol pela glicerina, obtendo assim o produto larvicida apresentado neste pedido de patente.

[015] O produto deverá ser utilizado na forma líquida, sendo 15 gotas para cada 10ml de água, que deverão ser aplicados em pratos de plantas, bromélias, vasos, ralos e qualquer recipiente que acumule água.

Descrição do Experimento:

[016] Tipo de estudo: Foi realizado estudo experimental, analítico e longitudinal, na cidade de Pouso Alegre, MG, na Universidade do Vale do Sapucaí, Unidade Fátima, no período de outubro a dezembro de 2017.

[017] Coleta do material vegetal: As folhas da *Eugenia sulcata* foram coletadas em uma fazenda particular no município Três Corações durante o mês de novembro de 2016, em seu período reprodutivo. Os materiais obtidos foram acondicionados em sacos plásticos e transportados para o Laboratório de Fitoterapia e Laboratório de Botânica da Universidade Vale do Sapucaí – UNIVÁS em Pouso Alegre. As folhas foram submetidas a secagem em estufa com temperatura de 65°C, por 48 horas, trituradas e acondicionadas em frascos hermeticamente fechados.

[018] Preparação do extrato etanólico: A preparação foi realizada com 20 g da folha triturada acondicionadas em cartucho de celulose e submetidos a extração com etanol 96°GL em aparelho de “soxhlet” durante 3 horas. Em seguida o extrato foi armazenado em frasco âmbar, sob uma temperatura de 10 °C (GALVANI & MARTINS, 2015).

[019] Desenvolvimento do produto: Após pesagem de 156 g do extrato etanólico, foram adicionados 20 g de glicerina. Essa mistura foi submetida em evaporador rotatório com pressão reduzida à temperatura de 85°C e 90 rpm por 2 horas com a finalidade de substituir o solvente etanol pela glicerina. O método da extração glicólica foi adaptado (ARGENTA et al., 2012).

[020] Teste de toxicidade: Para a realização do teste de toxicidade, foram utilizadas larvas de *Aedes aegypti* no terceiro estágio de desenvolvimento.

[021] O teste ocorreu com a subdivisão em nove grupos, sendo seis deles, grupos experimentais. A avaliação da atividade larvicida consistiu na utilização de 25, 100, 150, 200, 350 e 500 µL do produto desenvolvido diluídos em 10 ml de água destilada. Os outros três grupos eram controles: o primeiro com o larvicida Piriproxifen (Controle 1), na concentração de 0,1 g, utilizada pela OMS, o segundo com 10 mL de água destilada

(Controle 2) e o terceiro com uma mistura de glicerina e etanol (Controle 3) nas proporções de 90,91% e 3,64% (v/v) respectivamente (Figura 1).

[022] Todo experimento foi realizado em triplicata para cada um dos grupos, contendo 10 larvas de *Aedes aegypti*, em temperatura de 22 a 28°C.

[023] As larvas foram submetidas ao teste por 24 horas. A cada hora foi realizada uma contagem do número de larvas vivas e larvas mortas, sendo consideradas mortas aquelas que não apresentavam movimento ou não respondiam aos estímulos com a pipeta de Pasteur, ficando incapazes de alcançar a superfície.

[024] Análises Químicas: O extrato foi enviado para Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP). Para realização da análise química foi utilizada a técnica de cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-MS).

[025] Após os experimentos, montou-se uma tabela com os valores das seis concentrações utilizadas no teste de toxicidade, logaritmo (log) das mesmas, o número de larvas mortas após 24 horas, número de larvas vivas após 24 horas, o acumulado de mortos (soma das células de mortos abaixo) e o acumulado de vivos (soma das células de vivos acima). A análise estatística dos dados foi realizada de acordo com o método de Reed & Muench (1938), o qual parte do princípio de que um animal que sobreviva a certa dose, também irá sobreviver em qualquer outra dose inferior que aquela, conseqüentemente, o animal que morrer com certa dose, também irá morrer em doses superiores que aquela. A partir de uma tabela contendo os dados de mortalidade para cada concentração testada foi construído um gráfico onde se observa uma curva para o acúmulo de animais mortos em cada concentração e outra curva para o acúmulo de sobreviventes. O ponto de intercessão entre as curvas é a Concentração Letal 50% (CL50), calculado nesse ponto a partir do acumulado de larvas mortas e vivas em função do logaritmo decimal da dose aplicada.

[026] O intervalo de confiança foi calculado segundo o método de Pizzi (1950) no qual se construiu um gráfico do percentual de mortos versus logaritmo (log) da dose. A seguir determinou-se o valor de “R”, que é o intervalo interquartil dos valores logarítmicos correspondentes as percentagens acumuladas, ou seja, o quartil inferior subtraído do quartil superior. Calculou-se a variável “h” que consistiu no intervalo entre as dosagens, que não foram iguais, porém o autor diz que se os intervalos não forem iguais, são calculadas as médias das diferenças dos intervalos. E “n” representado pelo

número de animais por dose. Com esses dados determinou-se o log do erro padrão, através da seguinte fórmula: $(SE_{CL50})^2 = 0,79 \times R \times h/n$.

Análise dos dados:

[027] Teor e rendimento do extrato: O teor e rendimento de sólidos das folhas obtidos foram 0,06 g (0,77%). A extração etanólica e o desenvolvimento do produto foram realizados em 5 horas.

[028] Avaliação do teste de toxicidade: Conforme mostra a Tabela 1, a dose de 25 µL do extrato não apresentou atividade larvicida. A dose de 100 µL apresentou uma mortalidade de 29,41%. A partir da dose de 150 µL do extrato a atividade larvicida começou a aumentar o número de mortes, até provocar a morte de 100% das larvas testadas na dose de 500 µL.

[029] **Tabela 1** - Mortalidade das larvas do mosquito *Aedes aegypti* após 24 horas de exposição a várias concentrações do extrato glicólico de *Eugenia sulcata*.

DOSE (µL)	LOG DOSE	MORTOS	VIVOS	ACUMULADOS MORTOS	ACUMULADOS VIVOS	MORTALIDADE (%)
Controle 1	-	0	10	-	-	-
Controle 2	-	0	10	-	-	-
Controle 3	-	0	10	-	-	-
500	2,70	10	0	38	0	100
350	2,54	9	1	28	1	96,55
200	2,30	7	3	19	4	82,61
150	2,18	7	3	12	7	63,16
100	2,00	5	5	5	12	29,41
25	1,40	0	10	0	22	0

[030] Número de larvas (n=10); Controle 1 – larvicida Piriproxifen; Controle 2 – 10 mL de água destilada; Controle 3 - glicerina e etanol;

[031] O controle 1 realizado com o produto utilizado pela Vigilância Epidemiológica, o Piriproxifen apresentou 100% das larvas vivas, comprovando que o produto inibe o desenvolvimento das características adultas do inseto, mantendo-as como larvas (BRASIL, 2014b). O controle 2, realizado com água destilada apresentou 100% das larvas vivas. O controle 3 com álcool e glicerina também apresentou 100% das larvas vivas, mostrando que não possuem nenhuma atividade biológica. Para o cálculo da CL50 não utiliza os valores dos controles mas todo o experimento foi realizado com os controles e todas as larvas permaneceram vivas durante as 24 horas.

[032] O índice de percentagem da mortalidade das larvas diante do extrato é apresentado na Figura 2, mostrando-se o aumento de mortes a partir do Log dose 2,0000 (concentração 100 µL).

[033] A CL50 para o extrato foi calculada através da intersecção das curvas de larvas acumuladas mortas e larvas acumuladas vivas da Figura 6, tendo como resultado estimado a log 2,1, com uma concentração aproximada de 105 µL (0,68 µg mL⁻¹ extrato bruto) com um intervalo de confiança de 2,013 µg mL⁻¹.(Figura 3)

Avaliação das características químicas do extrato:

[034] **Tabela 2** – Constituintes do extrato etanólico da *Eugenia sulcata*

CONSTITUINTES	AREA (%)
<u>1,3,6- heptatrieno</u>	1,42
<u>Benzofurano</u>	14,36
<u>9,11- Octadecadiynoic acid</u>	0,37
<u>Nitrito de isoamilo</u>	1,39
<u>Triciclo</u>	1,30
<u>Ciclohexanona</u>	30,56
<u>3,8a- Dimetil-5-metileno</u>	1,78
<u>1,7,7-Trimetilbiciclo</u>	1,72
<u>Acido hexanethioic</u>	0,76
<u>3,7- Cyclodecadien</u>	14,60
<u>3,5,8a-Trimethy</u>	2,42
<u>Acido borínico</u>	0,89
<u>Neofitadieno</u>	12,19
<u>Anidrido crotônico</u>	2,29
<u>Neofitadieno</u>	2,64
<u>Neofitadieno</u>	4,44
<u>beta-Elemene</u>	2,03
<u>1,3,6-Heptatrieno</u>	1,50
<u>Phytol</u>	1,65
<u>Supraene</u>	1,67

Área (%): baseada na integração do pico

RESUMO

*LARVICIDA DE PITANGA PRETA NO CONTROLE DO *Aedes aegypti**

O presente pedido de patente de invenção diz respeito à um larvicida, que possui como princípio básico o composto bioativo de planta com formulação à base do extrato de Pitanga Preta (*Eugenia sulcata*), adequado para uso doméstico, aplicado em pratos de vasos, bromélias, ralos e qualquer recipiente que acumule água, não apresentando qualquer possibilidade de contaminação humana ou ambiental, por utilizar a glicerina como veículo de solubilização do extrato.