



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

(21) PI 1004808-1 A2



* B R P I 1 0 0 4 8 0 8 A 2 *

(22) Data de Depósito: 27/10/2010

(43) Data da Publicação: 21/05/2013

(RPI 2211)

(51) Int.Cl.:

A61K 35/64

(54) Título: COMPOSIÇÕES BASEADAS EM NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO

(73) Titular(es): Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(72) Inventor(es): Carla Christine Lange, Cauê Ribeiro de Oliveira, Humberto de Mello Brandão, Luiz Henrique Capparelli Mattoso, Marcela de Mello Brandão Vinholis, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES BASEADAS EM NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO. A presente invenção refere-se a processo de obtenção e uso de composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse, tais como princípios ativos, bem como, opcionalmente, substâncias de efeito secundário, tais como sinergistas e adjuvantes. O processo de obtenção das nanopartículas compreende as seguintes etapas de: i) preparo de: uma fração A, que consiste em extrato de própolis dissolvido em solvente orgânico à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, bem como adicionada de, opcionalmente, uma ou mais substâncias de interesse e/ou de efeito secundário; ii) preparo de uma fração B, fase aquosa, constituída de: (ii. 1) água; ou (ii.2) de uma solução ou dispersão aquosa, à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes; iii) gotejamento da fração A sobre a fração B ou da fração B na fração A; iv) homogeneização da mistura por meio de agitação mecânica e formação espontânea de nanopartículas com tamanho médio de 1 a 1000 nm em uma dispersão; v) opcionalmente, podem-se envolver as seguintes etapas adicionais: (v- 1) remoção do solvente orgânico; e/ou (v-2) secagem da nanodispersão. As composições desenvolvidas têm aplicações em campos tais como agroquímico, farmacêutico cosmético ou químico.

Relatório Descritivo de Patente de Invenção: “COMPOSIÇÕES BASEADAS EM NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS, PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO”.

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a processo de obtenção e uso de composições
5 constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse, tais como princípios ativos, bem como, opcionalmente, substâncias de efeito secundário, tais como sinergistas e adjuvantes.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Própolis apresenta características farmacológicas, tais como bactericida, com
10 ação contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus metacilina* resistente, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Actinomyces israelii*, *Prevotella nigrescens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacillus subtilis*, dentre outras (FERREIRA, B. A. et al, Antimicrobial effect of propolis and other substances against selected endodontic pathogens, Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology &
15 Endodontics, v. 16, p.104-709, 2007); anticarcinogênicas (FU, J.; XIA, Y.; ZHENG, Y. Antimutagenicity of propolis against some mutagens in vivo and *in vitro*, Biomedical and Environmental Sciences, v.17, p. 469-475, 2004.); antioxidante (CONEAC, G.; et al. Flavonoid contents of propolis from the west side of Romania and correlation with the antioxidant activity, Chemical Bulletin of "Politechnica", v. 53, n. 67, p. 1-2,
20 2008.); antiinflamatória (PAULINO, N. et al, Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis, European Journal of Pharmacology, v. 587, p. 296–301, 2008), bem como elevada adesividade à pele humana decorrente de sua interação com óleos e proteínas tegumentares (BURDOCK, G.A., Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food
25 and Chemical Toxicology, v. 36, p. 347-363, 1998).

Existe sinergia entre os componentes de extrato bruto de própolis e outros compostos como revelado em SCHELLER et al. (1999) (SCHELLER, S. et al. Synergism between ethanolic extract of propolis (EEP) and anti-tuberculosis drugs on growth of mycobacteria. Journal of Biosciences, v. 54, n. 7-8, p. 549-53, 1999),
30 FERNANDES JUNIOR (2005) (FERNANDES JUNIOR, A. Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. Mem Inst

Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 100, n. 5, p. 563-566, aug 2005) e em CN1864661 ou de nanopartículas de própolis associadas com íons de prata para desinfecção de superfícies, tal como revelado no documento CN1286373.

5 A própolis é utilizada em formulações terapêuticas, cosméticas e em produtos para higiene, entre outras. É disponível comercialmente como extrato, tablete ou encapsulado. Esta última forma de apresentação permite também a liberação controlada e algumas vezes direcionada da própria própolis. Mas, nos produtos conhecidos funciona unicamente como princípio ativo.

10 A produção de nanopartículas apresenta-se como uma tecnologia vantajosa para encapsulação visando à liberação controlada ou direcionada de composições ativas ou possibilitar o uso de novas vias de aplicação dessas composições.

Técnicas convencionais de produção de micro ou nanopartículas de própolis tais como aquelas reveladas nos documentos BR PI0106564-5, US5133908 e CN1406588, visam somente modificar algumas de suas propriedades, como por exemplo, a solubilidade, conforme visto no documento de Kim et al em 2008 (KIM, D. et al. Preparation of propolis nanofood and application to human cancer. Biological Pharmaceutical Bulletin, v. 31, n. 9, p.1704-1710, 2008), e para que sejam em seguida ou concomitantemente incorporadas em material de cobertura. Quando encapsulada em nanopartículas, a própolis assume parte das características das substâncias que compõem a matriz, como exemplo deste efeito podemos citar a redução do gosto da própolis nanoencapsulada, uma vez que quem entra em contato direto com a papila gustativa é o polímero que reveste a própolis, como o citado no documento US 20090202635.

25 Contudo, se a própolis é utilizada como matriz para confecção da nanopartícula (agente encapsulante) ela é quem passa a reger as características de tais partículas, apresentando assim, novas características. Para exemplificar, a azitromicina, em sua forma pura, encontra-se como pequenos cristais que possuem pouca ou nenhuma adesão à derme humana. Contudo, quando nanoencapsulada com a própolis, a azitromicina passa a ser recoberta pela própolis, que faz o contato direto com a derme. Nesta condição, fazendo uso da propriedade de adesividade da própolis à pele humana 30 (BURDOCK, G.A., Review of the biological properties and toxicity of bee propolis

(propolis). Food and Chemical Toxicology, v. 36, p. 347-363, 1998), a azitromicina acaba por ficar aderida à pele.

A agitação supersônica é uma das técnicas utilizadas para a obtenção de nanopartículas de própolis, como expresso em documentos de patente tais como
5 TW200637500, CN1413598, CN1685928. São técnicas de homogeneização que requerem elevado consumo de energia e uso de equipamentos de alto custo, mais apropriados para o uso laboratorial do que industrial. Além disso, podem ocasionar alterações na funcionalidade de princípios ativos pela elevação de temperatura causada pelo fenômeno de cavitação ou ainda a degradação de compostos ativos do extrato de
10 própolis por radicais livres (ROS – reactive oxygen species) formados durante esta operação (STANISAVLJEV et al. Antioxidant and antimicrobial activities of echinacea (*Echinacea purpurea* L.) extracts obtained by classical and ultrasound extraction. Biotechnology and Bioengineering. Chinese Journal of Chemical Engineering, v. 17, n. 3, p. 478-483, 2009).

15

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse, tais como princípios ativos, bem como, opcionalmente, substâncias de efeito secundário.

20

Refere-se também a presente invenção ao processo de obtenção de composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse.

A presente invenção se refere ainda aos usos de composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse.

25

O processo de obtenção de composições constituídas de nanopartículas de própolis utiliza as técnicas de: (i) deslocamento de solvente e, opcionalmente, posterior remoção de solvente; ou (ii) a técnica de formação de emulsão com subsequente remoção do solvente. A técnica de formação de emulsão é utilizada quando o solvente é imiscível em água.

30

O processo de obtenção das nanopartículas consiste nas seguintes etapas:

i) preparo de: uma fração A, que consiste em extrato de própolis dissolvido em

solvente orgânico em uma proporção massa-volume de 0,001 a 40%, à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, na concentração de 0,01 a 20% (m/v), bem como adicionada de, opcionalmente, uma ou mais substâncias de interesse e/ou de efeito secundário;

- 5 ii) preparo de uma fração B, fase aquosa, constituída de: (ii.1) água; ou (ii.2) de uma solução ou dispersão aquosa na concentração de 0,01 a 20% (m/v), à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, na concentração de 0,01 a 20% (m/v);
- 10 iii) gotejamento da fração A sobre a fração B ou da fração B na fração A;
- iv) homogeneização da mistura à temperatura de -2 °C a 90 °C e formação espontânea de nanopartículas com tamanho médio de 1 a 1000 nm em uma dispersão, sendo que tal homogeneização ocorre por meio de agitação mecânica, que consiste na rotação de 1 (um) a 40000 rpm, quando o solvente orgânico for solúvel ou parcialmente solúvel em água, e de 5000 a 25000 rpm
- 15 quando o solvente orgânico for imiscível em água;
- v) opcionalmente, podem-se envolver as seguintes etapas adicionais: (v-1) remoção do solvente orgânico; e/ou (v-2) secagem da nanodispersão e obtenção de produto em pó.

20 O produto obtido possui tamanho de partícula que pode ser modulado pela variação nas concentrações dos componentes e das condições de processamento.

A própolis pode ser utilizada como material que compõe as nanopartículas, e pode ter função de carreador de substâncias de interesse, sendo suas propriedades biológicas, por exemplo, acrescentadas ao produto final. Opcionalmente, essas propriedades podem ser potencializadas por se tratar de um sistema nanoestruturado.

25 Além disso, a própolis é considerada matéria-prima de baixo custo e conhecida pela população.

As nanopartículas formadas podem ser utilizadas para aplicação em composição farmacêutica, agroquímica, cosmética ou química em geral, em combinação ou não com uma ou mais substâncias de interesse.

30 **BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

Figura 1: Distribuição do tamanho de partícula (diâmetro), em nanômetros, em função do número de nanopartículas de própolis contendo óleo de *Eucalyptus globulus*.

Figura 2: Distribuição do tamanho de partícula (diâmetro), em nanômetros, em função do número de nanopartículas de própolis. NP (nanopartículas) maiores são partículas com diâmetro médio de 380,4 nm. NP (nanopartículas) menores são partículas com diâmetro médio de 250,0 nm.

5 **Figura 3:** Curva de liberação de tetraciclina encapsulada e não encapsulada.

Figura 4: Distribuição do tamanho de partícula (diâmetro), em nanômetros, em função do número de nanopartículas de própolis.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

O objeto da presente invenção são composições constituídas de nanopartículas
10 de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse, tais como princípios ativos, bem como, opcionalmente, substâncias de efeito secundário, tais como sinergistas e adjuvantes.

Considera-se, para efeito desta invenção, que “substância de interesse” compreende substância com efeito, mas não se limitando a esta relação, terapêutico,
15 cosmético, protetor (proteção de materiais ou seres vivos contra agentes bióticos ou abióticos), antimicrobiano ou químico.

Refere-se também a presente invenção ao processo de obtenção de composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse, como princípios ativos, bem como, opcionalmente, substâncias
20 de efeito secundário, tais como sinergistas e adjuvantes.

A presente invenção se refere ainda aos usos de composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse e/ou uma ou mais substâncias de efeito secundário.

Adicionalmente, a presente invenção refere-se ao uso da própolis como
25 nanocarreador para liberação controlada ou direcionada de substâncias de interesse e/ou substâncias de efeito secundário.

O processo de obtenção de composições constituídas de nanopartículas de própolis utiliza as técnicas de: (i) deslocamento de solvente e, opcionalmente, posterior remoção de solvente; ou (ii) a técnica de formação de emulsão com subsequente
30 remoção do solvente. A técnica de formação de emulsão é utilizada quando o solvente é imiscível em água.

Própolis é um material biodegradável que contém entre seus constituintes tanto substâncias hidrofóbicas quanto anfífilas. As últimas contribuem para a confecção das nanopartículas, pela tendência a se auto-organizarem. Estas nanopartículas de própolis possuem propriedades que podem ser agregadas às de substâncias de interesse ou ainda pode haver sinergia entre os componentes. Estes consistem de uma ou mais substâncias hidrofóbicas ou anfífilas ou conjunto destas substâncias.

Nenhum dos documentos disponíveis no estado da técnica apresenta composição constituída de nanopartículas com a mesma funcionalidade que a desta invenção. A saber, as “substâncias de interesse” incluem, mas não se limitam a: proteínas, antibióticos, anti-inflamatórios, hormônios, aminoácidos, antivirais, antifúngicos, herbicidas, inseticidas, acaricidas, anti-helmínticos, vitaminas, minerais, ácidos graxos, carboidratos, compostos nitrogenados, antioxidantes, anticorrosivos, fotoprotetores, catalizadores, lubrificantes, enzimas, extratos naturais (tais como, óleos essenciais, corantes, xaropes e aromatizantes), pigmentos ou corantes.

A saber, as substâncias de efeito secundário incluem, mas não se limitam a: fármacos, agroquímicos, extratos naturais, cosméticos ou químicos em geral.

A própolis possui propriedades antimicrobianas e antioxidantes e é considerada matéria-prima de baixo custo, bastante conhecida pela população. Em sua forma bruta, a própolis é um material duro e quebradiço, com coloração que varia do amarelo ao marrom escuro, produzido pelas abelhas com a função de preencher frestas e contribuir na assepsia de compartimentos que necessitem de elevado grau de higiene, como as células de postura de ovos. Para a confecção deste material, as abelhas utilizam brotos, botões florais, cascas e exsudatos resinosos de diversas plantas, o que faz com que a própolis possua composição química complexa, e de modo geral, contém concentrações distintas de resinas, ceras, óleos essenciais e uma fração solúvel em álcool ou bálsamo vegetal (BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis), Food and Chemical Toxicology, v. 36, p. 347-363, 1998; PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; AQUINO NETO F. R. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras, Química Nova, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002).

A composição dos extratos depende do tipo de solvente utilizado e da origem da própolis. A maioria dos extratos disponíveis comercialmente é obtida utilizando-se alcoóis, tais como etanol e metanol. O extrato alcoólico é composto por resinas

vegetais, ceras e óleos essenciais, contendo compostos fenólicos tais como os polifenóis.

Para efeito desta invenção “emulsificante” é uma substância que torna possível a formação ou a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis. Considera-se “estabilizante” uma substância que torna possível a manutenção de uma dispersão uniforme de duas ou mais substâncias imiscíveis.

O nanodimensionamento de própolis modifica as suas características físicas e químicas. Pode, por exemplo, melhorar a sua solubilidade em água ou a eficiência de suas funções terapêuticas, tal como revelado no documento de patente CN1406588. Por outro lado, as nanopartículas de própolis podem estar associadas a outras nanopartículas de material de interesse e passar a reger as características das partículas, tal como ocorre em um dos aspectos da presente invenção.

Considera-se “nanodimensionamento” a redução do tamanho de partícula para valores inferiores a 1000 nm em pelo menos uma das dimensões (SOPPIMATH, K. S. et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*. v.70, p.1–20, 2001; REIS et al. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. v. 2, p. 8 – 21, 2006).

Quando um corpo se encontra em escala nanométrica, a importância de forças como gravidade, o atrito e a inércia diminuem, enquanto outras forças físicas passam a predominar, como as eletrostáticas, as de Van der Waals e o movimento browniano, por exemplo. A alteração na intensidade destas forças pode conferir novas propriedades à nanopartícula em comparação com a mesma substância na escala métrica. Isto é, esta tecnologia pode ser aplicada para atribuir novas propriedades às substâncias ou mesmo o aumento de sua reatividade por meio do nanodimensionamento, que pode se dever ao aumento da relação área superficial-volume. Esta alteração de relação conduz a um aumento da área de contato entre as nanopartículas e outras substâncias, favorecendo assim suas interações e reações, tornando-as mais efetivas por unidade de massa.

A modulação da relação área superficial-volume da substância original também interfere diretamente na sua eficiência biológica, ou seja, diminui a dose da substância administrada necessária para se atingir o mesmo efeito, pode-se elevar a dose e reduzir o risco de toxicidade advinda da composição que contém a substância ou princípio ativo

encapsulado ou ainda, aumentar a ação efetiva da substância quando ocorrer o direcionamento.

Uma das utilidades das nanopartículas é veicular substâncias de interesse, isto é, ter a função de nanocarreadoras para liberação controlada ou direcionada dos mesmos.

- 5 De maneira geral, os materiais utilizados para confecção de nanocarreadores para liberação controlada ou direcionada de substâncias são classificados como biodegradáveis ou não-biodegradáveis. Entende-se por “biodegradável” o material cuja
- degradação ocorre pela ação de um agente biológico, como enzima ou microrganismo.

- O padrão de liberação do princípio ativo veiculado por nanoestruturas
- 10 biodegradáveis resulta na completa degradação e excreção ou metabolização dos intermediários da matriz da nanopartícula, e no caso das nanopartículas não-biodegradáveis, o processo de liberação do princípio ativo é decorrente de sua difusão a partir da nanopartícula, e esta tende a se acumular no organismo ou no meio ambiente. As substâncias que compõem as nanopartículas de própolis são, preferencialmente,
- 15 biodegradáveis e biotoleráveis.

- A técnica de deslocamento de solvente é considerada uma opção simples e econômica para a obtenção de nanodispersões coloidais (US5133908, US7348031) e consiste na formação de uma emulsão óleo-água entre uma dispersão de polímero em solvente parcialmente solúvel em água que contém a substância a ser recoberta e uma
- 20 fase aquosa contendo um estabilizante. A adição posterior de água causa a difusão do solvente para a fase externa, resultando na formação de nanoesferas (QUINTANAR-GUERRERO, D. et al. Preparation and Characterization of Nanocapsules from Preformed Polymers by a New Process Based on Emulsification-Diffusion Technique. Pharmaceutical Research, v. 5, n. 7, jul, p. 1056-1062, 1998).

- 25 O processo de acordo com a presente invenção gera composições baseadas em nanopartículas de própolis mediante as etapas de:

- i) preparo de: uma fração A, que consiste em extrato de própolis dissolvido em solvente orgânico em uma proporção massa-volume variando de 0,001 a 40%, preferencialmente de 0,1 a 20%, que permita a formação de nanopartículas,
- 30 sendo que, opcionalmente, pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, na concentração de 0,01 a 20% (m/v), preferencialmente de 0,1 a

5% (m/v), bem como adicionada de, opcionalmente, uma ou mais substâncias de interesse e/ou de efeito secundário;

ii) preparo de uma fração B, fase aquosa, constituída de: (ii.1) água; ou (ii.2) de uma solução ou dispersão aquosa na concentração de 0,01 a 20% (m/v), à qual
5 pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, na concentração de 0,01 a 20% (m/v), preferencialmente de 0,1 a 5% (m/v);

iii) gotejamento da fração A sobre a fração B ou da fração B na fração A;

iv) homogeneização da mistura à temperatura de -2°C a 90°C e formação espontânea de nanopartículas com tamanho médio de 1 a 1000 nm em uma
10 dispersão, sendo que tal homogeneização ocorre por meio de agitação mecânica, que consiste na rotação de 1 (um) a 40000 rpm, preferencialmente de 100 a 1000 rpm, quando o solvente orgânico for solúvel ou parcialmente solúvel em água, e de 5000 a 25000 rpm quando o solvente orgânico for imiscível em água;

v) opcionalmente, podem-se envolver as seguintes etapas adicionais: (v-1)
15 remoção do solvente orgânico; e/ou (v-2) secagem da nanodispersão e obtenção de produto em pó.

O produto obtido possui tamanho de partícula que pode ser modulado pela variação nas concentrações dos componentes e das condições de operação.

A fase aquosa que compõe a fração B é composta por exclusivamente água ou
20 uma solução ou dispersão aquosa dotada de uma ou mais substâncias, embora não se limite a estas, selecionadas do seguinte grupo: polímero biodegradável ou não e biocompatível ou não, selecionado do grupo que compreende polímeros de ácido acrílico, alginatos, gomas biossintéticas, amidos, amidos modificados, ésteres de celulose, compostos de celulose, gelatinas, hidrocolóides, ácido hialurônico, glicóis,
25 gomas naturais, poliacrilatos, óxidos de polietileno, polímeros derivados do vinil, goma de acácia, goma agar, goma arábica, carboximetilcelulose, carboxivinil, carragena, caseína, acetato de celulose, quitosana, quitina, colágeno, dextrana, dextrina, ciclodextrinas, levana, etilcelulose, albumina, hidroxietilcelulose, hidroxietilmetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose,
30 homopolissacarídeos, heteropolissacarídeos, polietilenoglicol e copolímeros, pectina, polietilenos e copolímeros, alcoóis polivinílicos, polivinilpirrolidona, xantana, zeínas,

policaprolactona e seus copolímeros, poliácido láctico e seus copolímeros, poliácido glicólico e seus copolímeros, polihidroxibutirato e seus copolímeros, polidroxivalerato e seus copolímeros, polimetilmetacrilato e seus copolímeros, polietilcianoacrilato e seus copolímeros, polibutilcianoacrilato e seus copolímeros, polihexilcianoacrilato e seus copolímeros, poliisohexilcianoacrilato e seus copolímeros, poliacrilamidas, poliuretanos e seus copolímeros, poliestireno e seus copolímeros, polivinilpiridinas e seus copolímeros, poliacroleínas e seus copolímeros, poliamidas, polifenil ésteres e poliuretanos, sejam isolados ou combinados em diferentes proporções.

O solvente utilizado é selecionado do grupo que compreende etanol, isopropanol, n-butanol, álcool sec-butílico, álcool ter-butílico, éter etílico, éter dietílico, éter de petróleo, éter metílico, éter dimetílico, álcool benzílico, propilenoglicol, polipropilenoglicol, dimetilssulfóxido, etilenoglicol, álcool n-propílico, álcool metílico, acetona, propanona, butanona, butanodiona, diclorometano, triclorometano, polietilenoglicol, ácido acético glacial, tetracloreto de carbono, percloretileno, cloreto de metileno, n-hexano, estireno, xileno, tolueno, benzeno, acetato de etila, 1,4-dioxano, tetrahidrofurano (THF), acetonitrila, dimetilformamida, n-butanol, n-propanol, ácido fórmico, ciclohexano, ou soluções aquosas de tais solventes ou misturas deles. Preferencialmente, utilizam-se etanol, acetona, diclorometano, triclorometano ou hexano.

O estabilizante ou emulsificante ou conjunto de estabilizantes ou de emulsificantes, caso seja adicionado à fase aquosa ou fase orgânica, é utilizado na concentração de 0,01 a 20% (m/v), sendo utilizado, preferencialmente de 0,1 a 5% (m/v), bem como é selecionado do grupo que compreende, mas não se limita a, ácido algínico, álcoois polivinílicos, alginatos, ágar ágar, carragena, celulose e seus derivados, cetildimeticonas, copolióis, detergentes, dodecil sulfato de sódio, lecitinas, ésteres graxos de sacarose, ésteres de ácidos graxos com poliglicerol, ésteres de ácido ricinoléico interesterificado com poliglicerol, ésteres de ácidos graxos com propilenoglicol, fosfolipídeos, gomas, pectina, pectina amidada, polietilenoglicol e seus copolímeros, polietilenos e seus copolímeros, polioxietilenos e seus copolímeros, óxido de etileno, polissorbato e seus derivados, polivinilpirrolidona, proteínas anfífilas, mono e diglicerídeos, sabões, monoestearato de glicerol, oleato de sódio, fosfato de amônia, acetato isobutirato de sacarose, homopolissacarídeos, heteropolissacarídeos,

estearoil-2-lactil lactato de sódio, estearoil-2-lactil lactato de cálcio, citrato de sódio, fosfato dissódico, estearilamina, oleilamina, 1-2dioleoil-3trimetil-amônio propano, alquil-sulfatos, 2-dodecoxyethanol, carbopol[®], polioxietileno lauril éter e SPAN[®]. Preferencialmente sendo utilizado álcool polivinílico, fosfolipídeos ou polissorbatos.

5 A homogeneização ocorre por meio de agitação mecânica, simultaneamente ao gotejamento e à temperatura de -2 °C a 90 °C. As nanopartículas formadas possuem diâmetro médio de 1 a 1000 nm em uma dispersão.

A remoção do solvente orgânico ocorre mediante centrifugação seguida ou não de lavagem das nanopartículas, simples evaporação, rota-evaporação, liofilização, *spray*
10 *drying*, extração líquido-líquido ou carbonização do solvente orgânico com ácidos. Preferencialmente sendo realizada por centrifugação, seguida ou não de lavagem das nanopartículas, simples evaporação ou rota-evaporação.

Um aspecto da invenção tem-se uma composição de nanopartículas de própolis que consiste de própolis, solvente orgânico, água, opcionalmente estabilizantes e/ou
15 emulsificantes, opcionalmente uma ou mais substâncias de interesse, bem como opcionalmente uma ou mais substâncias de efeito secundário, compondo uma dispersão constituída de nanopartículas de tamanho de 1 a 1000 nm de própolis associado aos ditos componentes em meio líquido.

Outro aspecto da invenção tem-se uma composição de nanopartículas de
20 própolis que consiste de própolis, água, opcionalmente estabilizantes e/ou emulsificantes, opcionalmente uma ou mais substâncias de interesse, bem como opcionalmente uma ou mais substâncias de efeito secundário, compondo uma dispersão constituída de nanopartículas de tamanho de 1 a 1000 nm de própolis associado aos ditos componentes em meio líquido.

25 Ainda em outro aspecto da invenção tem-se uma composição de nanopartículas de própolis que consiste de própolis, água, opcionalmente estabilizantes e/ou emulsificantes, opcionalmente uma ou mais substâncias de interesse, bem como opcionalmente uma ou mais substâncias de efeito secundário, compondo um produto em pó constituído de nanopartículas de tamanho de 1 a 1000 nm de própolis associado a
30 pelo menos um dito componente.

Em outro aspecto da invenção a própolis é utilizada como material que compõe as nanopartículas, sendo suas propriedades acrescentadas à substância ou substâncias de

interesse aos quais estão associadas, havendo efeito sinérgico entre as nanopartículas de própolis e a substância ou substâncias de interesse e estas propriedades conhecidas da própolis ainda podem ser potencializadas por se tratar de um sistema nanoestruturado. Tais substâncias de interesse consistem em fármacos, agroquímicos, cosméticos ou químicos em geral.

Em outro aspecto da invenção as propriedades da própolis são acrescentadas à substância de interesse que carrega, havendo efeito aditivo entre material carreador e princípio ativo ou conjunto de princípios ativos e estas propriedades biológicas conhecidas da própolis ainda podem ser potencializadas por se tratar de um sistema nanoestruturado. Adicionalmente, quando agindo como material carreador, as nanopartículas de própolis podem promover liberação sustentada ou mesmo o direcionamento da substância de interesse. Tais substâncias de interesse consistem em fármacos, agroquímicos, cosméticos ou químicos em geral.

Pertencente à família Myrtaceae, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus citriodora* e *Eucalyptus staigeriana* são espécies cujo óleo essencial obtido de suas folhas possui conhecido uso farmacêutico, como anti-inflamatório, analgésico, antioxidante, antimicrobiano, inseticida e larvicida (MACEDO, I. T. F. et al. Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 62-66, jul.-set. 2009). Dentre os componentes do óleo essencial, monoterpenos, metabólitos secundários tais como o 1,8-cineol ou eucaliptol, são potenciais tóxicos a insetos e, em sua maioria, atóxicos a mamíferos (CHAGAS, A.C.S.; et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v. 39, n. 5, p. 247-253, 2002).

Macrolídeos são um grupo de antibióticos que inibem a síntese protéica pela bactéria nos ribossomos 50S caracterizados por conter em sua estrutura um anel macrocíclico e uma lactona. Entre os macrolídeos tem-se: azitromicina, claritromicina, roxitromicina e eritromicina.

As tetraciclinas, tais como tetraciclina, minociclina e doxiciclina, são compostos antimicrobianos considerados como de efeito bacteriostático e aplicados para uso humano ou veterinário. Por possuir em sua estrutura grupos capazes de formar ligações de hidrogênio intramoleculares, a tetraciclina tem propriedades quelantes, e forma

complexos insolúveis com íons metálicos de ferro, cálcio, magnésio e alumínio em pH neutro. Na forma de cloridratos, as tetraciclinas são solúveis em água. Estas moléculas se ligam reversivelmente ao ribossomo 30S e inibem a ligação do aminoacil-t-RNA ao sítio acceptor no ribossomo 70S.

5

EXEMPLO 1

ENCAPSULAMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL DE EUCALIPTO EM EXTRATO DE PRÓPOLIS E SEU EFEITO LARVICIDA SOBRE *Amblyomma cajennense*.

Preparou-se extrato alcoólico de própolis a 2,75% em matéria seca obtido pela diluição de extrato original contendo 13,75% de matéria seca. Adicionou-se 0,275 mg
10 de óleo essencial de *Eucalyptus globulus* ao extrato. Gotejou-se lentamente 1 mL da mistura entre extrato de própolis e óleo essencial em 5 mL de uma solução aquosa de álcool polivinílico (PVA) a 0,3% que estava sendo agitada constantemente a 600 rpm e mantida a 35°C. Formou-se espontaneamente uma emulsão. O extrato alcoólico e a solução aquosa foram previamente filtrados em filtros de nylon de 0,22 micrômetros.
15 Determinou-se a distribuição de tamanho por espalhamento dinâmico de luz, conforme observado na Figura 1. O diâmetro médio das partículas obtidas foi de 438,1 nm, potencial Zeta de -31,5 mV e índice de polidispersão de 0,267. A eficiência de encapsulamento (E.E.) de 73% foi determinada por análise de cromatografia a gás.

Foram realizados testes *in vivo* para determinar a eficiência larvicida do óleo encapsulado em nanopartículas de própolis contra larvas de *Amblyomma cajennense*.
20 Foram produzidas emulsões óleo/água contendo respectivamente 2,5, 5 e 10% de óleo de *Eucalyptus globulus*. As emulsões foram comparadas com suspensões de nanopartículas de própolis contendo óleo de *Eucalyptus globulus* encapsulado, sendo de 1,42, 2,5, 5 e 10% o teor de óleo em relação ao volume final da suspensão.

25 Tabela 1: Eficiência larvicida (*Amblyomma cajennense*) do óleo de *Eucalyptus globulus* encapsulado em nanopartículas de própolis ou misturado em água.

Amostra	Concentração de óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> na emulsão ou na suspensão de nanopartículas de própolis (%)	Eficiência larvívica (%)
Óleo não encapsulado	2,5	90
Óleo não encapsulado	5	100
Óleo não encapsulado	10	100
Óleo em nanopartículas de própolis	1,42	100
Óleo em nanopartículas de própolis	2,5	100
Óleo em nanopartículas de própolis	5	100
Óleo em nanopartículas de própolis	10	100

Conforme se observou na Tabela 1, a eficiência da atividade larvívica do *Eucalyptus globulus* nas condições testadas começou a reduzir em teores de óleo inferiores a 5%, ou seja, esta foi o mínimo teor em que o óleo apresentou atividade. Para se considerar um produto como de alta eficiência esta deve ser de no mínimo 95%, o que não ocorreu para a forma não encapsulada. No material nanoencapsulado, em concentrações tão baixas quanto 1,42% de óleo no volume final, a eficiência de 100% foi mantida, melhorando, assim, o efeito do óleo essencial.

EXEMPLO 2

OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS E SEU EFEITO BACTERICIDA.

Preparou-se extrato alcoólico de própolis a 2,75% e a 0,5% em matéria seca obtido pela diluição de extrato original contendo 13,75% de matéria seca. Gotejou-se lentamente 1 mL de um dos extratos de própolis em 5 mL de uma solução aquosa de álcool polivinílico (PVA) a 0,3% que estava sendo agitada constantemente a 600 rpm e mantida a 35°C. Em ambos os casos, formou-se espontaneamente uma emulsão. Os extratos de própolis e a solução aquosa foram previamente filtrados em filtros de nylon de 0,22 micrômetros.

Determinou-se a distribuição de tamanho por espalhamento dinâmico de luz, conforme observado na Figura 2. As partículas obtidas foram divididas em dois grupos, as de diâmetro médio de 380,4 nm, que apresentaram potencial Zeta = -38,3 mV e índice de polidispersão de 0,065 e as de diâmetro médio de 250 nm, que tiveram potencial Zeta de - 22,9 mV e índice de polidispersão de 0,197.

As concentrações de nanopartículas de própolis nas duas formulações foram ajustadas para 2048 µg/mL e o efeito bactericida foi determinado *in vitro* contra amostras de *Staphylococcus aureus* (estirpe ATCC23273) cultivadas em caldo Mueller Hinton.

De acordo com a Tabela 2, que mostra os resultados da eficiência bactericida das nanopartículas, a redução do tamanho das nanopartículas e o consequente aumento de sua área superficial em função da massa, foram responsáveis pela maior atividade inibitória da própolis em partículas menores. Isso pôde ser confirmado pela inibição do crescimento bacteriano. Nanopartículas com diâmetro médio de 380,4 nm necessitaram de uma concentração mínima de 512 µg/mL de própolis, enquanto as nanopartículas menores (com 250 nm) necessitaram de apenas 256 µg/mL.

Tabela 2: Eficiência bactericida (*Staphylococcus aureus*, estirpe ATCC23273) de suspensão aquosa de nanopartículas de própolis com diâmetro médio de 380,4 nm e 250 nm.

Fator de diluição (µg/mL)	Crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i>	
	NP 380,4 nm	NP 250 nm
32	+	+
64	+	+
128	+	+
256	+	-
512	-	-
1024	-	-
2048	-	-

NP 380 mm: nanopartículas com diâmetro médio de 380 mm; NP250 mm: nanopartículas com diâmetro

médio de 250 nm.

EXEMPLO 3

ENCAPSULAMENTO DE TETRACICLINA EM EXTRATO DE PRÓPOLIS

Preparou-se extrato alcoólico de própolis a 2,75% em matéria seca obtido pela
5 diluição de extrato original contendo 13,75% de matéria seca. Adicionou-se 1mg/mL de
tetraciclina ao extrato. Gotejou-se lentamente 1 mL da mistura entre extrato de própolis
e tetraciclina em 5 mL de uma solução aquosa de álcool polivinílico (PVA) a 0,3% que
estava sendo agitada constantemente a 600 rpm e mantida a 35°C. Formou-se
espontaneamente uma emulsão. O extrato alcoólico e a solução aquosa foram
10 previamente filtrados em filtros de nylon de 0,22 micrômetros. Determinou-se a
distribuição de tamanho por espalhamento dinâmico de luz, a eficiência de
encapsulamento (E.E.) por análise de espectrometria de absorção ultravioleta-visível.

O diâmetro médio das partículas obtidas foi de 371 nm, o potencial Zeta foi de -
18,6 mV e índice de polidispersão, de 0,335. A eficiência de encapsulamento (E.E.) foi
15 de 26%.

Determinou-se o padrão de liberação à temperatura de 37°C, com o auxílio de
membranas de diálise em meio PBS, pH 7,2 adicionado de 10% de álcool e observando
a condição Sink. Na primeira hora ocorreu a liberação de 54% do antibiótico
encapsulado. Na sexta hora de ensaio observou-se uma liberação de 83% do antibiótico
20 encapsulado, conforme visto na Fig. 3.

EXEMPLO 4

ENCAPSULAMENTO DE AZITROMICINA EM EXTRATO DE PRÓPOLIS E SEU EFEITO BACTERICIDA.

Preparou-se extrato alcoólico de própolis a 2,75% em matéria seca obtido pela
25 diluição de extrato original contendo 13,75% de matéria seca. Adicionou-se 0,83
mg/mL de azitromicina ao extrato. Gotejou-se lentamente 1 mL da mistura entre extrato
de própolis e azitromicina em 5 mL de uma solução aquosa de álcool polivinílico (PVA)
a 0,3% que estava sendo agitada constantemente a 600 rpm e mantida a 35°C. Formou-
se espontaneamente uma emulsão. O extrato alcoólico e a solução aquosa foram
30 previamente filtrados em filtros de nylon de 0,22 micrômetros. Determinou-se a

distribuição de tamanho por espalhamento dinâmico de luz. O diâmetro médio das partículas obtidas foi de 322 nm, potencial Zeta de -15,1 mV e índice de polidispersão de 0,26. A eficiência de encapsulamento (E.E.) de 57% foi determinada por análise de espectrometria de absorção ultravioleta-visível.

- 5 O efeito bactericida/bacteriostático das nanopartículas de própolis, da azitromicina nanoencapsulada em extrato de própolis e da azitromicina pura foram determinados in vitro contra amostras de *Staphylococcus aureus* (estirpe ATCC23273) cultivadas em caldo Mueller Hinton, conforme Tabela 3. Por ser a azitromicina um antibiótico bacteriostático, as amostras das diferentes diluições foram utilizadas para
10 determinar o número de unidades formadoras de colônia (UFC) em agar BHI (brain-heart-infusion), e com isso determinar o efeito bactericida/bacteriostático mostrado na Tabela 4.

- Tabela 3: Eficiência bactericida/bacteriostática (*Staphylococcus aureus*, estirpe ATCC23273) da azitromicina (A), da azitromicina nanoencapsulada em extrato de
15 própolis (AP) e de nanopartículas de própolis puras (NP) em caldo Mueller Hinton.

	Concentração de azitromicina µg/mL							
	512	256	128	64	32	16	8	4
A	-	-	-	-	-	+	+	+
AP *	-	-	-	-	-	-	+	+
NP	-	-	+	+	+	+	+	+

A = azitromicina; AP = azitromicina nanoencapsulada em própolis; NP = nanopartícula de própolis

* O valor foi calculado em função da concentração de azitromicina nanoencapsulada

- Tabela 4: Unidades formadoras de colônia (UFC) em agar BHI de amostras de *Staphylococcus aureus*, estirpe ATCC23273, oriundas de ensaio de eficiência
20 bactericida/bacteriostática da azitromicina (A), da azitromicina nanoencapsulada em extrato de própolis (AP) e de nanopartículas de própolis puras (NP) em caldo Mueller Hinton.

Tubo de origem	UFC							
	512	256	128	64	32	16	8	4

A	0	0	0	1	1	3	30	i
AP *	0	0	0	0	0	0	28	i
NP	0	0	i	i	i	i	i	i

A = azitromicina; AP = azitromicina nanoencapsulada em própolis; NP = nanopartícula de própolis

* O valor foi calculado em função da concentração de azitromicina nanoencapsulada

i= incontável

A azitromicina é sabidamente um antibiótico bacteriostático e em determinadas concentrações, bactericida. Nos ensaios realizados, quando utilizada na forma pura e em concentrações iguais ou superiores a 128 µg/mL, este antibiótico exerceu um efeito bactericida sobre o *Staphylococcus aureus*. Entre as concentrações de 8 e 64 µg/mL a azitromicina apresentou efeito bacteriostático. Já as nanopartículas de própolis puro, em concentrações iguais ou superiores a 256 µg/mL apresentaram exclusivamente atividade bactericida. Por sua vez, quando a azitromicina foi nanoencapsulada em extrato de própolis, conseguiu-se um efeito bactericida em concentrações bem menores, por exemplo, de 16 µg/mL, e bacteriostático na concentração de 8 µg/mL. Tais resultados comprovam o efeito sinérgico do processo de encapsulamento da azitromicina pelas nanopartículas de própolis.

EXEMPLO 5

OBTENÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS

Preparou-se extrato de própolis em triclorometano (clorofórmio) a 0,16% em matéria seca. Gotejou-se lentamente 1 mL de um dos extratos de própolis em 60 mL de uma solução aquosa de álcool polivinílico (PVA) a 0,3% que estava sendo agitada constantemente a 25000 rpm com o auxílio de um homogeneizador tipo turrax e mantida a 35°C. Após a formação de uma emulsão, esta foi mantida sob agitação na rotação de 600 rpm em temperatura ambiente até a completa evaporação do clorofórmio. Tanto o extrato de própolis quanto a solução aquosa foram previamente filtrados em filtros de nylon de 0,22 micrômetros.

Por espalhamento de luz dinâmico observou-se que foram formadas partículas com diâmetro médio variando entre 220,2 nm e 342 nm (Figura 4), com potencial Zeta de -1,34 nV.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis caracterizado por compreender as etapas de:

- 5 i) preparo de: uma fração A, que consiste em extrato de própolis dissolvido em solvente orgânico em uma proporção massa-volume de 0,001 a 40%, à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, na concentração de 0,01 a 20% (m/v), bem como adicionada de, opcionalmente, uma ou mais substâncias de interesse e/ou de efeito secundário;
- 10 ii) preparo de uma fração B, fase aquosa, constituída de: (ii.1) água; ou (ii.2) de uma solução ou dispersão aquosa na concentração de 0,01 a 20% (m/v), à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, na concentração de 0,01 a 20% (m/v);
- 15 iii) gotejamento da fração A sobre a fração B ou da fração B na fração A;
- iv) homogeneização da mistura à temperatura de -2 °C a 90 °C e formação espontânea de nanopartículas com tamanho médio de 1 a 1000 nm em uma dispersão, sendo que tal homogeneização ocorre por meio de agitação mecânica, que consiste na rotação de 1 (um) a 40000 rpm, quando o solvente orgânico for solúvel ou parcialmente solúvel em água, e de 5000 a 25000 rpm quando o solvente orgânico for imiscível em água;
- 20 v) opcionalmente, podem-se envolver as seguintes etapas adicionais: (v-1) remoção do solvente orgânico; e/ou (v-2) secagem da nanodispersão e obtenção de produto em pó.

2. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por dita proporção massa-volume de extrato de própolis dissolvido em
25 solvente orgânico variar de 0,1 a 20%.

3. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por dita fase aquosa ser composta de exclusivamente água ou uma solução ou dispersão aquosa dotada de uma ou mais substâncias selecionadas do seguinte grupo:
30 polímeros de ácido acrílico, alginatos, gomas biossintéticas, amidos, amidos modificados, ésteres de celulose, compostos de celulose, gelatinas, hidrocolóides, ácido hialurônico, glicóis, gomas naturais, poliacrilatos, óxidos de polietileno, polímeros derivados do vinil, goma de acácia, goma agar, goma arábica, carboximetilcelulose,

carboxivinil, carragena, caseína, acetato de celulose, quitosana, quitina, colágeno, dextrana, dextrina, ciclodextrinas, levana, etilcelulose, albumina, hidroxietilcelulose, hidroxietilmetilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose, homopolissacarídeos, heteropolissacarídeos, polietilenoglicol e copolímeros, pectina, polietilenos e copolímeros, alcoóis polivinílicos, polivinilpirrolidona, xantana, zeínas, policaprolactona e seus copolímeros, poliácido láctico e seus copolímeros, poliácido glicólico e seus copolímeros, polihidroxibutirato e seus copolímeros, polidroxivalerato e seus copolímeros, polimetilmetacrilato e seus copolímeros, polietilcianoacrilato e seus copolímeros, polibutilcianoacrilato e seus copolímeros, polihexilcianoacrilato e seus copolímeros, poliisohexilcianoacrilato e seus copolímeros, poliacrilamidas, poliuretanos e seus copolímeros, poliestireno e seus copolímeros, polivinilpiridinas e seus copolímeros, poliacroleínas e seus copolímeros, poliamidas ou polifenil ésteres e poliuretanos.

4. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes empregados nas etapas (i) e/ou (ii), opcionalmente, se apresentarem na concentração de 0,1 a 5% (m/v).

5. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 1 e 4, caracterizado por um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes serem selecionados do grupo que compreende ácido algínico, alcoóis polivinílicos, alginatos, ágar ágar, carragena, celulose e seus derivados, cetildimeticonas, copolióis, detergentes, dodecil sulfato de sódio, lecitinas, ésteres graxos de sacarose, ésteres de ácidos graxos com poliglicerol, ésteres de ácido ricinoléico interesterificado com poliglicerol, ésteres de ácidos graxos com propilenoglicol, fosfolipídeos, gomas, pectina, pectina amidada, polietilenoglicol e seus copolímeros, polietilenos e seus copolímeros, polioxietilenos e seus copolímeros, óxido de etileno, polissorbato e seus derivados, polivinilpirrolidona, proteínas anfifílicas, mono e diglicerídeos, sabões, monoestearato de glicerol, oleato de sódio, fosfato de amônia, acetato isobutirato de sacarose, homopolissacarídeos, heteropolissacarídeos, estearoil-2-lactil lactato de sódio, estearoil-2-lactil lactato de cálcio, citrato de sódio, fosfato dissódico, estearilamina, oleilamina, 1-2dioleoil-3trimetil-amônio propano, alquil-sulfatos, 2-dodecoxyethanol, carbopol®, polioxietileno lauril éter e SPAN®.

6. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações

1, 4 e 5, caracterizado por este dito estabilizante e/ou emulsificante ser preferencialmente compreendido por álcool polivinílico, fosfolipídeos e/ou polissorbatos.

7. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela fase orgânica (i) e pela fase aquosa (ii) apresentarem, opcionalmente, uma concentração de um ou mais emulsificantes e/ou estabilizantes na concentração de 0,1 a 5% (m/v).

8. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas substâncias de interesse consistirem de princípios ativos, tais como tetraciclina e azitromicina.

9. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas substâncias de interesse consistirem de químicos em geral, tais como antioxidantes, anticorrosivos, fotoprotetores, catalisadores, lubrificantes e corantes.

10. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas substâncias de interesse consistirem de extratos naturais, tais como óleos essenciais, corantes, xaropes e aromatizantes.

11. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas substâncias de efeito secundário consistirem de sinergistas.

12. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas substâncias de efeito secundário consistirem de adjuvantes.

13. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelas substâncias de interesse e de efeito secundário consistirem de fármacos, agroquímicos, extratos naturais, cosméticos ou químicos em geral.

14. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por dito solvente orgânico consistir de uma substância ou de uma mistura, obtida a partir de substâncias selecionadas do grupo que compreende, mas não se limita a: etanol, isopropanol, n-butanol, álcool sec-butílico, álcool ter-butílico, éter etílico, éter dietílico, éter de petróleo, éter metílico, éter dimetílico, álcool benzílico, propileno glicol, dimetilsulfóxido, etilenoglicol, álcool n-propílico, álcool metílico, acetona, propanona, butanona, butanodiona, diclorometano, triclorometano, polietilenoglicol, ácido acético glacial, tetracloreto de carbono, percloroetileno, cloreto

de metileno, n-hexano, estireno, xileno, tolueno, benzeno, acetato de etila, 1,4dioxano, tetrahidrofurano (THF), acetonitrila, dimetilformamida, n-butanol, n-Propanol, ácido fórmico e ciclohexano.

15. Processo de obtenção de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 1 e 14, caracterizado por dito solvente orgânico preferencial ser obtido a partir de uma ou mais substâncias do grupo do: etanol, acetona, diclorometano, triclorometano e hexano.

16. Composição de nanopartículas de própolis caracterizada por consistirem de própolis, solvente orgânico, água, opcionalmente estabilizantes e/ou emulsificantes, opcionalmente uma ou mais substâncias de interesse, bem como opcionalmente uma ou mais substâncias de efeito secundário, compondo uma dispersão constituída de nanopartículas de tamanho de 1 a 1000 nm de própolis associado aos ditos componentes em meio líquido.

17. Composição de nanopartículas de própolis caracterizada por consistirem de própolis, água, opcionalmente estabilizantes e/ou emulsificantes, opcionalmente uma ou mais substâncias de interesse, bem como opcionalmente uma ou mais substâncias de efeito secundário, compondo uma dispersão constituída de nanopartículas de tamanho de 1 a 1000 nm de própolis associado aos ditos componentes em meio líquido.

18. Composição de nanopartículas de própolis caracterizada por consistirem de própolis, água, opcionalmente estabilizantes e/ou emulsificantes, opcionalmente uma ou mais substâncias de interesse, bem como opcionalmente uma ou mais substâncias de efeito secundário, compondo um produto em pó constituído de nanopartículas de tamanho de 1 a 1000 nm de própolis associado a pelo menos um dito componente.

19. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada por dita um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes serem selecionados do grupo que compreende ácido algínico, alcoóis polivinílicos, alginatos, ágar ágar, carragena, celulose e seus derivados, cetildimeticonas, copolióis, detergentes, dodecil sulfato de sódio, lecitinas, ésteres graxos de sacarose, ésteres de ácidos graxos com poliglicerol, ésteres de ácido ricinoléico interesterificado com poliglicerol, ésteres de ácidos graxos com propilenoglicol, fosfolipídeos, gomas, pectina, pectina amidada, polietilenoglicol e seus copolímeros, polietilenos e seus copolímeros, polioxietilenos e seus copolímeros, óxido de etileno , polissorbato e seus derivados, polivinilpirrolidona,

proteínas anfifílicas, mono e diglicerídeos, sabões, monoestearato de glicerol, oleato de sódio, fosfato de amônia, acetato isobutirato de sacarose, homopolissacarídeos, heteropolissacarídeos, estearoil-2-lactil lactato de sódio, estearoil-2-lactil lactato de cálcio, citrato de sódio, fosfato dissódico, estearilamina, oleilamina, 1-2dioleoil-
 5 3trimetil-amônio propano, alquil-sulfatos, 2-dodecoxyethanol, carbopol[®], polioxietileno lauril éter e SPAN[®].

20. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada por dito estabilizante e/ou emulsificante ser preferencialmente compreendido por álcool polivinílico, fosfolipídeos e/ou polissorbatos.

10 21. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada pelas substâncias de interesse consistirem de princípios ativos, tais como tetraciclinas, azitromicinas.

22. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada pelas substâncias de interesse consistirem de químicos em geral, tais
 15 como antioxidantes, anticorrosivos, fotoprotetores, catalisadores, lubrificantes e corantes.

23. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada pelas substâncias de interesse consistirem de extratos naturais, tais como óleos essenciais, corantes, xaropes e aromatizantes.

20 24. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada pelas substâncias de efeito secundário consistirem de sinergistas.

25. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada pelas substâncias de efeito secundário consistirem de adjuvantes.

26. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e
 25 18, caracterizada caracterizado pelas substâncias de interesse e de efeito secundário consistirem de fármacos, agroquímicos, extratos naturais, cosméticos ou químicos em geral.

27. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada por dito solvente orgânico consistir de uma substância ou de uma
 30 mistura, obtida a partir de substâncias selecionadas do grupo que compreende, mas não se limita a: etanol, isopropanol, n-butanol, álcool sec-butílico, álcool ter-butílico, éter etílico, éter dietílico, éter de petróleo, éter metílico, éter dimetílico, álcool benzílico,

propileno glicol, dimetilssulfóxido, etilenoglicol, álcool n-propílico, álcool metílico, acetona, propanona, butanona, butanodiona, diclorometano, triclorometano, polietilenoglicol, ácido acético glacial, tetracloreto de carbono, percloroetileno, cloreto de metileno, n-hexano, estireno, xileno, tolueno, benzeno, acetato de etila, 1,4dioxano, 5 tetrahydrofurano (THF), acetonitrila, dimetilformamida, n-butanol, n-Propanol, ácido fórmico, ciclohexano.

28. Composição de nanopartículas de própolis, de acordo com as reivindicações 16, 17 e 18, caracterizada por dito solvente orgânico preferencial ser obtido a partir de uma ou mais substâncias do grupo do: etanol, acetona, diclorometano, triclorometano e hexano.

- 10 29. Composição de nanopartículas de própolis obtidas por meio do processo descrito na reivindicação 1 associada a veículo farmacêutico, agroquímico, cosmético ou quimicamente aceitável.

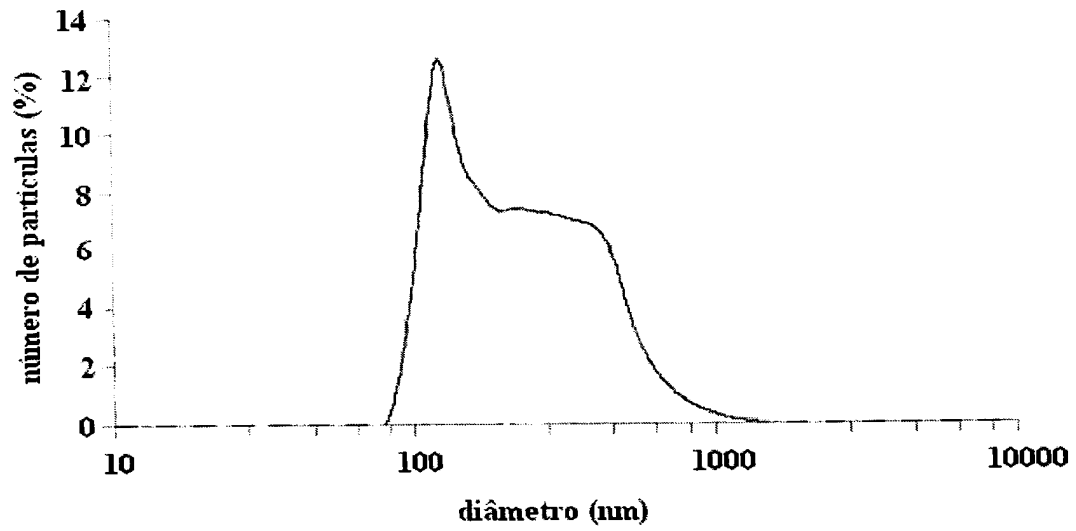


Fig. 1

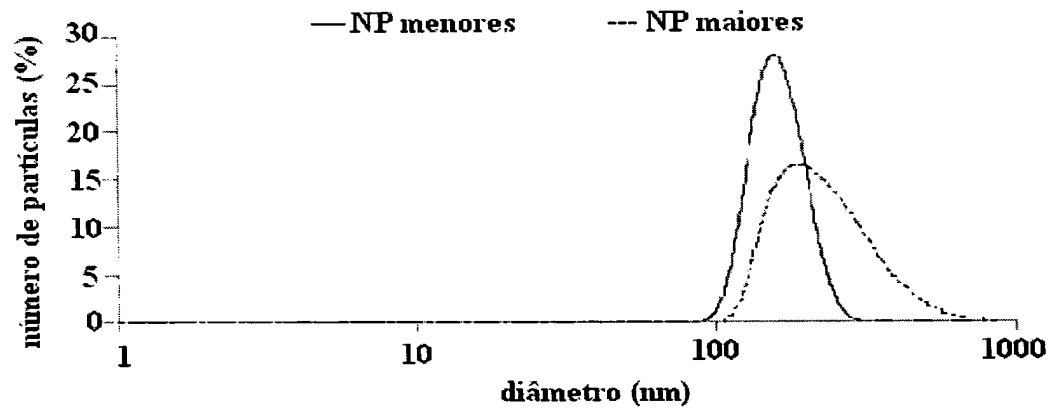


Fig. 2

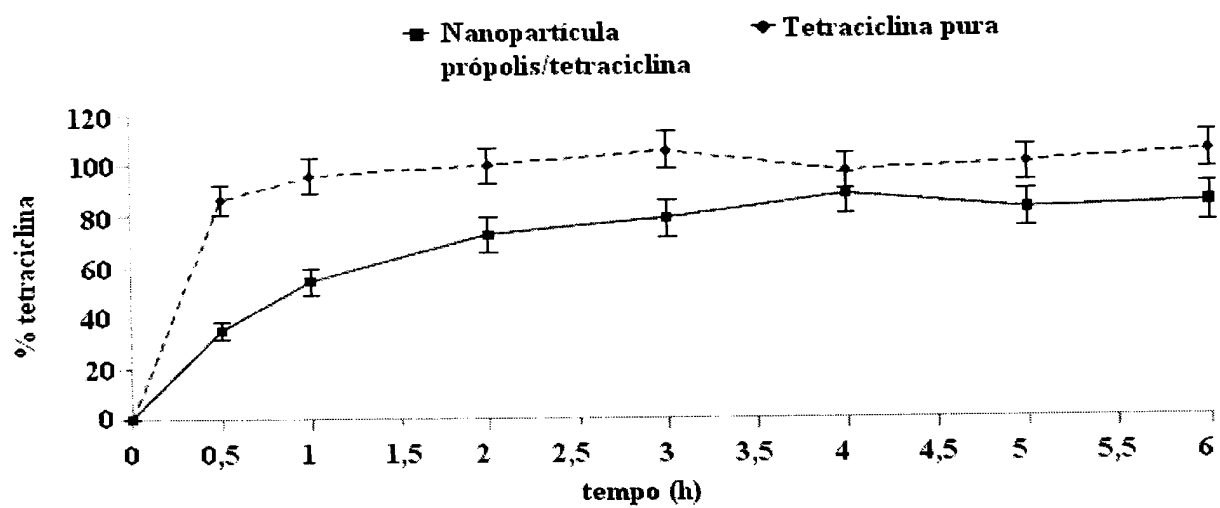


Fig. 3

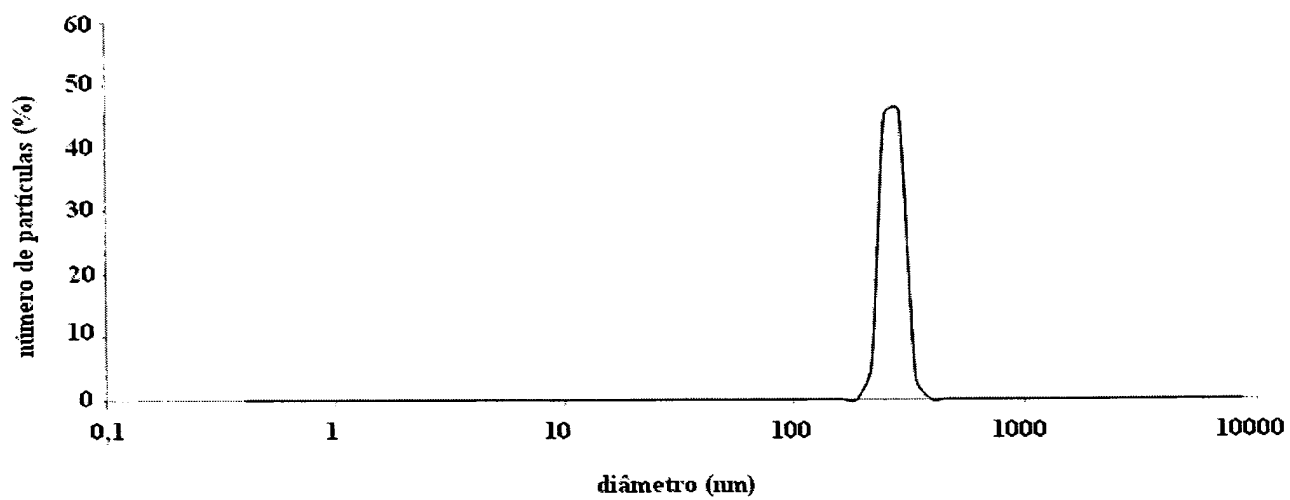


Fig. 4

RESUMO**“COMPOSIÇÕES BASEADAS EM NANOPARTÍCULAS DE PRÓPOLIS,
PROCESSOS DE OBTENÇÃO E USO”.**

A presente invenção refere-se a processo de obtenção e uso de composições constituídas de nanopartículas de própolis, opcionalmente, associadas a uma ou mais substâncias de interesse, tais como princípios ativos, bem como, opcionalmente, substâncias de efeito secundário, tais como sinergistas e adjuvantes. O processo de obtenção das nanopartículas compreende as seguintes etapas de: i) preparo de: uma fração A, que consiste em extrato de própolis dissolvido em solvente orgânico à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes, bem como adicionada de, opcionalmente, uma ou mais substâncias de interesse e/ou de efeito secundário; ii) preparo de uma fração B, fase aquosa, constituída de: (ii.1) água; ou (ii.2) de uma solução ou dispersão aquosa, à qual pode ser adicionado um ou mais estabilizantes e/ou emulsificantes; iii) gotejamento da fração A sobre a fração B ou da fração B na fração A; iv) homogeneização da mistura por meio de agitação mecânica e formação espontânea de nanopartículas com tamanho médio de 1 a 1000 nm em uma dispersão; v) opcionalmente, podem-se envolver as seguintes etapas adicionais: (v-1) remoção do solvente orgânico; e/ou (v-2) secagem da nanodispersão. As composições desenvolvidas têm aplicações em campos tais como agroquímico, farmacêutico cosmético ou químico.