

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da
Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(43) Data de Publicação Internacional
26 de Junho de 2014 (26.06.2014)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicação Internacional
WO 2014/094100 A2

(51) Classificação Internacional de Patentes :
A01N 65/22 (2009.01)

(21) Número do Pedido Internacional :
PCT/BR2013/000589

(22) Data do Depósito Internacional :
20 de Dezembro de 2013 (20.12.2013)

(25) Língua de Depósito Internacional : Português

(26) Língua de Publicação : Português

(30) Dados Relativos à Prioridade :
BR1020120328569
21 de Dezembro de 2012 (21.12.2012) BR
BR1020130305880
28 de Novembro de 2013 (28.11.2013) BR

(71) Requerentes : **UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ** [BR/BR]; Rua João Negrão, 280 2º Andar, 80010200 Curitiba/PR (BR). **ABCOTT COMÉRCIO E INDÚSTRIA QUÍMICA - EIRELE** [BR/BR]; Avenida Jose Augusto Fonseca, 534, 13390000 Rio das Pedras/SP (BR).

(72) Inventores : **MARQUES, Francisco de Assis**; Rua Denis Diderot, 8, 83030240 São José dos Pinhais/PR (BR). **RAMIRES, Eduardo Novaes**; Avenida Silva Jardim, 368, Ap402, 80230000 Curitiba/PR (BR). **ANNIES, Vinícius**; Rua Tenente Coronel Viligran Cabrita, 471, Sob.15, 81750270 Curitiba/PR (BR). **DA SILVA, Mario Antonio**

Navarro; Rua João Negrão, 280 2º Andar, 80010200 Curitiba/PR (BR).

(81) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

— sem relatório de pesquisa internacional; será republicado após receção do mesmo (Regra 48.2(g))

(54) Title : PESTICIDE, REPELLANT, FUNGICIDE AND VERMIFUGE COMPOSITION AND USE OF THE SAME

(54) Título : COMPOSIÇÃO PESTICIDA, REPELENTE, FUNGICIDA E VERMÍFUGA E USO DA MESMA

(57) Abstract : The present invention describes a mixture of (E)-methyl cinnamate and linalool, characterised in that linalool is the main component of the mixture, and in that the pesticide activity is more intense when (R)-linalool is used in the composition. The present invention further describes the uses of the composition to prepare repellants and pesticides against invertebrates that are considered pests, such as insects, acarids and other arachnids, to prepare a fungicide for use in human and veterinary medicine, agriculture and forestry, and to prepare a vermifuge.

(57) Resumo : A presente invenção descreve uma mistura de (E)-cinamato de metila e linalol, caracterizada por conter o linalol como majoritário na mistura e por ação pesticida mais pronunciada quando o (R)-linalol é utilizado na composição. A presente invenção descreve ainda os usos na preparação de repelentes e pesticidas de invertebrados considerados praga como insetos, ácaros e outros aracnídeos, bem como na preparação de um fungicida para uso humano, veterinário, agrícola e florestal, e para preparação de um vermífugo.



WO 2014/094100 A2

COMPOSIÇÃO PESTICIDA, REPELENTE, FUNGICIDA E VERMÍFUGA E USO DA MESMA

CAMPO DE APLICAÇÃO

A presente invenção se insere na área de Controle de Pragas, mais
5 especificamente na área de pesticidas, repelentes e fungicidas, uma vez
que descreve uma composição de (*E*)-cinamato de metila e linalol que
apresenta propriedades pesticida, repelente e fungicida, sendo a
composição baseada em efeito sinérgico destes compostos, que
apresentam baixa toxicidade.

10 DESCRIÇÃO DO ESTADO DA TÉCNICA

Pesticidas e repelentes tradicionais

A humanidade nos últimos milênios teve de controlar populações
de invertebrados considerados pragas, sejam aqueles que afetam
culturas agrícolas e podem causar significativos danos econômicos com
15 redução de safras, seja com os parasitas e transmissores de agentes
etiológicos que podem afetar diretamente a saúde humana ou de animais
domésticos e de produção.

Dessa forma, desde a pré história existem registros da busca de
substâncias que pudessem repelir ou matar esses invertebrados
20 indesejados, principalmente os insetos considerados pragas. Substâncias
tóxicas como enxofre, arsênio, e mercúrio foram utilizadas em diversas
épocas. Muitas substâncias extraídas de plantas foram usadas como
praguicidas ou, mais especificamente, como inseticidas.

Noséculo XVII, por exemplo, o sulfato de nicotina foi extraído das
25 folhas de tabaco para ser usado como inseticida. Já no século XIX, viu-se a
ampla introdução de piretrinas, extraídas principalmente da planta
Chrysanthemum cinerariaefolium.

O DDT ou dicloro-difenil-tricloroetano foi o primeiro praguicida
sintético moderno, tendo sido amplamente usado após a Segunda Guerra
30 Mundial para o combate aos mosquitos vetores do agente etiológico da
malária e do tifo. Sintetizado em 1874, suas propriedades inseticidas

contra vários tipos de artrópodes só foram descobertas em 1939 pelo químico suíço Paul Hermann Müller. O DDT transformou-se rapidamente no pesticida mais usado no mundo. Entretanto, na década de 1960, constatou-se que o DDT e outros pesticidas organoclorados provocavam danos à saúde de diversas espécies de animais através do fenômeno de magnificação trófica nas cadeias e teias alimentares, oferecendo grandes riscos para a biodiversidade. Atualmente, o DDT é proibido na maioria dos países. Os organoclorados tiveram seu uso agrícola proibido no Brasil desde 1985, sendo somente autorizados em campanhas de saúde pública, como especificado na Portaria no. 329 de 02/09/85 do Ministério da Agricultura do Brasil.

Os efeitos deletérios dos organoclorados sobre o ambiente levaram à maior conscientização e regulamentação do uso de pesticidas, bem como à busca de classes de moléculas que apresentem baixa toxicidade e sofram rápida degradação no ambiente.

Produtos à base de piretróides, como cipermetrina e ciflutrina, são atualmente os mais utilizados em ambiente domésticos e agrícolas. Os piretróides tiveram seu uso difundido em alternativa aos carbamatos e organofosforados que são, em sua maioria, muito tóxicos, atuando especialmente no sistema nervoso central. Os piretróides apresentam baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental, são efetivos contra um largo espectro de insetos e são necessárias baixas quantidades para exercerem sua ação. No entanto, em alguns casos, a utilização de piretróides tem aumentado os riscos a aves e/ou mamíferos. Ainda, ensaios laboratoriais demonstraram que os piretróides são muito tóxicos para peixes, abelhas e artrópodes aquáticos, tais como lagostas e camarões. Dessa forma, podem agir em outras espécies expostas acidentalmente durante a aplicação do produto ou ingestão de alimentos contaminados. Vários autores têm estudado a permanência de resíduos de praguicidas em diversas culturas agrícolas, bem como quantificado o teor de praguicidas nos alimentos.

Outras moléculas como reguladores de crescimento são usados como alternativas aos pesticidas tradicionais. Os reguladores de crescimento de insetos não são propriamente inseticidas. Na verdade, estes compostos agem interferindo no processo normal de desenvolvimento dos insetos, reduzindo a formação de adultos, portanto reduzindo a população na área tratada. Geralmente os reguladores de crescimento são de baixa toxicidade para mamíferos e são praticamente específicos contra artrópodes. Alguns imitam os hormônios juvenis dos insetos, sendo, por isso, denominado juvenóides. Outro grupo dentre estes compostos são chamados inibidores de quitina, ou IGI (*Insect Growth Inhibitors*) ou inibidores de crescimento, porque impedem o desenvolvimento normal da cutícula dos insetos. Isso interfere na sua ação muscular ou provoca desidratação, levando-o à morte. Uma nova classe de pesticidas, os nicotinóides, têm sido relacionados a problemas envolvendo a biodiversidade, como a redução da população de abelhas em muitas partes do planeta.

Quanto aos repelentes de insetos, o primeiro repelente sintético efetivo foi o DEET - N,N-dietil-meta-toluamida ou N,N-dietil-3-metilbenzamida. É fabricado para ser aplicado diretamente na pele ou nas roupas, podendo proteger contra picadas de carrapatos - que podem transmitir o agente etiológico da grave doença de Lyme - e picadas de mosquitos, que podem transmitir o vírus da dengue e febre amarela e o protozoário da malária entre outras doenças, além do incômodo das picadas.

O DEET foi desenvolvido pelo exército dos Estados Unidos, sendo introduzido para uso militar em 1946 e uso civil a partir de 1957. Muitos repelentes baseados em substâncias de origem vegetal são de uso comum, já tendo sido descritos na literatura e patenteados, como, por exemplo, a patente US2323804 de 1943, que descreve uma vela à base de parafina e citronela, para repelir insetos em uma determinada área. A patente US 2005/0260239 A1 descreve uma composição repelente à

base de óleo de citronela.

O uso de produtos à base de óleos essenciais, apesar de ter experimentado um crescimento nos últimos anos, apresenta dificuldades inerentes, como a variação da composição do óleo em função de variáveis climáticas, composição de solo e outras. Há de se considerar também efeitos deletérios à biodiversidade, como sobre-exploração de plantas, particularmente aquelas ainda não cultivadas comercialmente.

Existe a necessidade de se estabelecer a possível ação sinérgica de compostos isolados a partir dos óleos brutos, ramo ainda pouco explorado na área de controle de pragas e vertente inovadora do presente pedido de patente de invenção.

O pesticida ideal seria aquele que tivesse ação imediata sobre as pragas, baixa probabilidade de que as pragas alvo desenvolvessem mecanismos de resistência, baixa persistência no ambiente sem gerar resíduos tóxicos durante sua degradação, e baixa toxicidade (tópica, por inalação ou por ingestão ao ser humano).

No caso de aplicação tópica em humanos, o efeito repelente simultâneo é desejável, pois evitaria a picada e portanto o incômodo decorrente da mesma e o risco de transmissão de doenças pelos possíveis vetores.

Cinamato de Metila e Linalol

O cinamato de metila é o éster metílico do ácido cinâmico e caracteriza-se pelo seu odor forte e aromático. É encontrado em duas formas diastereoisoméricas, o (*E*)-cinamato de metila, CAS 1754-62-7 e o (*Z*)-cinamato de metila, CAS 19713-73-6.

O (*E*)-cinamato de metila é mais comumente encontrado na natureza do que seu diastereoisômero e já foi descrito em plantas pertencentes a diversas famílias como Amaryllidaceae, Orchidaceae, Sapotaceae, Theophrastaceae, Fabaceae, Rubiaceae, Oleaceae, Berberidaceae, Fumariaceae, Rhamnaceae, Solanaceae e Lamiaceae.

Por simplificação, no presente documento, o (*E*)-cinamato de metila

será denominado de cinamato de metila.

O cinamato de metila é uma substância que apresenta coloração branca quando em forma de cristais e amarelo claro em estado líquido. Pode-se encontrar o cinamato de metila natural em frutas como morangos, especiarias culinárias como pimenta de Sichuan e algumas variedades de manjerição. Com sabor de morango e aroma doce, o cinamato de metila encontrou uma ampla linha de aplicações em agentes de tempero, perfumes, detergentes, e outras.

A patente US6322838 inclui cinamato de metila entre os componentes de composições de sabor artificial comestíveis, com sabor de menta ou de frutas.

A invenção US4349449 descreve processos e composições para aumentar e melhorar o aroma e/ou o odor de materiais consumíveis como alimentos, gomas de mascar, produtos de uso medicinal, pastas de dentes, perfumes e colônias dentre as quais se inclui o cinamato de metila. O cinamato de metila também possui atividades medicinais. Apresenta atividade antinociceptiva e antiespasmódica significativa sobre ratos, conforme J.P. Pinho, S.A. Silva, B.G. Pinheiro, I. Sombra I, J.C. Bayma, S. Lahlou, P.J. Sousa e P.J. Magalhães (2012) "Antinociceptive and antispasmodic effects of the essential oil of *Ocimum micranthum*: potential anti-inflammatory properties", *Planta Med*, 78(7), 681-685.

Também apresentam atividade no metabolismo dos adipócitos, com atividade antiadipogênica conforme Y.Y. Chen, M.H. Lee, C.C. Hsu, C.L. Wei e Y.C. Tsai (2012). "Methyl cinnamate inhibits adipocyte differentiation via activation of the CaMKK2-AMPK pathway in 3T3-L1 preadipocytes", *J Agric Food Chem*, 60(4), 955-963. O cinamato de metila tem ótima eficiência na preservação de frutos, demonstrando ação fungicida e antiaflatogênica em uma baixa concentração, de 0,6 µL/mL conforme B. Prakash, P. Singh, P.K. Mishra e N.K. Dubey (2012) "Safety assessment of *Zanthoxylum alatum* Roxb. essential oil, its antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in

preservation of *Piper nigrum* L. fruits", Int J Food Microbiol, 153(1-2), 183-191.

A patente US 2010/0331409A1 prevê a utilização de cinamato de metila para inibir a formação de biofilme e inibir o desenvolvimento de *Candida albicans*, com concentração na faixa de 0,05 a 0,8%. O cinamato de metila produzido por alguns fungos pode repelir um colêmbola micófago, já a partir de concentrações de 1ppm conforme T. Sawahata, S. Shimano e M. Suzuki (2008) "Tricholoma matsutake 1-Ocen-3-ol and methyl cinnama terepel mycophagous *Proisotoma minuta* (Collembola: Insecta)", Mycorrhiza, 18(2), 111-114.

O cinamato de metila possui também significativa atividade nematocida, testada sobre o nematóide responsável pela doença da murchidão do pinheiro, conforme J.O. Kong, S. M. Lee, Y.S. Moon, S.G. Lee e Y.J. Ahn (2007) "Nematicidal activity of Cassia and Cinnamon oil compounds and related compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae)" J Nematol, 39(1), 31-36.

O cinamato de metila tem ação repelente sobre *Aedes aegypti*, reduzindo o pouso de fêmeas do mosquito em tubos impregnados com odor de humanos, conforme T. Dekker, R. Ignel, M. Ghebru, R. Glinwood e R. Hopkins (2011) "Identification of mosquito repellent odours from *Ocimum forskolei*" Parasites & Vectors, 4:183.

Olinalol-3,7-dimetil-octa-1,6-dien-3-ol é um monoterpeno referido como um componente prevalente nos óleos essenciais em várias espécies de plantas aromáticas. Mais de 200 espécies de plantas já referenciadas produzem linalol, principalmente das famílias Lamiaceae, Lauraceae e Rutaceae, entre outros grupos de ocorrência em áreas tropicais a boreais. Foi também detectado em alguns fungos. Tem ponto de ebulição de 199°C e solubilidade em água de cerca de 1,5 g/L.

O Linalol tem um centro estereogênico e, portanto, apresenta dois estereoisômeros o (R)-(-)-linalol com número de CAS 126-91-0 (PubChem 67179) e o (S)-(+)-linalol com número de CAS 126-90-9

(PubChem 13562).

As duas formas enantioméricas são encontradas na natureza: (S)-linalol é encontrado, por exemplo, como um componente majoritário dos óleos essenciais nas sementes de coentro e nas flores de *Citrus sinensis*.

- 5 O (R)-linalol é encontrado na lavanda *Lavandula officinalis*, no louro *Laurus nobilis*, no manjeriço *Ocimum basilicum*, entre outras plantas.

- Os enantiômeros evocam percepções olfativas diferentes em humanos; (S)-(+)-linalol é percebido como um odor adocicado e floral, com limiar de odor de 7,4 ppb. Já o enantiômero (R) apresenta percepção olfativa mais próximo à lavanda, com limiar de odor de 0,8 ppb. É um importante componente químico aromático amplamente usado como fixador de fragrâncias na indústria cosmética mundial. O linalol é usado como odorizador em muitos dos produtos de higiene e de limpeza perfumados.
- 10

- 15 A patente US5861143, como exemplo, lista o linalol entre as substâncias que poderiam ser usadas como perfumantes em métodos para reduzir odores e excesso de umidade corporais.

- A patente US7153438 lista o linalol entre os agentes flavorizantes possíveis para uso em composições para tratamento e esterilização de água com agente mascarador.
- 20

A patente US7153438 lista o linalol como um dos perfumes hidrofílicos de preferência para uso em composições e métodos para controle de odor e fungos em tecidos balísticos e outros tipos.

- A patente US20080050326 descreve uma solução desodorante baseada em linalol e dihidromircenol.
- 25

A patente US5137741 descreve um método de aprimorar ou intensificar o aroma de alimentos, baseada no produto da reação de linalol com ácido cítrico.

- Estudos recentes apontam que o linalol na forma oxidada em contato com o ar pode gerar reações alérgicas em humanos. Outras substâncias são usadas para retardar esse processo de oxidação, mas a
- 30

forma oxidada pode se formar em embalagens estocadas por longos períodos conforme K. Yazar, S. Johnsson, M. L. Lind e A. Boman (2011) "Preservatives and fragrances in selected consumer-available cosmetics and detergents" *Contact Dermatitis*, 64(5), 265-272.

- 5 Linalol também pode ser usado como um intermediário na síntese de outros compostos químicos. Um produto comum sintetizado a partir do linalol é a vitamina E.

- O linalol teve suas propriedades medicinais investigadas. A exposição ao linalol causa redução nos níveis de estresse em ratos de laboratório, bem como redução na atividade de genes ligados a situações estressantes, conforme K. Nakamura, S. Fujiwara, I. Matsumoto e K. Abe (2009) "Stress repression in restrained rats by (*R*)-(-)-linalool inhalation and gene expression profiling of their whole blood cells", *The Journal of Agriculture and Food Chemistry* (American Chemical Society), 57(12):
- 10 5480–5485.

- Também tem efeitos hipocolesterolêmicos, conforme S.Y. Cho, H.J. Jun, J.H. Lee, Y. Jia, K.H. Kim e S.J. Lee (2011) "Linalool reduces the expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase via sterol regulatory element binding protein-2- and ubiquitin-dependent
- 15 mechanisms" *FEBS Lett.*, 585(20), 3289-3296.

- A ação hipotensiva de linalol em ratos foi detectada, conforme I.A. Menezes, C.M. Barreto, A. R. Antonioli, M.R. Santos e D.P. de Sousa (2010) "Hypotensive activity of terpenes found in essential oils" *Z Naturforsch.*, 65(9-10), 562-566.

- 25 O (-)-linalol tem potencial de uso para desenvolvimento de drogas de uso clínico para tratamento de dor crônica conforme P.A. Batista, M.F. Werner, E.C. Oliveira, L. Burgos, P. Pereira, L.F. Brum, G.M. Story e A.R. Santos (2010) "The antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity" *J Pain*, 11(11),
- 30 1222-1229.

 O linalol mostrou ação antitumoral sobre várias linhagens de

células tumorais humanas em ensaios *in vitro*, e pode ser considerado um monoterpene com potencial para desenvolvimento de novos agentes terapêuticos contra leucemia, conforme Y. Gu, Z. Ting, X. Qiu, X. Zhang, X. Gan, Y. Fang, X. Xu e R. Xu (2010) "Linalool preferentially induces robust apoptosis of a variety of leukemia cells via upregulating p53 and cyclin-dependent kinase inhibitors" *Toxicology*, 268(1-2), 19-24.

O uso de uma solução para limpeza ocular baseada em linalol-hinokitiol pode ser útil para pacientes que apresentam alergia à iodo, ou como adjunto à solução de iodopovidona conforme J.P. Gilbard, Y. Douyon e R.B. Huson (2010) "Time-kill assay results for a linalool-hinokitiol-based eye lid cleanser for lid hygiene" *Cornea*, 29(5), 559-563.

O linalol mostrou efeito significativo contra bactérias causadoras de periodontites e cariogênicas, sendo sugerido seu uso em concentrações abaixo de 0,4mg/mL para uso como componentes de pastas de dentes ou soluções de assepsia oral, conforme S.N. Park, Y.K. Lim, M.O. Freire. E. Cho, D. Jin e J.K. Kook (2012) "Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria" *Anaerobe*, 18(3), 369-372.

Outros estudos ainda mostram ação do linalol contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e do gênero *Listeria*. O uso de linalol contra estomatites causadas pelo fungo *Candida albicans* em pessoas que usam dentaduras é possível, conforme C. Marcos-Arias, E. Eraso, L. Madariaga e G. Quindós (2011) "In vitro activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers" *BMC Complement Altern Med.*, 11, 119.

O linalol apresentou ação bactericida *in vitro* contra bactérias do gênero *Mycoplasma*, principalmente *Mycoplasma pneumoniae*, responsável por pneumonia bacteriana humana e *Mycoplasma fermentans*, ligada a várias doenças entre elas a Síndrome da Guerra do Golfo, conforme P.M. Furneri, L. Mondello, G. Mandalari, D. Paolino, P. Dugo, A. Garozzo e G. Bisignano (2012) "In vitro antimycoplasmal activity

of *Citrus bergamia* essential oil and its major components”, Eur J MedChem, 52, 66-69.

Apresenta também efeito contra fungos relacionados à degradação de alimentos, sendo sugerido seu uso como conservante de sucos,
5 conforme R. Tserennadmid, M. Takó, L. Galgóczy, T. Papp, M. Pesti, C. Vágvölgyi, K. Almássy e J. Krisch (2011) “Antiyeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk” Int J FoodMicrobiol, 144(3), 480-4866.

Em termos de efeito sobre invertebrados, o linalol sintetizado por
10 flores pode atuar como repelente de formigas em ambientes naturais, conforme R.R Junker, J. Gershenzon e S.B. Unsicker (2011) “Floral odor bouquet loses its antrepellent properties after inhibition of terpene biosynthesis”, J ChemEcol, 37(12):1323-1331.

Segundo relatório do EPA de 2007, DocketNumber: EPA-HQ-EPA-
15 2006-0356, linalol é usado diretamente em cães e gatos na formulação de shampoos, banhos ou sprays e como um tratamento em áreas externas e internas para repelir pulgas, ácaros, aranhas e carrapatos. É também usado em geradores eletrônicos de fragrâncias ou em velas para repelir mosquitos.

20 O referido relatório do EPA, de 2007, determinou que há muito pouco potencial de exposição para o ambiente durante a manufatura do linalol em condições normais encontradas nas indústrias. Além disso, determinou que o uso final em ambientes domésticos pedido nos registros iniciais de repelentes em velas ou em aparelhos eletrônicos específicos,
25 apresentariam riscos mínimos para organismos não alvo, como aves, peixes, invertebrados aquáticos ou plantas.

Estudos subagudos e crônicos foram encontrados na literatura e estudos novos não foram necessários para o licenciamento de uso produtos à base de linalol citados no referido documento da EPA.

30 A lista apresentada pelo referido documento da EPA especifica entre os produtos com linalol como seu único componente ativo, produtos

usados como repelentes de mosquitos e um shampoo para cães e gatos. Em vários outros produtos o linalol é usado junto a outros pesticidas convencionais.

5 A patente US4933371 descreve uma composição para controle de carrapatos e pulgas em animais, aplicada como shampoo ou spray, baseado em linalol em diversas formulações.

O linalol tem sido utilizado puro como repelente em velas ou na forma líquida em difusores eletrônicos para uso interno e externo em residências.

10 Difusores de Linalol com 20gde linalol puro repeliram mosquitos a 93% de eficiência em ambientes internos e a 58% de eficiência em ambientes externos, conforme G.C. Müller, A. Junnila, J. Butler, V.D. Kravchenko, E.E. Revay, R. W. Weiss e Y. Schlein (2009) "Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes" J
15 Vector Ecol, 34(1), 2-8.

Tem efeito como fumigante fraco, com tempo mediano de *knockdown* de 408,7 minutos, e efeito repelente não significativo sobre o hemíptero *Rhodnius prolixus*, um dos vetores da doença de chagas em vários países da América Latina, conforme V. Sfara, E.N. Zerba e R.A. Alzogaray (2009). "Fumigant insecticidal activity and repellent effect of five
20 essential oils and seven monoterpenes on first-instar nymphs of *Rhodnius prolixus*", J MedEntomol, 46(3):511-5.

No entanto o(*R*)-linalol representa uma das frações com atividade repelente sobre o besouro *Sitophilus zeamais*, praga que causa danos
25 significativos em grãos, principalmente na África, conforme D.A. Ukeh, M.A. Birkett, J.A. Pickett, A.S. Bowman e A.J. Luntz (2009) "Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*" Phytochemistry, 70(6):751-758.

30 O linalol causa inibição das enzimas Glutathione S-transferases, importantes no combate a nematóides como o *Meloidogyne incognita* ou

nematóide das galhas; estes organismos, quando em densidade populacional alta, provocam nanismo, murcha e pouco desenvolvimento do tubérculo, afetando significativamente a produção agrícola, conforme R.O. Babu, D. Moorkoth, S. E S. J. Eapen (2012) "Virtual screening and in vitro assay of potential drug like inhibitors from spices against Glutathione-S-Transferase of *Meloidogyne incognita*" Bioinformation, 8(7),319-25.

O linalol apresenta boa toxicidade de contato e por fumigação contra a barata *Blattella germanica*, em linhagens suscetíveis e em linhagens resistentes a pesticidas conforme K.S. Chang, E.H. Shin, C. Park e Y.J. Ahn (2012) "Contact and fumigant toxicity of *Cyperus rotundus* steam distillate constituents and related compounds to insecticide-susceptible and resistant *Blattella germanica*" JMedEntomol, (3):631-639.

Apresenta também um efeito inibidor de alimentação sobre larvas da mariposa *Lymantria dispar*, considerada séria praga de diversas árvores e arbustos na Europa e Estados Unidos, conforme M. Kostić, Z. Popović, D. Brkić, S. Milanović, I. Sivcev e S. Stanković (2008) "Larvicidal and antifeed antactivity, of some plant-derived compounds to *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Limantriidae)" BioresourTechnol, 99(16), 7897-7901.

Apresenta atividade inseticida junto à citronelol, geraniol e formato de citronela contra o piolho humano, conforme A. Gallardo, M.I. Picollo, P. González-Audino e G. Mougabure-Cueto (2012) "Insecticidal activity of individual and mixed monoterpenoids of geranium essential oil against *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae)" J MedEntomol, 49(2), 332-335.

O (*R*)-(-)-linalol tem ação repelente sobre *Aedes aegypti*, reduzindo o pouso de fêmeas do mosquito em tubos impregnados com odor de humanos, conforme T. Dekker, R. Ignel, M. Ghebru, R. Glinwood e R. Hopkins (2011) "Identification of mosquito repellent odours from *Ocimum forskolei*" Parasites & Vectors, 4, 183.

Apresentou significativa ação larvica como fumigante sobre a

mosca *Lycoriella ingenua*, a mais importante praga da indústria decogumelos comerciais no mundo atualmente, com ação inseticida efetiva na concentração de 10×10^{-3} mg/mL de ar, sendo que a ação inseticida do dichlorvos (dimetil fosfato de 2,2,-diclorovinila) foi de apenas 60% na mesma concentração, conforme I.Park, J. N. Kim, Y.Lee, S. Lee, Y. Ahn e S. Shin (2008) "Toxicity of plant essential oils and their components against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae)" J. Econ. Entomol., 101, 139-144.

Vantagens da Invenção

A presente invenção se refere a uma mistura de ação pesticida, repelente, fungicida e vermífuga com ação sobre invertebrados, particularmente dípteros e aracnídeos, além de fungicida, baseada na ação sinérgica do cinamato de metila e do linalol numa determinada faixa de proporção dos dois componentes ativos sempre tendo o linalol como majoritário.

O linalol e o cinamato de metila são considerados compostos seguros para uso humano e empregados de forma corrente em perfumaria e fragrâncias alimentares e outras e até mesmo de uso medicinal. A ação isolada desses compostos sobre insetos praga já foi descrita anteriormente e se caracteriza principalmente como repelente. O principal diferencial no estado da técnica introduzida na presente patente de invenção se refere à forte ação inseticida e repelente não persistente sinérgica significativa do linalol e do cinamato de metila, quando numa determinada proporção, sempre com o linalol como majoritário.

BREVE DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A invenção se refere a uma composição de (*E*)-cinamato de metila e linalol que apresenta propriedades pesticida, repelente, fungicida e vermífuga, sendo a composição baseada em efeito sinérgico destes compostos, que apresentam baixa toxicidade. A invenção se refere ainda aos usos desta composição.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A figura 1A é uma representação da análise cromatográfica obtida por cromatografia gasosa referente ao linalol.

A figura 1B é uma representação da análise cromatográfica obtida por cromatografia gasosa referente ao cinamato de metila.

5 A figura 1C é uma representação da análise cromatográfica obtida por cromatografia gasosa referente a mistura analisada antes dos testes efetuados com fêmeas de *A. aegypti*.

A figura 1D é uma representação da análise cromatográfica obtida por cromatografia gasosa referente a mistura analisada após os testes
10 realizados com fêmeas de *A. aegypti*.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a uma mistura de ação pesticida, repelente, fungicida e vermífuga com ação sobre invertebrados, particularmente dípteros e aracnídeos, além de fungos, baseada na ação
15 sinérgica do cinamato de metila e do linalol numa determinada faixa de proporção dos dois componentes ativos sempre tendo o linalol como majoritário.

De forma não restritiva foi determinada na presente patente de invenção uma proporção de cerca de 4:1 de linalol:cinamato de metila.

20 Foi essa a proporção utilizada em testes de eficácia. É possível que modificações nessa relação possam otimizar efeitos sinérgicos sem comprometer o objeto da presente patente de invenção, desde que o linalol esteja como majoritário.

Como dito anteriormente, por simplificação, no presente documento, o (*E*)-cinamato de metila está sendo denominado de cinamato de metila.

A invenção possui forte ação inseticida e repelente não persistente sinérgica significativa do linalol e do cinamato de metila, quando numa determinada proporção, sempre com o linalol como majoritário. Embora o
30 (*R*)-linalol quando na mistura com o cinamato de metila tenha mostrado uma ação adulticida mais pronunciada, esta ação também se faz presente

quando se usa o linalol racêmico.

Em todas essas formulações existe de forma não restritiva a possibilidade de encapsulação, nanoencapsulação ou microencapsulação dos componentes descritos na presente patente de invenção. Não
5 obstante, o linalol e o cinamato de metila podem estar sem encapsulamento.

Como será detalhado abaixo, a mistura dos compostos foi testada em solução etanólica aplicada à mão do experimentador, na forma pura aplicada sobre papel de filtro segundo metodologia recomendada pela
10 OMS, bem como em aerossóis com vários propelentes e solventes.

Ressalta-se que apesar de serem compostos produzidos por muitas plantas o uso do linalol e do cinamato de metila sintéticos, já disponíveis comercialmente, evita problemas de conservação de biodiversidade causados por super exploração de determinadas espécies
15 ainda não cultivadas comercialmente. Também se minimiza a possibilidade de efeitos secundários como reações alérgicas comuns quando da utilização de óleos essenciais, tendo em vista que a ação adulcificada descrita na presente patente de invenção foi determinada como consequência da ação sinérgica de apenas dois compostos.

20 A novidade significativa no estado da técnica apresentado na presente patente de invenção reside tanto na ação sinérgica do linalol e do cinamato de metila, quanto na relação entre esses componentes que apresentou atividade praguicida significativa, sempre tendo o linalol como majoritário na mistura.

25 Análises por cromatografia gasosa são demonstradas nas figuras 1A (cromatograma de linalol); figura 1B (cromatograma de cinamato de metila); figura 1C (cromatograma da mistura analisada antes de serem efetuados os testes com fêmeas de *A. aegypti*; e figura 1D (cromatograma da mistura analisada após serem finalizados os testes com fêmeas de *A. aegypti*. Os referidos cromatogramas revelaram que os compostos não
30 reagem entre si, conseqüentemente exclui-se a possibilidade da formação

de um novo composto, possível produto da reação entre o linalol e o cinamato de metila.

Adicionalmente os bioensaios realizados com dípteros revelaram que quando a mistura continha o (*R*)-linalol como majoritário observou-se
5 uma atividade praguicida mais pronunciada do que quando a composição apresentava em sua constituição mistura racêmica do linalol. Ressalta-se, portanto, que a presença do (*S*)-linalol não extingue a ação praguicida, mas impõe que a mistura racêmica seja utilizada em maior proporção do que quando se usa o (*R*)-linalol. A decisão de uso do linalol
10 enantiomericamente puro ou da mistura racêmica, deverá ser guiada pela disponibilidade do produto e viabilidade econômica.

Como relatado na descrição do estado da técnica da presente patente de invenção, tanto o linalol como o cinamato de metila são amplamente utilizados como componentes em vários produtos de uso
15 cosmético, alimentício, veterinário e mesmo medicinal. Portanto, como não ocorre a reação entre esses compostos formando uma nova substância, pode-se prever que a biossegurança de seu uso possa ser referida a testes já realizados com esses compostos.

Ressalta-se que, durante os bioensaios com a mistura entre o
20 linalol, tanto na forma racêmica como contendo o enantiômero (*R*), não foram observadas reações alérgicas ou respiratórias nos experimentadores tendo inclusive a mistura dos compostos resultado em percepção olfativa agradável aos mesmos. Portanto a presente patente de invenção apresenta uma mistura de linalol e cinamato de metila,
25 contendo sempre o linalol como majoritário, que apresenta forte ação praguicida, segurança de uso já amplamente demonstrada e agradável percepção olfativa, resultando em ampla possibilidade de aplicação desta mistura no controle de pragas, em variada gama de apresentação, dispensação e alvos de controle.

30 A presente invenção pode ser utilizada numa ampla gama de produtos. Ressalta-se que os componentes da mistura, embora sejam de

origem natural, têm ampla gama de aplicação e já são comerciais. Em todas as aplicações descritas a seguir, existe a possibilidade de encapsulação ou de se trabalhar com a mistura emulsionada.

A composição contendo linalol e cinamato de metila pode ser
5 utilizada para preparação de repelente para invertebrados (insetos, ácaros e outros aracnídeos); para preparação de pesticida para invertebrados (insetos, ácaros ou outros aracnídeos) para uso humano, veterinário, domissaneario ou florestal; para preparação de fungicida para uso humano, veterinário, agrícola ou florestal; e para preparação de um
10 vermífugo. Todas essas preparações podem contar ou não com adjuvantes adicionais.

Finalidade Repelente e Pesticida

Dado que os componentes da mistura apresentam baixo ponto de ebulição, é possível seu uso como repelente de ambientes, conhecidos
15 como repelentes espaciais, na forma de sachês, dispensadores automáticos, velas ou outras apresentações.

Como será detalhado abaixo, a composição resultante da mistura de (*R*)-linalol com (*E*)-cinamato de metila, quando testada como repelente frente a fêmeas adultas de *A. aegypti*, mostrou um inesperado e
20 pronunciado efeito adulticida, além do efeito repelente, não observados nos testes realizados com cada uma das substâncias isoladamente.

É válido ressaltar que o efeito adulticida se pronunciou quando esses compostos foram empregados em uma determinada faixa de proporção, sempre mantendo o linalol como majoritário, e que ao alterar
25 essa relação entre os compostos, esse efeito não se expressava, restando apenas o efeito repelente.

Os dois compostos, quando usados separadamente, não causaram a mortalidade dos mosquitos.

Como dito anteriormente, também é importante mencionar que
30 existe uma queda no efeito adulticida da mistura que foi preparada com linalol racêmico ao invés do (*R*)-linalol, demonstrando que a

estereoquímica do linalol é importante para o efeito adulticida.

Várias concentrações da mistura foram testadas nos aerosóis, sempre mantendo a proporção entre eles, buscando otimizar o efeito adulticida. Os resultados apontam claramente pela possibilidade de uso da mistura com finalidade pesticida em nebulizadores, aerosóis, emulsionadas em água para aspersão, em sachês com ou sem aquecimento, soluções aquosas ou não, para uso em ambientes ou aplicado em animais e pessoas, para fins domissanitários, veterinários, florestais e agrícolas.

Como o linalol apresenta uso em shampoos, cremes e pomadas para uso veterinário e a mistura mostrou-se mais eficiente que o linalol isoladamente, seu uso nessas aplicações apresenta um significativo aumento de eficácia praguicida/pesticida minimizando os riscos aos quais os animais estão submetidos comparando-se principalmente aos pesticidas em uso atualmente como piretróides.

No ambiente doméstico seu uso pode ser na forma de aerosóis praguicidas, principalmente para controle de dípteros como o *Aedes aegypti*. Nossos bioensaios mostraram eficácia dessa mistura tanto utilizando butano/propano, éter dimetílico, nitrogênio como propelentes e água ou hidrocarbonetos desaromatizados leves como solventes.

A mistura apresentou ação praguicida tópica sobre a aranha marrom *Loxosceles intermedia* e sobre o escorpião *Tityus serrulatus*, aracnídeos de grande interesse de saúde pública no Brasil, sendo seu uso nas formulações acima e também como misturas emulsionáveis para aspersão também recomendadas.

Na área de controle de pragas a presente invenção pode ser utilizada em nebulizadores de grandes áreas, conhecidos no Brasil como "fumacês".

Na área veterinária seu uso pode se dar como praguicida na forma de shampoos, pastas, pomadas, cremes, soluções aquosas ou não aquosas, aerosóis ou outras formas de apresentação.

Para uso agrícola e florestal o produto pode ser utilizado em uma ampla gama de apresentações como aerossóis, misturas emulsionadas em água para aspersão, para invertebrados/pragas como insetos e ácaros.

- 5 Para uso enquanto repelente, podemos ressaltar as seguintes possibilidades: espacial em forma de velas; sachês com ou sem aquecimento; dispensadores eletrônicos; com aparato de volatilização.

 Para finalidade repelente, podemos mencionar ainda as formas em cremes; pastas; pomadas; ou diluídos em óleo de origem vegetal ou
10 animal.

 É válido ressaltar que, quando mencionamos “atividade aduicida”, estamos fazendo referência à atividade praguicida.

Finalidade Vermífuga

 Existe ainda a possibilidade de uso como vermífugo devido à baixa
15 toxicidade da mistura aos mamíferos.

Finalidade Fungicida

 Como os componentes da mistura apresentam ação fungicida importante, preconiza-se também seu uso como fungicida em todas as formas de apresentação atualmente utilizadas. Enquanto fungicida, deve
20 ser utilizado em forma de sachês ou aparato de que permita a liberação da mistura para o ambiente ou por ação de contato direta com os compostos. Como fungicida, pode ser utilizado para uso humano, veterinário, agrícola ou florestal.

Exemplo de Concretização/Aplicação da Invenção

25 Como será detalhado abaixo, a mistura dos compostos foi testada em solução etanólica aplicada à mão do experimentador, na forma pura aplicada sobre papel de filtro segundo metodologia recomendada pela OMS, bem como em aerossóis com vários propelentes e solventes como acima mencionados no presente documento.

30 Bioensaios para determinar efeito repelente e pesticida

 Os testes de repelência foram realizados na sala de criação do

insetário do Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária, situado no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná a uma temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60 a 70%. Os dados de temperatura e umidade relativa, dentro da sala de criação e gaiola, foram monitorados com um termohigrômetro digital durante os experimentos.

Para a realização dos testes de repelência foram utilizadas gaiolas de madeira com telas nas laterais e vidro na face superior medindo 30 cm X 30 cm X 30 cm com 30 fêmeas do mosquito *A. aegypti*, todas copuladas sem ter passado pelo repasto sanguíneo. Os testes foram realizados no período diurno, respeitando a preferência para a atividade de hematofagia do mosquito, registrando a data e horário de realização dos testes. Os mosquitos foram originários de colônia mantida sob condições de laboratório, sendo livre de contaminação por arbovírus.

Através de um cronômetro digital foi registrado o tempo máximo de 5 minutos para os testes preliminares e de 15 minutos para os demais experimentos, e também registrado o tempo decorrido até a primeira picada. Ocorrendo mais que duas picadas antes do tempo máximo o experimento foi interrompido. No fim de cada teste foi registrado o número de picadas observadas na mão do analisador. Para os testes uma das mãos do analisador foi higienizada com sabão neutro e em seguida a face superior, inferior, lateral e a região entre os dedos, foram tratadas com soluções dos possíveis repelentes em etanol. A mão fechada foi introduzida na gaiola para realização dos testes, com o analisador sentado, ou seja, em posição de descanso, não tendo realizado esforço físico anteriormente à realização dos testes.

Inicialmente foram testadas as atividades de repelência de diversas concentrações de (*R*)-linalol e de (*E*)-cinamato de metila, não combinados, dissolvidos em etanol até um volume final de 1,5 mL. O teste controle foi efetuado usando-se apenas 1,5 mL de etanol. As tabelas 1 e 2 ilustram os resultados para algumas das concentrações testadas. Percebe-se nitidamente um aumento na atividade de repelência com o

aumento da concentração dos compostos na solução.

Tabela 1. Resultados da atividade de repelência frente ao *A. Aegypti* de algumas das soluções de (*R*)-linalol dissolvido em etanol a um volume final de 1,5 mL.

5

	Massa	Tempo 1ª picada	Tempo término	nº de picadas	
10	(R)-Linalol	100 mg	6 min 49 s	8 min 30 s	3
	(R)-Linalol	180 mg	13 min	14 min 30 s	3
	(R)-Linalol	200 mg	----	15 min	0
	(R)-Linalol	300 mg	----	15 min	0
	(R)-Linalol	500 mg	----	15 min	0

Tabela 2. Resultados da atividade de repelência frente ao *A. aegypti* de algumas das soluções de (*E*)-cinamato de metila dissolvido em etanol a um volume final de 1,5 mL.

15

	Massa	Tempo 1ª picada	Tempo término	nº de picadas	
20	(E)-Cinamato de metila	100 mg	1 min 10 s	1 min 40 s	6
	(E)-Cinamato de metila	200 mg	1 min 30 s	8 min	2
	(E)-Cinamato de metila	300 mg	----	15 min	0
	(E)-Cinamato de metila	500 mg	----	15 min	0

Para verificar efeitos sinérgicos utilizou-se nos testes de repelência uma mistura de (*R*)-linalol e (*E*)-cinamato de metila, em diferentes proporções, dissolvidos em etanol a um volume final de 1,5 mL. A tabela 3 mostra alguns resultados obtidos combinando-se os compostos onde fica evidenciado o efeito sinérgico quando os dois compostos estão presentes. Entre as diversas combinações testadas dos dois produtos naturais, a partir de uma certa relação entre eles, observou-se

30

além do aumento do efeito repelente o efeito adúlticida. Ressalta-se que o efeito adúlticida se pronuncia em uma determinada faixa de proporção, mas sempre tendo o linalol como majoritário, condição sem a qual resulta a perda do efeito adúlticida.

- 5 Tabela 3. Tempos de repelência frente ao *A. aegypti* de diferentes combinações de (*R*)-linalol e (*E*)-cinamato de metila dissolvidos em etanol a um volume final de 1,5 mL.

		Proporção massa/massa	Tempo 1° picada	Tempo termino	n° de picadas
10	L/CM	50 mg/50 mg	11 min	13 min	2
	L/CM	100 mg/50 mg	-----	15 min	0
	L/CM	100 mg/100 mg	----	15 min	0
	L/CM	180 mg/180 mg	-----	15 min	0
	L/CM	180 mg/ 90 mg	-----	15 min	0
	L/CM	180 mg/ 20 mg	-----	15 min	0

15

L = (*R*)-linalol; CM = (*E*)-cinamato de metila.

Inicialmente a atividade adúlticida da mistura de (*R*)-linalol ou do linalol racêmico com (*E*)-cinamato de metila foi observada com a morte de alguns mosquitos nos testes de repelência. Os bioensaios posteriores
 20 foram realizados conforme preconizado pelo manual WHO (1976) "*Resistencia de vectores y reservorios de enfermedades a los plaguicidas. Informe del Comité de Expertos de la OMS en Insecticidas*". Genebra; Série de Informes Técnicos, 585, para determinação da resistência fisiológica ou da suscetibilidade ao produto inseticida.

- 25 Foram utilizadas apenas fêmeas com idade fisiológica semelhante, porém não inferior a três dias e não superior a sete dias. Em um tubo de vidro de diâmetro interno de 4 centímetros e 12 centímetros de comprimento, adicionou-se um papel de filtro com gramatura 80 g/m², cortado de modo a cobrir toda a superfície interna do tubo, impregnado
 30 com 72 µL da mistura dos compostos naturais em diferentes proporções. Na sequência, adicionou-se 15 mosquitos (idade entre 3 e 4 dias) ao tubo.

- Após uma hora de exposição à mistura dos produtos naturais, os mosquitos foram transferidos para outra câmara de vidro de dimensões iguais e o estado dos mosquitos foi observado após 24 horas de permanência na câmara sem os produtos naturais, porém com
- 5 fornecimento de alimentação açucarada. Terminado o tempo de repouso, foi realizada a contagem da mortalidade. Os exemplares que não puderam se locomover e nem exibiram postura normal de repouso foram considerados mortos. Após os experimentos os exemplares foram mantidos em freezer -80°C por 24 horas para posterior incineração. Após
- 10 uma hora de exposição à mistura todos os mosquitos ficaram sem atividade e com as pernas voltadas para cima. Após 24 horas todos os mosquitos foram caracterizados como mortos. Esses testes, realizados em triplicata, mostraram a forte ação aduictida da mistura dos referidos produtos naturais.
- 15 A atividade aduictida de diferentes misturas contendo (*R*)-linalol e (*E*)-cinamato de metila ou linalol racêmico com (*E*)-cinamato de metila em diferentes concentrações e proporções dissolvidos em diferentes solventes como água e hidrocarbonetos desaromatizados leves e propelentes vários como propano, éter dimetílico, nitrogênio e mistura de
- 20 propelentes entre si foi avaliada. Através desses testes pode-se determinar qual a quantidade de compostos necessária nos aerossóis para que os mosquitos, quando em contato com um jato de curta duração, mostrassem knockdown quase instantaneamente, tendo depois sua mortalidade avaliada.
- 25 Para tal, 15 mosquitos fêmeas entre 3 a 4 dias de idade foram adicionados em câmaras de vidro de diâmetro interno de 4 centímetros e 12 centímetros de comprimento e mantidos em repouso por 15 minutos antes da experimentação para verificar a ocorrência de mortalidade devido a manipulação dos exemplares. Os mosquitos foram submetidos a
- 30 um jato de curta duração dos produtos, suficiente para colocar quase todos em contato com a mistura a ser avaliada. O teste controle foi

realizado com frascos contendo apenas o solvente e o propelente hidrocarboneto desaromatizado leve para se preparar os aerossóis, nas mesmas condições descritas acima. A atividade dos mosquitos foi avaliada até 5 minutos da exposição aos tratamentos. Os mosquitos foram deixados na câmara por 24 horas e, decorridos esse período de tempo, foram novamente avaliados.

Testes de ação tópica sobre *Loxosceles intermedia* e *Tityus serrulatus* foram realizados com a mistura de linalol racêmico e cinamato de metila, com aplicação de 1 gota utilizando pipeta de Pasteur, sobre o cefalotórax de 3 fêmeas adultas de cada espécie, com morte observada em menos de 60 min para todos os indivíduos.

Bioensaios para determinar efeito fungicida

Para determinar o efeito dos voláteis da mistura utilizou-se o procedimento a seguir: em tampas de placas de Petri foi fixado, com auxílio de fita dupla face, 1 círculo de papel de filtro (diâmetro de 4 mm) por tampa. Aos círculos de papel foram adicionadas alíquotas de 5, 10 ou 15 mL da mistura de linalol e cinamato de metila numa relação de 4:1 (m/m). Alíquotas de 40 mL da suspensão do patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* a 10^3 conídios mL⁻¹ foram depositadas sobre meio ágar-água (AA) em 4 pontos equidistantes nas placas de Petri contendo os tratamentos.

No tratamento controle foi adicionada água aos círculos de papel. As placas de Petri foram vedadas com filme plástico e incubadas em BOD, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas. Após 24 horas de incubação, o efeito da mistura de compostos sobre a germinação do patógeno foi avaliado pela contagem de 25 conídios por alíquota, em 4 placas (4 repetições), totalizando a contagem de 400 conídios. O critério utilizado na contagem foi considerar como germinado conídios com qualquer emissão de tubo germinativo. Após a primeira avaliação efetuada com 24 h de experimento, a tampa de Petri foi substituída por tampas sem tratamento e a placa levada às condições de incubação

descritas acima.

Nova avaliação após 72 h foi realizada para avaliar se tratava de efeito fungistático ou fungitóxico. A paralisação da germinação foi feita após as 72 horas de incubação utilizando-se 20 mL do corante azul de algodão com lactoglicerol. Em microscópio de luz, foram avaliados 25 esporos por alíquota totalizando 100 conídios por placa (repetição) e 400 conídios por tratamento. Os esporos que apresentaram qualquer emissão de tubo germinativo foram considerados como germinados. A tabela 4 sintetiza os resultados dos testes efetuados. Os resultados evidenciam uma atividade fungistática (paralisação do crescimento do patógeno na presença da mistura dos compostos) para os tratamentos contendo 5 e 10 μL da mistura dos compostos e uma atividade fungitóxica (morte do patógeno) para o tratamento contendo 15 μL da mistura.

Tabela 4. Inibição de germinação (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* tratados com a mistura de linalol e cinamato de metila – fase volátil nas concentrações de 5 μL , 10 μL e 15 μL por placa de Petri contendo meio ágar-água (AA) com volume de 75,36 cm^3 .

Tratamentos (μL)	Inibição (%) após 24 horas				Inibição (%) após 48 horas			
	1	2	3	4	5	6	7	8
5	100	100	98	99	0	0	0	0
10	100	100	100	100	0	0	0	0
15	100	100	100	100	100	100	100	100
Controle	0	0	0	0	0	0	0	0

Para a avaliação da atividade antifúngica da mistura dos compostos sobre a germinação quando em contato com *Colletotrichum gloeosporioides*, conídios em suspensão (10^3 conídios mL^{-1}) foram tratados com a mistura de compostos voláteis a 0,5% (5000 mL L^{-1}) e 1,0% (10000 mL L^{-1}). Para obtenção dos tratamentos nas concentrações de 0,5% e 1,0%, alíquotas de 2 e 4 mL da mistura de compostos voláteis

foram adicionadas em 400 mL da suspensão de conídios (103 conídios mL⁻¹), respectivamente. Aliquotas de 40 mL dos tratamentos foram depositadas sobre meio ágar-água (AA) em 4 pontos equidistantes em placas de Petri. No tratamento controle, suspensão do patógeno em água foi utilizada. As placas de Petri foram vedadas com filme plástico e incubadas em BOD, a 25 ± 2 °C, sob fotoperíodo de 12 horas. A paralisação da germinação foi feita após aproximadamente 24 horas de incubação, utilizando-se 20 mL do corante azul de algodão com lactoglicerol. Em microscópio de luz, foram avaliados 25 esporos por alíquota totalizando 100 conídios por placa (repetição) e 400 conídios por tratamento. Os esporos que apresentaram qualquer emissão de tubo germinativo foram considerados como germinados. Os resultados deste bioensaio são apresentados na tabela 5. Analisando-se a tabela 5 percebe-se uma baixa inibição de germinação quando a mistura dos compostos é colocada em contato direto com o patógeno.

Tabela 5. Inibição de germinação (%) de *Colletotrichum gloeosporioides* tratados com a mistura de linalol e cinamato de metila – fase de contato nas concentrações de 0,5% (5000 mL L⁻¹) e 1,0% (10000 mL L⁻¹).

Tratamentos (%)	Inibição (%) após 24 horas			
0,5	22	19	23	25
1,0	18	16	16	15
Controle	0	0	0	0

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

REIVINDICAÇÕES

- 1- Composição pesticida, repelente, fungicida e vermífuga **caracterizada** pelo fato de compreender linalol e cinamato de metila, sendo o linalol componente majoritário.
- 5 2- Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato dos componentes estarem em uma proporção de cerca de 4:1 de linalol : cinamato de metila.
- 3- Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato do cinamato de metila ser o (*E*)-cinamato de metila.
- 10 4- Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato do linalol ser o (*R*)-linalol ou a mistura racêmica de (*R*)-linalol e (*S*)-linalol.
- 5- Composição, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato do linalol ser o (*R*)-linalol.
- 15 6- Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato do linalol e do cinamato de metila estarem encapsulados, nanoencapsulados, microencapsulados ou sem encapsulamento.
- 20 7- Uso da composição, conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, **caracterizado** por ser na preparação de repelente de invertebrados: insetos, ácaros e aracnídeos; com ou sem adição de adjuvantes adicionais.
- 8- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato do repelente ser espacial em forma de velas; sachês com ou sem aquecimento; dispensadores eletrônicos; com aparato de volatilização.
- 25 9- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizado** pelo fato do repelente ser em forma de cremes; pastas; pomadas; ou diluídos em óleo de origem vegetal ou animal.
- 30 10- Uso da composição, conforme definida em qualquer uma

das reivindicações de 1 a 6, **caracterizado** por ser na preparação de pesticida de invertebrados: insetos, ácaros e aracnídeos; com ou sem adição de adjuvantes adicionais.

- 5 11- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato do pesticida ser em forma de aerossol; nebulizadores; emulsionadas em água para aspersão; em sachês com ou sem aquecimento; em soluções aquosas ou não aquosas.

- 10 12- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato do pesticida ser em forma de pastas; shampoos; cremes; soluções aquosas ou não aquosas; aerossóis.

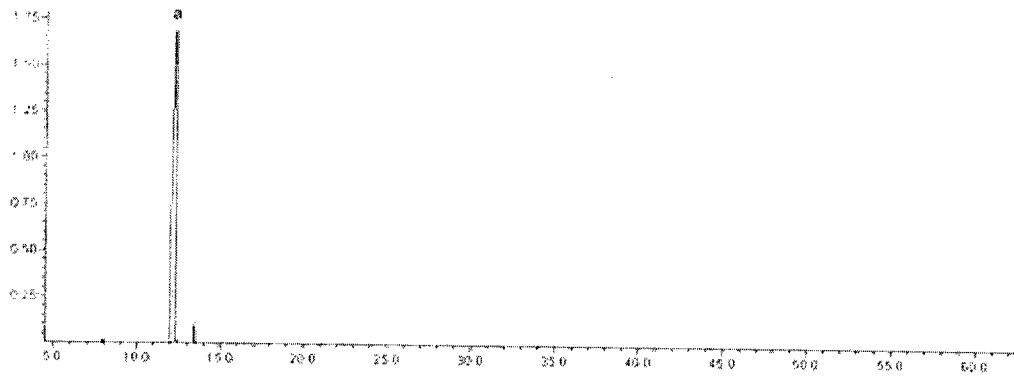
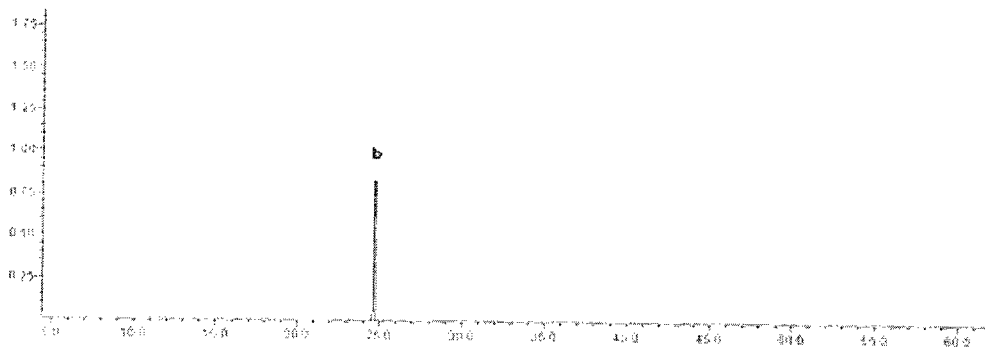
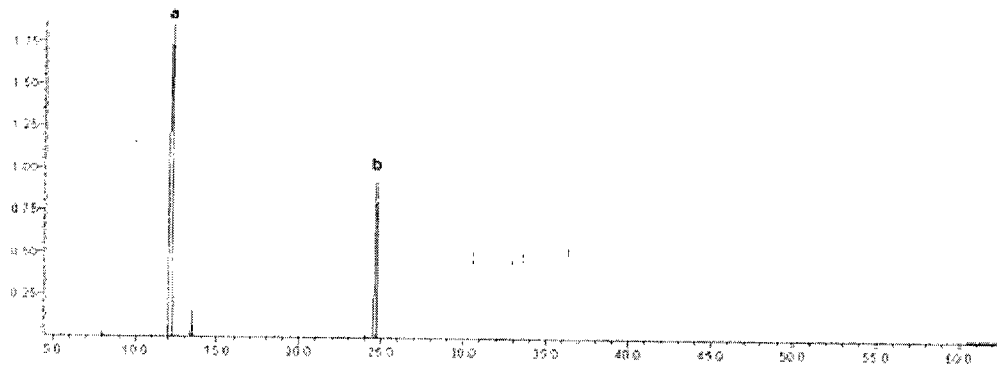
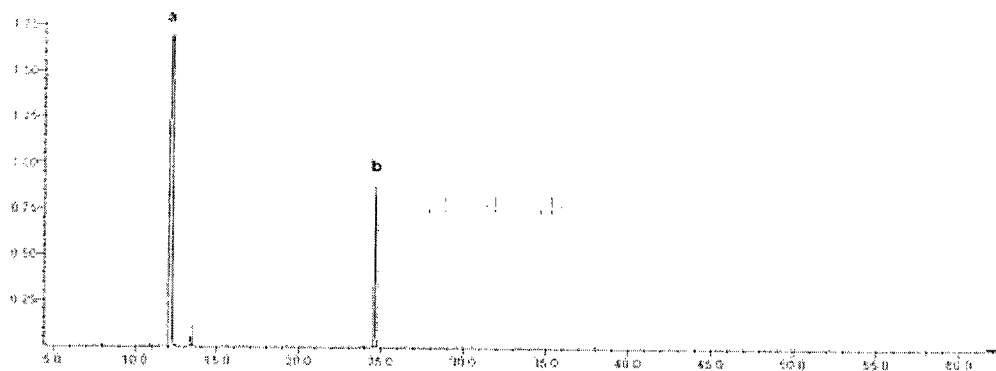
13- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato do pesticida ser para uso humano, veterinário, agrícola, domissanearia; agrícolas ou florestal.

- 15 14- Uso da composição, conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, **caracterizado** por ser na preparação de um fungicida com ou sem adição de adjuvantes adicionais.

- 20 15- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pelo fato do fungicida ser em forma de sachês ou aparato de que permita a liberação da mistura para o ambiente ou por ação de contato direta com os compostos.

16- Uso da composição, de acordo com a reivindicação 14, **caracterizado** pelo fato do fungicida ser para uso humano, veterinário, agrícola ou florestal.

- 25 17- Uso da composição, conforme definida em qualquer uma das reivindicações de 1 a 6, **caracterizado** por ser na preparação de um vermífugo com ou sem adição de adjuvantes adicionais.

**Figura 1A****Figura 1B****Figura 1C****Figura 1D**