



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 268 798**

51 Int. Cl.:

C07D 313/06 (2006.01)

C07D 307/77 (2006.01)

A01N 25/02 (2006.01)

A01N 65/00 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **98956129 .5**

86 Fecha de presentación : **26.10.1998**

87 Número de publicación de la solicitud: **1124818**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **22.08.2001**

54

Título: **Composición de azadiractina, extractos de azadiractina indica, composiciones y sus usos como insecticidas.**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2007

73

Titular/es: **Mohan R. Badhey**
170 Stirrup Lane
Syosset, New York 11791, US
Fortune Biotech Limited

72

Inventor/es: **Moorly, Sistla, Ramchandra y**
Kumar, Annam, Dilip

74

Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 268 798 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición de azadiractina, extractos de azadiractina indica, composiciones y sus usos como insecticidas.

La presente invención se refiere a procedimientos para la preparación de una composición de azadiractina de gran pureza que es estable al almacenamiento y que puede usarse como repelente de insectos, regulador del crecimiento de insectos y en formulaciones insecticidas que tienen un contenido en azadiractina en el rango entre 0,3 y 4%.

Antecedentes de la invención

El repelente de insectos, regulador del crecimiento de insectos y la azadiractina insecticida, así como las moléculas asociadas a la misma, aisladas a partir de las pepitas de *Azadirachta indica* están bien documentadas. "Margosa, un Arbol para Solucionar los Problemas Globales" (1992), National Research Council, National Academy Press, Washington D.C.

Se han publicado varios procedimientos para la extracción de la azadiractina a partir de las pepitas de la margosa usando tanto disolventes próticos como apróticos. Generalmente, estos procedimientos se refieren al uso de un solvente, concentración para eliminar el solvente y el agua y, finalmente, formulación de la azadiractina al porcentaje deseado, dependiendo de la pureza y de la concentración de azadiractina.

Se ha descubierto ahora que el inconveniente más significativo en los procedimientos anteriormente mencionados es la presencia de gomas que retienen el agua presente en las pepitas, desestabilizando así las formulaciones.

La patente CA-2188110 describe una formulación de un polvo seco insecticida enriquecido en azadiractina hasta un 88%, un concentrado emulsionable enriquecido hasta un 30% en azadiractina y un procedimiento para la preparación de dicha formulación y la concentración a partir de las pepitas o semillas de la margosa.

Resumen de la invención

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la extracción técnica y estable de la azadiractina, libre de esporas y de toxinas fúngicas, del exceso de agua y de gomas, adecuada para formulaciones que contengan 0,3-4%, o más, del ingrediente activo. Las impurezas eliminadas mediante el procedimiento reivindicado tienen un efecto desestabilizante sobre el ingrediente activo.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la preparación de formulaciones de azadiractina estables que resultan fácilmente dispersables en agua, que tienen una concentración alta del ingrediente activo y que son estables al almacenamiento así como cuando se aplican a plantas, y que comprenden glicoles o dioles como disolvente.

Descripción detallada de la invención

Según la presente invención se proporciona un procedimiento simple pero innovador para la extracción de la azadiractina sin usar mezclas de solventes o técnicas cromatográficas, utilizando, en parte, glicoles o dioles con más de dos átomos de carbono como solvente.

Puesto que la estabilidad de una formulación depende de la eliminación de las impurezas (que desestabilizan la formulación) de la azadiractina técnica, se ha desarrollado un procedimiento para la eliminación

de las gomas que retienen el agua y que ejercen una influencia desestabilizante, tanto en el producto técnico como en el producto formulado.

Las formulaciones que están al alcance reivindican una retención del 80% de la actividad del ingrediente activo durante un tiempo de almacenamiento fijado, mientras que un producto formulado y preparado tal como se describe en este documento retiene más del 90% de la actividad del ingrediente activo durante el mismo periodo de tiempo.

Las formulaciones de azadiractina en un solvente glicol o diol tienen una mejor dispersabilidad. Cuando se suspende en agua, la formulación proporciona una retención más larga en la superficie de la hoja dando lugar así a un aumento de la eficacia. Además, las presentes formulaciones están desprovistas de fitotoxicidad en comparación con otras formulaciones.

La presente invención proporciona un procedimiento multietapa para la purificación de azadiractina a partir de pepitas de margosa y proporciona también composiciones con una estabilidad de almacenamiento más prolongada.

La frase "una estabilidad de almacenamiento más prolongada" significa que en un almacenamiento en condiciones ambientales, generalmente en un contenedor hermético al aire a 25°C, una composición de la presente invención retiene el 90%, o más, de la actividad de la azadiractina después de, por lo menos, un almacenamiento durante un periodo de 12 meses.

Por tanto, la invención proporciona un procedimiento de purificación de una composición que contiene azadiractina sin goma y que comprende las etapas de: (a) triturar los granos de margosa para formar partículas; (b) remojar las citadas partículas en un alcohol alifático monohidroxilado; (c) separar dichas partículas y reducir el volumen del citado alcohol alifático monohidroxilado por evaporación; (d) mezclar un hidrocarburo alifático halogenado líquido al citado volumen reducido del alcohol para formar una mezcla de dos fases; (e) separar la citada fase del hidrocarburo alifático halogenado y la fase inferior que contiene el material insoluble y secar para obtener un residuo; (f) suspender el citado residuo en un hidrocarburo alifático líquido; (g) eliminar los precipitados que contienen la azadiractina y (h) secar para obtener la composición que contiene la azadiractina.

Preferiblemente, el procedimiento comprende las etapas de: (a) triturar los granos de margosa para formar partículas; (b) remojar las citadas partículas en un alcohol alifático monohidroxilado; (c) separar dichas partículas y reducir el volumen del citado alcohol alifático monohidroxilado por evaporación; (d) mezclar un hidrocarburo alifático halogenado líquido con el citado volumen reducido del alcohol para formar una mezcla de dos fases; (e) separar la citada fase del hidrocarburo alifático halogenado y la fase inferior que contiene el material insoluble y secar para obtener un residuo; (f) suspender el citado residuo en un hidrocarburo alifático líquido; (g) eliminar del mismo los precipitados que contienen la azadiractina; (h) disolver los citados precipitados de la etapa (g) en un alcohol alifático monohidroxilado; (i) añadir agua al mismo, mezclar y recuperar el material orgánico; (j) añadir un hidrocarburo alifático halogenado líquido al material orgánico de la etapa (i) y mezclar; (k) repetir las etapas (e)-(g) y (l) secar para obtener la composición que contiene la azadiractina.

Las realizaciones preferidas de la invención se

describen mejor a continuación y en las reivindicaciones adjuntas.

Las pepitas del árbol margosa (*Azadirachta indica* A. Juss) constituyen el material de partida. Las pepitas de la margosa se pueden secar y almacenar a temperaturas no inferiores a 10°C y no superiores a 35°C. Las pepitas se pueden almacenar hasta un año antes de su procesamiento.

Las pepitas, frescas o secas, se pulverizan hasta un tamaño de aproximadamente 0,25 mm de diámetro como preparación del procedimiento de extracción. La etapa de pulverización no debe tener lugar más de 1 día antes de que tenga lugar la extracción. El tamaño de las partículas no es crítico, resultando adecuado desde 0,25 mm de diámetro hasta aproximadamente 0,5 mm.

El fruto de la margosa pulverizado se sumerge en un solvente hidroxílico, tal como un alcohol monohidroxilado alifático. El alcohol monohidroxilado alifático tiene un tamaño desde 1 hasta 8 átomos de carbono y preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono. Los alcoholes adecuados incluyen metanol, etanol, isopropanol y butanol, siendo metanol el preferido.

Se usa por lo menos una relación 1:2, en peso, de margosa respecto al alcohol monohidroxilado alifático. La mezcla se agita de manera continua durante por lo menos diez horas a una temperatura de por lo menos temperatura ambiente y no superior a 50°C. A continuación, se separa la mezcla mediante medios conocidos tales como centrifugación, filtración o simple decantación.

Se recoge la fase líquida y se concentra, por ejemplo, por evaporación o, más rápidamente, al vacío, para proporcionar un concentrado de extracto de margosa. Las etapas de separación y concentración del extracto de margosa se deben llevar a cabo a una temperatura de por lo menos temperatura ambiente y no superior a 45°C.

Resulta preferido eliminar por lo menos un 95% del alcohol monohidroxilado alifático.

El concentrado resultante se mezcla a continuación, con agitación continua durante por lo menos dos horas, a una temperatura de 30-35°C, con un solvente hidrocarbonado alifático halogenado en una relación de por lo menos 1:2-1:3, en peso. Los hidrocarburos alifáticos halogenados adecuados son los clorados. Los ejemplos incluyen diclorometano, dicloroetano, cloroformo, tricloroetileno y dicloropropano. El solvente preferido es el diclorometano.

La capa inferior que contiene el material insoluble, incluyendo las gomas y resinas y otras impurezas solubles en los solventes conocidos, tales como acetato de etilo, se elimina, por ejemplo, mediante filtración usando materiales y procedimientos conocidos.

El extracto se lava con agua, se añade un volumen igual de agua a la solución de hidrocarburo alifático halogenado y se agita lentamente durante aproximadamente quince minutos. A continuación, se deja reposar la mezcla, sin agitación, durante aproximadamente 30 minutos. La fase orgánica inferior se elimina. El procedimiento se puede repetir y preferiblemente por lo menos se repite una vez más. La etapa de lavado se lleva a cabo a una temperatura entre 25-35°C.

La fase orgánica se recupera y se destila. Un procedimiento preferido es el de destilar el solvente a presión atmosférica hasta que se ha eliminado aproximadamente el 90% del solvente. El restante solvente

se puede eliminar a presión reducida a una temperatura entre 20-40°C.

El residuo siruposo se mezcla con, por lo menos ocho y no más de doce veces, el volumen del solvente hidrocarburo alifático, tal como hexano, octano o isoctano. El preferido es el hexano. El residuo se añade lentamente al hidrocarburo alifático en agitación, a 25-30°C durante un tiempo de aproximadamente 2-2,5 horas. La mezcla se agita durante al menos otras treinta horas. La azadiractina técnica permanece insoluble y se elimina, por ejemplo, por decantación o paso de la solución a través de un filtro de Nutsch.

La fase líquida contiene otros productos recuperables, tales como aceite de margosa y salanina.

El producto sólido se seca, generalmente en un secador a vacío a una temperatura no superior a aproximadamente 40-45°C y a una presión de aproximadamente 600 mm Hg para proporcionar un producto de azadiractina técnica de una pureza del 10-25% con menos del 0,5% de humedad retenida.

La azadiractina técnica obtenida mediante el procedimiento anteriormente descrito se puede disolver a continuación en un alcohol hidroxilado alifático que comprende por lo menos el 80% en volumen, y preferiblemente el 90% o más, de la preparación final, a la concentración deseada. Los alcoholes dihidroxilados alifáticos adecuados incluyen propilenglicol y otros alcoholes dihidroxilados de más de dos átomos de carbono.

Así, se puede obtener una composición con 0,3% del ingrediente activo por adición de 30 gramos de azadiractina técnica del 10% de pureza a una cantidad adecuada de propilenglicol para obtener un volumen final de un litro.

La formulación de alcohol dihidroxilado puede contener excipientes no críticos, tales como emulsionantes, tensioactivos, filtros solares, antioxidantes y similares. Los aditivos adecuados incluyen detergentes y ácido p-aminobenzoico. Las cantidades de dichos aditivos pueden variar según las características deseadas para la preparación final, el coste y similares. Así, una concentración adecuada de emulsionante va desde 3-8%, de tensioactivo desde 0,5-4% y de filtro solar o antioxidante desde 0,1-1%. Una muestra de formulación contiene 5% de emulsionante, 2% de tensioactivo y 0,5% de filtro solar/antioxidante.

La azadiractina técnica anterior puede purificarse más por disolución del producto seco en aproximadamente 2-3 veces el volumen del alcohol monohidroxilado alifático, tal como metanol, del modo ya descrito anteriormente, a una temperatura desde la temperatura ambiente hasta aproximadamente 30-35°C. A continuación se añade agua en una cantidad de cuatro veces el volumen del alcohol añadido y se mezcla para formar una dispersión. La dispersión se incuba durante aproximadamente dos horas con agitación. La fase líquida se obtiene mediante un procedimiento tal como filtración, y se concentra, tal como se ha descrito anteriormente.

A continuación se añade un hidrocarburo alifático halogenado, tal como diclorometano, esencialmente tal como se ha descrito anteriormente, para extraer la fase acuosa y se separa la fase orgánica. La fase orgánica se lava con agua, tal como se ha descrito anteriormente, y se llevan a cabo las restantes etapas, de manera idéntica a la descrita anteriormente, seguido de la mezcla con el hidrocarburo halogenado, para ob-

tener un producto de una mayor pureza, generalmente de aproximadamente 40% de pureza.

A continuación se describe la invención por medio de los ejemplos siguientes no limitantes.

Ejemplos

Ejemplo 1

A dieciocho toneladas del fruto de la margosa se les quita la pulpa, también los huesos, se seca (9 toneladas) y se almacena en silos a temperaturas no superiores a 35°C. A las pepitas se les quita la corteza y se pulverizan con un día de antelación a su procesamiento. Las pepitas pulverizadas (3 toneladas), con un grosor de 0,25 mm, se sumergen en metanol (12 toneladas) durante 10 hr y se pasa por un decantador para separar las fases sólida y líquida. El extracto metanólico se concentra al vacío inicialmente en un evaporador de membrana y finalmente en un evaporador de membrana fina en agitación para recuperar el 95% del metanol.

El concentrado se trata con diclorometano (1200 kg) y se eliminan las gomas y resinas que permanecen insolubles. El extracto se lava con agua para eliminar el metanol y se elimina el solvente en un evaporador

de membrana fina en agitación y, finalmente, el concentrado se trata con hexano para eliminar las trazas de aceite. El producto se seca en un secador al vacío de cono rotatorio a una temperatura no superior a 50°C para proporcionar un producto (60 kg) de una pureza del 20-25%.

El producto así obtenido está libre de ceras, gomas, proteína y agua que tienen fitotoxicidad y que ejercen una influencia desestabilizante durante el almacenamiento de las formulaciones así como del producto técnico.

Ejemplo 2

En general, las formulaciones insecticidas de azadiractina de la presente invención contienen más del 90% de disolvente glicol o diol, con o sin filtros solares y antioxidantes. No se añaden emulsionantes ya que el emulsionante natural de las pepitas resulta adecuado.

La formulación se prepara disolviendo 75 gramos de azadiractina técnica (pureza del 40-42%) con hasta 1 litro de propilen glicol y ácido p-aminobenzoico (10 g), se agita durante 30 minutos y se filtra para eliminar las partículas sólidas antes del llenado.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para purificar una composición que contiene azadiractina sin goma y que comprende las etapas de:

- (a) triturar las pepitas de margosa para formar partículas;
- (b) remojar las citadas partículas en un alcohol alifático monohidroxilado;
- (c) separar dichas partículas y reducir el volumen del citado alcohol alifático monohidroxilado por evaporación;
- (d) mezclar un hidrocarburo alifático halogenado líquido al citado volumen reducido del alcohol para formar una mezcla de dos fases;
- (e) separar la citada fase del hidrocarburo alifático halogenado y la fase inferior que contiene el material insoluble y secar para obtener un residuo;
- (f) suspender el citado residuo en un hidrocarburo alifático líquido;
- (g) eliminar del mismo los precipitados que contienen la azadiractina y
- (h) secar para obtener la composición que contiene la azadiractina.

2. Procedimiento según la reivindicación 1 que comprende las etapas de:

- (a) triturar las pepitas de margosa para formar partículas;
- (b) remojar las citadas partículas en un alcohol alifático monohidroxilado;
- (c) separar dichas partículas y reducir el volumen del citado alcohol alifático monohidroxilado por evaporación;
- (d) mezclar un hidrocarburo alifático halogenado líquido al citado volumen reducido del alcohol para formar una mezcla de dos fases;
- (e) separar la citada fase del hidrocarburo alifático halogenado y la fase inferior que contiene el material insoluble y secar para obtener un residuo;
- (f) suspender el citado residuo en un hidrocarburo alifático líquido;
- (g) eliminar del mismo los precipitados que contienen la azadiractina;
- (h) disolver los citados precipitados de la etapa (g) en un alcohol alifático monohidroxilado;
- (i) añadir agua, mezclar y recuperar la materia orgánica;
- (j) añadir un hidrocarburo líquido halogena-

do a la materia orgánica de la etapa (i) y mezclar;

(k) repetir las etapas (e)-(g); y

(l) secar para obtener la composición que contiene la azadiractina.

3. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, que comprende además la etapa de filtrar la citada mezcla después de la etapa (d) y antes de la etapa (e).

4. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el citado alcohol alifático monohidroxilado de la etapa (b) comprende no más de 4 átomos de carbono.

5. Procedimiento de la reivindicación 4, en el que el citado alcohol alifático monohidroxilado es etanol, metanol, propanol o butanol.

6. Procedimiento de la reivindicación 5, en el que el citado alcohol alifático monohidroxilado es metanol.

7. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que la citada etapa (a) se lleva a cabo a una temperatura que no exceda de 35°C.

8. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que las citadas partículas de la etapa (a) tienen aproximadamente 0,25 mm de diámetro.

9. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que, en la citada etapa (b), las partículas se remojan por lo menos durante 10 horas.

10. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el citado hidrocarburo alifático halogenado líquido es un compuesto clorado.

11. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que los citados hidrocarburos alifáticos halogenados líquidos no tienen más de tres átomos de carbono.

12. Procedimiento de la reivindicación 11, en el que el citado hidrocarburo alifático halogenado líquido es diclorometano, dicloroetano o dicloropropano.

13. Procedimiento de la reivindicación 12, en el que el citado hidrocarburo alifático halogenado líquido es diclorometano.

14. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que en la etapa (e), después de la separación de la citada fase del hidrocarburo halogenado, dicho hidrocarburo halogenado se mezcla con agua para formar una mezcla de dos fases y la citada fase del hidrocarburo halogenado se elimina.

15. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el citado hidrocarburo alifático es saturado.

16. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el citado hidrocarburo alifático no tiene más de diez átomos de carbono.

17. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el citado hidrocarburo alifático es hexano, octano o isooctano.

18. Procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que el citado hidrocarburo alifático es hexano.

19. Procedimiento de la reivindicación 2, en el que el volumen del citado alcohol alifático monohidroxilado en la etapa (h) es dos veces el volumen de los precipitados.

20. Procedimiento de la reivindicación 2, en el que la cantidad de agua en la etapa (i) es cuatro veces el volumen del alcohol de la etapa (h).