



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

(21) BR 102014032349-0 A2

(22) Data do Depósito: 23/12/2014

(43) Data da Publicação: 02/08/2016



(54) **Título:** COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE OBTENÇÃO DE PESTICIDA, MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS E USO

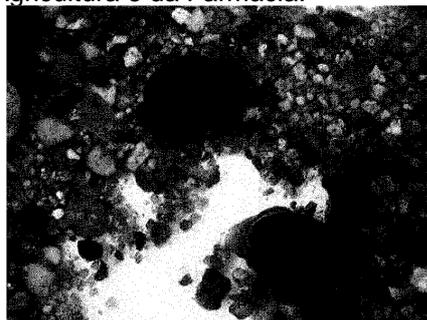
(51) **Int. Cl.:** A01N 65/08

(73) **Titular(es):** UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS, UNIÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E ASSISTÊNCIA

(72) **Inventor(es):** FABIANO CARVALHO DE BRITO, GUENDALINA TURCATO OLIVEIRA, GRACE GOSMANN

(74) **Procurador(es):** REMER VILLAÇA & NOGUEIRA ASSESSORIA E CONSULTORIA DE PROPRIEDADE INTELECTUAL S/S LTDA.

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE OBTENÇÃO DE PESTICIDA, MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS E USO. A presente invenção descreve uma composição que compreende o decocto de plantas do gênero Ilex. A presente invenção também descreve um processo de obtenção de pesticida que compreende a moagem de material vegetal de plantas do gênero Ilex, e a composição que compreende o pesticida obtido pelo referido processo. A presente invenção também descreve um método de controle de pragas e o uso de extrato de plantas do gênero Ilex e/ou frações padronizadas do gênero Ilex e/ou a composição da presente invenção. A presente invenção situa-se nos campos da Fitoquímica, da Agricultura e da Farmácia.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE OBTENÇÃO DE PESTICIDA, MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS E USO

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção descreve uma composição que compreende o decocto de plantas do gênero *lex*. A presente invenção também descreve um processo de obtenção de pesticida que compreende a moagem de material vegetal de plantas do gênero *lex*, e a composição que compreende o pesticida obtido pelo referido processo. A presente invenção também descreve um método de controle de pragas e o uso de extrato de plantas do gênero *lex* e/ou frações padronizadas do gênero *lex* e/ou a composição da presente invenção. A presente invenção situa-se nos campos da Fitoquímica, da Agricultura e da Farmácia.

Antecedentes da Invenção

[0002] O controle químico de pragas agrícolas ainda é amplamente baseado no uso de pesticidas sintéticos cujos precursores foram desenvolvidos desde a Primeira Guerra Mundial. No período pós-guerra até a atualidade, o mais utilizado foi o DDT (*diclorodifeniltriclorometano*) sendo ainda bastante empregado em lavouras e outras culturas agrícolas menores em países como a Índia e China. Sendo assim, a partir disso, o emprego desses pesticidas deu início a um atual mercado altamente rentável e poderosamente lucrativo (BERG H, 2011).

[0003] Os pesticidas são uma classe de compostos químicos sintetizados para o controle, prevenção e erradicação de organismos não desejáveis na produção agrícola em todo o mundo. São classificados em diversas categorias como herbicidas, fungicidas, inseticidas, moluscicidas *etc.* A maior parte desses compostos é altamente nociva, se não usados em circunstâncias controladas, trazendo riscos para a saúde humana e

principalmente ocasionando danos ambientais irreversíveis (PIMENTEL D & PESHIN R, 2014).

[0004] Segundo a agência Embrapa de Informação Tecnológica, são usados mundialmente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos por ano; sendo que somente no Brasil essa prática representa uma quantidade superior a 300 mil toneladas. Ou seja, o mercado consumidor no país alavancou um aumento de aproximadamente 700% em relação às duas últimas décadas (EMBRAPA, 2011).

[0005] Segundo o Ministério da Saúde e o Sistema de Informações Hospitalares do SUS, através do Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, constataram que mais de 73% das internações hospitalares, no ano de 2009 a 2011, foram devido ao envenenamento acidental de pesticidas de uso agrícola no Estado. Sendo que a faixa etária dos internados (17.88%) foi entre 20 e 29 anos (CEVS, 2012).

[0006] A Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO) expõe que além dos problemas já mencionados, os sintomas decorrentes a exposição e ingestão de agrotóxicos variam desde náuseas, vômitos e alergias, até efeitos nos sistemas metabólicos e reprodutivos, como disfunção endócrina e aberrações cromossômicas. Em consequência da alta toxicidade aguda e neurotoxicidade, os pesticidas são extremamente nocivos à saúde humana e também os maiores contaminantes dos alimentos e principalmente do meio ambiente (ABRASCO, 2012). Além dos danos funcionais, como a contribuição para a redução da biodiversidade, o agravo no uso dos pesticidas ocasiona danos a nível genético, molecular e tecidual dos organismos que estruturam as comunidades nas quais os meios de produção agrícola estão inseridos (BERTI *et al.*, 2009).

[0007] No Brasil, devido às suas extensas áreas cultivadas, o uso de pesticidas é bastante disseminado em diversas culturas produtivas, tais como, a soja, milho, algodão e, principalmente, o arroz.

[0008] Um dos maiores sistemas agrícolas mundiais e segundo lugar no *ranking* de alimentos produzidos é a cadeia produtiva do arroz. Mundialmente cultivado e consumido, o arroz está presente em quase todos os países do mundo, sendo a China e a Índia os maiores produtores; cerca de 90% da produção e consumo ocorrem na Ásia. A produção contabilizada da safra mundial nos anos de 2012 e 2013 foi de aproximadamente 735 milhões de toneladas (FAO, 2012). O Brasil ocupa o 9º lugar na lista dos 10 maiores produtores mundiais do arroz, contabilizando um total, até o ano de 2013, de 188,2 milhões de toneladas. Prevendo-se uma safra ainda maior para os anos de 2014 e 2015 (IBGE, 2014).

[0009] O Brasil tem uma posição mundial importante, tendo em vista que é o país que mais produz fora do continente asiático e detém mais de 50% da produção da América Latina. O cultivo orizícola brasileiro está concentrado na Região Sul do país, sendo que o Estado do Rio Grande do Sul é responsável por mais de 53% da produção nacional. As áreas de cultivo compreendem a Fronteira Oeste, Depressão Central, Campanha, Litoral Sul, Planície Costeira Externa da Lagoa dos Patos e Planície Costeira Interna da Lagoa dos Patos (EMBRAPA, 2005).

[0010] Devido à dependência de agrotóxicos no processo produtivo agrícola do país, o extenso uso desses produtos químicos resulta em variados, e até desconhecidos, meios de contaminação humana, do solo, da água e do ar. Um levantamento efetuado pela Divisão de Vigilância em Saúde Ambiental (CEVS/SES-RS) sobre os agrotóxicos aplicados no Estado do Rio Grande do Sul, realizado por bacias hidrográficas, apresentou altos índices em importantes regiões de produção agrícola. A região Nordeste, na Bacia Hidrográfica de Ijuí, Botuí e Piratinim, que compreende a produção de trigo, soja e milho, os índices foram de 13,361 litros/hab/ano. Na Fronteira Oeste, a maior região orizícola do Estado, na Bacia Hidrográfica de Ibicuí, os índices alcançam a faixa de 4,709 litros/habitante/ano. Entre todos os pesticidas avaliados, o *Glifosato* é o mais usado e comercializado. Dessa forma, há que

se implementar um monitoramento mais acurado pelos órgãos competentes para as contaminações hídricas para consumo humano e animal (BARRETO *et al.*, 2012).

[0011] Em consequência da existência de pragas, o contínuo uso de pesticidas para o seu controle, compõe as principais práticas de manejo em todos os cultivos de grãos. Segundo o Manual de Boas Práticas do Instituto Rio-grandense do Arroz (IRGA): “As pragas agrícolas (plantas invasoras, insetos, moluscos e doenças) são denominadas de fatores bióticos e são organismos que interferem na implantação da lavoura, no crescimento e no desenvolvimento das plantas prejudicando o rendimento de grãos. Esses diferentes tipos de organismos exercem estresses diretos e indiretos sobre a cultura, os quais apresentam distintos níveis de impacto sobre o potencial rendimento.” (IRGA, 2011). Estima-se que as perdas, decorrentes da incidência das pragas agrícolas, alternem entre 50% a 80%, dependendo do tipo de cultivo e manejo da lavoura (OERKE C, 2006).

[0012] Entre as pragas que reduzem ou trazem danos econômicos à produção do arroz, destacam-se pássaros (pássaro-preto: *Agelaius ruficapillus*), insetos (lagarta-da-folha, gorgulho-aquático, percevejo-do-colmo, percevejo-do-grão), e os moluscos. Esses últimos tornaram-se importantes pragas do arroz pré-germinado, e também no sistema irrigado sendo a espécie *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) a mais prejudicial e a que ocorre predominantemente nas lavouras, popularmente conhecido como *Aruá-do-banhado* ou *caramujo-do-arroz* (EMBRAPA, 2005; PADRÓN *et al.*, 2008). Assim, como esse molusco tem uma grande capacidade reprodutiva, e não há quaisquer produtos químicos registrados para o seu controle, portanto, esse método não é recomendado (EMBRAPA, 2005; HAYES, 2008, 2012). Em virtude dos hábitos alimentares, predominantemente noturnos e macrófitos, o consumo é preferencialmente pelas partes mais tenras das plântulas de arroz; também se alimentando de vegetação macrófita em geral, *in vivo* ou em decomposição. Na emergência das plântulas de arroz os prejuízos nas

lavouras podem causar danos econômicos consideráveis, podendo chegar até 90% se houver uma grande densidade de caramujos por m², em uma faixa de tamanho de 1,5 a 3,5 cm, quando são mais vorazes (CAZZANIGA & ESTEBENET, 1984; ESTEBENET A, 1995; JOSHI RC, 2007).

[0013] Fora da sua área de abrangência endêmica, o molusco *Pomacea canaliculata* também é considerado uma das mais importantes pragas agrícolas nos cultivos e lavouras de arroz de muitos países da Ásia. A espécie foi intencionalmente introduzida no continente asiático para criação ornamental de aquarofilia. E no começo da década de 1980, trazida da Argentina, foi introduzida em Taiwan (CHENG & KAO, 2006). A partir de então, junto com outras espécies do gênero, se disseminou ao longo dos anos seguintes, tornando-se estabelecida e a maior praga agrícola nas lavouras de arroz, de diversos países da Ásia como: Camboja (PREAP *et al.*, 2006), China (MOCHIDA, 1991; WU & XIE, 2006), Indonésia (HENDARSIH-SUHARTO *et al.*, 2006), Índia (RANAMUKHAARACHCHI & WICKRAMASINGHE, 2006), Japão, Filipinas e Vietnã (MOCHIDA, 1991; WADA, 2006; HALWART & BARTLEY, 2006; EPPO, 2013).

[0014] Além disso, devido à sua grande propagação em ambientes alagados, o molusco é responsável por surtos de meningites eusinfílicas na Ásia. Sendo capaz de ser hospedeiro intermediário e fontes de infecções humanas por *Angiostrongylus cantonensis* (Chen). Desse modo, o caramujo pode ser suscetível à carga parasitária e é totalmente capaz de transmitir a doença aos seres humanos ao longo dessas áreas invadidas, como a China. Sendo assim um substancial risco de saúde pública nas áreas invadidas onde esse caramujo se encontra (MOCHIDA, 1991; DENG ZH *et al.*, 2012; YANG TB *et al.*, 2013).

[0015] Desse modo, muitas espécies do gênero *Pomacea*, agrupadas pela denominação de “*Apple Snails*”, ou “*Golden Apple Snails*” (GAS) estão disseminadas e estabelecidas nesses ambientes invadidos. Sendo a espécie *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) a pior e classificada no *ranking* das 100

espécies mais invasivas do mundo (IUCN, 2014), tal espécie constitui um dos grandes problemas das espécies exóticas que representam a segunda das principais causas da perda da Biodiversidade mundial. Assim, as espécies exóticas invasoras definem uma problemática desafiadora necessitando de enfoques complexos, multidisciplinares e interdisciplinares para a sua erradicação e controle (MMA, 2014).

[0016] O controle químico de caramujos, pragas agrícolas e/ou vetores de doenças (esquistossomose, por exemplo) através do uso de moluscidas sintéticos é bastante aplicado, sendo os principais moluscidas: o sulfato de cobre, Gramaxone, Hidróxido de Cálcio, Metaldeído, N-tritilmorfolina (Frescon), Niclosamida (*Bayluscid*) (Neves, 2005).

[0017] Diante do panorama atual da perda de produtividade agrícola em função das pragas agrícolas (como, por exemplo, os moluscos) e da elevada toxicidade dos pesticidas atuais, é crescente a demanda por medidas alternativas de controle almejando sistemas autossustentáveis e, nesse contexto, a busca por composições pesticidas, frações padronizadas e/ou extratos de plantas tem crescido e tem se tornado uma importante linha de pesquisa de extensa aplicação agrícola.

[0018] Até o ano de 2010, segundo o IBGE, a colheita total de erva-mate foi de aproximadamente 425.641 toneladas de folhas, sendo que a região Sul do Brasil é a maior produtora, e o Rio Grande do Sul o maior produtor, comportando mais da metade de toda a produção nacional. O valor total de produção foi de aproximadamente R\$159.838 milhões de reais (IBGE, 2010). Nota-se que somente as folhas possuem valor comercial, sendo seus frutos rejeitos de produção e não possuindo nenhum valor comercial/produtivo agregado (PAVEI *et al.*, 2007; BORRÉ *et al.*, 2010; CANTO *et al.*, 2010; PEIXOTO *et al.*, 2011; MONTAGNER V, 2014). Sendo assim, os frutos são usados na germinação de novas mudas ou quando maduros utilizados para adubação das próprias árvores. Quando não, os galhos frutificados são excisados e descartados em razão do peso que as infrutescências fazem na

árvore podendo assim comprometer o cultivo (MONTAGNER V, 2014). A maturação dos frutos ocorre entre os meses de dezembro e abril, dependendo da região, ocorrendo predominância no estágio de imaturação em janeiro e tardiamente em fevereiro/março (OMAR D, 2009).

[0019] Conseqüentemente, há no estado da técnica a necessidade de prover novas composições pesticidas e frações purificadas de plantas e que possuam atividade pesticida desejada nos cultivos agrícolas, porém mantendo-se baixa toxicidade para evitar contaminações no meio ambiente. Na busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária, foram encontrados os seguintes documentos que tratam sobre o tema:

[0020] O documento US 2012321688 A1 revela o uso de saponinas provenientes da espécie *Gleditsia* como moluscicida em ambientes aquáticos e terrestres, mas, dentre outras razões técnicas, não revela, por exemplo, a composição que é revelada no presente pedido de patente, bem como as frações padronizadas butanólicas para controle de moluscos.

[0021] O documento CN 103004873 A revela o uso de talos de tabaco (planta) para o combate de moluscos em plantações de arroz e difere da presente invenção, dentre outras razões técnicas, por se tratar de outro gênero e espécie de planta e não se referir a uma composição como aquela que é revelada no presente pedido de patente ou a frações padronizadas do gênero *llex*.

[0022] O documento CN 1108474 A revela o uso de derivados de plantas como *Neem* em lavouras de arroz. Entretanto, dentre outras razões técnicas, refere-se a plantas de gênero e espécie distintas daquelas reveladas no presente pedido de patente, não se referindo também à composição que é revelada no presente pedido de patente ou às frações butanólicas do gênero *llex* do presente pedido de patente.

[0023] O documento US6649182 B2 refere-se a composições para o combate de moluscos e pragas em lavouras de arroz. No entanto, é evidente

que não se revela a composição ou a fração butanólica da presente invenção e/ou suas aplicações moluscicidas.

[0024] O documento WO 2008134510 A2 refere-se a composições particuladas moluscicidas contendo saponinas isoladas. Entretanto, claramente verifica-se que não são reveladas frações padronizadas butanólicas de plantas do gênero *Ilex* ou, ainda, a composição que se revela no presente pedido de patente e suas aplicações no controle de pragas.

[0025] Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

[0026] Portanto, resta na técnica a necessidade de prover novos pesticidas com menor toxicidade (pelo menos em algumas espécies de animais não alvo dos pesticidas) e/ou com menor agressividade para o meio ambiente, em especial com efeito moluscicida (ou seja, o de eliminar ou controlar a população de moluscos), e que sejam provenientes de extratos ou frações padronizadas / purificadas (ou seja, extratos não brutos) de espécies vegetais, bem como composições específicas que compreendem decocto de plantas do gênero *Ilex*.

Sumário da Invenção

[0027] Dessa forma, a presente invenção tem por objetivo resolver os problemas constantes no estado da técnica a partir de uma composição que compreende o decocto de plantas do gênero *Ilex*, composição esta que se mostrou, nos testes e resultados experimentais importante atividade pesticida/praguicida como, por exemplo, contra moluscos e vetores de doenças transmissíveis aos mamíferos.

[0028] É um objeto da presente invenção uma composição que compreende:

- a) decocto de plantas do gênero *Ilex*; e

b) pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmaceuticamente aceitável.

[0029] É outro objeto da presente invenção um processo de obtenção de pesticida compreendendo as etapas de:

- a) moagem de material vegetal de plantas do gênero *llex*; e
- b) decocção do material vegetal da etapa a) ou pelo menos uma maceração do material vegetal da etapa a) em uma combinação de solventes de diferentes polaridades.

[0030] É outro objeto da presente invenção uma composição que compreende:

- a) o produto obtido pelo processo de obtenção de pesticida conforme revelado neste pedido de patente e;
- b) pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmaceuticamente aceitável.

[0031] É outro objeto da presente invenção um método de controle de pragas que compreende a etapa de contatar o extrato de plantas do gênero *llex* e/ou frações padronizadas do gênero *llex* e/ou a composição conforme revelada neste pedido de patente em plantas.

[0032] É outro objeto da presente invenção o uso de extrato de plantas do gênero *llex* e/ou frações padronizadas do gênero *llex* e/ou a composição conforme revelada neste pedido de patente no preparo de composições pesticidas para o controle ou de pragas agrícolas.

[0033] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[0034] Com o intuito de melhor definir e esclarecer o conteúdo do presente pedido de patente são apresentadas as presente figuras:

[0035] A figura 1 mostra exemplares de moluscos da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0036] A figura 2 mostra folhas e frutos imaturos de *Ilex paraguariensis*.

[0037] A figura 3 mostra a concentração letal para 50% da população exposta de animais (CL50%) de decoctos de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* contra o caramujo da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0038] A figura 4 mostra o tempo letal para 50% da população exposta de animais (TL50%) de decoctos de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* contra o caramujo da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0039] A figura 5 mostra a concentração letal para 50% da população exposta de animais (CL50%) da fração butanólica de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* contra o caramujo da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0040] A figura 6 mostra o tempo letal para 50% da população exposta de animais (TL50%) da fração butanólica de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* contra o caramujo da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0041] A figura 7 representa a regressão linear entre mortalidade entre a composição com efeito pesticida contendo decocto e a fração butanólica de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis*.

[0042] A figura 8 mostra em A) decocto de folha liofilizado; B) Decocto de Fruto Liofilizado; C) Resíduo Aquoso de folhas liofilizado; D) Fração butanólica de folhas liofilizada; E) Resíduo Aquoso de Frutos liofilizado; e F) Fração butanólica de Frutos liofilizada.

[0043] A figura 9 mostra a CL50% de decoctos de frutos imaturos para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*).

[0044] A figura 10 mostra a TL50% de decoctos de frutos imaturos para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*).

[0045] A figura 11 mostra Cromatografias em Camada Delgada (CCD) de folhas e frutos imaturos de *Ilex paraguariensis*. Legenda dos extratos: ciclo= ciclohexano, Acet= acetato de etila, But= butanol, Aqua= resíduo aquoso. G1= saponina G1 isolada de erva-mate. As primeiras quatro colunas correspondem

aos extratos de folhas. As outras quatro colunas restantes correspondem aos extratos de frutos imaturos de erva-mate. Nota-se os diferentes padrões de coloração no conjunto dos extratos. O último conjunto (frutos imaturos) apresenta maior número de bandas caracterizadas por flavonoides e saponinas. Sistema eluente: (6:2:2:1), (Acetato de etila: Acetona: Ácido acético e H₂O). Revelação: Anisaldeído sulfúdrico e Reagente Natural (difenilburato 1% em metanol) seguido de aquecimento a 100°C.

Descrição Detalhada da Invenção

[0046] É um objeto da presente invenção uma composição que compreende:

- a) decocto de plantas do gênero *Ilex*; e
- b) pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmaceuticamente aceitável.

[0047] Em uma concretização, o decocto é de folhas e/ou de frutos de plantas do gênero *Ilex*.

[0048] Em uma concretização, os frutos de plantas do gênero *Ilex* são imaturos.

[0049] Em uma concretização, o decocto é de plantas selecionadas de pelo menos uma das espécies do grupo consistindo de: *Ilex paraguariensis*, *Ilex chamaedryfolia*, *Ilex brevicuspis*, *Ilex argentina*, *Ilex psammophila*, *Ilex theezans* e *Ilex dumosa*.

[0050] Em uma concretização, o decocto é liofilizado.

[0051] Em uma concretização, o decocto é de folhas e/ou frutos imaturos de plantas selecionadas do grupo consistindo de: *Ilex paraguariensis*, *Ilex chamaedryfolia*, *Ilex brevicuspis*, *Ilex argentina*, *Ilex psammophila*, *Ilex theezans*, *Ilex dumosa* e suas combinações.

[0052] Em uma concretização, o decocto é de folhas e/ou frutos imaturos de plantas da espécie *Ilex paraguariensis*.

[0053] É outro objeto da presente invenção um processo de obtenção de pesticida compreendendo as etapas de:

- a) moagem de material vegetal de plantas do gênero *Ilex*; e
- b) decocção do material vegetal da etapa a) ou pelo menos uma maceração do material vegetal da etapa a) em uma combinação de solventes de diferentes polaridades.

[0054] Em uma concretização, o referido processo compreende adicionalmente a etapa de fracionamento do produto macerado da etapa b) com pelo menos um solvente orgânico ou com água.

[0055] Em uma concretização, a maceração é em combinação de etanol e água.

[0056] Em uma concretização, a maceração é em combinação de 70% de etanol e 30% de água (em volume).

[0057] Em uma concretização, o material vegetal de plantas do gênero *Ilex* é folhas, frutos ou combinação dos mesmos.

[0058] Em uma concretização, o material vegetal é de plantas da espécie *Ilex paraguariensis*.

[0059] Em uma concretização, o material vegetal é de frutos imaturos de plantas da espécie *Ilex paraguariensis*.

[0060] Em uma concretização, o fracionamento é com pelo menos um solvente orgânico selecionado do grupo que consiste de: álcoois, ésteres, éteres e combinações dos mesmos.

[0061] Em uma concretização, o fracionamento é butanol e/ou água.

[0062] Em uma concretização, são realizadas pelo menos duas macerações consecutivas do material vegetal da etapa a) do processo de obtenção de pesticida, maceração esta realizada em uma combinação de solventes de diferentes polaridades.

[0063] Em uma concretização, o produto resultante das duas macerações consecutivas do material vegetal da etapa a) do processo de obtenção de pesticida é submetido à liofilização.

[0064] É outro objeto da presente invenção uma composição que compreende:

a) o produto obtido pelo processo de obtenção de pesticida conforme revelado neste pedido de patente e;

b) pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmaceuticamente aceitável.

[0065] Em uma concretização, o produto obtido pelo processo de obtenção de pesticida conforme revelado neste pedido de patente é um decocto de plantas do gênero *Ilex*.

[0066] Em uma concretização, o produto obtido pelo processo de obtenção de pesticida conforme revelado neste pedido de patente é um decocto de plantas do grupo consistindo de: *Ilex paraguariensis*, *Ilex chamaedryfolia*, *Ilex brevicuspis*, *Ilex argentina*, *Ilex psammophila*, *Ilex theezans*, *Ilex dumosa* e suas combinações.

[0067] Em uma concretização, o produto obtido pelo processo de obtenção de pesticida conforme revelado neste pedido de patente é um decocto de plantas da espécie *Ilex paraguariensis*.

[0068] Em uma concretização, o produto obtido pelo processo de obtenção de pesticida conforme revelado neste pedido de patente é um decocto de folhas e/ou frutos imaturos de plantas da espécie *Ilex paraguariensis*.

[0069] É outro objeto da presente invenção um método de controle de pragas que compreende a etapa de contatar o extrato de plantas do gênero *Ilex* e/ou frações padronizadas do gênero *Ilex* e/ou a composição conforme revelada neste pedido de patente em plantas.

[0070] Em uma concretização, as plantas são monocotiledôneas, dicotiledôneas ou combinação das mesmas.

[0071] Em uma concretização, as plantas são gramíneas ou leguminosas.

[0072] Em uma concretização, as plantas são selecionadas dentre os gêneros *Saccharum*, *Oryza*, *Zea*, *Gossypium*, *Arachis* e *Glycine*.

[0073] Em uma concretização, as monocotiledôneas são do gênero *Oryza*.

[0074] Em uma concretização, as monocotiledôneas são selecionadas dentre as espécies: *Oryza barthii*, *Oryza glaberrima*, *Oryza latifolia*, *Oryza longistaminata*, *Oryza punctata*, *Oryza rufipogon* e *Oryza sativa*.

[0075] Em uma concretização, as pragas são moluscos.

[0076] Em uma concretização, as pragas são moluscos do gênero *Pomacea*.

[0077] Em uma concretização, as pragas são moluscos da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0078] Em uma concretização, as pragas são moluscos vetores de doenças de mamíferos.

[0079] É outro objeto da presente invenção o uso de extrato de plantas do gênero *Ilex* e/ou frações padronizadas do gênero *Ilex* e/ou a composição conforme revelada neste pedido de patente no preparo de composições pesticidas para o controle ou de pragas agrícolas.

[0080] Em uma concretização, as pragas agrícolas são moluscos.

[0081] Em uma concretização, as pragas são moluscos do gênero *Pomacea*.

[0082] Em uma concretização, as pragas são moluscos da espécie *Pomacea canaliculata*.

[0083] Em uma concretização, as pragas são moluscos vetores de doenças de mamíferos.

Definições de alguns termos empregados neste pedido de patente

Fração padronizada

[0084] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como a fração de um extrato vegetal que não se trata de uma mera diluição obtida do extrato vegetal e sim uma fração padronizada que foi obtida por um processo não convencional de extração vegetal.

Extrato padronizado

[0085] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como o extrato de plantas que não é o extrato bruto vegetal e sim um extrato vegetal que foi submetido a um processo de purificação e/ou enriquecimento dos seus componentes químicos, bem como possível padronização quantitativa dos componentes químicos, desse modo não se tratando de um extrato simplesmente isolado da natureza.

Solventes orgânicos

[0086] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como qualquer solvente orgânico como, por exemplo, álcoois ramificados ou não ramificados (metanol, etanol, propanol, isopropanol, n-butanol, butanol, isobutanol, sec-butanol, terc-butanol, dentre outros), hexano, ciclohexano, acetato de etila, clorofórmio, aldeídos, cetonas, dentre outros e, ainda, as misturas de solventes orgânicos podem estar em qualquer proporção em volume e/ou em massa de modo a prover a melhor extração/eluição como, por exemplo, 5%-95%, 10%-90%, 15%-85%, 25%-75%, 30%-70%, 50%-50%, dentre outras combinações possíveis.

Solventes de diferentes polaridades

[0087] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como qualquer combinação de dois ou mais solventes. Exemplos não limitantes são: combinação de solventes de polaridade crescente (ciclohexano, acetato de etila, n-butanol), combinação de etanol e água, combinação de ésteres e álcoois, dentre outras combinações.

Moluscos

[0088] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como qualquer animal pertencente ao filo Mollusca. Exemplos de moluscos são, por exemplo, mas não se limitando a, os moluscos do gênero *Pomacea* (incluindo os caramujos-de-arroz ou de nome científico *Pomacea canaliculata* (Lamarck)), os moluscos do gênero *Biomphalaria*, dentre outros gêneros e espécies de moluscos causadores de prejuízos materiais e econômicos em plantações agrícolas e de doenças parasitárias em seres humanos e em outros animais.

Pragas

[0089] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como quaisquer animais do filo Mollusca.

Pesticida ou Praguicida

[0090] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como um produto resultante de um processo que se inicia com a moagem de plantas do gênero *Ilex* e que poderá, então, ser associado a pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmacêuticamente aceitável para gerar então a composição com efeito pesticida (ou seja, que possua o efeito molusquicida pretendido).

Veículo farmacêuticamente e/ou agriculturalmente aceitável

[0091] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como qualquer veículo que seja aceitável para uma formulação farmacêutica ou agrícola, provendo estabilidade à composição e permitindo a aplicação do(s) componente(s) ativo(s) em diversas formas, como pó, grânulos, suspensões, géis, líquidos para pulverização, dentre outras formas possíveis. Os veículos podem ser líquidos ou sólidos e compreendem também excipientes e carreadores agriculturalmente aceitáveis. O termo compreende também surfactantes, os quais podem ser o veículo agriculturalmente aceitável.

Decocção

[0092] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como o processo em que se ferve a mistura de partes da planta (como, por exemplo, folhas, frutos, caules, etc.) com solventes orgânicos e/ou água.

Decocto

[0093] O termo, no presente pedido de patente, deve ser entendido como o material que é obtido no processo de decocção, sendo que este material pode ser submetido a outras etapas para tratamento do material como, por exemplo, mas não se limitando a, um processo de liofilização ou de purificação adicional com uma combinação de solventes orgânicos de diferentes polaridades como, por exemplo, mas não se limitando a: n-butanol, etanol,

propanol, água, acetato de etila, clorofórmio, bem como combinações dos mesmos.

[0094] A presente invenção apresenta, dentre outras razões técnicas, inúmeras vantagens imediatamente reconhecidas por um técnico no assunto: a excelente atividade moluscicida frente a diferentes espécies de moluscos que afetam as plantações agrícolas e também frente a diferentes espécies de moluscos vetores de doenças transmitidas aos animais, incluindo os seres humanos e, também, a possibilidade de haver menor agressividade/toxicidade a espécies não alvo do pesticida, principalmente a possibilidade de menor agressividade/toxicidade das frações purificadas.

[0095] Outra importante vantagem no uso das frações padronizadas da erva-mate é o fato de que os frutos imaturos da erva-mate são atualmente considerados rejeitos industriais e, portanto, aproveita-se o que seria descartado pela indústria, permitindo-se uma aplicação nova e não óbvia para o tratamento eficaz no controle de pragas em plantações diversas, como indicam os testes e resultados experimentais que foram realizados.

Exemplo 1. Exemplo de concretização da presente invenção

[0096] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

Exemplo I

1. Realização da Coleta Vegetal

[0097] Todo o material vegetal foi coletado no município de Ilópolis/RS (coordenadas: 28°55'9.83"S; 52°7'41.62"O). O embasamento da escolha do período de coleta dos frutos imaturos foi segundo o estudo de **Gargiullo & Stiles, 1993** onde foi investigado o teor de saponinas presentes nos frutos imaturos e maduros de outras espécies do gênero *Ilex*. Constando-se que, durante a imaturação dos frutos, o teor de saponinas é maior comparado aos os frutos maduros; predominantemente nos meses de janeiro onde os frutos encontram-se todos imaturos e com um bom tamanho de coleta e manuseio.

2. Extração, fracionamento (fração aquosa e fração butanólica) e decocção

[0098] O mesmo procedimento de extração foi utilizado para folhas e frutos imaturos separadamente: após a coleta, o material vegetal foi seco em estufa de ar circulante a uma temperatura não superior a 40°C+/-5°C durante sete dias. Depois desse período, o material vegetal foi moído em um moinho de facas, tendo por finalidade a redução mecânica em pequenos fragmentos para facilitar o processo extrativo.

[0099] Seguiram-se, então, as seguintes etapas:

[0100] **2.1. Etapa de fracionamento:** para a obtenção da **fração aquosa e butanólica**, o pó resultante da moagem (300g) foi primeiramente submetido a uma maceração em etanol/água (70:30 v/v) durante sete dias em temperatura ambiente. Posteriormente filtrado, o macerado foi novamente recolocado em mais uma maceração em álcool/água (70:30 v/v) por mais sete dias. Após essa etapa, todo o conteúdo etanólico foi reunido e evaporado em um evaporador rotatório não superior à 40°C. Em seguida, o conteúdo aquoso concentrado foi submetido a um fracionamento com solventes de polaridade crescente (*Ciclohexano, Acetato de Etila, Álcool n-butílico*). Logo depois, a fração butanólica foi concentrada em evaporador rotatório a temperatura não superior a 40°C e posteriormente liofilizada, sendo a fração aquosa residual também liofilizada. A liofilização compreende a eliminação total dos solventes extrativos. O produto liofilizado foi então utilizado nos experimentos biológicos.

[0101] **2.2. Decocção:** para obtenção do decocto foi empregada a técnica de decocção. A técnica de decocção consiste em uma extração a quente, na qual mantém o material vegetal em contato durante o tempo necessário para se atingir o ponto de ebulição da água destilada (em torno de 10-15 min, 100°C). O pó resultante da moagem dos frutos imaturos foi submetido à decocção em 1:10 v/v (água/pó) por aproximadamente 15 minutos. O conteúdo líquido foi filtrado em algodão e o material vegetal restante foi novamente submetido ao mesmo processo de ebulição. As duas

extrações foram reunidas e esfriadas em temperatura ambiente para posterior liofilização e serem utilizadas nos procedimentos experimentais.

[0102] O decocto obtido pode ser então adicionado a um veículo agriculturalmente e/ou farmacologicamente aceitável, desse modo tendo-se a composição pesticida para ampla aplicação em áreas (agrícolas ou não) infestadas por moluscos para controle ou eliminação de tais animais.

3. Experimentos realizados com as frações purificadas e os decoctos de folhas e frutos imaturos de *Ilex paraguariensis*

[0103] 3.1 Frações purificadas aquosas e butanólicas e também decoctos de folhas e frutos imaturos de *Ilex paraguariensis*

[0104] As frações aquosas, butanólicas e posteriormente os decoctos de *folhas e frutos* imaturos de *Ilex paraguariensis* foram testadas, e assim, avaliadas as mortalidades dos animais expostos. Para tais testes, os animais foram expostos às seguintes concentrações: **0 mgL⁻¹, 2.5 mgL⁻¹, 5 mgL⁻¹, 10 mgL⁻¹, 20 mgL⁻¹, 25 mgL⁻¹, 50 mgL⁻¹, 100 mgL⁻¹, 200 mgL⁻¹, 1000 mgL⁻¹ e 1500 mgL⁻¹** de frações aquosa e butanólica. Tais concentrações referem-se às obtidas a partir das folhas de *Ilex paraguariensis*.

[0105] Foram observadas mortalidades em concentrações mais altas das frações aquosas e butanólicas de folhas.

[0106] Ao longo desses experimentos, alguns ensaios paralelos usando diretamente o pó resultante da moagem dos frutos imaturos foram utilizados e obteve-se atividade em concentrações muito mais baixas do que as utilizadas para as outras frações das folhas. Nesses ensaios paralelos, alguns animais foram submetidos à experimentação com o pó dos frutos moídos nas seguintes concentrações: **250 mgL⁻¹ e 500 mgL⁻¹** e obteve-se 100% de mortalidade em menos de 36h (dados apresentados nas Tabelas 2 e 3 do presente pedido de patente).

[0107] A partir de tais resultados, decidiu-se trabalhar com decoctos liofilizados em função de uma melhor técnica de solubilização do produto e para uma melhor aplicação no desenvolvimento experimental.

[0108] Ademais, para os ensaios de exposição dos animais aos decoctos liofilizados de folha e frutos imaturos primeiramente foram utilizadas as seguintes concentrações: **0 mgL⁻¹, 100 mgL⁻¹, 250 mgL⁻¹, 500 mgL⁻¹, 1000 mgL⁻¹**. Obteve-se uma significativa atividade letal somente em decoctos de frutos imaturos em todas as concentrações testadas após em torno de 36 horas. Os decoctos de folhas não tiveram nenhuma atividade letal comparado aos controles para essas concentrações (dados apresentados na Tabela 4 do presente pedido de patente).

[0109] Os caramujos foram divididos em 6 grupos de 5 animais em aquários com capacidade de 5L, tendo uma densidade de 1 animal por litro de água (decolorada), conforme a concentração crescente de extratos (**Decoctos e fração n-butanol de frutos imaturo**), separadamente: **grupo 0:** Controles, **grupo 1:** 10 mgL⁻¹; **grupo 2:** 20 mgL⁻¹; **grupo 3:** 30 mgL⁻¹; **grupo 4:** 40 mgL⁻¹; **grupo 5:** 50 mgL⁻¹. O grupo controle de cinco animais foi o mesmo em todos os experimentos, mantidos em conjunto no momento experimental sem nenhuma adição de extratos, somente com água decolorada. Os testes foram realizados em um sistema estático, sem reposição de água, disponibilidade de alimento, e sem aeração. Todos os experimentos foram feitos em triplicata, com o período de observação a cada 2h para avaliação de mortalidade em um total de 36h de monitoramento. A mortalidade foi diagnosticada por estímulo de uma agulha histológica e aqueles animais que não tiveram retração ao estímulo foram considerados mortos, contabilizados e retirados do aquário no momento do óbito e posteriormente acondicionados em refrigeração -80°C. Quando persistia a dúvida quanto ao óbito dos animais, estes foram colocados em água destilada e confirmada então a ausência de responsividade.

[0110] Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, CEUA/PUCRS, sob o protocolo de aprovação de número 13/00353. Concomitante, os cuidados procedentes para experimentação foram conforme o trabalho *The Arrive Guides of National Centre for the Replacement,*

Refinement & Reduction of Animals in Research, London, UK (Kilkenny et al., 2010).

[0111] **3.2. Análise de Dados:** A avaliação dos resultados da relação das concentrações e respostas (óbitos) foi submetida à análise de regressão linear. Os valores de CL50% e de TL50% foram estimados pelo método Probit (Trimmed Spearman-Kärber, Hamilton *et al.* 1977). Em todos os testes, foi utilizado o programa estatístico SPSS versão 20.

4. Resultados da aplicação da composição contendo o decocto de *Ilex paraguariensis* e da fração butanólica purificada.

[0112] Os dois extratos dos frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* foram efetivos no controle químico do caramujo praga do arroz *Pomacea canaliculata*. A concentração letal (CL50%) e o Tempo Letal (TL50%) dos extratos de decocto estão representados, respectivamente, nas figuras 3 e 4. Já, a Concentração Letal (CL50%) e o Tempo Letal (50%) da fração butanólica estão representados, respectivamente, nas figuras 5 e 6. A regressão linear entre mortalidade entre os dois extratos está representada na figura 7.

[0113] A CL50% de decoctos de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* para o caramujo foi de 26.66 mgL⁻¹ (p<0.05), com um limite superior de 31.44 mgL⁻¹ e um limite inferior de 18.35 mgL⁻¹ com um intervalo de confiança de 95% (figura 3). A TL50% foi de 16h (p<0.05), com um limite superior de 17.6 h e um limite inferior de 15.6h com um intervalo de confiança de 95% (figura 4).

[0114] A CL50% da fração butanólica de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* para o caramujo foi de 24.74 mgL⁻¹ (p<0.05), com um limite superior de 29.13 mgL⁻¹ e um limite inferior de 20.04 mgL⁻¹ com um intervalo de confiança de 95% (figura 5). A TL50% foi de 25.2h (p<0.05), com um limite superior de 26.7h e um limite inferior de 23.8h com um intervalo de confiança de 95% (figura 6).

5. Discussão dos resultados obtidos neste exemplo 1 de concretização da invenção

[0115] 5.1. Decocto e fração butanólica de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis*

[0116] Em ambas concretizações desta invenção, tanto no decocto quanto na fração butanólica de frutos imaturos, pode-se observar uma atividade biológica bastante efetiva em relação aos controles. Nas primeiras horas de aplicação, tanto do decocto quanto da fração butanólica, observou-se o comportamento de retração dos animais. A retração dos animais neste exemplo 1 indica claramente que há a presença de componentes tóxicos provenientes dos decoctos e frações butanólicas de frutos imaturos de erva-mate em todas as concentrações do delineamento experimental para o caramujo *Pomacea canaliculata*.

[0117] As Cromatografias em Camada Delgada (CCD) comprovam a presença de saponinas, flavonoides e outros compostos nos extratos (decoção/ fração butanólica) de *Ilex paraguariensis* com uma maior quantidade e coloração nos frutos imaturos em comparação com as folhas, conforme indicam os resultados apresentados na figura 11.

[0118] Tanto no decocto quanto na fração butanólica obteve-se uma intensa espuma no momento da aplicação do produto. Tal fato corrobora para a presença de saponinas no decocto e na fração butanólica, pois a presença de espuma é um diagnostico padrão para esse tipo de molécula.

[0119] 5.2. Mudanças de comportamento dos animais expostos aos decoctos / frações butanólicas

[0120] Ao longo do experimento, os animais controles continuavam com o comportamento padrão de deslocamento no aquário, com movimentações tentaculares e uma intensa exploração do aquário nos períodos noturnos; enquanto que os animais expostos aos extratos dos frutos imaturos ficavam retraídos, ou no fundo dos aquários, ou boiando a maior parte do tempo. Além disso, os animais expostos tinham uma intensa secreção de muco no opérculo com muitas bolhas de ar aprisionadas.

[0121] A análise visual dos animais expostos aos decoctos demonstrou que esse extrato apresentou uma atividade mais intensa, porque logo depois da aplicação os animais se retraíram instantaneamente. Diferentemente a isso, os animais expostos às frações butanólicas mais lentamente tiveram esse comportamento de retração.

[0122] **5.3. Comparação da atividade moluscicida das frações purificadas (extrato obtido após a decocção e extrato butanólico) de folhas e frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* em relação a outras plantas empregadas (com compostos químicos distintos) no controle de moluscos**

[0123] Em comparação com outras plantas utilizadas no controle químico de *Pomacea canaliculata*, os extratos de decocção e extratos butanólicos dos frutos imaturos da erva-mate se mostraram mais eficazes no controle desse molusco. Por exemplo, o extrato de *Sapindus mukorossi* Gaertn. (Sapindaceae) possuiu um efeito moluscicida com uma CL50% de 85,22 mgL⁻¹, em um total de 72h de experimentação (Huang et al. (2003)). Neste exemplo 1 de realização preferencial, obteve-se uma CL50% de 24.74 mgL⁻¹ para a fração butanólica de frutos maduros e de 26.66 mgL⁻¹ para o decocto de frutos imaturos. O TL50% foi de 16h para os decoctos e 25h para fração butanólica.

[0124] Segundo Latip *et al.* (2012), utilizando extratos de sementes da planta *Azadiractha indica* (Neem) obtiveram uma CL50% de 32.8 g/L (Latip *et al.*, 2012). Os resultados aqui investigados, portanto, apresentam uma concentração letal de cerca de ou pelo menos mil vezes mais baixa, conforme mostraram os resultados revelados neste pedido de patente, evidenciando de forma concreta a maior viabilidade do uso dos extratos de erva-mate para um controle eficiente do caramujo praga do arroz e de vetores transmissores de doenças de mamíferos.

[0125] Em comparação à investigação de Martin R *et al.*, (2008) onde foram utilizadas saponinas extraídas de *Chenopodium quinoa* sob tratamento alcalino, contra o molusco *Pomacea canaliculata*, se alcançou uma CL50% de

33 mgL⁻¹ em 24 horas (Martin R *et al.*, 2008). Já neste exemplo de realização preferencial da presente invenção, os resultados e testes experimentais mostraram que os extratos de erva-mate apresentaram atividade biológica contra moluscos nas concentrações de 24.74 mgL⁻¹ e 26.66 mgL⁻¹, obtendo-se 50% de mortalidade com TL50% de, respectivamente, 25 horas e 16 horas. Acima das concentrações de 24.74 mgL⁻¹ e de 26.66 mgL⁻¹, a mortalidade dos moluscos alcançou 100%.

[0126] 5.4. Das técnicas de decocção e de combinações de solventes e eluição empregadas para obtenção das frações purificadas (decocto e fração butanólica)

[0127] A decocção é uma técnica que se mostrou, neste exemplo de concretização, bastante eficiente para a obtenção de um decocto de plantas do gênero *Ilex* e também de uma fração purificada possuindo atividade moluscicida, assim como a combinação da decocção com a técnica de liofilização. Os frutos imaturos depois de secos adquirem uma constituição rígida e de difícil processamento. Assim, a decocção e a posterior liofilização do extrato se mostraram eficazes no manuseio e solubilização em água no momento da aplicação. Já a extração com solventes orgânicos possui um custo monetário envolvido em seu processamento.

[0128] Em ambos os extratos obteve-se mortalidade somente nas concentrações acima de 10 mgL⁻¹, sendo a fração butanólica com a concentração letal média um pouco menor (24.74 mgL⁻¹) que o decocto (26.66 mgL⁻¹) de acordo com os resultados obtidos. Contudo, testes estatísticos devem ser aplicados para podermos afirmar que esta diferença seja significativa, visto que, os valores da CL50% são muito próximos. As diferenças em relação as TL50% do decocto e fração butanólica podem ser em relação ao processo extrativo. A decocção permite um tipo de extração não seletiva, disponibilizando um complexo dos componentes químicos possivelmente mais tóxicos com uma toxicidade mais imediata. No processo extrativo da fração butanólica, o fracionamento incide na seletividade dos componentes químicos

mais polares presentes nos frutos imaturos, possibilitando talvez uma toxicidade mais tardia. Considerando essas peculiaridades, podemos afirmar que ambos os extratos mostraram atividade molusquicida em relação aos controles.

[0129] As Tabelas 1 a 4 a seguir mostram os resultados experimentais obtidos tanto com a composição que contém o decocto de *Ilex* quanto as frações aquosa e butanólica de *Ilex* (folhas e frutos imaturos).

Tabela 1. Frações utilizadas: aquosa e butanólica de Folhas de *Ilex paraguariensis*. Ensaio paralelo com pó de frutos imaturos. N: 5

Tabelas de Mortalidade

Fração Aquosa das folhas	24H	36H	48H	96H
C1: 2,5mg/L	0	2	0	0
C1: 5mg/L	0	1	0	0
C1: 10mg/L	0	0	0	0
C1: 20mg/L	0	0	0	0

Fração butanólica de folhas	24H	36H	48H	96H
C1: 2,5mg/L	0	1	0	1
C1: 5mg/L	0	1	0	0
C1: 10mg/L	0	0	0	2
C1: 20mg/L	0	0	0	0

Fruto Moído	24H	36H	48H	96H
C1: 100mg/L	5			

Tabela 2: Frações testadas: aquosa e butanólica de Folhas de *Ilex paraguariensis*. Ensaio paralelo com pó de frutos imaturos. N: 5

Fração aquosa das folhas	24H	36H	48H	96H
C1: 25mg/L	0	0	0	0
C1: 50mg/L	0	0	1	0
C1: 100mg/L	0	0	0	0
C1: 200mg/L	0	0	0	0

Fração n-butanólica das folhas	24H	36H	48H	96H
C1: 25mg/L	0	0	0	0
C1: 50mg/L	0	0	0	0

C1: 100mg/L	0	0	0	0
C1: 200mg/L	0	0	0	0
frutos moídos	24H	36H	48H	96H
250mg/L	2			

Tabela 3: Frações utilizadas: aquosa e butanólica de Folhas de *Ilex paraguariensis*. Ensaio paralelo com pó de frutos imaturos. N: 15

Tabelas de mortalidades				
Fração Aquosa das Folhas	24H	36H	48H	96H
C1: 1000mg/L	1			
C1: 1500mg/L	1	1		
Fração n-butanólica das folhas	24H	36H	48H	96H
C1: 1000mg/L	5			
C1: 1500mg/L	4	1		
Frutos moídos	24H	36H	48H	96H
500mg/L	5			

Tabela 4. Frações utilizadas: decoctos de folhas e de frutos imaturos. N: 15 cada ensaio. Controles: n: 15.

Tabelas de mortalidade				
Decoctos das Folhas	24h	36h	48h	96h
C100	0	0	0	0
C250	0	0	0	0
C500	0	0	0	0
C1000	0	0	0	0
Decoctos dos Frutos	24h	36h	48h	96h
C100	2	13		
C250	0	15		
C500	0	15		
C1000	0	15		

Controles	24h	36h	48h	96h
0 mg/L	0	0	0	0

[0130] 5.5 Resultados experimentais de toxicidade do decocto obtido pela presente invenção em animais aquáticos

[0131] Os resultados experimentais de toxicidade do decocto de plantas do gênero *Ilex* em animais aquáticos estão indicados nas figuras 9 e 10. É de se notar que foram utilizados alevinos da espécie *Rhamdia quelen* e que as consideráveis diferenças entre a concentração letal observada para caramujo e alevinos, bem como os tempos de letalidade, são em função de os moluscos apresentarem respiração aquática facultativa ao passo que os alevinos possuem respiração totalmente dependente do meio aquático.

[0132] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE OBTENÇÃO DE PESTICIDA, MÉTODO DE CONTROLE DE PRAGAS E USO

1. Composição **caracterizada** por compreender:
 - a) decocto de plantas do gênero *Ilex*; e
 - b) pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmacologicamente aceitável.
2. Composição de acordo com a reivindicação 1 **caracterizada** pelo decocto ser de folhas e/ou de frutos de plantas do gênero *Ilex*.
3. Composição de acordo com a reivindicação 2 **caracterizado** pelos frutos de plantas do gênero *Ilex* serem imaturos.
4. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 **caracterizada** pelo decocto ser de plantas selecionadas de pelo menos uma das espécies do grupo consistindo de: *Ilex paraguariensis*, *Ilex chamaedryfolia*, *Ilex brevicuspis*, *Ilex argentina*, *Ilex psammophila*, *Ilex theezans*, *Ilex dumosa* e suas combinações.
5. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4 **caracterizado** pelo decocto ser liofilizado.
6. Processo de obtenção de pesticida **caracterizado** por compreender as etapas de:
 - a) moagem de material vegetal de plantas do gênero *Ilex*; e
 - b) decocção do material vegetal da etapa a) ou pelo menos uma maceração do material vegetal da etapa a) em uma combinação de solventes de diferentes polaridades.
7. Processo de acordo com a reivindicação 6 **caracterizado** por adicionalmente compreender a etapa de fracionamento do produto macerado da etapa b) com pelo menos um solvente orgânico ou com água.
8. Processo de acordo com a reivindicação 6 ou 7 **caracterizado** pelo material vegetal de plantas do gênero *Ilex* serem folhas, frutos ou combinação dos mesmos.

9. Processo de acordo com a reivindicação 7 ou 8 **caracterizado** pelo fracionamento ser com pelo menos um solvente orgânico selecionado do grupo que consiste de: álcoois, ésteres, éteres e combinações dos mesmos.

10. Composição **caracterizada** por compreender:

- a) produto obtido pelo processo conforme definido em qualquer uma das reivindicações 6 a 9; e
- b) pelo menos um veículo agriculturalmente e/ou farmacêuticamente aceitável.

11. Método de controle de pragas **caracterizado** por compreender a etapa de contatar o extrato de plantas do gênero *Ilex* e/ou frações padronizadas do gênero *Ilex* e/ou a composição conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 5 e/ou a composição conforme definida na reivindicação 10 em plantas.

12. Método de acordo com a reivindicação 11 **caracterizado** pelas plantas serem monocotiledôneas, dicotiledôneas ou combinação das mesmas.

13. Método de acordo com a reivindicação 12 **caracterizado** pela monocotiledônea ser do gênero *Oryza*.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 11 a 13 **caracterizado** pelas pragas serem moluscos.

15. Uso de extrato de plantas do gênero *Ilex* e/ou frações padronizadas do gênero *Ilex* e/ou a composição conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 5 e/ou a composição conforme definida na reivindicação 10 **caracterizado** por ser no preparo de composições pesticidas para o controle ou eliminação de pragas agrícolas.

16. Uso, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelas pragas agrícolas serem moluscos.

FIGURAS

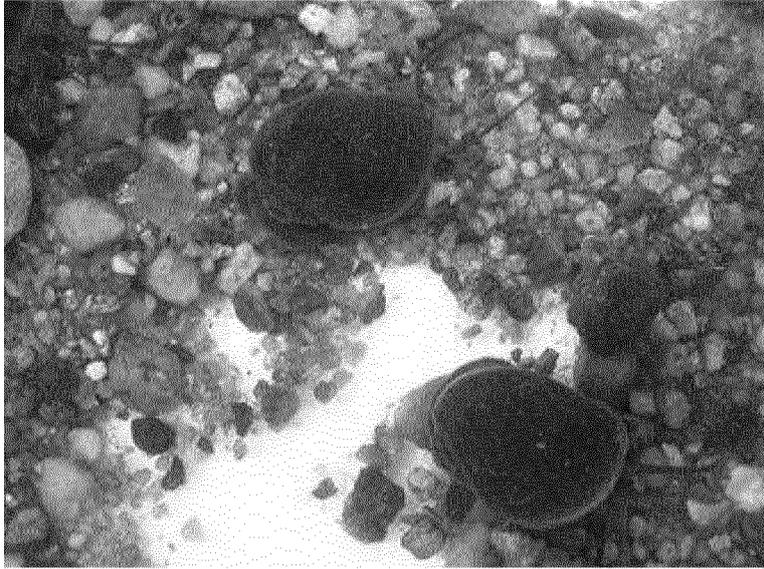


Figura 1



Figura 2

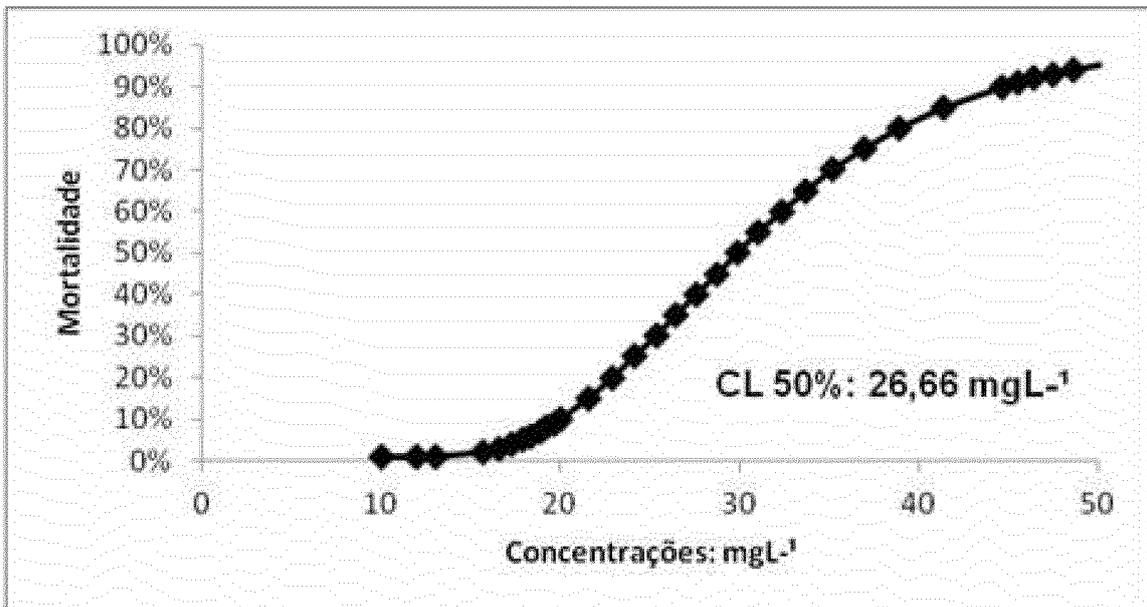


Figura 3

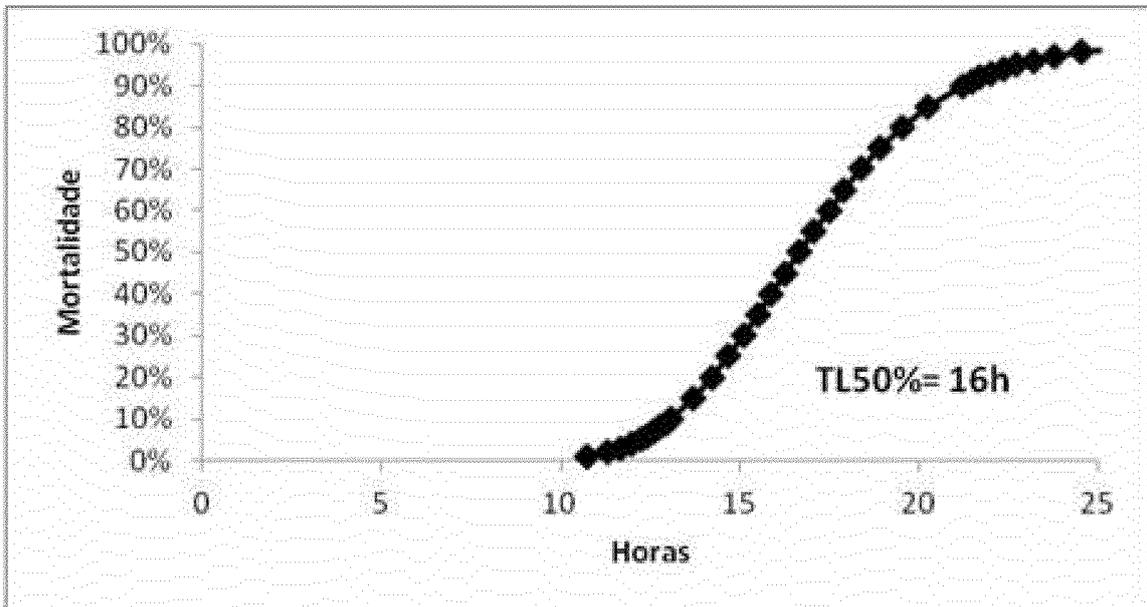


Figura 4

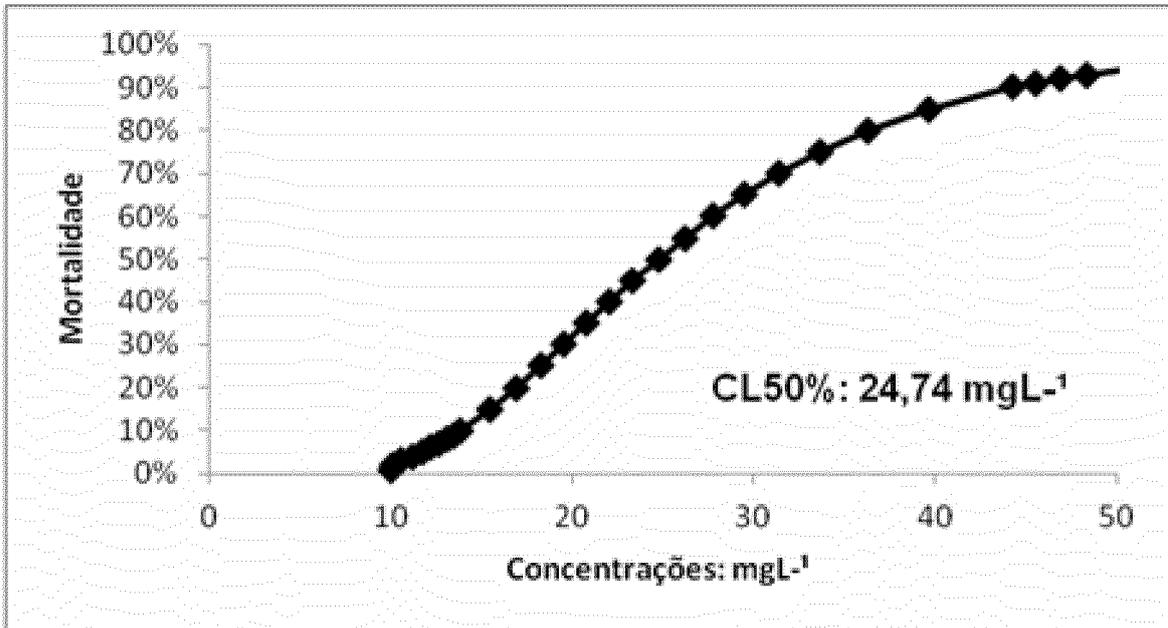


Figura 5

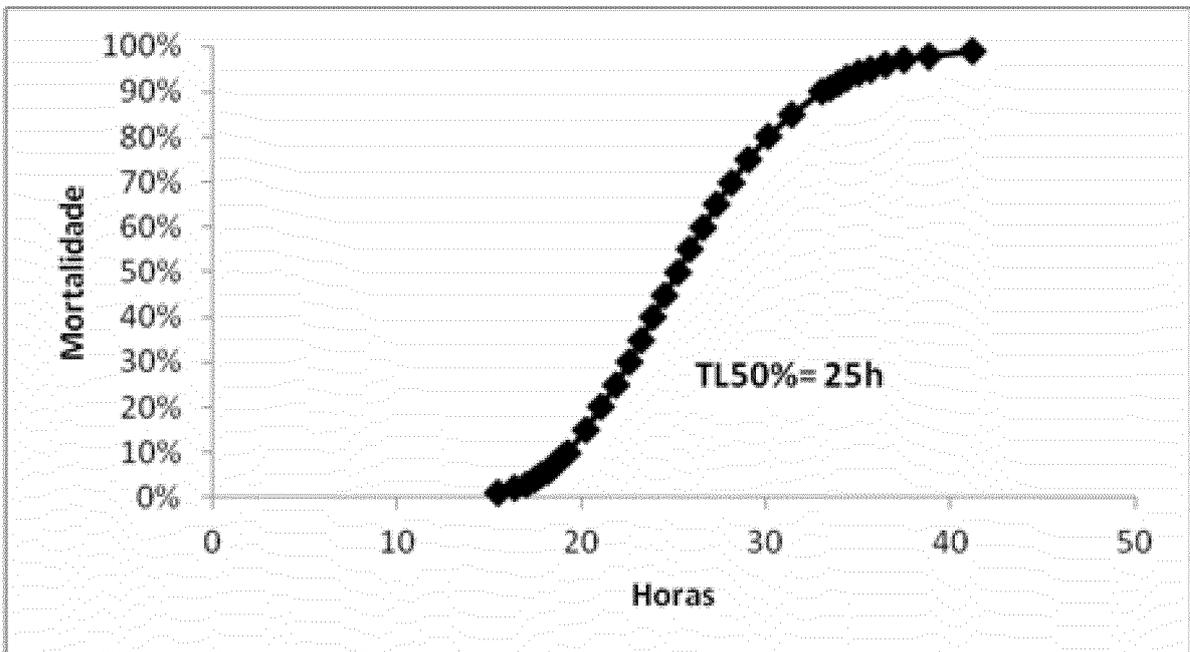


Figura 6

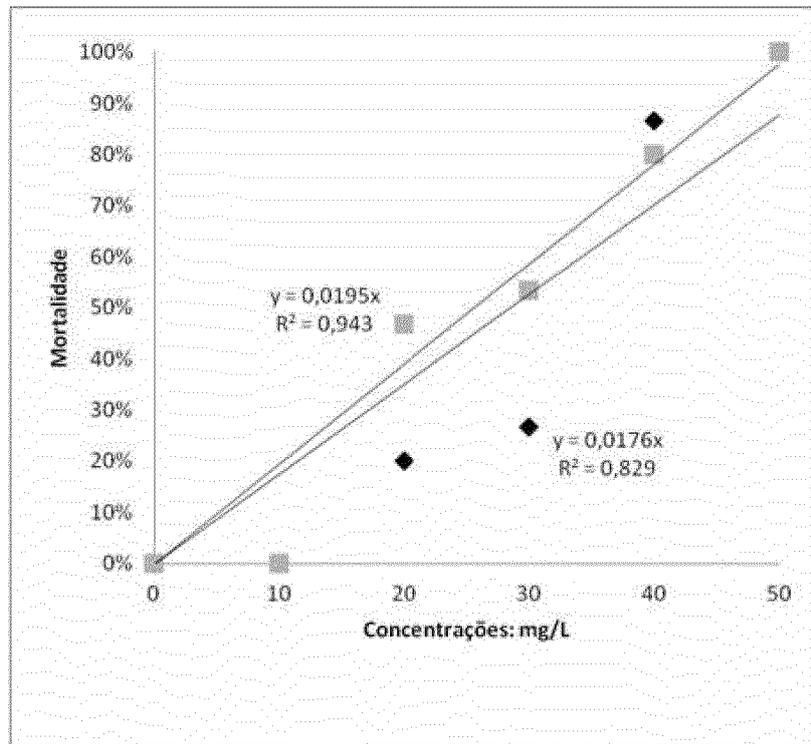


Figura 7

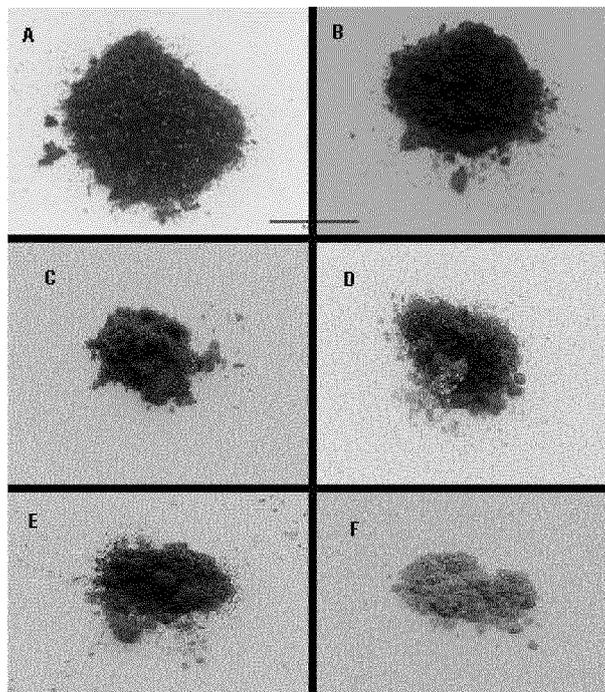


Figura 8

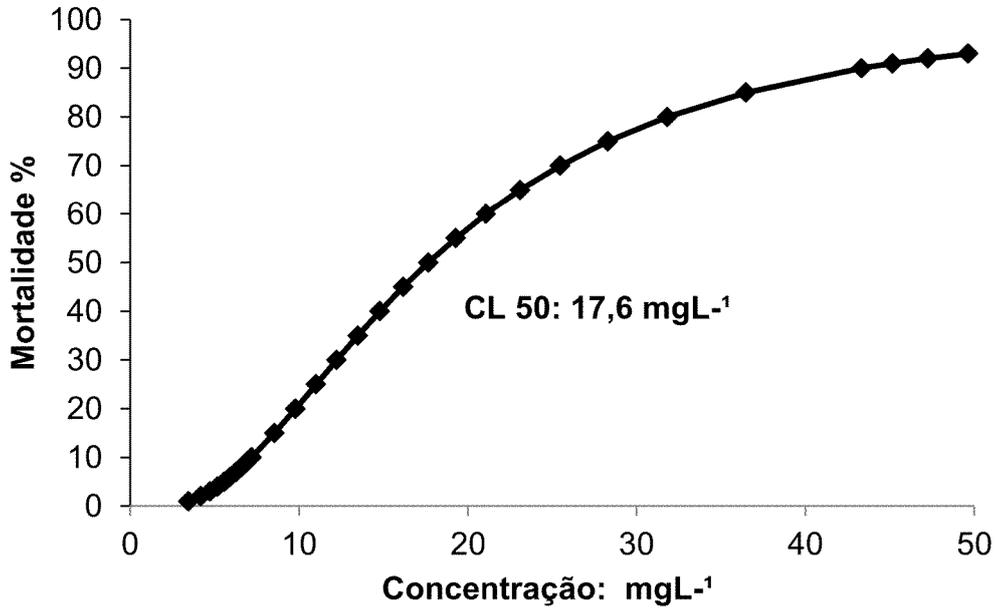


Figura 9

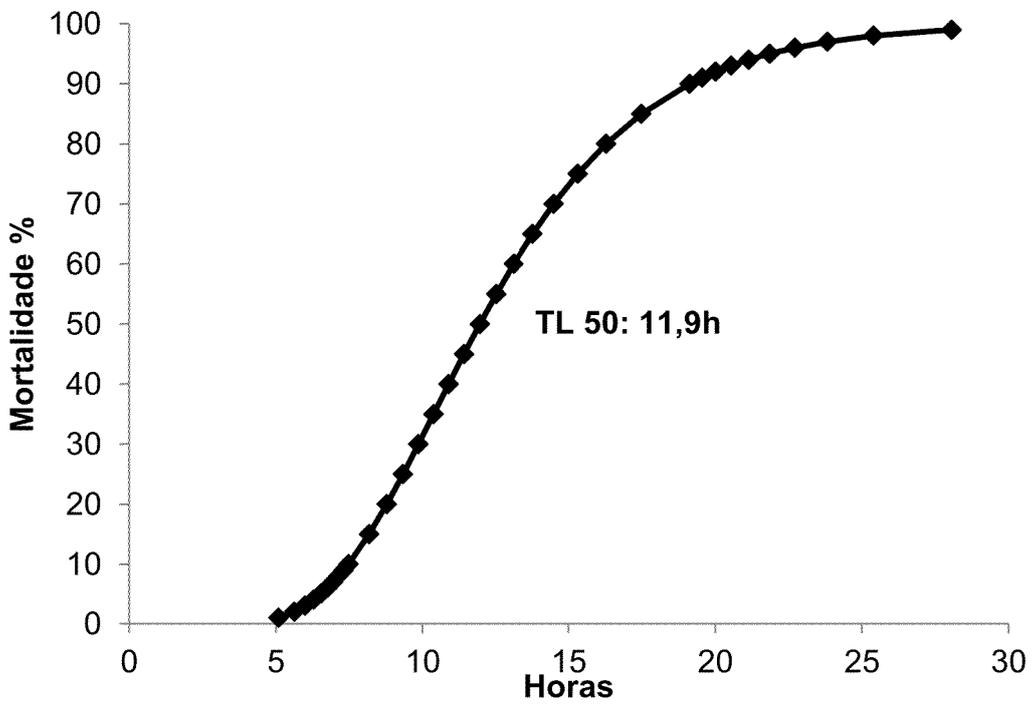


Figura 10

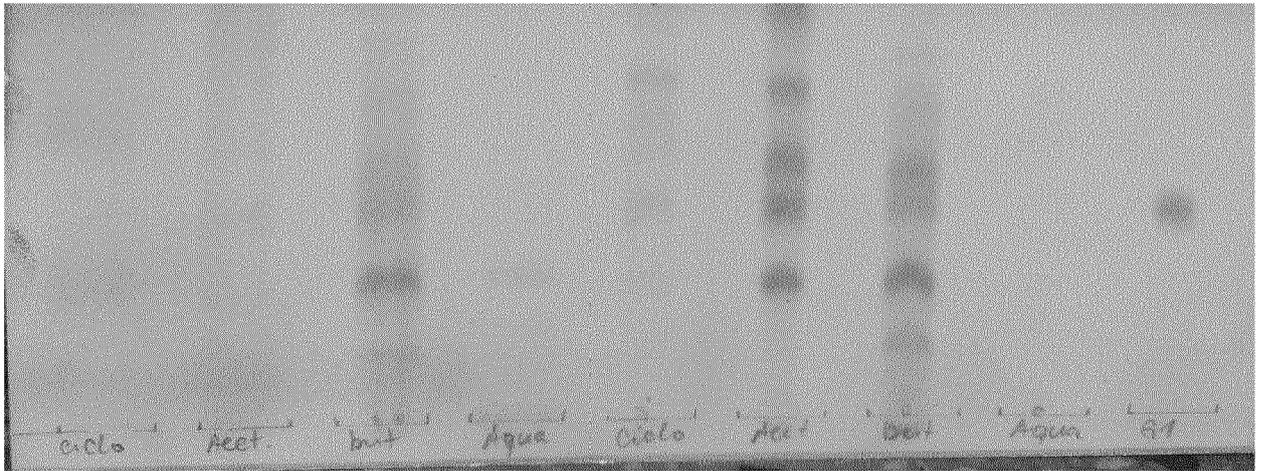


Figura 11

Resumo**COMPOSIÇÃO, PROCESSO DE OBTENÇÃO DE PESTICIDA, MÉTODO DE
CONTROLE DE PRAGAS E USO**

A presente invenção descreve uma composição que compreende o decocto de plantas do gênero Ilex. A presente invenção também descreve um processo de obtenção de pesticida que compreende a moagem de material vegetal de plantas do gênero Ilex, e a composição que compreende o pesticida obtido pelo referido processo. A presente invenção também descreve um método de controle de pragas e o uso de extrato de plantas do gênero Ilex e/ou frações padronizadas do gênero Ilex e/ou a composição da presente invenção. A presente invenção situa-se nos campos da Fitoquímica, da Agricultura e da Farmácia.