

COMPOSIÇÕES BIOLÓGICAS NATURAIS ANTIBACTERIANAS E
ANTIVIRAIS, COMPOSTOS, PROCESSO DE OBTENÇÃO E SEU USO.

[0001] A presente invenção trata de composições biológicas naturais antibacterianas e antivirais com aplicação na área hospitalar e domiciliar, em particular, compostos biocida, que compreendem ácido ricinoleico proveniente da extração do óleo de mamona, dietanolamina e própolis, processo de obtenção dos compostos e seu uso. A presente invenção pode ser usada para controlar vários microrganismos patogênicos, como bactérias pertencentes aos gêneros *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* e *Bacillus*; assim como fungos de ambiente hospitalar (filamentosos e leveduriformes) e fungos fitopatogênicos (*Colletotrichum fragariae*). Os produtos podem ser usados em superfícies bióticas e abióticas pela aplicação em *spray* e depois o uso de um tecido não tecido para remoção da matéria orgânica, incluindo os microrganismos. Os produtos podem ser empregados também na desinfecção de artigos médicos, odontológicos e hospitalares, por imersão seguida de enxágue rápido. Por sua baixa toxicidade pode ser empregado na sanitização de mãos e antebraços, podendo ser utilizado como sabonete desinfetante.

[0002] Nas últimas décadas tem-se observado a emergente necessidade de alternativas naturais de combate a microrganismos patogênicos, que minimizem prejuízos ou tenham baixo impacto ambiental e baixa toxicidade.

[0003] São conhecidas, no estado da técnica, composições higienizadoras e desinfetantes naturais, contendo extratos de plantas nativas. Tais composições requerem um tempo de contato bastante longo para fornecer ação antibacteriana eficaz. Além disso, muitos ativos antibacterianos, além de abrasivos, requerem horas até que uma ação antibacteriana eficaz seja alcançada.

[0004] Composições biocidas são comumente utilizadas para desinfetar e controlar o crescimento de microrganismos, porém não são efetivas contra uma ampla gama de esporos, além de seus efeitos não perdurarem um tempo suficientemente longo. Bem poucos agentes químicos, ou combinação deles, possuem ação esporicida em tempo hábil.

[0005] Um avanço significativo no estado da técnica seria proporcionar um biocida com eficácia aumentada em menores concentrações e toxicidade, além de efetividade contra um maior espectro de microorganismos patogênicos.

[0006] A presente invenção fornece composições biocidas totalmente límpidas resultantes da associação do ácido ricinoleico proveniente da extração do óleo da mamona, dietanolamina e própolis com o objetivo de potencializar a atividade antibacteriana e antiviral. Os compostos finais da associação resultam em uma solução totalmente límpida e com estabilidade colidal, já que a própolis se incorpora facilmente à mistura do ácido ricinoleico e dietanolamina (chamada Ricinolamida), sem formar micelas que poderiam resultar numa solução turva. Devido às propriedades detergentes do biocida, ocorre a dissolução da própolis formando uma solução límpida, podendo-se utilizar uma quantidade maior de própolis na formulação, dependendo do uso. Outrossim, a própolis assim dissolvida não fica pegajosa ao toque.

ESTADO DA TÉCNICA

[0007] Atualmente, são amplamente conhecidos pelo atual estado da técnica muitos produtos destinados ao uso como biocidas sintéticos e naturais, a maioria utilizados para controlar organismos que se consideram prejudiciais, tais como, herbicidas, pesticidas, inseticidas e bactericidas. Os biocidas são também

usados para o tratamento de água, na indústria do couro e na produção de petróleo, entre muitas outras áreas.

[0008] No artigo apresentado em junho de 1961, pela Universidade Estadual da Louisiana, relata-se que derivados do ácido ricinoléico e do ácido oleico foram pesquisados quanto à sua atividade antimicrobiana, em condições ideais de crescimento, contra várias espécies de bactérias, leveduras e bolores. Vários derivados do ácido ricinoleico e ácido petroselínico (iso-oleico) exibiram atividade antimicrobiana considerável; a atividade contra alguns microrganismos foi comparável a do ácido sórbico e 10-undecenóico, agentes antimicrobianos conhecidos, como indicado pelos testes.

[0009] A dissertação de mestrado na Universidade Estadual Paulista em maio de 2008, teve como objetivo, testar o controle de bactérias contaminantes em dornas de fermentação, utilizando-se ésteres obtidos da síntese química do óleo de mamona (*Ricinus communis* L.).

[0010] O trabalho de mestrado apresentado na Universidade Estadual Paulista em agosto de 2010, teve como enfoque avaliar a eficiência de antimicrobianos naturais e sua interação com antibióticos convencionais no controle da contaminação bacteriana na produção cachaça. Dentre os tratamentos, o extrato de própolis marrom, própolis verde, ampicilina e interação (P/A) mantiveram os índices de viabilidade celulares das leveduras a níveis elevados e superiores a 90%, e redução da contaminação bacteriana, com menores índices observados para o tratamento controle.

[0011] Os trabalhos prospectados na literatura científica nem mesmo sugeriram como considerações futuras ou perspectivas o desenvolvimento de uma composição compreendendo a combinação com os componentes da

presente invenção com ácido ricinoléico, dietanolamina e própolis, e que isso poderia resultar em um biocida com efeitos superiores.

[0012] A PI0807634 se refere a composições biocidas compreendendo dialquilamidas, e seu uso como solventes ou dispersantes para biocidas. O problema técnico resolvido por esse documento é a solubilização e dispersão de biocidas, evitando a formação de cristais na solução, aumentando o tempo de prateleira e diminuindo riscos de entupimento de filtros e bicos durante a aplicação do biocida.

[0013] A patente US 9,783,435 relata métodos para controle de organismos aplicando composições de biocidas compreendendo óleo de mamona e/ou derivados com atividade para matar ou inibir a proliferação de microrganismos, em que a composição compreende ácido ricinoleico, óleo de mamona e de dietanolamina. Em outro aspecto, apresenta um método para controle de vírus compreendendo uma etapa de contato entre um meio compreendendo vírus e uma composição de biocida compreendendo de 40% a 100% em volume de ácido ricinoleico e de 0% a 60% em volume de óleo de castor (óleo de mamona). Este documento revela ainda um método para impedir a corrosão em superfícies e inibe a ação de bactérias redutoras de sulfato e as bactérias responsáveis pela biocorrosão, para controlar microrganismos ou cracas, mais preferencialmente para controlar o BRS em locais de perfuração de petróleo ou para controlar o crescimento de cracas em partes dos navios.

[0014] Adicionalmente, os produtos saneantes e desinfetantes atuais são também muito corrosivos danificando as superfícies nas quais são utilizados.

[0015] Tratamentos, somente com um biocida, em alguns casos, não são suficientes para conter contaminações. No entanto, ao invés do uso individual, a

combinação de antimicrobianos pode apresentar melhores resultados na desinfecção e controle de contaminantes.

[0016] Sabe-se que produtos existentes no estado da técnica são produtos químicos, de alta toxicidade, de difícil biodegradabilidade, ocasionando resíduos de compostos químicos, nocivos ao meio-ambiente e aos seres humanos.

[0017] Assim, o desenvolvimento de novas tecnologias e produtos para combater contaminantes, como apresentado na presente invenção, terá grande auxílio na produção de detergentes saneantes para uso doméstico, agropecuário (limpeza de maquinário, limpeza de pisos e superfícies, limpeza de animais), uso hospitalar (tanto na sanitização quanto na desinfecção).

[0018] Desta forma, a concepção da presente invenção, resultante da associação do ácido ricinoleico proveniente da extração do óleo da mamona, dietanolamina e própolis, é baseada em uma fórmula que aprimorou as tecnologias existentes e trouxe soluções para o problema de alcançar alta eficácia antibacteriana com atividade sinérgica, o que não é alcançado individualmente por cada um dos componentes.

[0019] A própolis é um produto elaborado pelas abelhas a partir de fontes vegetais, como brotos e exsudatos. A palavra própolis vem do grego e quer dizer *pro*, em defesa de e *polis* a cidade. As abelhas coletam esse material resinoso e/ou balsâmico, constituído de metabolitos secundários produzidos pelas plantas. Os metabolitos secundários são substâncias que as plantas produzem para a sua defesa contra predadores, vírus, bactérias e fungos. Portanto, se as abelhas utilizam esse material para a produção da própolis, era de se esperar que esta tivesse as mesmas propriedades de defesa. Esse fato foi comprovado ao longo de quase cem anos de pesquisa em diferentes partes do mundo com

diferentes tipos de própolis, evidenciando a sua eficácia contra microrganismos, tumores e reforçadora do sistema imunológico (Marcucci, 1995). A própolis possui atividade antimicrobiana comprovada, sendo eficaz no combate a bactérias, fungos e vírus. Existem inúmeros relatos informando o seu poder bactericida em bactérias Gram positivas e negativas (Miorin et al., 2003; Veiga et al., 2017). Extratos de própolis brasileira foram estudados frente ao poliovírus tipo 1 (PV1) da poliomielite, da influenza (gripe), HIV, H1N1, hepatite viral, vírus da herpes tipo 1 e tipo 2, vírus envolvido na dengue hemorrágica e em coronavírus de origem animal (Urushisaki et al., 2011; Takeshita et al., 2013; Soroy et al., 2014; Peng et al., 2016; Yildirim et al., 2016; Mounieb et al., 2017; Governa et al., 2019; Münstedt, 2019).

[0020] O ácido ricinoleico é o principal componente do óleo extraído da semente da mamona (*Ricinus communis* L.) possuindo em sua composição ácidos graxos além de flavonoides e outros compostos (Upaisini et al., 2003).

[0021] O óleo essencial das folhas de *Ricinus communis* L. foi analisado por cromatografia gasosa acoplada a um detector de massas (GC-MS) e os bioensaios realizados. Cinco constituintes do óleo foram identificados. A atividade antimicrobiana foi investigada, avaliando-se a sua eficácia contra doze bactérias e quatro espécies de fungos, a saber: *Staphylococcus aureus* 1327, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* 25923, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* 27853, *Klebsiella pneumoniae* WHO24, *Escherichia coli* 25922 e os fungos: *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani*, *Penicillium digitatum* and *Aspergillus niger*. O óleo essencial apresentou forte atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados com maior

sensibilidade para *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Enterobacter cloacae*. Os efeitos citotóxicos e apoptóticos do óleo essencial nas linhas celulares HeLa foram examinados pelo ensaio MTT. A citotoxicidade do óleo foi bastante forte com valores de IC₅₀ inferiores a 2,63 mg/mL (Zarai et al., 2002). De modo geral, foram descritas as seguintes atividades para o óleo de mamona: antidiabética, antibacteriana e antifúngica, inseticida, antioxidante, anti-inflamatória, analgésica, antitumoral, antiasmática (Rana et al., 2012) laxativas (Cruz e Silva, 2017) entre outras.

[0022] As propriedades inseticidas e nematicidas do óleo foram comprovadas (Jaramillo, 2015; Sanaguano, 2018) bem como a utilização do mesmo em alimentação animal (Furlan, 2017; Percio et al., 2019).

[0023] Verificou-se que apenas com a utilização de compostos resultantes da associação do óleo de mamona e da dietanolamina ou apenas com o uso da própolis, o efeito biocida não é tão eficiente quanto a invenção proposta.

[0024] Constatou-se que a combinação do ácido ricinoleico proveniente da extração do óleo da mamona, da dietanolamina e própolis, em determinadas razões de peso/concentração, gera efeitos sinérgicos quando utilizadas para o controle de fungos fitopatogênicos, em especial do *Colletotrichum fragariae*, onde a adição da própolis produziu halos de inibição 33% superiores se comparado com a própolis pura e o ester de ácido ricinoleico sozinho. Isto é, os componentes combinados resultam em propriedades biocidas aperfeiçoados em comparação com as propriedades e desempenho individual ou isolado de cada componente, indicando um efeito sinérgico.

[0025] Ainda referente a esta concretização, a própolis empregada na presente invenção é a denominada de BRPX, rica em compostos prenilados.

Sumário da Invenção

[0026] A presente invenção é compreendida por composições biocidas dispostos na forma líquida e límpida, obtida mediante um processo de obtenção específico e uma composição geral baseada em proporções definidas de ácido ricinoleico proveniente da extração do óleo da mamona e própolis.

[0027] De acordo com o aspecto da invenção, é fornecida uma composição biocida compreendendo:

a) 1,4 a 5,0% em peso, de ácido ricinoleico selecionado do grupo que consiste em ácidos graxos;

(b) 0,5 a 2,0% em peso de dietanolamina selecionada do grupo que consiste em diálcool amina;

(c) 0,1 a 3%, própolis selecionada do grupo que consiste em compostos prenilados;

[0028] Exemplo de concretização da invenção - Composição com efeito bactericida e antiviral (Tabela 1).

Tabela 1 - Componentes do composto desenvolvido neste exemplo de concretização.

<u>Componente</u>	<u>Ação do componente</u>	<u>Concentração (%)</u>
Ricinolamida (ácido ricinoleico + dietanolamina)	<i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterobacter</i> e <i>Bacillus</i> ; fungos de ambiente hospitalar (filamentosos e leveduriformes) e fungos fitopatogênicos (<i>Colletotrichum fragariae</i>)	7,0
Própolis*	Antibacteriana (<i>S.aureus</i> , <i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas</i>)	

Antifúngica (<i>C.albicans</i>) Antiviral (poliovírus tipo 1 da poliomielite, da influenza, HIV, H1N1, hepatite viral, vírus da herpes tipos 1 e 2, vírus envolvido na dengue hemorrágica e em coronavírus de origem animal)	3,0
---	-----

* Extrato etanólico seco.

[0029] A presente concretização da invenção apresentou as seguintes características técnicas, além de possuir aspecto límpido e translúcido, com a coloração variando de âmbar a branco d'água, quando na proporção de 7% de ricinolamina para 0,1% de própolis. Características físico-químicas, Tabela 2.

Tabela 2 - Características físico-químicas do composto da formulação na proporção de 7% de ricinolamina para 0,1% de própolis.

Ensaio físico-químico	Média ± DP
Concentração da ricinolamida	2,0 a 7,0%
Concentração da própolis	0,1 a 3,0%
Condutividade elétrica (μS/cm)	926,00 ± 56,72
Cor (mm Pfund)	8,539 ± 0,192 (Branco d'água)
Densidade (g/cm ³)	1,0100 ± 0,0027
Fluidez (viscosidade)	Tempo de escoamento: 28 s Valor (0,49*(t-35)) CsT: - 3,43 CentiPoise: - 3,44
pH	8,10 ± 0,06

[0030] Aspecto microscópico: os tamanhos das gotículas de fase antigênica dispersas são inferiores a 10 micrômetros e pouco dispersos.

[0031] A infecção hospitalar é um grave problema de saúde pública, pois é a responsável pelo aumento da taxa de mortalidade de pacientes que ocorre desde

o período de internação e o aumento de custos assistenciais. Adicionalmente, realizou-se um estudo que teve por objetivo identificar entre três produtos desinfetantes (álcool isopropílico 70 %, composto biológico da presente invenção e o hipoclorito de sódio) qual é o melhor para reduzir a contagem de microrganismos de superfícies de um centro cirúrgico de um hospital filantrópico do sul de Minas Gerais, no Brasil. O período de realização do estudo foi no ano de 2019. Os pontos de coleta escolhidos foram a mesa cirúrgica, o foco cirúrgico e o carrinho de apoio, onde ficam os instrumentais utilizados pela equipe médica. A fim de delimitar a área a ser testada, usou-se gabaritos estéreis de 25cm² (Fig. 1). Os pontos de coleta foram caracterizados da esquerda para a direita: mesa cirúrgica, foco cirúrgico e mesa de apoio. Os gabaritos foram produzidos em polímero para a padronização das áreas a serem amostradas.

[0032] Em cada ponto foram feitas coletas pré-desinfecção e pós-desinfecção, em áreas distintas da mesma superfície, sendo utilizados três produtos desinfetantes, o álcool isopropílico a 70%, o hipoclorito de sódio a 0,5% e a composição biocida da presente invenção. Os desinfetantes foram aplicados como *spray* para recobrir a área delimitada, aguardou-se 5 minutos, passou-se uma gaze esteril num único sentido, e aguardou-se secar a superfície. Para cada desinfetante foram realizadas duas idas ao hospital, com o plaqueamento em triplicata. Para a coleta foram utilizados swabs estéreis, passando-o na área delimitada em três sentidos em angulação de 30°. A cabeça da haste do *swab* foi armazenada em tubos estéreis, previamente identificados com o número do ponto e o tratamento experimental (pré ou pós-desinfecção). O transporte foi efetuado em caixa de isopor com gelo reutilizável rígido. Os meios de cultivo utilizados (USP, 2013) foram o Brain Heart Infusion Agar (BHI) para o

crescimento de bactérias heterotróficas e o Potato Dextrose Agar (PDA) para bolores e leveduras. Para a análise microbiológica, cada tubo recebeu 9 mL de solução salina estéril e foi agitado vigorosamente em movimentos circulares com o uso de um agitador de tubos na velocidade máxima por 30 s, antes do plaqueamento por superfície e incubação (APHA, 1998). No plaqueamento por superfície para análise de bolores e leveduras, foi pipetado 0,1 mL da solução da amostra sobre a superfície do ágar PDA e foi espalhado com auxílio de uma alça de Drigalski previamente estéril com álcool inflamável e flambada no bico de Bunsen. Após cinco minutos, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 28 °C. Para o cultivo de bactérias heterotróficas, na técnica de pour-plate foi pipetado 1 mL da solução salina pós agitação (suspensão celular) em placas de Petri estéreis e em seguida foi adicionado o Agar BHI, ainda líquido, no entanto previamente resfriado, e incubado em estufa bacteriológica a 36 °C. As placas foram mantidas nas estufas por um mínimo de 72 horas antes de realizar a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

[0033] A análise dos resultados das contagens microbianas foi conduzida usando o *software* R com a análise das variâncias ($P < 0.05$). Os dados foram avaliados separadamente, mas sempre entre dois grupos distintos, um sendo o controle (pré-desinfecção) e o outro sendo o pós-desinfecção a fim de verificar que tratamento difere significativamente do controle. As variáveis foram submetidas à análise descritiva expressa através da média e do desvio padrão. Após a análise descritiva foi realizado o teste T-Student de comparação de médias com populações independentes, comparando o grupo controle com as amostras (STEEL e TORRIE, 1980).

[0034] Na análise quantitativa o composto biocida, objeto da invenção,

apresentou a maior eficácia (Figura 2). O produto apresentou uma eficácia satisfatória como desinfetante contra bactérias (Tabela 3) assim como contra fungos (Tabela 4), por descontaminar a maior parte dos microrganismos presentes nas diferentes superfícies testadas, com eficácia igual ou superior aos outros dois produtos (Tabela 5). Um fato que também deve ser considerado é a sua característica de ser derivado da mamona, atendendo um dos princípios da química verde (LEONARDO et al. 2003). Outros pontos importantes são o fato do biocida biológico natural, da presente invenção, não agredir as superfícies e apresentar um tempo de ação curto. As bactérias foram identificadas por métodos clássicos e teste no meio Rugai modificado. Destacaram-se bactérias pertencentes aos gêneros *Enterobacter*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus*. Os isolados fúngicos em sua grande maioria eram fungos leveduriformes. Foi observada a presença de *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus*. O álcool etílico a 70% e o álcool isopropílico a 70% são os principais desinfetantes utilizados no Brasil por apresentar o menor custo em comparação aos demais. O álcool é um bactericida capaz de eliminar grande parte dos microrganismos presentes, com exceção de esporos bacterianos, que são o estado mais resistente das bactérias Gram positivas. Uma das desvantagens de usar este produto está no risco de atuar como solvente quando aplicado sobre polímeros, pois representa risco de dano aos equipamentos. Outra forma de limpeza comum utiliza os desinfetantes a base de cloro. São realizados ciclos de desinfecção de 5 a 20 minutos de duração. O risco reside no fato de que produtos à base de cloro serem altamente corrosivos em superfícies metálicas e ressecarem polímeros.

[0035] Na (Fig. 2) é apresentado o crescimento microbiano coletado na superfície do foco cirúrgico pós aplicação do biocida da invenção (esquerda) e

sem aplicação (direita), observar que cada ponto opaco na superfície do meio ágar BHI representa uma UFC.

Tabela 3 - Quantificação de colônias no meio BHI utilizando o biocida da invenção.

Ponto de Coleta	Data	Placa	UFCs/mL
Mesa cirúrgica contaminada	02/01/2019	BHI 1	10
	02/01/2019	BHI 2	0
	02/01/2019	BHI 3	20
Mesa cirúrgica desinfetada	02/01/2019	BHI 1	10
	02/01/2019	BHI 2	0
	02/01/2019	BHI 3	0
Foco cirúrgico contaminado	02/01/2019	BHI 1	1340
	02/01/2019	BHI 2	4880
	02/01/2019	BHI 3	3320
Foco cirúrgico desinfetado	02/01/2019	BHI 1	0
	02/01/2019	BHI 2	0
	02/01/2019	BHI 3	0
Carrinho de apoio contaminado	02/01/2019	BHI 1	0
	02/01/2019	BHI 2	20
	02/01/2019	BHI 3	30
Carrinho de apoio desinfetado	02/01/2019	BHI 1	0
	02/01/2019	BHI 2	0
	02/01/2019	BHI 3	0

Tabela 4 - Quantificação de colônias fúngicas no meio BDA utilizando o biocida da invenção.

Ponto de Coleta	Data	Placa	UFCs/mL
Mesa cirúrgica contaminada	04/10/2019	BDA 1	0
	04/10/2019	BDA 2	0
	04/10/2019	BDA 3	0
Mesa cirúrgica desinfetada	04/10/2019	BDA 1	0
	04/10/2019	BDA 2	0
	04/10/2019	BDA 3	0
Foco cirúrgico contaminado	04/10/2019	BDA 1	1000
	04/10/2019	BDA 2	2420

	04/10/2019	BDA 3	1750
Foco cirúrgico desinfetado	04/10/2019	BDA 1	0
	04/10/2019	BDA 2	0
	04/10/2019	BDA 3	0
Carrinho de apoio contaminado	04/10/2019	BDA 1	120
	04/10/2019	BDA 2	60
	04/10/2019	BDA 3	50
Carrinho de apoio desinfetado	04/10/2019	BDA 1	0
	04/10/2019	BDA 2	0
	04/10/2019	BDA 3	0

Tabela 5 - Eficiência dos diferentes desinfetantes testados.

Desinfetante	Redução das contagens microbianas (%)
Isopropanol a 70%	87 a
Biocida da invenção	83 a
Hipoclorito de sódio a 0,5%	61 b

Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

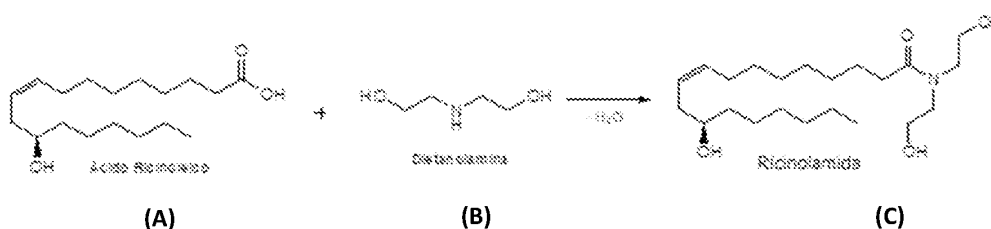
Descrição detalhada da Invenção

[0036] A presente invenção fornece uma composição biocida natural totalmente límpida resultante da associação do ácido ricinoleico proveniente da extração do óleo da mamona, dietanolamina e própolis com o objetivo de potencializar a atividade antibacteriana e antiviral. O composto resultante da associação resulta totalmente límpida, já que a própolis se incorpora facilmente à mistura do ácido ricinoleico e dietanolamina, sem formar micelas que poderiam resultar numa solução turva. Devido às propriedades detergentes do biocida, ocorre a dissolução da própolis formando uma solução límpida, podendo-se utilizar uma quantidade maior de própolis na formulação, dependendo do uso.

[0037] A composição compreende preferencialmente 1,4 a 5,0 %, mais preferencialmente 2,0 a 4,0 %, em peso de ácido ricinoleico. O ácido ricinoleico é adicionado à dietanolamina. A reação do ácido ricinoleico (A) com a

dietanolamina (B), produz uma amida (C), denominada Ricinolamida. Nessa reação, ocorre a formação da amida e a perda de água.

[0038] Abaixo a estrutura da mistura de ácido ricinoleico e dietanolamina, bem como o produto Ricinolamida formado:



[0039] Reação química do ácido ricinoleico (A) com dietanolamina (B) formando a amida denominada de ricinolamida (C).

[0040] O ácido ricinoleico é preferencialmente selecionado a partir de lotes comerciais. O composto compreende de 1,4 a 5,0% mais preferencialmente 2,0 a 4,0 %, de ácido ricinoleico.

[0041] A dietanolamina é preferencialmente selecionada a partir de lotes comerciais. O composto compreende de 0,5 a 2,0 %, mais preferencialmente de 1,0 a 1,5 %, de dietanolamina.

[0042] Outro aspecto da presente invenção refere-se a um processo para obter um composto amida com efeito antibacteriano e antiviral, compreendendo as etapas de:

- (a) Adiciona-se a um reator com agitação mecânica 25% de dietanolamina (A) e 75% de ácido ricinoleico (B);
- (b) Efetua-se a mistura dos dois componentes (A) + (B) por 2 horas, monitorando-se a temperatura, pois se trata de uma reação exotérmica;

(c) O produto bruto é diluído em água morna, de 40° a 60° C, até sua completa dissolução. A reação é efetuada sem catalisador, não devendo ultrapassar os 60° C, num ambiente controlado a 20° C;

(d) A diluição final é feita em água, resultando numa solução a 50%.

[0043] Se considerarmos a reação equimolar (1 mol de ácido ricinoleico reage com 1 mol de dietanolamina formando 1 mol da amida e 1 mol de água) teremos: 75% de ácido ricinoleico (AR) a 95% de pureza reagindo com 25% de dietanolamina (DIET). Sendo o peso molecular do AR de 298,46 g/mol e da DIET 105,14 g/mol e corrigindo a massa do AR (descontando-se as impurezas) temos: 71,25 g de AR que são 0,24 mols e 25,0 g de DIET que são 0,24 mols.

Portanto os compostos reagem em quantidades equimolares, para formar 0,24 mols da amida (C) mais 0,24 mols de água. Temos os resultados mostrados na Tabela 6.

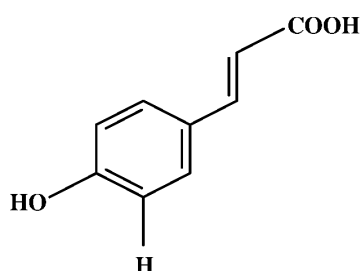
Tabela 6 - Cálculo estequiométrico da reação de formação da Ricinolamida.

Reagentes		Produtos		
Nome	Peso (g)	Nome	Peso (g)	Rendimento (%)
AR	71,25	Amida	92,54	95,5
DIET	25,00	Água	4,32	
Impurezas	3,75	Impurezas	3,14	
Total	100,0	Total	100,00	

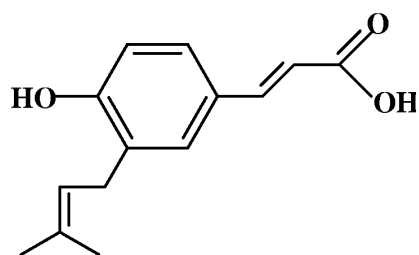
[0044] Portanto, o rendimento da reação do ácido ricinoleico com a dietanolamina, formando a amida, é de 95,5%.

1) Características químicas da própolis:

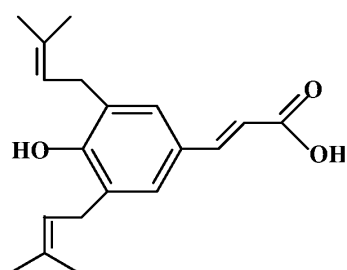
[0045] A própolis empregada na presente invenção é a denominada de BRPX, rica em compostos prenilados, conforme descrito abaixo:



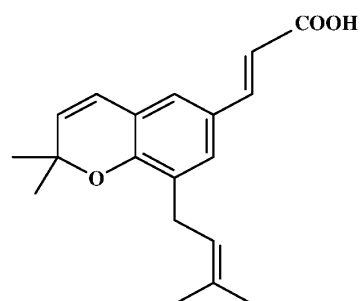
Ácido p-cumárico
(P-CUM) (1)



Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico
(PHCA) (2)



Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico
(DHCA) (3)



Ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-
benzopirano-6-propenóico (DPB) (4)

[0046] Principais marcadores encontrados na própolis BRPX, sendo o DHCA (Artepillin-C) o majoritário.

[0047] A seguir, encontram-se os parâmetros de qualidade referentes a amostra utilizada no presente estudo: compostos fenólicos totais: 9,0 a 10,0%, flavonoides totais entre 2,5 a 3,5%, resíduos insolúveis entre 35,0 a 45,0%, sólidos solúveis em etanol entre 45,0 a 50,0%, umidade (perda por dessecação) entre 4,0 a 5,0% e teor de cera entre 9,0 e 10,0%.

[0048] Na Fig. 3 é apresentada a análise da mesma amostra por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

[0049] A análise quantitativa desses marcadores mostrou teores de: ácido p-cumárico (1) entre 1,5 a 2,0%; PHCA (2) entre 0,3 a 0,5%; Artepillin-C (3) entre 3,0 e 5,0; DPB (4) entre 0,3 a 5,0%. A atividade antioxidante, avaliada pelo método de descoloração do radical DPPH (Veiga et al., 2017) ficou entre 5,0 a 15,0 µg/mL.

[0050] A própolis apresenta uma grande dificuldade de solubilização em água, formando micelas e turvando a solução. Algumas empresas lançaram produtos a base de própolis no mercado, informando no rótulo que são extratos aquosos.

[0051] Como a característica principal da própolis é a de ser uma substância resinosa, cujos compostos bioativos são praticamente insolúveis em água, exceto o ácido p-cumárico e os ácidos cafeoilquínicos, não é de se esperar que se apresentem soluções límpidas. Devido a característica apolar dos principais compostos bioativos, estes em contato com a água formam estruturas micelares, conforme mostrado na Fig. 4. Uma forma de se solubilizar a própolis formando uma solução límpida é adicionar à água uma base, como o hidróxido de sódio.

[0052] Os ácidos da própolis (compostos majoritários) reagem com a base, formando sal e água, mas a solução final, embora límpida, apresenta características básicas, com o pH ficando entre 8,0 e 9,0, não sendo indicada para o consumo humano.

[0053] Figura 4 - A área circulada corresponde a uma “nata” formada nas paredes do recipiente, indicando a incompatibilidade da própolis com a água.

[0054] A própolis deve estar de preferência presente em 0,1 a 3,0%, mais preferencialmente de 0,2 a 1,0%, em peso da composição.

[0055] O composto biocida, objeto desta invenção, pode ser usado para desenvolver vários produtos detergentes saneantes para uso doméstico,

agropecuário (limpeza de maquinários, pisos, superfícies e de animais), hospitalar (sanitização quanto desinfecção). Os exemplos incluem a apresentação dos produtos em forma de loções, géis, *sprays*, shampoos e etc.

[0056] Os benefícios antibacterianos e antivirais são proporcionados pelo composto da invenção com ação rápida e por isso, é especialmente adequada para incorporação em produtos biocidas.

[0057] É preferível que o composto da invenção seja formulado para ter um pH de 7,5 a 8,5, preferencialmente entre 8 e 8,3, em que a eficácia da interação sinérgica entre o ácido ricinoleico, a dietanolamina e a própolis é vista como máxima.

[0058] O composto biocida também pode ser usado para limpar e desinfetar áreas tópicas como feridas e por isso, pode ser formulado como gel ou pomada.

Formulações da Invenção

[0059] Controle ricinolamida a 10% (solução aquosa): 10 g do produto em 100mL (volume final em balão volumétrico, ajusta-se o menisco com água). Quantidade do ativo: 9,55%.

[0060] Controle própolis a 3% (solução em etanol ou DMSO): 3 g do produto em 100mL (volume final em balão volumétrico, ajusta-se o menisco com etanol ou DMSO). Quantidade dos ativos: ácido p-cumárico (1) de 0,045 a 0,06% (450 a 600 µg/mL); ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (2) de 0,009 a 0,015% (90 a 150 µg/mL); ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (3) entre 0,09 a 0,15% (900 a 1500 µg/mL); ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (4) entre 0,009 a 0,15% (90 a 1500 µg/mL).

[0061] Composição biocida 1: 0,2% de própolis e 5% de ricinolamida: 5g de ricinolamida e 0,2g de própolis. Quantidade do ativo ricinolamida: 4,8%.

Quantidade dos ativos: ácido p-cumárico (1) de 0,003 a 0,004% (30 a 40 µg/mL); ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (2) de 0,0006 a 0,001% (6 a 10 µg/mL); ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (3) entre 0,006 a 0,01% (60 a 100 µg/mL); ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (4) entre 0,0006 a 0,01% (6 a 100 µg/mL).

[0062] Composição biocida 2: 0,5% de própolis e 3% de ricinolamida: 3g de ricinolamida e 0,5g de própolis. Quantidade do ativo ricinolamida: 2,86%. Quantidade dos ativos: ácido p-cumárico (1) de 0,0075 a 0,01% (75 a 100 µg/mL); ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (2) de 0,0015 a 0,0025% (15 a 25 µg/mL); ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (3) entre 0,015 a 0,025% (150 a 250 µg/mL); ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (4) entre 0,0015% a 0,025% (15 a 250 µg/mL).

[0063] Composição biocida 3: 0,1% de própolis e 7% de ricinolamida: 7g de ricinolamida e 0,1g de própolis. Quantidade do ativo ricinolamida: 6,68%. Quantidade dos ativos: ácido p-cumárico (1) de 0,0015 a 0,002% (15 a 20 µg/mL); ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (2) de 0,0003 a 0,0005% (3 a 5 µg/mL); ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (3) entre 0,003 a 0,005% (30 a 50 µg/mL); ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (4) entre 0,0003 a 0,005% (3 a 50 µg/mL).

[0064] Composição biocida 4: 3% de própolis e 2% de ricinolamida: 2g de ricinolamida e 3g de própolis. Quantidade do ativo ricinolamida: 1,90%. Quantidade dos ativos: ácido p-cumárico (1) de 0,045 a 0,06% (450 a 600 µg/mL); ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico (2) de 0,009 a 0,015% (90 a 150 µg/mL); ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico (3) entre 0,09 a 0,15% (900 a 1500 µg/mL);

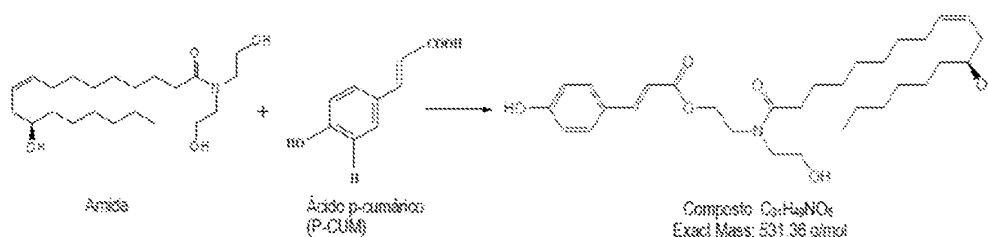
ácido 2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico (4) entre 0,009 a 0,15% (90 a 1500 µg/mL).

[0065] Modo de preparo:

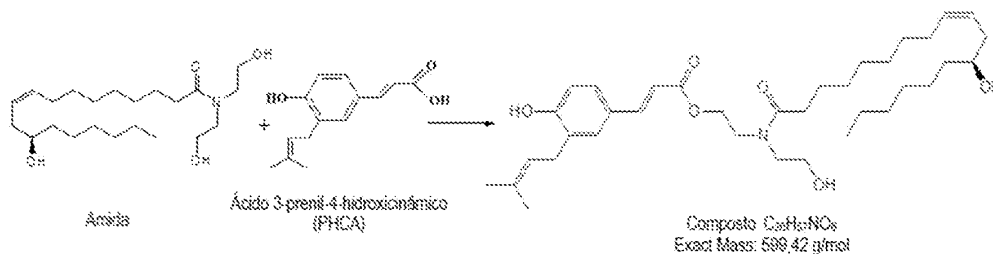
- a) Pesar de 0,1 a 3,0g de própolis em um béquer de 100 mL previamente tarado;
- b) Pesar de 2,0 a 7,0g de ricinolamida em um béquer de 50 mL previamente tarado;
- c) Aquecer a ricinolamida a 50 °C;
- d) Verter a ricinolamida no béquer de 100 mL onde foi pesada a própolis;
- e) Misturar delicadamente com o auxílio de um bastão de vidro;
- f) Colocar água, a 40 °C, no béquer de 50 mL até quase encher;
- g) Após a ricinolamida estar totalmente misturada com a própolis, ir adicionando a essa mistura, pouco a pouco a água contida no béquer de 50 mL, agitando suavemente;
- h) Transferir a mistura para um balão de 100 mL;
- i) Adicionar água ao béquer de 50 mL e seguir vertendo no balão de 100 mL com o auxílio de uma pipeta Pasteur;
- j) Acertar o menisco com água;
- k) Agitar suavemente e transferir para um frasco etiquetado.

Estuturas moleculares dos compostos

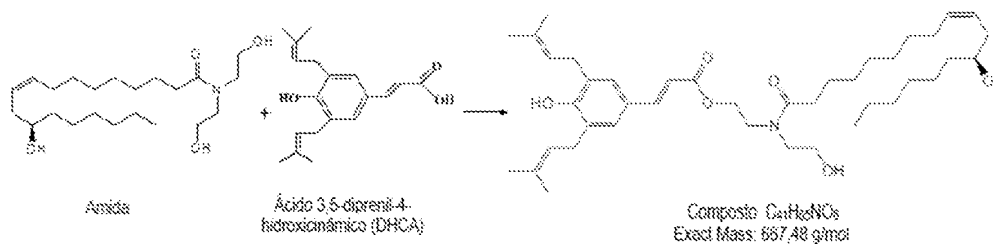
[0066] Composto 1: C₃₁H₄₉NO₆ – Massa exata: 531,36 g/mol



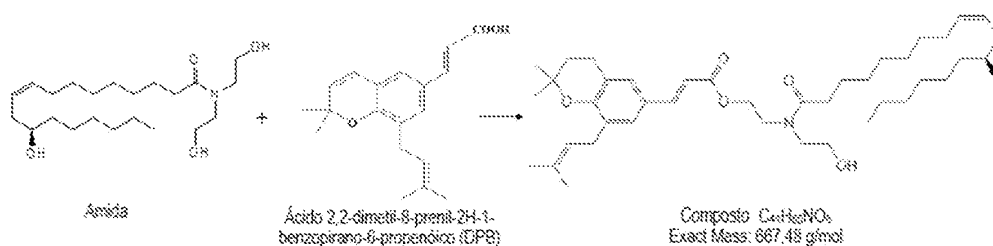
p-cumarato de ricinolamida

[0067] Composto 2: $C_{36}H_{57}NO_6$ - Massa exata: 599,42 g/mol

3-prenil-4-hidroxicinamato de ricinolamida

[0068] Composto 3: $C_{41}H_{65}NO_6$ - Massa exata: 667,48 g/mol

3,5-diprenil-4-hidroxicinamato de ricinolamida

[0069] Composto 4: $C_{41}H_{65}NO_6$ - Massa exata: 667,48 g/mol

2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenoato de ricinolamida

[0070] A ricinolamida (Fig. 5/A) se mistura facilmente com o extrato etanólico seco da própolis, denominado de “extrato mole”. Forma uma solução com

características oleosas (Fig. 5/B). O processo de elaboração da mistura deve ser feito com agitação bem branda para não se incorporar bolhas de ar.

[0071] Fig. 5 - Recipientes mostrando o ricinolamida (Fig. 5/A), o ricinolamida com o extrato mole de própolis sem álcool (Fig. 5/B), a solução aquosa do ricinolamida com própolis (Fig. 5/C) e a tintura alcoólica de própolis em água (Fig. 5/D).

[0072] Verificou-se, de modo completamente inesperado, que a mistura da ricinolamida com o extrato mole de própolis sem álcool e em seguida diluída em água, forma uma solução límpida, como se vê na Fig. 5/C ao contrário do extrato alcoólico de própolis em contato com a água, Fig. 5/D.

[0073] A obtenção desta solução límpida Fig. 5/C é caracterizada pelos parâmetros físico-químicos mencionados na Tabela 2.