

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 287**

51 Int. Cl.:

**A01N 37/10** (2006.01)

**A01N 25/08** (2006.01)

**A01N 25/12** (2006.01)

**A01P 7/00** (2006.01)

**A01N 37/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2010 E 10765267 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2418946**

54 Título: **Composiciones pesticidas de insectos y artrópodos**

30 Prioridad:

**17.04.2009 US 170259 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**18.02.2016**

73 Titular/es:

**STRATACOR, INC. (100.0%)  
1315 South 46th Street Building 154  
Richmond, California 94804, US**

72 Inventor/es:

**REIFENRATH, WILLIAM**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

**ES 2 560 287 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Composiciones pesticidas de insectos y artrópodos

Referencias cruzadas con las solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica prioridad de la Solicitud Provisional N° 61/170,259, presentada el 17 de abril de 2009, la cual se incorpora en su totalidad aquí para todos los propósitos.

Antecedentes

10 Enfermedades transmitidas por mosquitos se incluyen la malaria, la fiebre amarilla y la fiebre del dengue. La malaria se produce en más de 100 países y aproximadamente el 40% de la población mundial está en riesgo. De acuerdo con la CDC, más de 1 millón de muertes cada año son causadas por la malaria, la mayoría niños pequeños en las áreas de África al sur del Sahara. Las garrapatas pueden transmitir la encefalitis, enfermedad de Lyme y la fiebre del tifus. La filariasis puede ser transmitida por la mosca negra, la leishmaniasis por moscas de arena, la enfermedad del sueño por moscas Tse-tsé, y la enfermedad de Chagas por los bichos asesinos. Los piojos pueden propagar la fiebre del tifus y las pulgas que son el vector bien conocido de peste. Mientras que la mosca doméstica común (*Musca domestica*) no muerda, puede transmitir la fiebre tifoidea, el cólera, la disentería, oxiuros, lombrices, y ciertos gusanos de cinta. Las moscas de los establos (moscas domésticas mordedoras) también pueden transmitir enfermedades relacionadas con la suciedad. La reducción de las mordeduras o reducción de los desembarques de la mosca reduce las posibilidades de contraer estas enfermedades, y los repelentes de insectos (por ejemplo, el DEET o N,N-diethyl-m-toluamida) se recomiendan para este propósito.

20 Insecticidas (por ejemplo piretro o permetrina) utilizados como aerosoles o impregnaciones de mosquiteros también reducen las mordeduras. El DEET es efectivo para repeler los mosquitos, pero es un repelente pobre de la mosca. Su eficacia contra los mosquitos se limita a una duración pocas horas por la alta pérdida por evaporación desde la superficie de la piel (aproximadamente 70% de la dosis aplicada) y también por una absorción significativa en la piel (aproximadamente 20%). La utilidad de la permetrina para el control de insectos descansa en gran medida en la capacidad de causar la incapacidad y la muerte después de que los insectos hacen contacto con las superficies tratadas o aerosoles; su baja presión de vapor (aproximadamente 10-8 mm Hg @ 20°C) hace que sea relativamente inútil como un repelente. Las propiedades insecticidas de la permetrina se maximizan en formulaciones de emulsión; sin embargo, estas formulaciones también maximizan la absorción de la piel (aproximadamente 30%) y se debe evitar el contacto de la piel humana. La eficacia de la permetrina se ha reducido por la resistencia de los insectos (Saaverdra-Rodriguez, K., C. Strode, A. F. Suarez, I.F. Salas, H. Ranson, J. Hemingway and WC. Black IV. Quantitative Trait Loci Mapping of Genome Regions Controlling permethrin resistance in the mosquito *Aedes aegypti*. Genetics, 180: 1137-1152, 2008).

35 Los insectos chupadores de sangre utilizan una variedad de señales físicas y químicas para buscar un anfitrión. Su comportamiento también se puede modificar por las emisiones de feromonas de ellos mismos o de otras especies. Una mejor comprensión de la conducta mediada por la química ha llevado al desarrollo de medidas de control alternativas, como la alteración del apareamiento.

40 Una variedad de factores y productos químicos, incluyendo ácidos grasos, se han implicado o sugerido como atrayentes anfitriones del mosquito, y la literatura contiene muchos informes contradictorios. Brown lista un número de factores involucrados en la atracción del mosquito por los humanos (en orden de importancia): humedad, calor convectivo, dióxido de carbono, el movimiento, contorno o incremento en las interfaces en blanco y negro, y la reflectividad (Brown A.W.A., H.P. Roessler, E.Y. Lipsitz and A.G. Carmichael. Factors in the attractiveness of bodies for mosquitoes. The Canadian Entomologist 96:102-103, 1964).

45 Desde 1995, se han estado investigando los ácidos grasos como repelentes o biopesticidas contra insectos y artrópodos de importancia médica o económica y se reconoce el apoyo pasado de la USDA. (Reifenrath, WG. Natural Fly Repellent for Livestock. SBIR Phase II Final report, CSREES Award No. 2003-33610-13044, February 1, 2007), US Army (Reifenrath, WG. Development of an Insect Repellent Based on Human Skin Emanations. Final Report, DAMD17-96-C-6046, October, 1996), y DoD (Reifenrath, WG. New Repellent Combination against Flies and Mosquitoes. Final Report, USAMRMC Award No. W81XWH-04-1-0787, Final Report, December 2006). Esta metodología ha sido utilitaria; es decir, enfocarse primero en formulaciones de bajo coste que tuvieran una oportunidad razonable de aprobación regulatoria y de demostrar que estas formulaciones eran efectivas en el laboratorio (Mullens, BA, Reifenrath, WG, and Butler, SM. Laboratory repellency trials of fatty acids against house flies, horn flies, and stable flies (Diptera: Muscidae). Pest Management Science, 65: 1360-1366, 2009; Reifenrath, WG. Natural Insect and Arthropod Repellent. US Patent No. 6,306,415 B1, October 23, 2001) y estudios de campo para control de insectos (Chansang, U. and Mulla, M.S. Field Evaluation of repellents and insecticidal aerosol compositions for repelling and control of *Siphunculina funicola* (Diptera: Chloropidae) on aggregation sites in Thailand. J. Am. Mosq. Control Assn. 24: 299-307, 2008; Reifenrath, WG. Natural Fly Repellent for Livestock, Stratacor, Inc. <http://www.reeis.usda.gov/web/crisprojectpages/200581.html>). Stratacor tiene una solicitud aprobada por la U.S. EPA para una formulación de tres ácidos grasos de cadena media (ácidos octanoico, nonanoico,

decanoico, marca registrada C8910) para el control de la mosca y de piojos en el ganado, así como una aprobación para el uso de los tres ácidos grasos en animales para materias primas alimentarias (Anónimo. Application to Register C8910 Fly Repellent Oil, Stratacor, Inc., Richmond CA, January 18, 2008; Anónimo. Notice of Pesticide Registration, C8910 Fly Repellent Oil, EPA Reg. No. 84893-1, Biopesticides and Pollution Prevention Division, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, October 13, 2009; Anónimo. Notice of Filing of a Pesticide Petition for Residues of Pesticide Chemicals in or on Various Commodities. US Environmental Protection Agency, Federal Register, Vol. 73, No. 54, Wednesday, March 19, 2008; Anónimo. Memorandum, Tolerance Exemption Petition for the Active Ingredients C8-C10 n-carboxylic acids (octanoic acid, nonanoic acid, and decanoic acid), Biochemical Pesticides Branch, Biopesticides and Pollution Prevention Division, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, October 8, 2009). Estos ácidos grasos han sido aprobados por la US FDA como aditivos alimentarios (sabores) en los EE.UU. desde 1965 y se clasifican como "Generalmente Reconocidos Como Seguros". C8910 se puede formular para uso directo sobre la piel, y se está avanzando en una formulación tópica para uso humano en África. Sin embargo, el cumplimiento del usuario con repelentes tópicos, incluso en el ejército de los Estados Unidos, es bajo (aproximadamente 30%). Por lo tanto, el objetivo a largo plazo es avanzar en formulaciones C8910 seguras y rentables tanto para aplicaciones directas en la piel como en áreas de tratamientos o aspersiones al espacio para controlar la propagación de la malaria por el mosquito Anopheles, enfermedad relacionada con la suciedad por enfermedades que portan las moscas domésticas y de establo, y las garrapatas. Los ácidos grasos que comprenden C8910 son sustancias químicas de las materias primas de bajo coste que provienen de aceite de semilla de palma o aceite de coco (como un subproducto de la producción de coco) y a partir de sebo de ganado. Estos compuestos podrían eventualmente ser producidos en los países en desarrollo.

Se ha informado que los ácidos grasos de longitud de cadena de 8 a 11 (caprílico u octanoico) (ácido undecanoico) son tóxicos para las larvas de la mosca doméstica (Quraishi, MS y AJ Thorsteinson. Toxicity of some straight chain saturated fatty acids to house fly larvae. J. Econ. Entomol. 58: 400-402, 1965). Se encontró que los ácidos grasos octanoico, nonanoico, y undecilénico tienen actividad ovicida contra los huevos de *Aedes aegypti*; el autor sugirió que los ácidos grasos ejercen un efecto de "asfixia" o interferencia con la respiración (Cline, R.E. Lethal effects of aqueous Formulations containing fatty amines or acids against eggs and larvae of *Aedes aegypti*. J. Econ. Entomol. 65: 177-181, 1972). Se encontró que los ácidos grasos de cadena recta (C7 a C11, pero no C12) son tóxicos para larvas y pupas en estadio IV de *Aedes aegypti*. (Quraishi, M.S. and A. J. Thorsteinson. Effect of synthetic queen substance and some related chemicals on immature stages of *Aedes aegypti*. J. Econ. Entomol. 58: 185-187, 1965). Se encontró que el ácido caproico (C6) hasta el ácido cáprico (C10) tienen actividad larvicida óptima para las larvas de la mosca doméstica, con actividad en disminución para el ácido undecanoico (C11) y el ácido láurico (C12) ((Levinson, Z.H. and K.R. Simon Ascher. Chemicals affecting the preimaginal stages of the housefly. Rivista DI Parassitologia. 15: 111-119, 1954).

Se ha demostrado que C8910 es un repelente efectivo de mosquitos para uso en la piel, y también puede repeler garrapatas, moscas que muerden y reducir significativamente el número de pulgas y piojos en animales. Como un repelente en fase de vapor contra los mosquitos, un número de ácidos grasos de cadena recta y ramificada tienen actividad en las pruebas de olfatometría con mosquitos *Aedes aegypti* (Fig. 1), con C8, C9, y C10 situados en o cerca de la parte superior de la "cúpula" de repelencia. Como se ha visto con frecuencia en series homólogas de repelentes de insectos (Skinner, W.A. and Johnson, H.L. The design of insect repellents. In: Drug Design, Vol. 10, EJ Ariens, Ed., Academic Press, New York, pp. 277-305, 1980), la actividad a menor longitud de cadena está limitada por la falta de persistencia debido a la alta volatilidad. La actividad en mayor longitud de cadena está limitada por la falta de volatilidad, ya que se requiere que los repelentes de mosquitos tengan una tasa mínima efectiva de evaporación (Reifenrath, W.G. and Robinson, P.B. In Vitro Skin Evaporación and Penetración Characteristics of mosquito repellents. J. Pharm. Sci, 71:1014-1018, 1982; Reifenrath, W.G. and Spencer, T.S. Evaporación and Penetración from skin. In: Percutaneous Absorption Mechanisms Methodology Drug Delivery, RL Bronaugh and HI Maibach, Eds., 1st Ed., Marcel Dekker, New York, pp. 305-325, 1985).

Los ácidos grasos que comprenden C8910 pueden penetrar la piel después de la aplicación tópica y también puede "volverse difusa" o alcanzar la superficie de la piel después de la aplicación al lado visceral de la piel extirpada (Reifenrath, W.G. Unpublished data, Stratacor, Inc., December, 2005-February, 2006). Sin embargo, estos compuestos son repelentes de insectos no efectivos después de la administración oral al ganado (Comunicación Personal, David Boxler, Dept. of Entomology, University of Nebraska West Central Research and Extension Center, North Platte, Nebraska, June 27, 2006), ya que son metabolizados demasiado rápido para ser excretados a través de la piel (Van Den Driessche, M., K. Peeters, P. Marien, Y. Ghooos, H. Devlieger, y G. Veerman- Wauters. Gastric emptying in formula-fed and breast-fed infants measured with the <sup>13</sup>C-octanoic acid breath test. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 29: 46-51, 1999)

Durante la realización de estudios de campo en la ganadería, fue sorprendente encontrar que espolvoreando ganado con C8910, ofreció protección (reducción de aproximadamente del 90% en el recuento total de moscas en el cuerpo) contra moscas mordedoras (de los cuernos) igual a los insecticidas organofosforados cumafós (Co-ral<sup>®</sup>) y tetraclorvinfos (Rabon<sup>®</sup>) (Fig. 2). Estos resultados han sido reproducidos por diferentes investigadores en diferentes lugares donde la temperatura y la humedad son altos. En este tipo de prueba, C8910 fue formulado como un polvo y el ganado es autotratado caminando por debajo de una bolsa de polvo en camino hacia el agua. Si C8910 estaban actuando sólo como un repelente, las moscas simplemente habrían pasado de la zona tratada (trasera) para las

áreas no tratadas (vientre y patas), dando como resultado ninguna reducción neta en el recuento de moscas. Un efecto tóxico directo del C8910 en las moscas es que podría ser responsable de la eficacia, pero esto no fue evidente en el momento de la prueba. Esto llevó a un examen de laboratorio de los efectos incapacitantes y tóxicos de C8910 en los mosquitos *Aedes aegypti*, el cual mostró que el contacto directo (suspensión acuosa de polvo humectable de C8910 en el papel de filtro tratado en placas de Petri) causó la incapacitación en 10 minutos a una dosis de 4.7 ug/cm<sup>2</sup>, en 25 minutos a una dosis de 2.35 ug/cm<sup>2</sup>, y mientras que una dosis aún menor de 1.18 ug/cm<sup>2</sup> no causó la incapacitación, detuvo el movimiento espontáneo de los mosquitos, con consecuencias negativas para el apareamiento y la reproducción. Se encontró actividad cualitativamente similar en estudios de laboratorio con la mosca doméstica, mosca de los establos, y mosca de los cuernos (Figuras 3-10), siendo la mosca doméstica la menos sensibles a la incapacitación y efectos tóxicos de C8910. Un informe inicial indicó que la mosca tsetsé no fue repelida por formulaciones en polvo de C8910 (Comunicación Personal, Serap Aksoy, Dept. of Epidemiology and Public Health, Yale School of Medicine, New Haven, CT, April 21, 2003), pero un informe posterior mostró que un aceite mineral al 15% y una dispersión de polvo humectable al 0.3% fueron efectivas para incapacitar o matar a la mosca Tsetsé (Comunicación Personal, Brian Weiss, Dept. of Epidemiology and Public Health, Yale School of Medicine, New Haven, CT, August 3, 2009). La repelencia de la mosca Tsetsé puede haber sido comprometida por incapacitación, un efecto que no fue apreciado hasta hace poco. En las pruebas realizadas en jaulas de libre elección según lo descrito por Mullens et al. (Mullens, BA, Reifenrath, WG, and Butler, SM. Laboratory repellency trials of fatty acids against house flies, horn flies, and stable flies (Diptera: Muscidae). Pest Management Science, 65: 1360-1366, 2009), la cucaracha alemana llegó a estar incapacitada y luego murió después de la itinerancia en las áreas del suelo tratadas con C8910 al 15% en arcilla de atapulgita (Figura 11).

Se ha encontrado que la incapacitación y los efectos tóxicos de ácidos grasos sobre los mosquitos son altamente dependientes del tipo de ácido graso y la formulación. Cuando la humedad se introduce en forma de dispersiones acuosas de formulaciones en polvo, da como resultado la incapacitación y la muerte de la mosca doméstica y del mosquito. Del mismo modo, con las formulaciones en aceite mineral. Ambas formulaciones potencian la absorción de la piel del mamífero del C8910 y es probable que potencien el consumo y la absorción de la mosca. Las formulaciones hechas de concentrados emulsificables (EC) promueven la absorción de la piel y potencian la toxicidad de la permetrina en la mosca (Reifenrath, WG. Enhanced skin absorption and fly toxicity of permethrin in emulsion Formulacion. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 78: 299-303, 2007). Del mismo modo, las formulaciones de C8910 en EC producen toxicidad de la mosca doméstica y de los mosquitos. Las propiedades insecticidas bien conocidas de jabones (sales de sodio o de potasio de ácidos grasos), donde el ácido graso es ionizado a pH básico, es debido probablemente a un mecanismo diferente relacionado con los efectos surfactantes. En efecto, los surfactantes iónicos y no iónicos contenidos en un vehículo de concentrado emulsionable para permetrina (concentrado emulsionable de evercida sin permetrina, MGK Corp, Minneapolis) no tuvieron efectos de incapacitación a la mosca. La incapacitación no fue simplemente debido al pH ácido, como ácido láctico, un ácido carboxílico de bajo peso molecular, fue no tóxico para las moscas en estos ensayos. El ácido láurico, con el aumento de longitud de la cadena de carbono de ácido carboxílico más allá de los que comprenden C8910, también era no tóxico en la formulación en EC. El repelente de insectos DEET causó la mortalidad de moscas y mosquitos después de 24 horas a 47 ug/cm<sup>2</sup> (la dosis de ácidos grasos que causó la incapacitación inmediata del 100% de moscas y mosquitos y 80-100% de mortalidad a las 24 horas), pero por un mecanismo que no involucró la incapacitación inmediata. Como una prueba de un bloqueador de los canales de iones de sodio, en estos ensayos las emulsiones acuosas recién preparadas de base libre de lidocaína (47 ug/cm<sup>2</sup>) o concentración al 15% en aceite mineral no causaron incapacitación de las moscas. A una dosis de 4.7 ug/cm<sup>2</sup>, la permetrina causó la incapacitación irreversible de la mosca y el mosquito, mientras que la misma dosis baja de C8910 mostró incapacitación reversible contra la mosca de establo y la mosca del cuerno (Figuras 9, 10).

De manera observacional, los ácidos grasos que comprenden C8910 parecen tener un efecto repelente y/o tóxico selectivo contra los mosquitos y una variedad de otras moscas, en tanto que las arañas, los abejorros, las abejas y las avispas no se ven afectadas. Se colocan las garrapatas (*Ixodes pacificus* o *Dermacentor*) en el centro estéril de las jaulas de libre elección y se les dejó vagar en cuadrantes de gránulos cargados de C8910 o en cuadrantes tratados solamente con portadores típicamente procrean dentro de ½ pulgada de gránulos de repelente, dan media vuelta, y proceden a entrar y a través de las áreas de control y suben las paredes de la jaula, cuando fueron capturadas por el investigador y colocadas de nuevo en el centro de partida. Ocasionalmente, una garrapata vagará entre gránulos de repelente, y no tendrá que escoger entre áreas repelentes y no repelentes, puede continuar vagando sin rumbo en contacto con el repelente, hasta que detenga todo movimiento y eventualmente muera. La exposición forzada de las garrapatas (*Ixodes pacificus*) a una formulación de 0.3% de C8910 en dispersión acuosa de caolín-P durante 10 minutos en una placa de Petri dio como resultado 50% de incapacitación, 100% de incapacitación en 40 minutos y 100% de mortalidad en 24 horas. No se observó incapacitación o toxicidad con el control (dispersión acuosa de arcilla de caolín) durante 24 horas. Se observó un tipo similar de comportamiento con la cucaracha Alemana, como se anotó más arriba (Fig. 11). Mientras que estos son relatos descriptivos, van al corazón del mecanismo propuesto de la toxicidad de los ácidos grasos para insectos susceptibles - un efecto indirecto basado en la interferencia con la capacidad del insecto de navegar, dando la apariencia de la muerte antes de la muerte real (el "muerto viviente" o síndrome de parálisis). A bajos niveles comparables con concentraciones naturales de feromonas, los ácidos grasos de C8910 en realidad pueden ser atractivos, y esto se ha observado con las hormigas. Concentraciones en el aire más altas de ácidos grasos sujetos pueden sobrecargar los mecanismos sensoriales, y los insectos son repelidos. Si C8910 es forzado en contacto con los insectos susceptibles en una

formulación por aspersión que promueva la adherencia al insecto o absorción por el insecto (en efecto rodeando al insecto con C8910), la incapacitación reversible puede resultar en dosis más bajas para el insecto. A dosis más altas, la incapacitación se convierte en irreversible y el insecto eventualmente muere.

Breve resumen de la invención

5 En una realización, la presente invención provee una composición pesticida de insectos o de artrópodos. La composición incluye un ingrediente activo que tiene una mezcla de ácidos grasos, teniendo cada ácido graso una cadena de carbono recta de 6 a 12 átomos de carbono de longitud. La mezcla de ácidos grasos incluye una primera molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 6 a 8 átomos de carbono de longitud, y una  
 10 segunda molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 8 a 12 átomos de carbono de longitud. La composición pesticida incluye también un portador que promueve la absorción del ingrediente activo por el insecto o artrópodo.

En una segunda realización, la presente invención provee un método para incapacitar o matar a un insecto o artrópodos, incluyendo el método poner en contacto el insecto o artrópodo con la composición de la presente invención.

15 Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la repelencia de los ácidos grasos hacia los mosquitos *Aedes aegypti*. en un olfatómetro. Los ácidos grasos de cadena recta, octanoico, nonanoico, decanoico, undecanoico y láurico se designan como C8 hasta C12, respectivamente; el ácido 3-metilpentanoico como 3MPENTANO, ácido 3-metil-2-pentenoico como 3M2  
 20 PENTENO, ácido 2-octenoico como 2OCTENO, ácido 3-metil-2-octenoico como 3M2OCTENO, y ácido 4-metiloctanoico como 4MOCTANO. N,N-dietil-m-toluamida se designa como DEET.

La figura 2 muestra prueba de campo de repelencia de la mosca del cuerno que compara tratamientos de bolsa de polvo en el ganado.

La Figura 3 muestra la incapacitación de insectos después de 10 minutos de exposición a la dispersión en agua de C8910/Caolín (papel de filtro/placa de Petri).

25 La figura 4 muestra la incapacitación de insectos después de 25 minutos de exposición a la dispersión en agua de C8910/Caolín (papel de filtro/placa de Petri).

Figura 5 muestra la incapacitación de insectos después de 24 horas de exposición a la dispersión en agua de C8910/Caolín (papel de filtro/placa de Petri).

30 La figura 6 muestra la mortalidad de insectos después de 24 horas de exposición a la dispersión en agua de C8910/Caolín (papel de filtro/placa de Petri).

La figura 7 muestra la incapacitación y mortalidad del *Aedes aegypti* después de la exposición a papeles de filtro/placas de Petri tratados en dispersión en agua de C8910, dispersión en agua de Permetrina, solución acuosa de DEET, y agua destilada. Todos los ingredientes activos en dosis de 4.7 µg/cm<sup>2</sup>.

35 La figura 8 muestra la incapacitación y mortalidad de la mosca doméstica después de la exposición a papeles de filtro tratados con dispersión en agua de C8910/caolín al 15%, dispersión en agua de Permetrina/caolín al 1%, y dispersión en agua de caolín (control).

La Figura 9 muestra la incapacitación y mortalidad de la mosca de los establos después de la exposición a papeles de filtro tratados con dispersión en agua de C8910/caolín al 15%, dispersión en agua de Permetrina/caolín al 1%, y dispersión en agua Caolín (control).

40 La figura 10 muestra incapacitación y mortalidad de la mosca del cuerno después de la exposición a papeles de filtro tratados con dispersión en agua de C8910/caolín al 15%, dispersión en agua de Permetrina/caolín al 1%, y dispersión en agua de Caolín (control).

45 La figura 11 muestra la jaula de libre elección cuyo suelo se dividió en cuadrantes. Los cuadrantes no adyacentes se trataron con C8910 al 15% en arcilla de atapulgita, mientras que los cuadrantes restantes se dejaron sin tratar. Las cucarachas alemanas introducidas en las superficies no tratadas quedaron incapacitadas y muertas después de entrar a los cuadrantes tratados con C8910.

La figura 12 muestra la celda de penetración que muestra el compartimento interior para la chaqueta de sangre y agua para el control de temperatura. Un disco de piel está unido encima de la sangre utilizando un anillo en O de goma.

La Figura 13 muestra moscas de los establos atraídos por la celda de penetración rellena de sangre ajustada con la piel.

La figura 14 muestra incapacidad de mosca doméstica en función del tiempo después del tratamiento con C8910 en formulación en polvo.

5 La figura 15 muestra la incapacidad de la mosca doméstica a partir de C8910 en vehículo de concentrado emulsificable (EC), Ejecución 1.

La figura 16 muestra la incapacidad de la mosca doméstica a partir de C8910 en vehículo de concentrado emulsificable (EC), Ejecución 2.

10 La figura 17 muestra el control de la moscas doméstica en exterior de C8910 en vehículo de Evercide (-Permetrina) vs. Permetrina (Evecide) aplicada al suelo y losa de concreto, Little Chicken Farm, Distrito de Bang Len, Nakhorn Pathom, Tailandia.

La figura 18 muestra el control de las moscas de los ojos con C8910 y permetrina aplicada a los sitios de reposo, zona A, Aldea Bon Kainoa, Tailandia.

15 La figura 19 muestra el control de la mosca de los ojos con C8910 en Evercide, con y sin Permetrina, aplicada a los sitios de reposo, ubicación B, Aldea Bon Kainoa, Tailandia.

La figura 20 muestra la aspersión al espacio para el control de mosca doméstica en una cámara Peet Grady.

La figura 21 muestra el control de la mosca doméstica de C8910 vs Permetrina en Minugel 200 (cámara Peet Grady) mosca doméstica.

20 La figura 22 muestra el control de mosca doméstica de C8910 vs permetrina en Minugel 200 (cámara de Peet Grady), ensayo de repetición.

La figura 23 muestra prueba de longevidad de C 8910 vs. permetrina en LVM 40/100 para control de la mosca doméstica (cámara Peet Grady).

La figura 24 muestra la acumulación de hormigas muertas en la esquina de la oficina donde los frisos inferiores fueron tratados con polvo de C8910.

25 La figura 25 muestra un primer plano de la figura 24.

La figura 26 muestra la fitotoxicidad de vehículo concentrado emulsionable de Evercide. Las hojas tratadas marchitas (nasturtium) en primer plano se comparan con hojas de control no tratadas, en el fondo.

La figura 27 muestra el informe de la prueba 1. Formulación de C8910/caolín-P al 15%, tamizado en seco, 50% más fino en aproximadamente 100 um.

30 La figura 28 muestra el Informe de la prueba 2. Formulación de C8910/caolín-P al 15%, tamizado en húmedo, 50% más fino en aproximadamente 3 um.

La figura 29 muestra el Informe de prueba 3, formulación de C8910/caolín-P al 15%, análisis de láser, tamaño de partícula media geométrica fue de 1.57 um.

Descripción detallada de la invención

35 I. General

La presente invención provee composiciones de ácido octanoico, ácido nonanoico y ácido decanoico en combinación con un portador que promueve la adherencia o absorción o transporte a través de la superficie de insectos o artrópodos. El portador incluye arcilla de caolín pulverizado. Los ácidos grasos son intermediarios en el metabolismo de la energía que ocurren en las células vivas. Adicionalmente, todos los ácidos grasos sometidos han sido utilizados como aditivos alimentarios durante medio siglo en los Estados Unidos y Europa, se clasifican como Generalmente Reconocidos como Seguros (GRAS) por la US FDA, y tienen muy baja toxicidad ambiental. Así, es sorprendente que el contacto o la absorción de estos ácidos grasos por el insecto o artrópodo ejerza sorprendentemente un efecto tóxico. El uso del portador incrementa el efecto tóxico de estos compuestos sobre los insectos y artrópodos mediante la promoción de la adhesión, absorción y transporte a través de la superficie del insecto o artrópodo.

45

II. Definiciones

"Artrópodos" se refiere a los miembros del arthropod phylum, incluyendo, pero no limitado a, garrapatas, arañas, escorpiones, cangrejos de herradura, ciempiés, milpiés y otros insectos. Insectos incluyen, pero no se limitan a, mosquitos, moscas domésticas, moscas de los establos, moscas de los cuernos, tábanos, moscas de la cara, moscas de los ojos, y jejenes.

5 "Pesticidas" se refiere a un compuesto o sustancia que repele, incapacita o mata a una plaga, tal como un insecto o artrópodo.

"Portador" se refiere a portador para el ingrediente activo que promueve la adherencia o absorción o transporte a través de la superficie de insectos o artrópodos. El portador incluye Caolín-P, un silicato de aluminio hidratado.

"Incapacitar" se refiere a hacer que un insecto o artrópodos sea incapaz de moverse, volar o escapar.

10 Tal como se utiliza aquí, el término "ácido graso" se refiere a un ácido carboxílico que tiene un cola alifática, típicamente de 4 a 30 átomos de carbono de longitud. Los ácidos grasos pueden ser saturados, monoinsaturados o poliinsaturado. Los ácidos grasos útiles en la presente invención también incluyen ácidos grasos ramificados tales como los ácidos iso-graso. Ejemplos de ácidos grasos útiles en la presente invención, incluyen, pero no se limitan a, ácido butírico (C4), ácido caproico (C6), ácido caprílico (C8), ácido cáprico (C10), ácido láurico (C12), ácido mirístico (C14), ácido palmítico (C16), ácido palmitoleico (C 16), ácido esteárico (C 18), ácido isoesteárico (C 18), ácido oleico (C 18), ácido vaccénico (C 18), ácido linoleico (C 18 ), ácido alfa-linoleico (C 18), ácido gamma-linolénico (C18), ácido araquidónico (C20), ácido gadoleico (C20), ácido araquidónico (C20), ácido eicosapentaenoico (C20), ácido behénico (C22), ácido erúcico (C22), ácido docosahexaenoico (C22), ácido lignocérico (C24) y ácido hexacosanoico (C26). Un experto en la técnica apreciará que otros ácidos grasos son útiles en la presente invención.

20 Tal como se utiliza aquí, el término "poner en contacto" se refiere al proceso de poner en contacto al menos dos especies distintas de tal manera que puedan reaccionar. Se debe apreciar, sin embargo, que el producto de reacción resultante puede ser producido directamente a partir de una reacción entre los reactivos agregados o a partir de un intermedio de uno o más de los reactivos agregados que se pueden producir en la mezcla de reacción.

25 Tal como se utiliza aquí, el término "solvente orgánico" se refiere a solventes miscibles o inmiscibles en agua capaces de disolver cualquiera o ambos de los compuestos orgánicos solubles en agua e insolubles en agua. Solventes orgánicos de ejemplo útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, pentano, hexano, benceno, tolueno, piridina, acetato de etilo, éter dietílico, metanol, etanol, isopropanol, acetona, cloruro de metileno y cloroformo. Un experto en la técnica apreciará que otros solventes orgánicos son útiles en la presente invención.

### III. Composiciones pesticidas y métodos de uso

30 La presente invención provee composiciones pesticidas para incapacitar o matar a los insectos y artrópodos. En algunas realizaciones, la presente invención provee una composición pesticida de insectos o artrópodos. La composición incluye un ingrediente activo que tiene una mezcla de ácidos grasos, teniendo cada ácido graso una cadena de carbono recta de 6 a 12 átomos de carbono de longitud. La mezcla de ácidos grasos incluye una primer molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 6 a 8 átomos de carbono de longitud, y una  
35 segunda molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 8 a 9 átomos de carbono de longitud y una tercer molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 9 a 12 átomos de carbono de longitud, en donde la primer molécula de ácido graso, la segunda molécula de ácido graso y la tercer molécula de ácido graso son todas diferentes. La composición pesticida incluye también un portador que promueve la absorción del ingrediente activo por los insectos o artrópodos.

40 Los ácidos grasos útiles en la presente invención pueden incluir cualesquiera ácidos grasos adecuados. Ejemplos de ácidos grasos útiles en la presente invención, incluyen, pero no se limitan a, ácido hexanoico (C6), ácido heptanoico (C7), ácido octanoico (C8), ácido nonanoico (C9), ácido decanoico (C 10), ácido undecenoico (C11) y ácido dodecanoico (C12). El ácido graso del ingrediente activo comprende aproximadamente 15% en peso de la composición.

45 Los ácidos grasos de la composición pueden estar presentes en cualquier relación adecuada. En algunas realizaciones, la primera, segunda y tercera moléculas de ácidos grasos están presentes en una relación de 1:1:1 en peso.

50 En otras realizaciones, el portador incluye un concentrado emulsificable. Los concentrados emulsificables incluyen cualquier composición que forma una emulsión. Ejemplos de concentrados emulsificables incluyen, pero no se limitan a, Evercida sin la permetrina.

El vehículo incluye arcilla de caolín pulverizado, Caolín-P.

En todavía otras realizaciones, el vehículo incluye un solvente orgánico. Los solventes orgánicos incluyen, pero no se limitan a, pentano, hexano, benceno, tolueno, piridina, acetato de etilo, dietil éter, metanol, etanol, isopropanol, acetona, cloruro de metileno y cloroformo. Otros solventes orgánicos son útiles en la presente invención.

5 La segunda molécula de ácido graso tiene una cadena de carbono recta de 8 a 9 átomos de carbono de longitud, y la tercera molécula de ácido graso tiene una cadena de carbono recta de 9 a 12 átomos de carbono de longitud, en donde la primera molécula de ácido graso, la segunda molécula de ácido graso y la tercera molécula de ácido graso son todas diferentes. En otras realizaciones, la primera molécula de ácido graso comprende ácido octanoico, la segunda molécula de ácido graso comprende ácido nonanoico, y la tercera molécula de ácido graso comprende ácido decanoico.

10 En otras realizaciones, el ingrediente activo incluye ácido octanoico, ácido nonanoico y ácido decanoico en una relación de aproximadamente 1: 1: 1 en peso, y el portador incluye un miembro seleccionado del grupo que consiste de concentrado emulsificable y un polvo humectable.

15 En una segunda realización, la presente invención provee un método para incapacitar o matar a un insecto o artrópodo, incluyendo el método poner en contacto el insecto o artrópodo con la composición de la presente invención. Cualquier insecto o artrópodo es adecuado para los métodos de la presente invención. En algunas realizaciones, los insectos o artrópodos pueden ser mosquitos, moscas domésticas, moscas de los establos, moscas de los cuernos, tábanos, moscas de la cara, moscas de los ojos, jejenes, o garrapatas.

20 Se obtuvieron formulaciones Incapacitantes e insecticidas a partir de mezclas de ácidos grasos semivolátiles y portadores que permiten la adhesión a o absorción por el insecto o artrópodo. Los ácidos grasos sirven como las especies activas para incapacitar o matar el insecto, mientras que los vehículos sirven como promotores de adherencia o absorción de los ácidos grasos a la superficie de los insectos o artrópodos. Las formulaciones de ácidos grasos al 15% (p/p) en arcilla de caolín se dispersaron en agua en diversas concentraciones que van desde 1 parte en 50 a 1 parte en 2000 y se aplicaron a papeles de filtro (un ml de formulación por 64 cm <sup>2</sup> de papel de filtro) encerrado en placas de Petri. Se colocaron en los platos quince mosquitos hembra *Aedes aegypti* platos y se observó su destino durante un período de 48 horas. En relación con los tratamientos de control (agua solamente, caolín y agua solamente), los mosquitos fueron incapacitados en diluciones de hasta 1 parte en 1000 (0.015% de activos) y murieron en diluciones de hasta 1 parte en 500. Una formulación de ácidos grasos al 15% en un concentrado emulsificable se aplicó a las superficies de fieltro de las jaulas de libre elección (dos áreas tratadas de 4"x4" y dos áreas de control de 4"x4") en el laboratorio y se mostró para incapacitar moscas domésticas (*Musca domestica*). Se encontró que la aplicación de campo de esta formulación reduce el conteo de la mosca doméstica en reposo a un nivel comparable con tratamientos de permetrina durante períodos de hasta doce días. Los ingredientes activos de estas formulaciones, ácidos octanoico, decanoico, y ácidos nonanoico, son registrados como GRAS por la U.S. FDA y deben proveer un tratamiento más seguro e igualmente efectivo en comparación con los tratamientos tradicionales que se basan en los organofosfatos o piretroides.

35 Patentes anteriores (patente de los Estados Unidos Nos. 6,306,415, 6,444,216 and 6,953,814) describen una mezcla de ácido octanoico, nonanoico, decanoico y (C8910) para uso como repelente de la mosca. Esta mezcla puede repeler una variedad de insectos/artrópodos que incluyen moscas domésticas, moscas de los establos (mosca doméstica mordedora), moscas de los cuernos, mosquitos, piojos y garrapatas. En el caso de los insectos mordedores, su comportamiento normal es buscar a un huésped, tal como un pájaro o un mamífero para alimentarse de sangre, y está generalmente aceptado que las emanaciones del huésped (humedad, dióxido de carbono y otros) guían el insecto con el huésped. La aplicación de productos químicos semivolátiles a la piel (por ejemplo, N, N-dietil-m-toluamida o DEET) puede interferir con el comportamiento normal de búsqueda de huésped y esta actividad se denomina generalmente repelencia, aunque el insecto no es alejado per se. Las funciones de C8910 como DEET en que interfiere con el comportamiento de búsqueda de huésped de los mosquitos. Sin embargo, el C8910 es un mucho mejor repelente de moscas que el DEET y puede reducir el conteo de moscas en el ganado tratado a un nivel comparable al que se obtiene con los tratamientos de pesticidas (Reifenrath, WG. Natural Fly Repellent for Livestock. SBIR Phase II Final report, CSREES Award No. 2003-33610-13044. February 1, 2007). Las observaciones en jaulas de libre elección (jaulas ventiladas que contienen lugares de reposo tratados y no tratados en el suelo de la jaula) indicaron que el C8910 no solamente reduce el conteo de moscas en las superficies tratadas, sino que también alejaron a las moscas de las paredes y los techos circundantes (sin tratar) de las áreas tratadas. El DEET no causa este efecto.

55 El C8910 se preparó en forma de un polvo o concentrado emulsificable y se dispersó o se asperjó sobre áreas de tratamiento. Se estudiaron formulaciones de solo C8910, solo permetrina y una combinación de C8910 y permetrina. Se concluyó que la reducción de moscas con solo C8910 fue comparable a la obtenida con la sola permetrina pesticida y que no hubo ninguna ventaja significativa en la combinación de estos activos (Reifenrath, WG. New Repellent Combinations Against Flies and Mosquitoes. US. Army Medical Research Acquisition Activity. U.S. Army Medical and Material Command. Final Report. Contract No. W81XWH-04-1-0787, April 12, 2006.).

Para examinar el efecto incapacitante de la composición C8910 además, se examinó el efecto de la C8910 en formulación en polvo sobre la toxicidad de la mosca doméstica en el laboratorio (jaulas de libre elección) y se

observó un incremento de la incapacitación de la mosca con un incremento en la dosis de C8910; el efecto se hizo más evidente después de aproximadamente 20 horas de exposición de la mosca (Figura 14). Sin embargo, cuando el C8910 se formuló como una emulsión, se incrementó dramáticamente la toxicidad de la mosca (la mayoría de las moscas se incapacitaron después de 20 minutos, Figuras 15 y 16), en comparación con ningún efecto con el control de formulación en emulsión (no activos). Después de 2-3 horas, la incapacitación de la mosca para C8910 alcanzó el 94 a 100% en estos ensayos. Se ha demostrado que la formulación en emulsión incrementó significativamente la toxicidad de la mosca y la absorción en la piel de permetrina (Reifenrath, WG. Enhanced skin absorption and fly toxicity of permethrin in emulsion Formulación. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2007, 78, 299-303), y la formulación en emulsión puede mejorar la biodisponibilidad de C8910 a las moscas. El C8910 igualó el control obtenido de la mosca doméstica y la mosca de los ojos al aire libre con la permetrina (Figuras 17, 18 y 19), cuando ambos fueron formulados en un concentrado emulsificable (Evercide, MGK Corp.). Sin embargo, no se esperaría que el contacto o la absorción de estos ácidos grasos por la mosca ejerzan un efecto tóxico, puesto que estos productos químicos son intermediarios en el metabolismo de la energía que se presenta en las células vivas. Adicionalmente, todos los ácidos grasos sometidos han sido utilizados como aditivos alimentarios durante medio siglo en los Estados Unidos y Europa, se clasifican como Generalmente Reconocidos como Seguros (GRAS) por la US FDA, y tienen muy baja toxicidad ambiental. Los ácidos grasos han sido observados como emanaciones o químicos de la superficie de los insectos y estos químicos pueden desempeñar un papel en sus procesos de señalización química o de defensa. La exposición al vapor en bajo nivel de C8910 solamente puede dar como resultado la repulsión de un huésped y no de incapacitación. La exposición al vapor en nivel más alto o el contacto físico con C8910 pueden dar como resultado una sobrecarga sensorial, inhibiendo al insecto de la realización de esas tareas consistentes con la vida (por ejemplo, un efecto tóxico indirecto).

El C8910 en la formulación en polvo ha reducido el número de moscas del cuerno en el ganado de pastoreo en varios ensayos de campo en el sur de Estados Unidos (Texas y Kentucky). El ganado de control tenía hasta 1000 moscas y el C8910 redujo el número total del cuerpo en aproximadamente un 90%. El tratamiento se aplicó el uso de bolsas de polvo colgadas sobre los portales que llevan a los pozos de agua. Así, los animales son autotratados por contacto físico con la bolsa a medida que pasaron por el portal para el agua. Los animales se beneficiaron beneficiados del efecto repelente de C8910 en las áreas tratadas de la piel, sin embargo, las moscas podían simplemente haberse trasladado a un área no tratada. Para lograr el nivel observado de eficacia (reducción de las moscas en el cuerpo entero), se planteó inicialmente la hipótesis que los animales dispersaron el repelente sobre la superficie del cuerpo por el roce unas con otras. Sin embargo, ahora se reconoce que este alto nivel de eficacia fue el resultado de la incapacitación y muerte de la mosca por contacto físico con C8910.

El C8910 demostró reducir significativamente el número de moscas domésticas y moscas del ojo en reposo, en el laboratorio (cámaras Peet-Grady, Figuras 20-23) o en el campo (Tailandia, Figura 17-19). No hubo informes de incapacitación de la mosca a partir de las pruebas en la cámara, ya que estas se realizaron con las formulaciones en polvo que no promovieron el contacto o absorción por la mosca de C8910. Tampoco hubo informes de incapacitación o toxicidad por la mosca a partir del trabajo de campo, puesto que las moscas podrían haber muerto remotamente desde las áreas de tratamiento.

Para investigar más a fondo el efecto incapacitante y letal de la composición C8910, las dispersiones en agua de la misma formulación de C8910 se probaron en el laboratorio contra el mosquito *Aedes aegypti*. Las diluciones graduadas de C8910/Caolin-P se prepararon dispersando el polvo en agua (2 gramos de polvo en 100 ml de agua, la concentración utilizada en el campo), donde la concentración más baja era 0.0075% (Tabla 1). Un ml de cada dispersión se transfirió con pipeta de manera uniforme sobre un disco de papel de filtro (9 cm de diámetro, Whatman No. 1) contenido en platos de petri desechables. Aproximadamente 15 mosquitos hembra *Aedes aegypti*, de 6-10 días de edad, se colocaron en las placas de Petri y se cubrieron para evitar el escape de mosquitos. Los platos se mantuvieron en una cámara ambiental (76-80°F y aproximadamente el 60% de humedad) y se hicieron observaciones de incapacitación y mortalidad en diversos momentos después de los tratamientos (Tabla 1). A la dosis más alta (0.3% de formulación, que corresponde a la concentración de las pruebas de campo), la incapacitación fue completa en 10 minutos, y la mortalidad fue del 100% a las 24 horas, en comparación con ningún incapacitación y mortalidad del 17% para el control de ácido láctico. Las dosis más bajas de C8910 dieron como resultado incapacitación progresivamente menos rápida y menor mortalidad. Mientras que la dosis más baja (0.0075% de C8910 en dispersión acuosa, 1.18  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) no dio como resultado incapacitación o letalidad, se observaron todavía bioefectos en una reducción significativa en el movimiento espontáneo del mosquito. Con base en los niveles bajos con los que el C8910 puede afectar el comportamiento del mosquito, el coste relativamente bajo de los activos, y la baja toxicidad para los mamíferos, el C8910 es útil como un tratamiento de área para el control de mosquitos. Resultados similares se obtuvieron con las moscas domésticas, moscas de los establos, y moscas de los cuernos (Figs. 3-10).

Se ha demostrado que el C8910 repele hormigas y como con las moscas, parece tener un efecto de incapacitación de la misma forma. Las figuras 24 y 25 muestran la esquina de una oficina que recibió una aplicación de polvo de C8910 alrededor de los frisos inferiores, en enero de 2008. Las hormigas siguen llegando al interior desde una grieta encima de la regleta de alimentación, pero se observó que se incapacitaban, caían al suelo y subsecuentemente morían.

Se ha estado formulando C8910 para aplicación directa a la piel de los animales, y la idea central de este esfuerzo fue minimizar la irritación de la piel y retardar la absorción de la piel, puesto que el C8910 ya no podía actuar como un repelente de vapor una vez que fue absorbido. Los mejores vehículos para lograr un incremento en la evaporación y una reducción en la absorción de la piel son los polvos y la medición más alta de absorción se presentó con aceites, con dispersiones acuosas de C8910 adsorbidas por las arcillas que son las intermediarias (Tablas 2A y B, Tablas 3A y B). Mientras que no se midió la absorción de la piel de C8910 a partir de vehículos de concentrado emulsificable (EC), se podría acercar al 100%, puesto que la combinación de alcoholes de petróleo y surfactantes (mezcla de 80:20) esencialmente destruiría la barrera de la piel a la penetración de los xenobióticos. Sin embargo, para control de aplicaciones de control de insectos (pesticidas) que no involucren el contacto con la piel o las plantas sensibles (Figura 26), el objetivo de las formulaciones sería incrementar la absorción a través de membranas de barrera (cutícula del insecto), en lugar de la absorción retardada. Por lo tanto, las formulaciones de EC de C8910 servirían una función útil como un tratamiento dirigido a la superficie de insectos objetivo y proveer una alternativa útil para tratamientos de organofosfato o piretroides. Las dispersiones acuosas de C8910 adsorbidas por la arcilla promoverán absorción relativa a los polvos, pero la ausencia de surfactantes y destilados de petróleo hará menos efectivas como potenciadores de la penetración. Normalmente, se espera que la adsorción o moléculas orgánicas en la arcilla incrementen el tamaño de partícula o aglomeren las partículas más finas. Sin embargo, el tamaño de partícula de C8910/caolín en agua fue inesperadamente bajo (aproximadamente de 3 micrones). Esto es debido probablemente a una capa hidrófoba que los ácidos grasos lipofílicos proveen a la superficie de las partículas de arcilla. El resultado fue que esta formulación es fácil para convertir en aerosol y las partículas pequeñas proveen un área de superficie incrementada para la absorción de C8910 por los insectos.

#### IV. Ejemplos

##### Ejemplo de referencia 1. Preparación de 10 kg de C8910 al 15% en concentrado emulsificable

Utilizando una balanza de laboratorio, se pesaron 501.5 gramos de ácido octanoico líquido (99.7% de pureza, Cognis Corp., Cincinnati, OH), 543.5 gramos de ácido nonanoico líquido (92% de pureza, Cognis Corp.) y 505.0 gramos de ácido decanoico sólido (99% de pureza, Cognis Corp.). Los ácidos grasos se agregaron juntos en un vaso de precipitados de 4 litros y se agitaron magnéticamente durante aproximadamente 2 horas de modo que el ácido decanoico sólido se disolvió en los otros ácidos grasos líquidos. El vehículo concentrado emulsificable (8.450 g, Evercide sin permetrina, MGK Corporation) se vertió en un tazón de mezcla de acero inoxidable de 5 galones y la mezcla de ácido graso se agregó lentamente con agitación usando un batidor de acero inoxidable unido a un mezclador Hobart. Después de diez minutos de mezcla a baja velocidad, el producto se vertió en un recipiente de almacenamiento de polietileno tarado y se determinó el rendimiento (típicamente 9990 gramos o 99.9%).

##### Ejemplo 1. Preparación de 6 kg de C8910 al 15% en Caolín-P

Utilizando una balanza de laboratorio, se pesaron 304 gramos de ácido octanoico líquido, 325 gramos de ácido nonanoico líquido y 308 gramos de ácido decanoico sólido. Los ácidos grasos se agregaron juntos en un vaso de precipitados de 2 litros y se agitaron magnéticamente durante aproximadamente 2 horas de modo que el ácido decanoico sólido se disolvió en los otros ácidos grasos líquidos. Se colocó arcilla de caolín pulverizado (5003 g, caolín-P, U.S. Silica Corp., Kosse, TX) en un tazón de mezcla de acero inoxidable de 5 galones de una mezcladora Hobart. La pantalla protectora sobre el tazón de mezcla se selló con envoltura Saran para evitar que el polvo se escapara. La mezcla de ácidos grasos se colocó en un embudo de adición, cuya salida fue equipada con un tubo de Tygon para arrastrar la mezcla de ácidos grasos a través de una abertura en la envoltura Saran y en el tazón de mezcla. La mezcla de ácidos grasos se agregó lentamente durante diez minutos con agitación usando un batidor de acero inoxidable unido a un mezclador Hobart. Después de veinte minutos de mezcla a baja velocidad, cualquier material que se adhería a la cara del tazón de mezcla se raspó y se dejó caer en el polvo. El producto fue entonces mezclado durante un período adicional de cinco minutos. El producto se removió del tazón de mezcla en porciones, ejecutado a través de un tamiz de acero inoxidable de malla 30 de doce pulgadas, (ASTM Test Sieve, Cole Parmer, Chicago, IL) y se recolectó en un recipiente de polietileno tarado para determinar el rendimiento (típicamente 5900 gramos o 98 %).

El tamaño de partícula del producto se determina por tamizado en seco (Figura 27), tamizado en húmedo (Figura 28) y, finalmente, por el análisis de láser (Figura 29) en el que se dispersan cualesquier partículas aglomeradas.

La concentración de ácidos grasos en la arcilla de caolín se verificó mediante el siguiente procedimiento analítico. Los ácidos grasos se extrajeron de la arcilla mediante la colocación de una masa exacta (aproximadamente 1.0 gramos) de 15% de C8910/Caolín-P en un volumétrico de 50 ml, seguido por la adición de acetonitrilo hasta la marca. Después de agitar, se dejó que los ácidos grasos disueltos en el acetonitrilo, y la arcilla formaran sedimento en la parte inferior del volumétrico. Las alícuotas se filtraron a través de filtros de jeringa de nailon de 0.2  $\mu$ m y una muestra de 20  $\mu$ l se analizó como sigue. El análisis por HPLC se llevó a cabo con una columna C18 Supelco Discovery (15 cm x 4.6 mm, 5  $\mu$ m). La fase móvil fue acetonitrilo:agua (50:50) con 0.1 partes de ácido trifluoroacético (Aldrich), a una rata de flujo de 1.0 ml/min usando una bomba ternaria de Spectra Physics SP8800 operada en modo isocrático. Se realizaron veinte inyecciones de micro litro con un automuestreador Spectra Physics SP8780XR. La absorbancia se monitorizó a 214 nm con un LDC Spectromonitor III (aufs = 0.02). Se utilizó un ordenador Pentium

5 ejecutando el software Turbochrome para procesar la señal de la interfaz de Perkin Elmer NCI 900. Bajo estas condiciones, C8 tuvo un tiempo de retención de 5.97 minutos, C9 a 8.59 minutos, y C10 a 13.10 minutos. Se utilizaron Estándares certificados de C8, C9 y C10 (Fuentes Chem) para preparar gráficos de calibración de la respuesta del detector (unidades de integración) vs. concentración sobre un rango de aproximadamente 60 a 500 ug/ml. Se utilizaron ecuaciones de regresión lineal de mínimos cuadrados ( $R^2 = 0.99$  para cada uno de los tres ácidos) para calcular las concentraciones de ácidos grasos.

Ejemplo 2. Prueba de dispersiones en agua de C8910-Arcilla de Caolín-P

10 Tabla 1. Incapacitación y mortalidad del *Aedes aegypti* en función de la dosis de C8910 y el tiempo después de la exposición a una formulación del 15% de C8910 en Caolín-P dispersada en agua en cantidades comprendidas entre 0.05 gramos de formulación (0.0075%) hasta 2 gramos de formulación (0.3000%) por 100 ml de agua.\*

% C8910 en dispersión de agua	Dosis de C8910, ug/cm <sup>2</sup>	% de Incapac. en 10 m de exp.	% de Incapac. en 25 m de exp.	% de Incapac. en 24 h de exp.		% de mortalidad en 24 horas	% de mortalidad en 48 horas
0.3000	47	100	100	100		100	100
0.0500	8.2	100	100	100		67	100
0.0300	4.7	11	100	100		12.5	88
0.0150	2.35	0	100	100		0	0
					(2		
0.0075	1.18	0	6.7	6.5	mueartos)	6.5	ND**
Ácido láctico (control)					(2		
0.3000	47 (ácido láctico)	0	0	17	mueartos)	17	17

\* Un ml de la formulación se dispersó uniformemente en un disco de 9 cm diámetro de papel de filtro contenido en una placa de Petri. Quince hembras de mosquitos *Aedes aegypti* se introdujeron entonces en la placa cubierta.

\*\* No determinado

15 Notas:

1. Incluso en la dosis más baja (1.18 ug/cm<sup>2</sup>), hay efectos del comportamiento a partir de C8910. Tanto los mosquitos machos como las hembras detienen el movimiento espontáneo, con consecuencias negativas para el apareamiento y la reproducción. Este efecto no se observó para los controles de ácido láctico, caolín-P/agua o agua solamente.
- 20 2. Exposición de los mosquitos a una formulación de 0.15% de C8910 en dispersión acuosa de caolín-P durante 10 minutos dio como resultado 100% de incapacitación (2 placas individuales). Después de 16 minutos de exposición, los mosquitos fueron trasladados a placas frescas que contenían solamente agua destilada. La mayoría de los mosquitos permanecieron incapacitados (83% y 100% para las dos placas) 20 horas después de la exposición.
- 25 3. C8910 y DEET (N,N-dietil-m-toluamida) tienen potencias similares para repeler el *Aedes aegypti* cuando ambos se aplican a la piel. La dosis efectiva mínima (MED) del C8910 para repeler los mosquitos se estima en 25 ug/cm<sup>2</sup>, el valor MED medido para DEET. El C8910 puede incapacitar a los mosquitos a dosis que son diez veces más bajas (235 ug/cm<sup>2</sup>) y la mortalidad en dosis que son cinco veces menor (4.7 ug/cm<sup>2</sup>).

\* Ejemplo 3. Estudios de penetración y evaporación en la piel del C8910-Caolín-P en Agua

Dispersiones

30 Tabla 2A. Penetración de la piel del ganado in vitro de ácido 3H-octanoico en fluido receptor como una función de la formulación

Formulación	Forma Física	Penetración (Media +/- D.S.)	Significado*
-------------	--------------	------------------------------	--------------

ES 2 560 287 T3

15%C8910/Caolín-P	Polvo	33 +/- 7	A
15%Disp. en A. C8910/Caolín-P	Dispersión en Agua	53 +/- 5	B
15%C8910/Aceite mineral Ligero	Aceite	72 +/- 6	C

Tabla 2B. Evaporación de la piel del ganado in vitro de ácido 3H-octanoico como una función de la Formulación

Formulación	Forma Física	Evaporación (Media +/- D.S.)	Significado*
15%C8910/Caolín-P	Polvo	41 +/- 7	A
15%Disp. en A. C8910/Caolín-P	Dispersión en Agua	19 +/- 3	B
15%C8910/Aceite mineral Ligero	Aceite	7.0 +/- 0.7	B

5 Tabla 3A. Penetración de la piel del ganado in vitro de ácido C-14-decanoico en fluido receptor como una función de la formulación

Formulación	Forma Física	Penetración (Media +/- D.S.)	Significado*
15%C8910/Caolín-P	Polvo	14 +/- 5	A
15%Disp. en A. C8910/Caolín-P	Dispersión en Agua	27 +/- 11	A
15%C8910/Aceite mineral Ligero	Aceite	48 +/- 13	B

Tabla 3B. Evaporación de la piel del ganado in vitro de ácido C-14-decanoico como una función de la Formulación

Formulación	Forma Física	Evaporación (Media +/- D.S.)	Significado*
15%C8910/Caolín-P	Polvo	22 +/- 4	A
15%Disp. en A. C8910/Caolín-P	Dispersión en Agua	15 +/- 4	A
15%C8910/Aceite mineral Ligero	Aceite	6.0 +/- 0.5	B

10 Tabla 4A. Sustainividad cutánea de Formulaciones de C8910 en piel del ganado con base en ácido 3H-octanoico

Formulación	Forma Física	% de Retención (Media +/- D.S.)	Significado*
15%C8910/Caolín-P	Polvo	77 +/- 15	A
15%Disp. en A. C8910/Caolín-P	Dispersión en Agua	87 +/- 3	A
15%C8910/Aceite mineral Ligero	Aceite	86 +/- 3	A

Tabla 4B. Sustainividad cutánea de formulaciones de C8910 en la piel del ganado con base en ácido C-14 decanoico C-14

Formulación	Forma Física	% de Retención (Media +/- D.S.)	Significado*
15%C8910/Caolín-P	Polvo	77 +/- 18	A
15%Disp. en A. C8910/Caolín-P	Dispersión en Agua	89 +/- 3	A
15%C8910/Aceite mineral Ligero	Aceite	88 +/- 7	A

\* Valores con la misma designación de letra no son significativamente diferentes

## Ejemplo 4. Pruebas de aspersión con dispersiones en agua de C8910/Caolín-P

Un recipiente transparente, de 7 cm de diámetro y 10 cm de longitud, se preparó a partir de un tubo de plexiglás de 3 mm (nominal de 1/8"). Se aseguró tela de malla fina (estopilla) a ambos extremos y se cortó un agujero de 1 cm de diámetro en el centro de uno de los extremos para permitir la introducción de moscas a través de una pipeta. Se utilizó una bola de algodón para bloquear el orificio una vez que se introdujeron aproximadamente 30 moscas en el recipiente. Después remover temporalmente la bola de algodón, se asperjó la formulación de prueba o de control (vehículo sin activos), en los recipientes con un "disparador" manual de tipo pulverizador (Ace Hardware o equivalente) usando tres aspersiones por prueba. Las moscas se observaron para incapacitación y mortalidad inmediatamente después de la aspersión, y a las 24 horas después de la aspersión.

## 10 Tabla 5. Incapacitación y efectos tóxicos de dispersión en agua de C8910/caolín-P contra moscas y cucarachas.

Insecto	Material de prueba	Observación en 0.5m	Observación en 24 h
Mosca doméstica <sup>a</sup>	C8910 <sup>e</sup>	100% de incapacitación	100% de incapacitación o muertas
Mosca doméstica	Control <sup>f</sup>	Sin efecto	Sin efecto
Mosca de establos <sup>b</sup>	C8910	100% de incapacitación	100% muertas
Mosca de establos	Control	Sin efecto	Sin efecto
Cucaracha <sup>c</sup>	C8910	100% muertos	100% muertas
Cucaracha	Control	Sin efecto	Sin efecto
Mosquito <sup>d</sup>	C8910	100% de incapacitación	100% de incapacitación o muertos

<sup>a</sup>*Musca domestica*

<sup>b</sup>*Stomoxys calcitrans*

<sup>c</sup>Cucaracha alemana, *Blatella germanica*

<sup>d</sup>*Aedes aegypti*

<sup>e</sup>Dos gramos de C8910 al 15% (5% cada ácido, octanoico, decanoico nonanoico,) en Caolín-P (caolín pulverizado) dispersión en 100 ml de agua.

<sup>f</sup> Dos gramos de caolín-P dispersados en 100 ml de agua.

Reivindicaciones

1. Una composición pesticida de insectos o artrópodos que comprende:

(a) un ingrediente activo que consiste de una mezcla de ácidos grasos, teniendo cada ácido graso una cadena de carbono recta de 6 a 12 átomos de carbono de longitud, en donde la mezcla de ácidos grasos comprende:

5 (i) una primera molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 6 a 8 átomos de carbono de longitud,

(ii) una segunda molécula de ácido graso que tiene una cadena de carbono recta de 8 a 9 átomos de carbono de longitud; y

10 (iii) una tercera molécula de ácidos grasos que tiene una cadena de carbono recta de 9 a 12 átomos de carbono de longitud, en donde la primera molécula de ácido graso, la segunda molécula de ácido graso y la tercera molécula de ácido graso son todas diferentes,

en donde el ingrediente activo comprende aproximadamente 15% en peso de la composición; y

(b) un portador incluye arcilla de caolín pulverizado que promueve la absorción del ingrediente activo por el insecto o artrópodo.

15 2. La composición de la reivindicación 1, en donde la primera molécula de ácido graso comprende ácido octanoico, la segunda molécula de ácido graso comprende ácido nonanoico, y la tercera molécula de ácido graso comprende ácido decanoico.

3. La composición de la reivindicación 2, en donde la primera, segunda y tercera moléculas de ácidos grasos están presentes en una relación de 1:1:1 en peso.

20 4. La composición de la reivindicación 3, en donde la primera molécula de ácido graso, la segunda molécula de ácido graso y la tercera molécula de ácido graso comprenden cada una de 5% a 95% del ingrediente activo.

5. La composición de la reivindicación 1, en donde el ingrediente activo comprende ácido octanoico, ácido nonanoico y ácido decanoico en una relación de 1:1:1 en peso.

25 6. Un método para incapacitar o matar a un insecto o artrópodo, comprendiendo el método poner en contacto el insecto o artrópodo con la composición pesticida de la reivindicación 1.

7. El método de la reivindicación 6, en donde el insecto o artrópodo se selecciona del grupo que consiste de mosquitos, moscas domésticas, moscas de los establos, moscas de los cuernos, tábanos, moscas de la cara, moscas de los ojos, jejenes y garrapatas.

30 8. El método de la reivindicación 6, en donde en la composición la primer molécula de ácido graso comprende ácido octanoico, la segunda molécula de ácido graso comprende ácido nonanoico, y la tercera molécula de ácido graso comprende ácido decanoico, y en donde el insecto o artrópodo se selecciona de hormigas .

35 9. El método de la reivindicación 6, en donde la composición es una formulación de 0.3% de la primera molécula de ácido graso que comprende ácido octanoico, la segunda molécula de ácido graso que comprende ácido nonanoico, y la tercera molécula de ácido graso que comprende ácido decanoico, en agua dispersión acuosa de P-Caolín, y en donde el insecto o artrópodo es una cucaracha alemana.

10. El método de la reivindicación 6, en donde la composición de la primera molécula de ácido graso comprende ácido octanoico, la segunda molécula de ácido graso comprende ácido nonanoico, y la tercera molécula de ácido graso comprende ácido decanoico, y en donde el método incapacita o mata selectivamente mosquitos, moscas y garrapatas.

40 11. La composición de la reivindicación 2, donde la composición tiene un tamaño de partícula de aproximadamente 3 micrones.

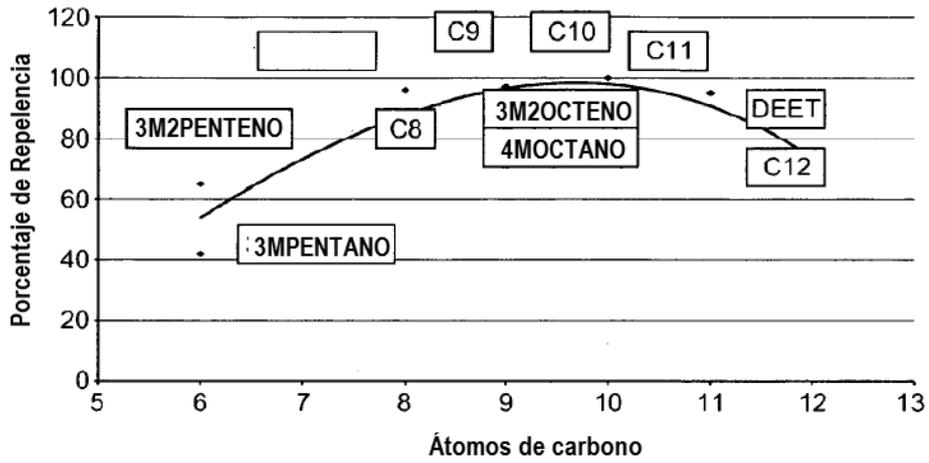


FIG. 1

**Prueba de Campo de Repelencia de la Mosca del Cuerno que Compara Tratamientos de Bolsa de Polvo en el Ganado**

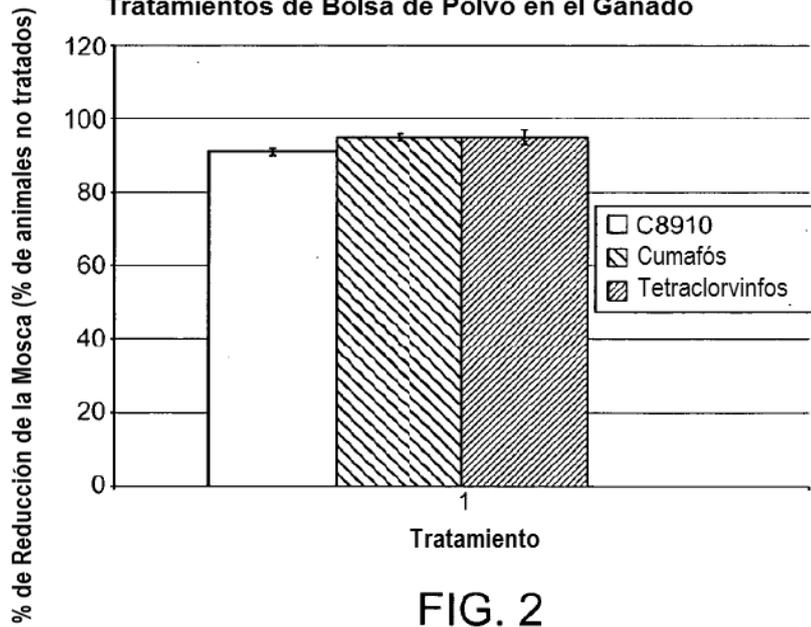
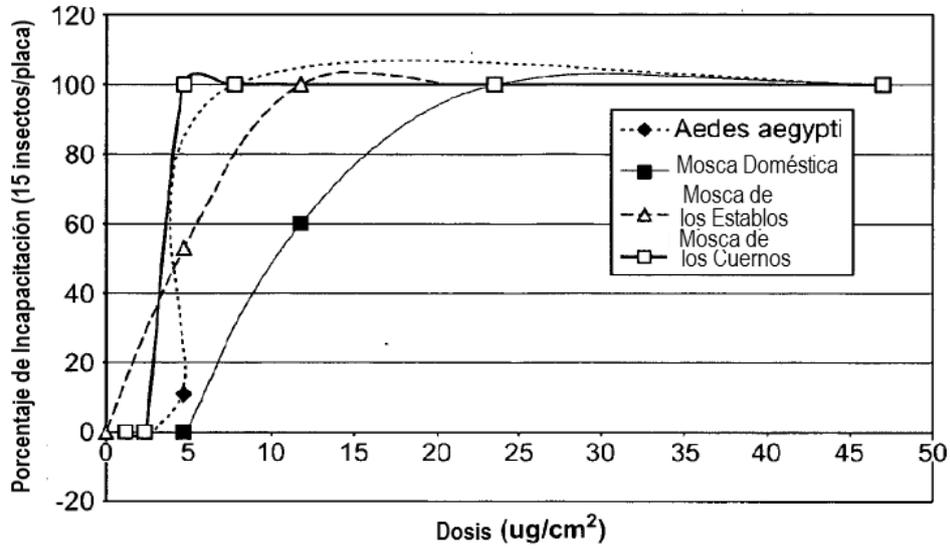


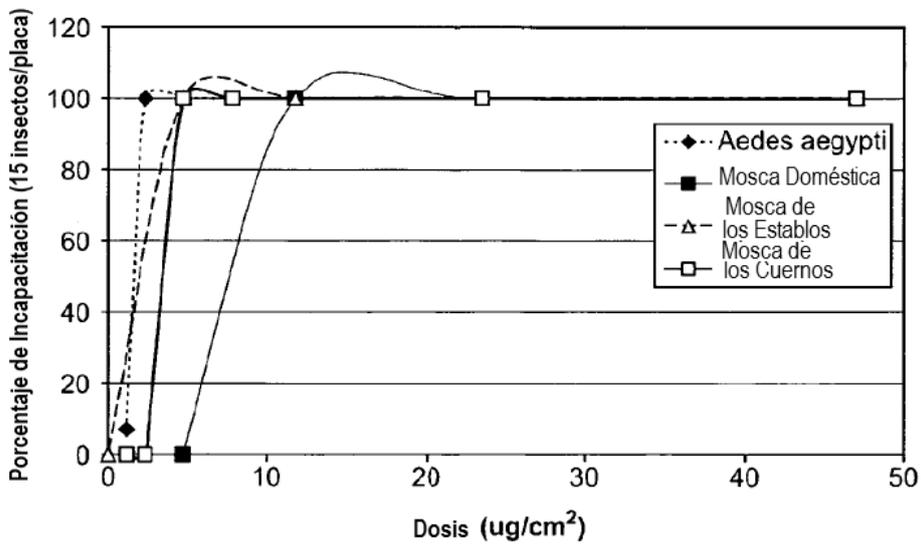
FIG. 2

**Incapacitación de Insectos Después de 10 Minutos de Exposición a Dispersión en Agua de C8910/Caolín (Papel De Filtro/Placa De Petri).**



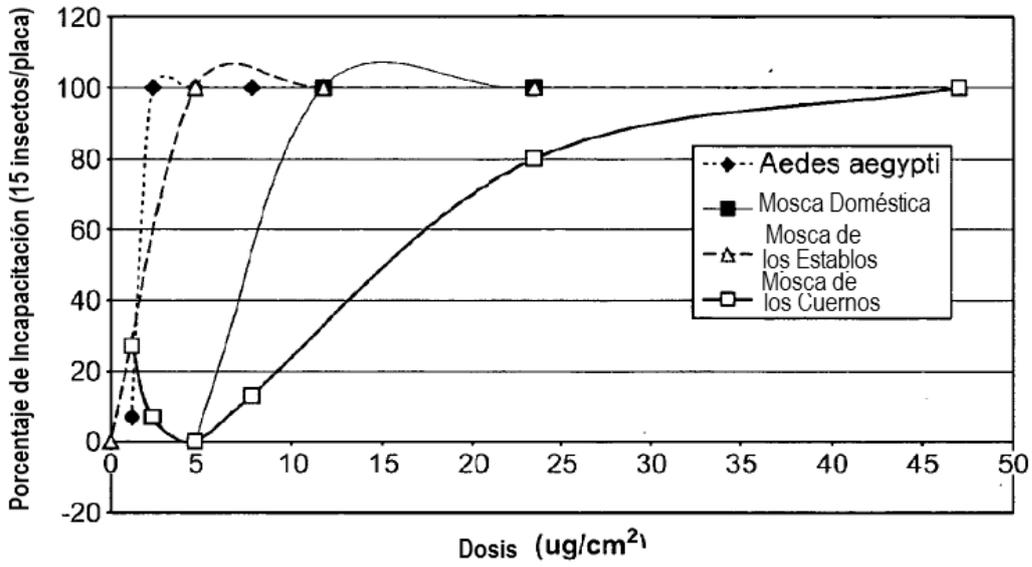
**FIG. 3**

**Incapacitación de Insectos Después de 25 Minutos de Exposición a Dispersión en Agua de C8910/Caolín (Papel De Filtro/Placa De Petri).**



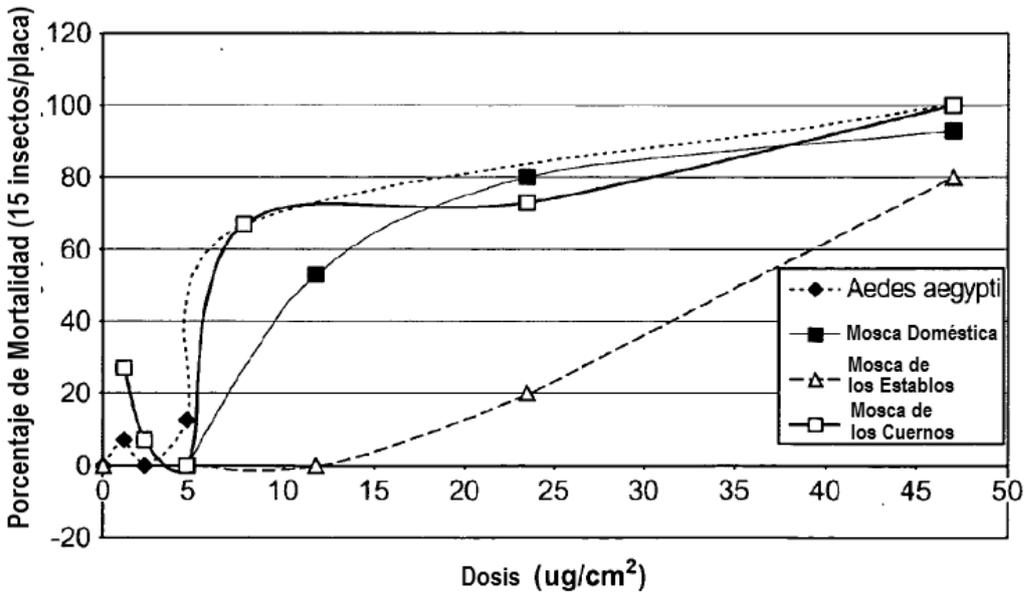
**FIG. 4**

**Incapacitación de Insectos Después de 24 horas de Exposición a Dispersión en Agua de C8910/Caolín (Papel De Filtro/Placa De Petri).**



**FIG. 5**

**Mortalidad de Insectos Después de 24 horas de Exposición a Dispersión en Agua de C8910/Caolín (Papel De Filtro/Placa De Petri).**



**FIG. 6**

Incapacitación Y Mortalidad del *Aedes Aegypti* después de la Exposición a Papeles de Filtro/Placas de Petri Tratados con Dispersión en Agua de C8910, Dispersión en Agua de Permetrina, Solución Acuosa de DEET, y Agua Destilada/.

Todos los Ingredientes Activos en Dosis de 4.7 µg/cm<sup>2</sup>.

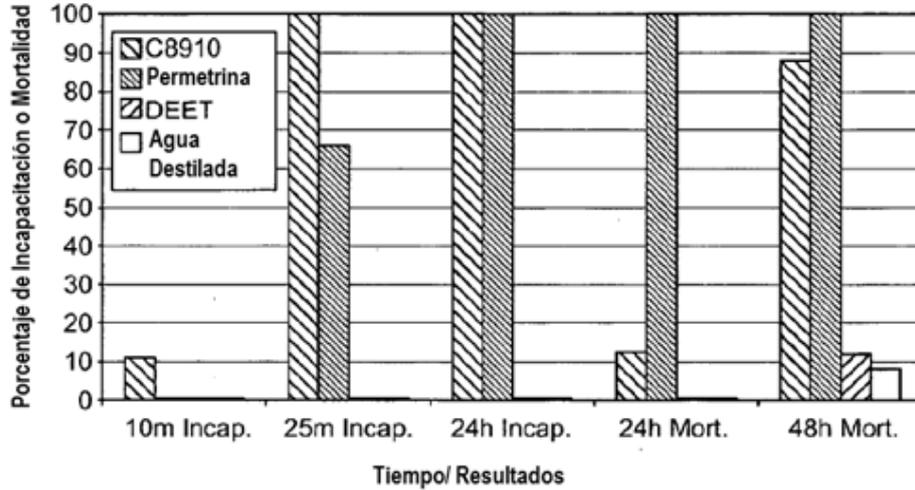


FIG. 7

Incapacitación y Mortalidad de la Mosca de los Establos Después de la Exposición a Papeles de Filtro Tratados con Dispersión en Agua de C8910/Caolín al 15%, Dispersión en Agua de Permetrina/Caolín al 1%, y Dispersión en Agua, de Caolín (Control).

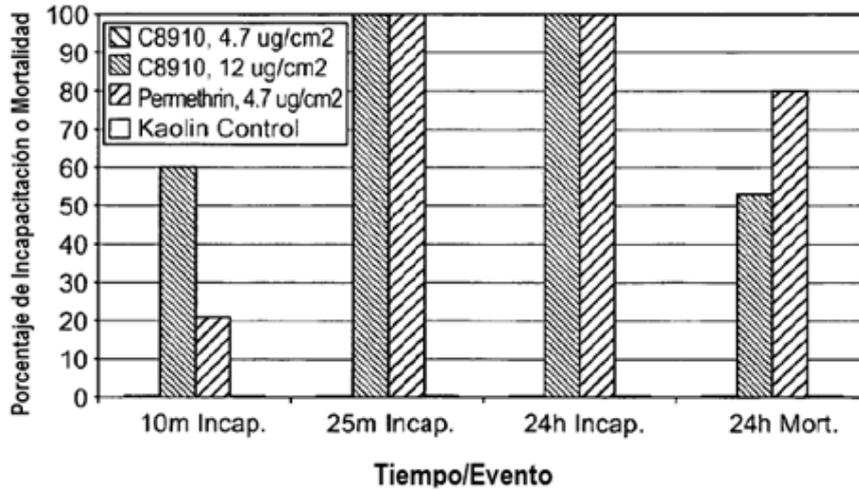


FIG. 8

Incapacitación y Mortalidad de la Mosca de los Establos Después de la Exposición a Papeles de Filtro Tratados con Dispersión en Agua de C8910/Caolín al 15%, Dispersión en Agua de Permetrina/Caolín al 1%, y Dispersión en Agua de Caolín (Control)

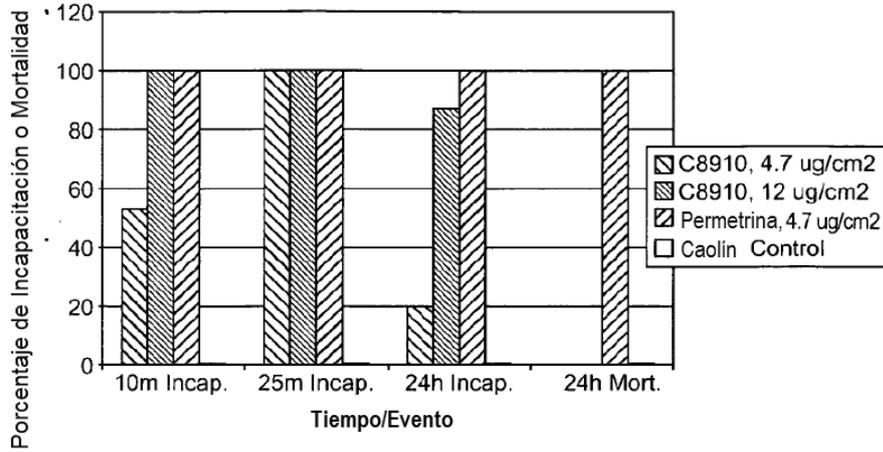


FIG. 9

Incapacitación y Mortalidad de la Mosca de los Cuernos Después de la Exposición a Papeles de Filtro Tratados con Dispersión en Agua de C8910/Caolín al 15%, Dispersión en Agua de Permetrina/Caolín al 1%, y Dispersión en Agua de Caolín (Control)

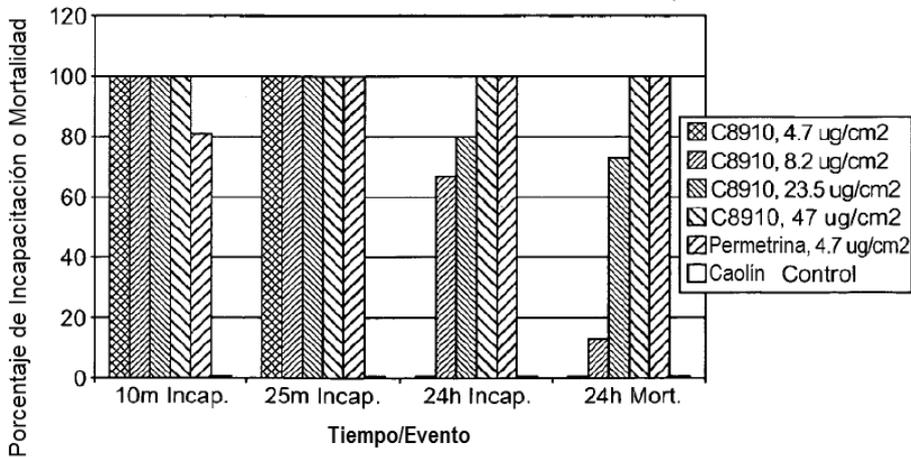


FIG. 10

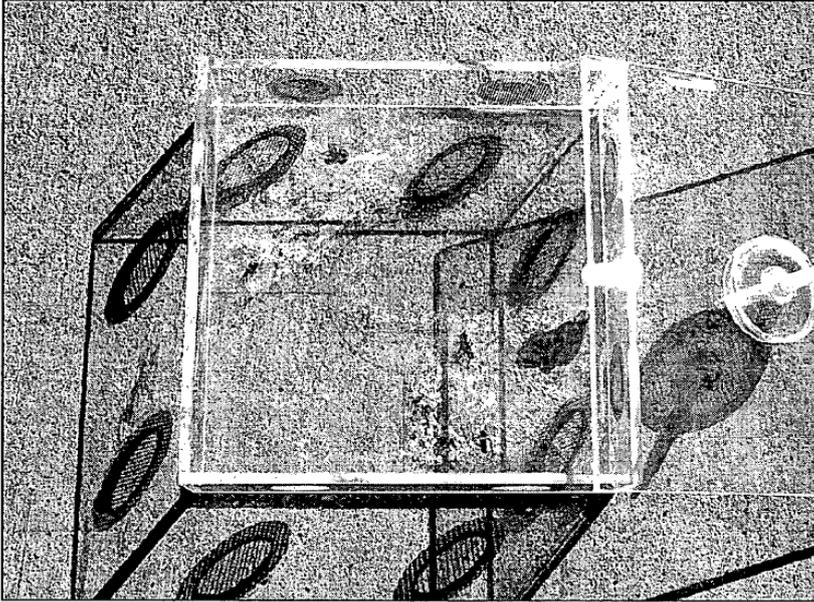


FIG. 11



FIG. 12



FIG. 13

Incapacitación de la Mosca Doméstica Vs. Tiempo Después del Tratamiento con C8910 en formulación en polvo.

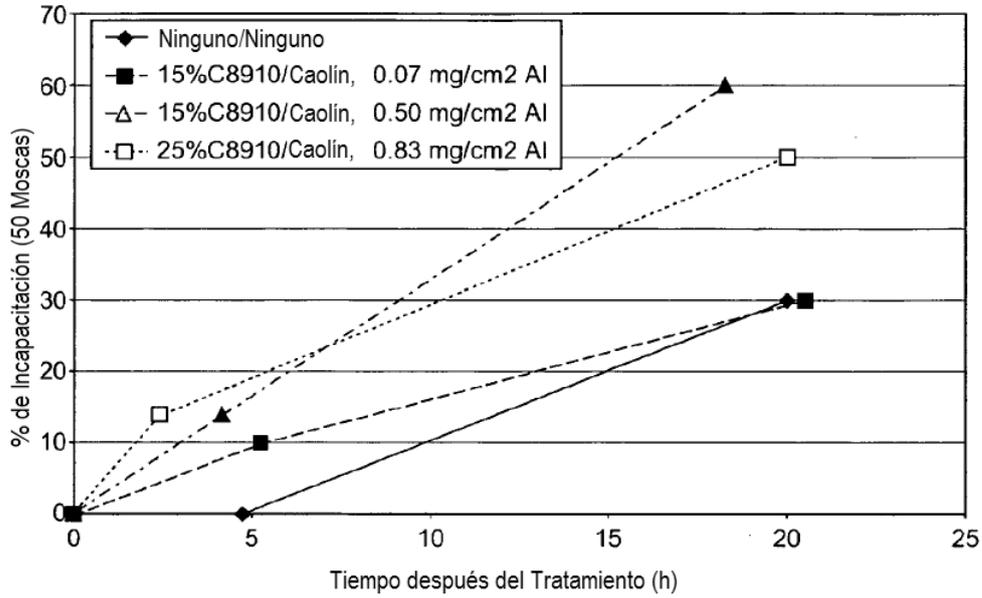


FIG. 14

Incapacitación de la Mosca Doméstica a Partir de C8910 en Vehículo de Concentrado Emulsificable (EC), Ejecución 1.

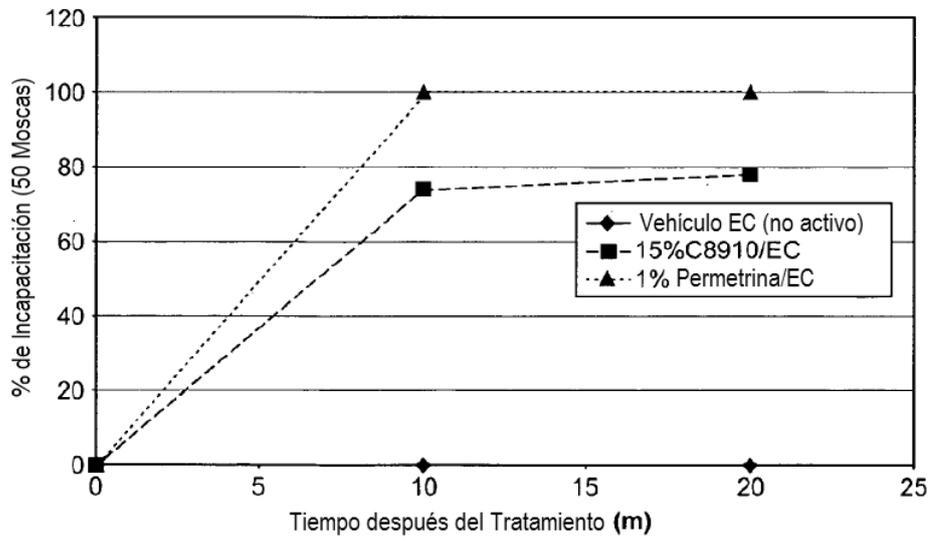


FIG. 15

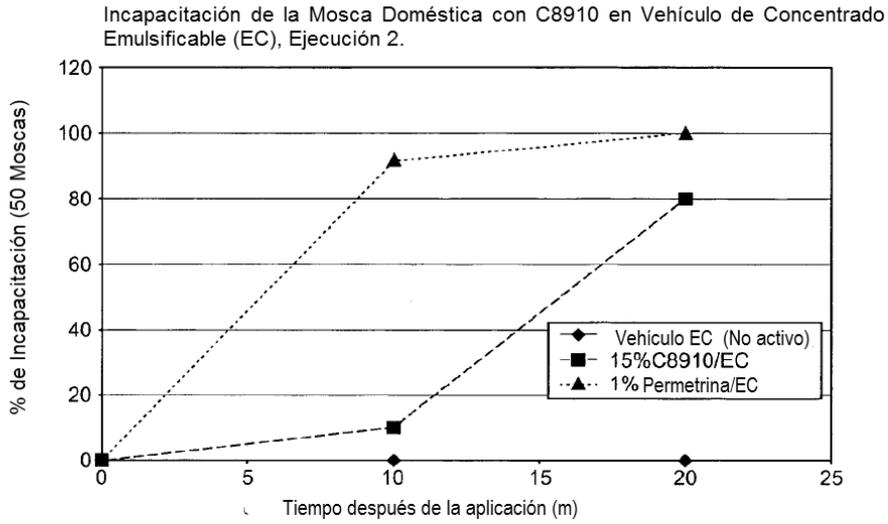


FIG. 16

Control de la Mosca Doméstica en Exterior de C8910 en Vehículo de Evercide (-Permetrina) Vs. Permetrina (Evecide) Aplicada al Suelo y Losa de Concreto, Ganja Little Chicken, Distrito de Bang Len, Nakhorn Pathom, Tailandia.

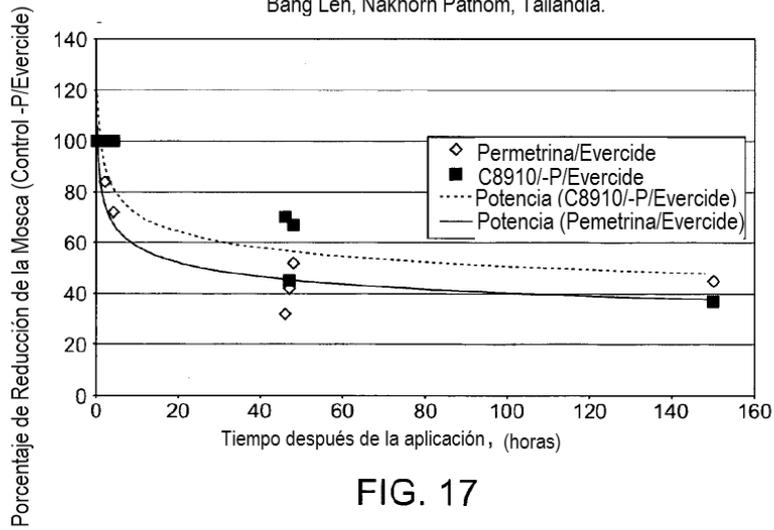


FIG. 17

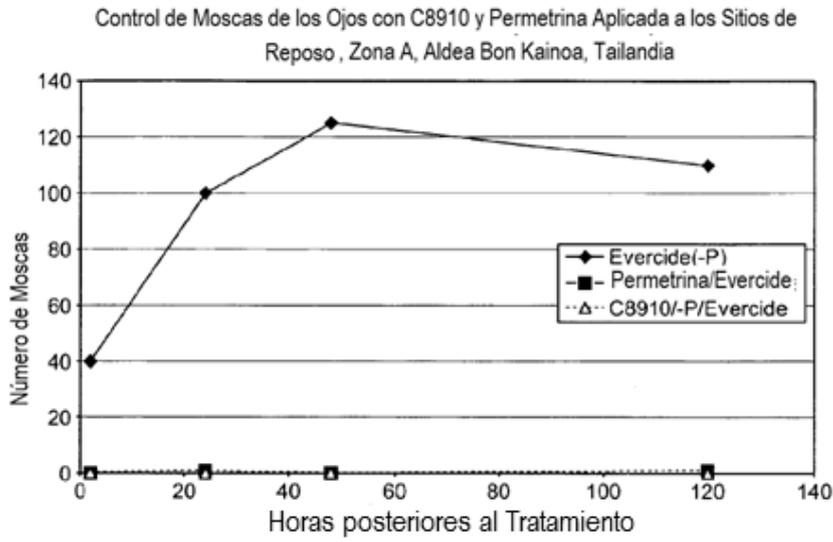


FIG. 18

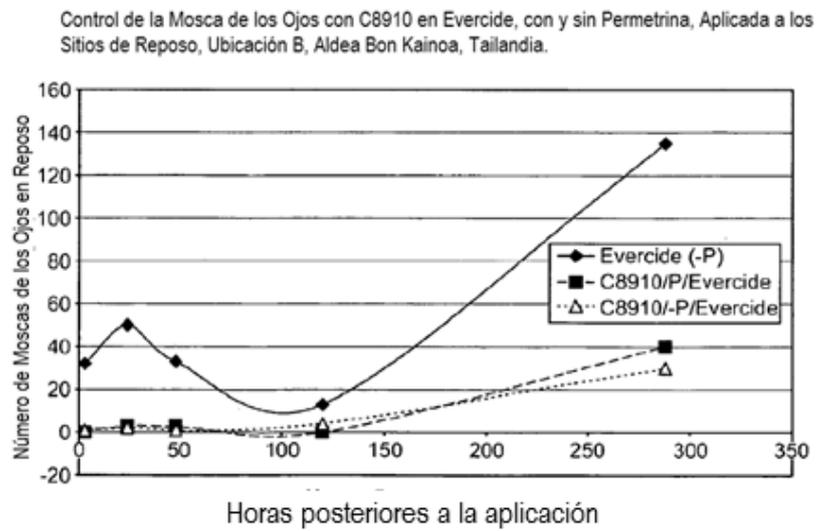


FIG. 19

Aspersión al Espacio para control de la Mosca Doméstica en una Cámara Peet Grady

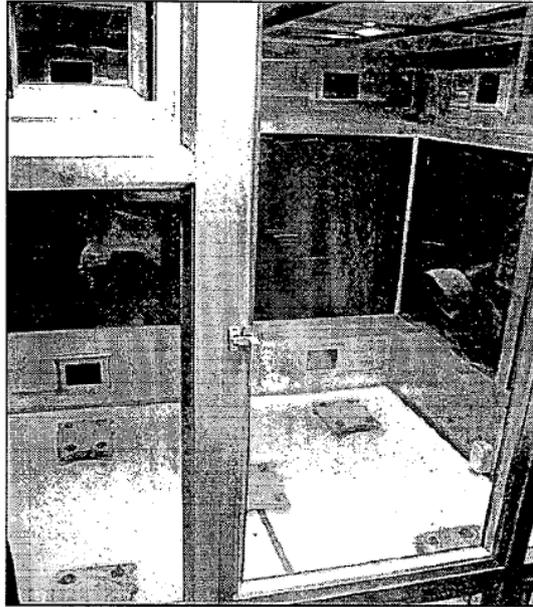


FIG. 20

Control de la Mosca Doméstica de C8910 Vs. Permetrina en Minugel 200  
(Cámara Peet Grady)

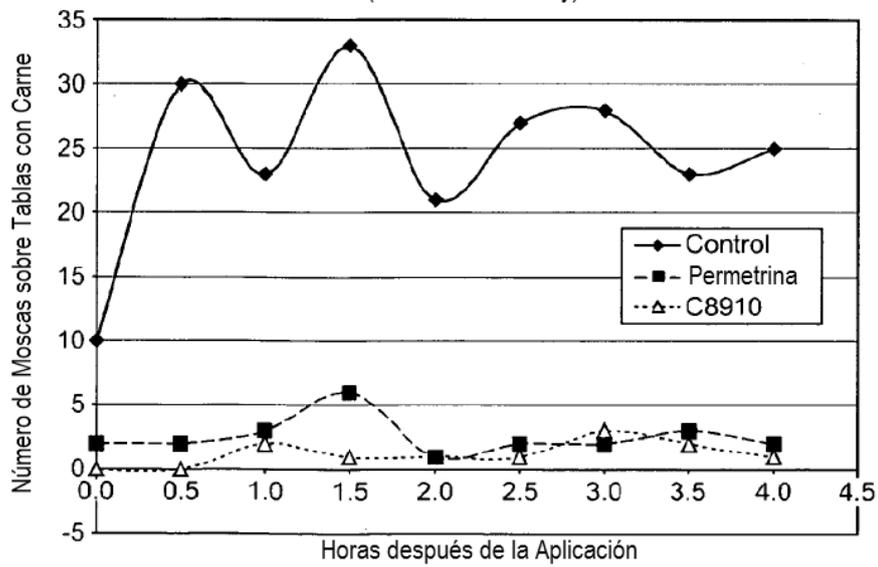


FIG. 21

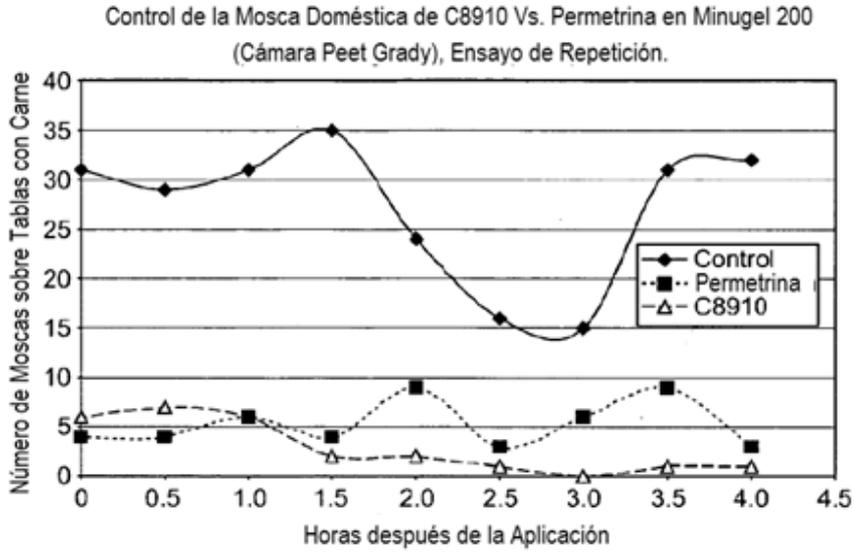


FIG. 22

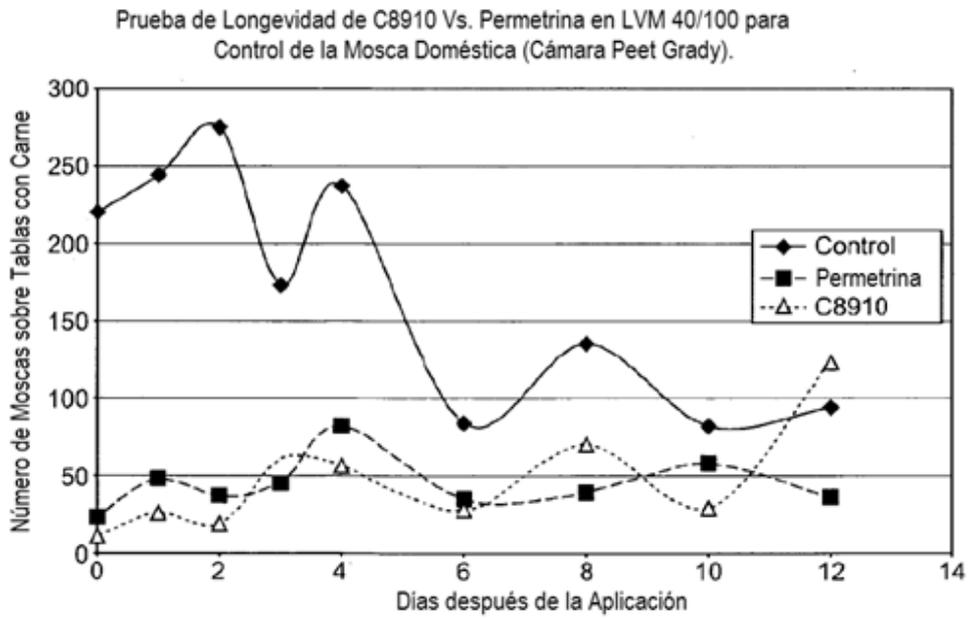


FIG. 23

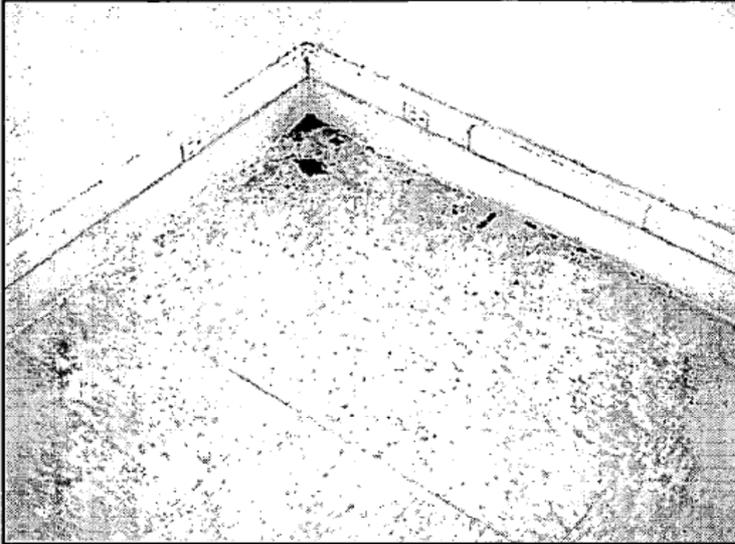


FIG. 24

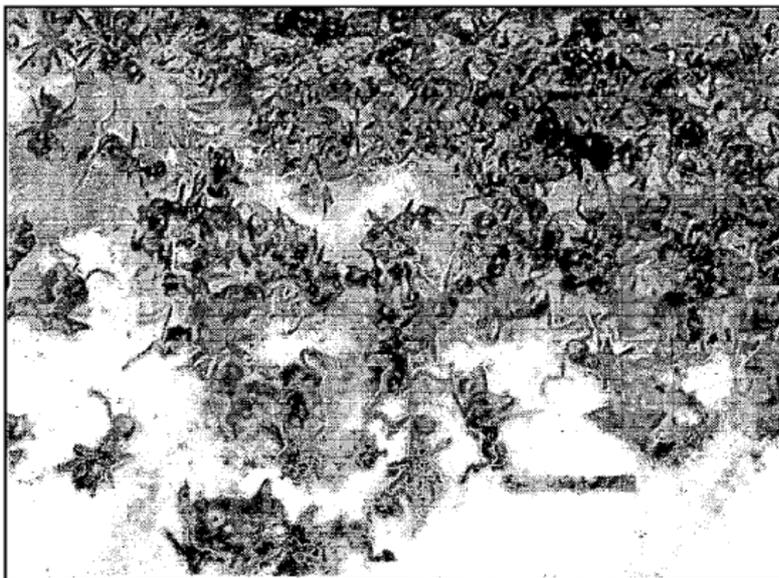


FIG. 25

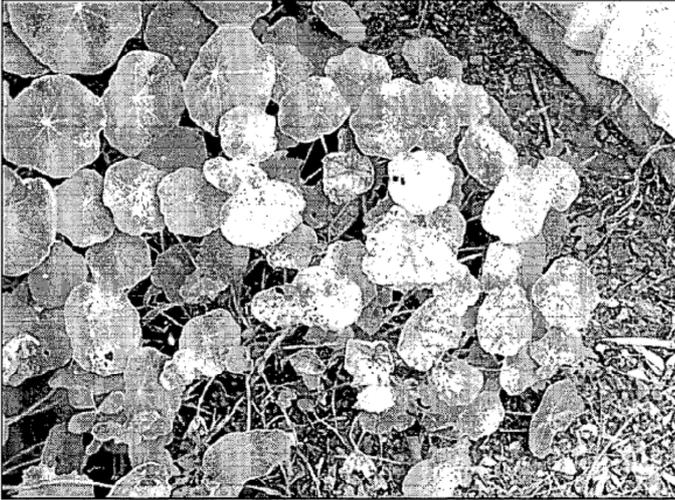


FIG. 26

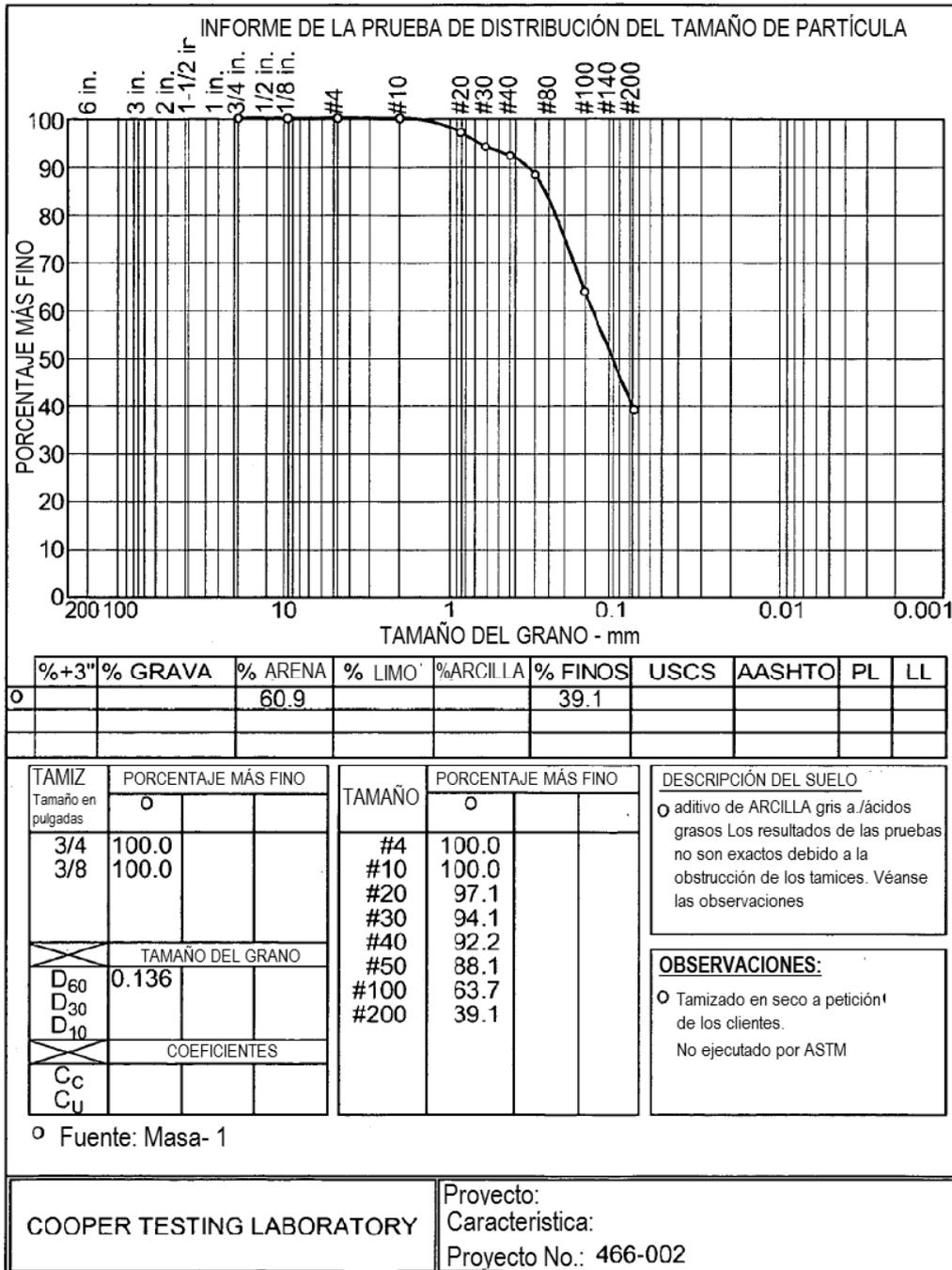


FIG. 27

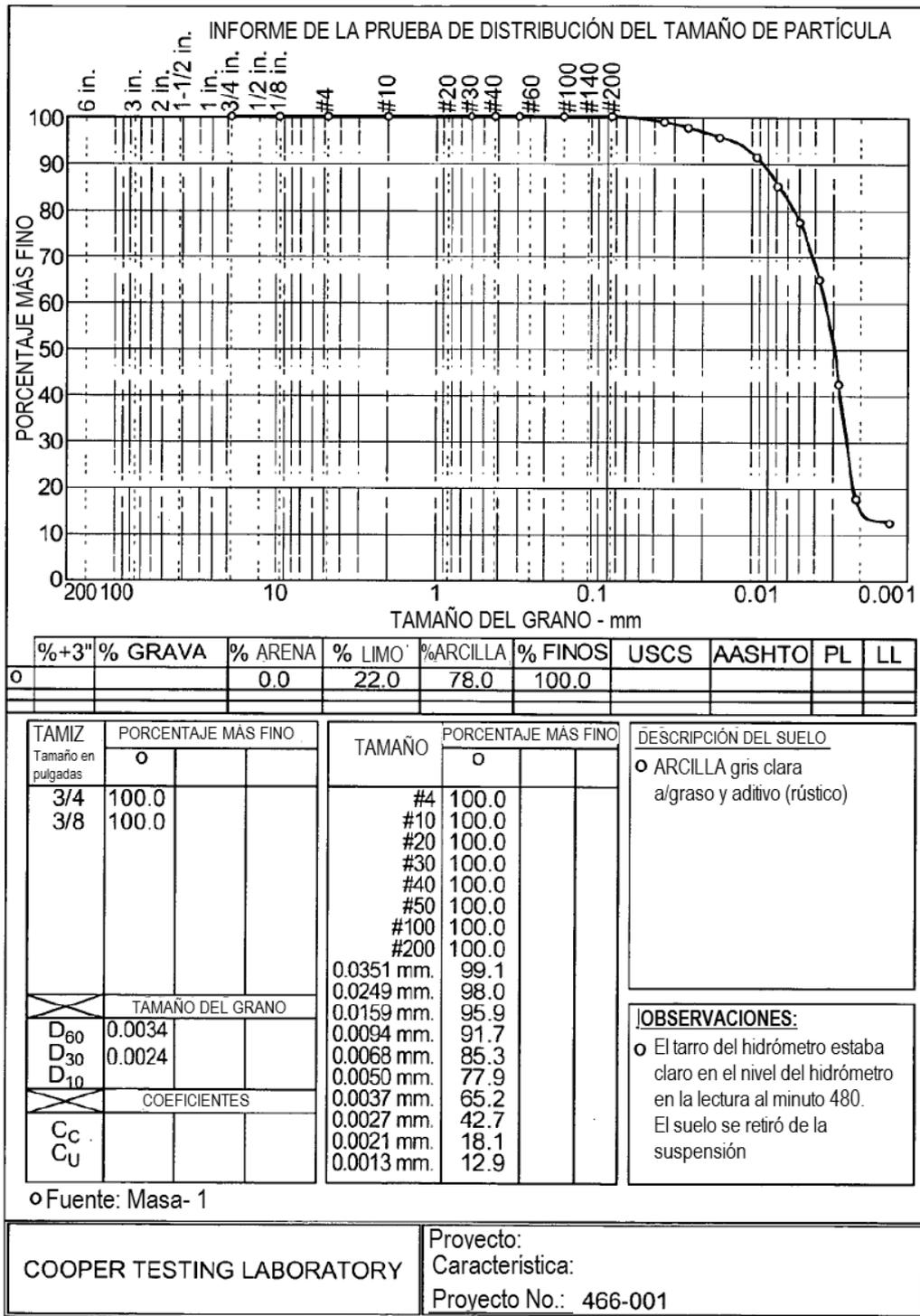


FIG. 28

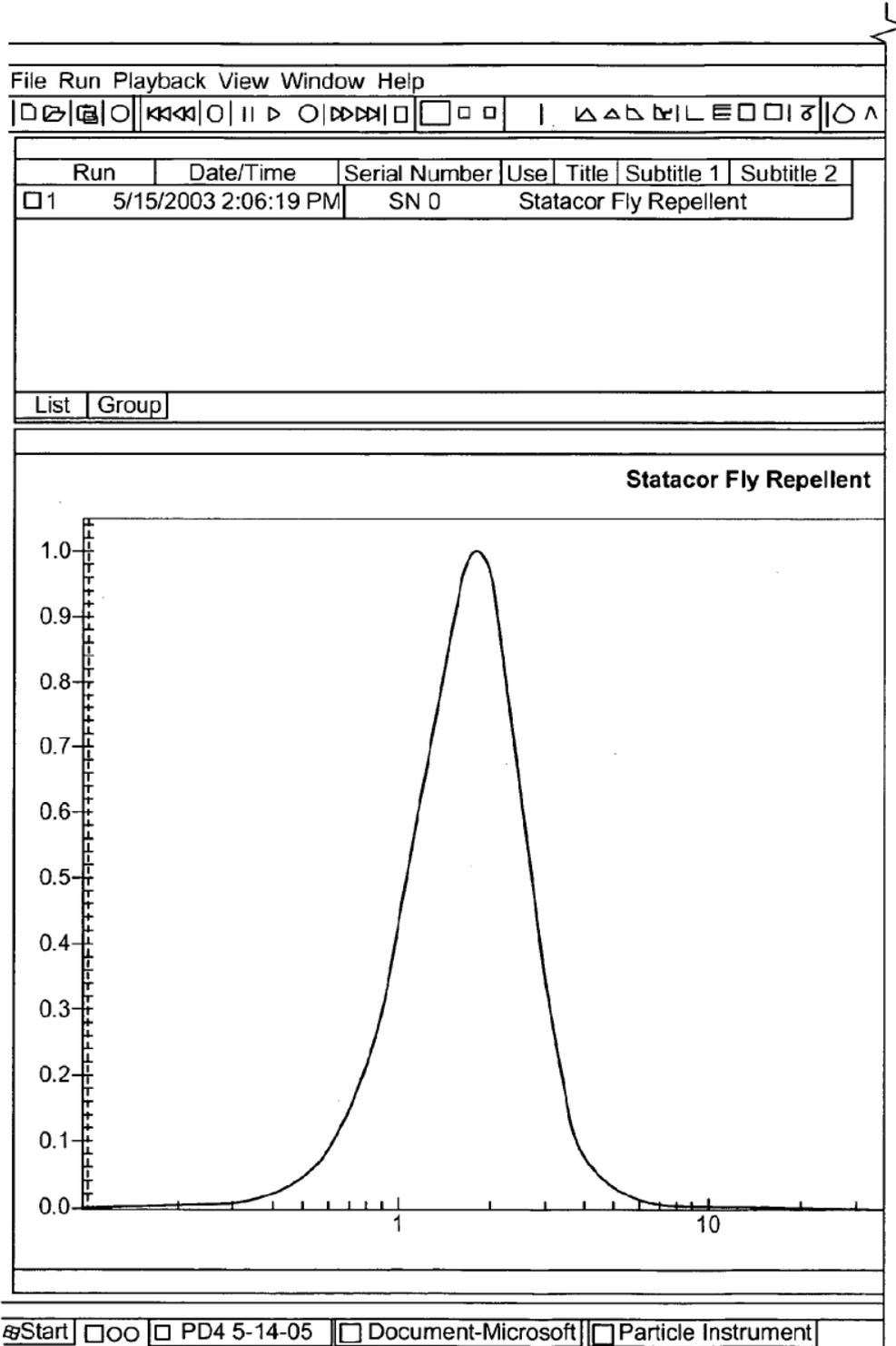


FIG. 29

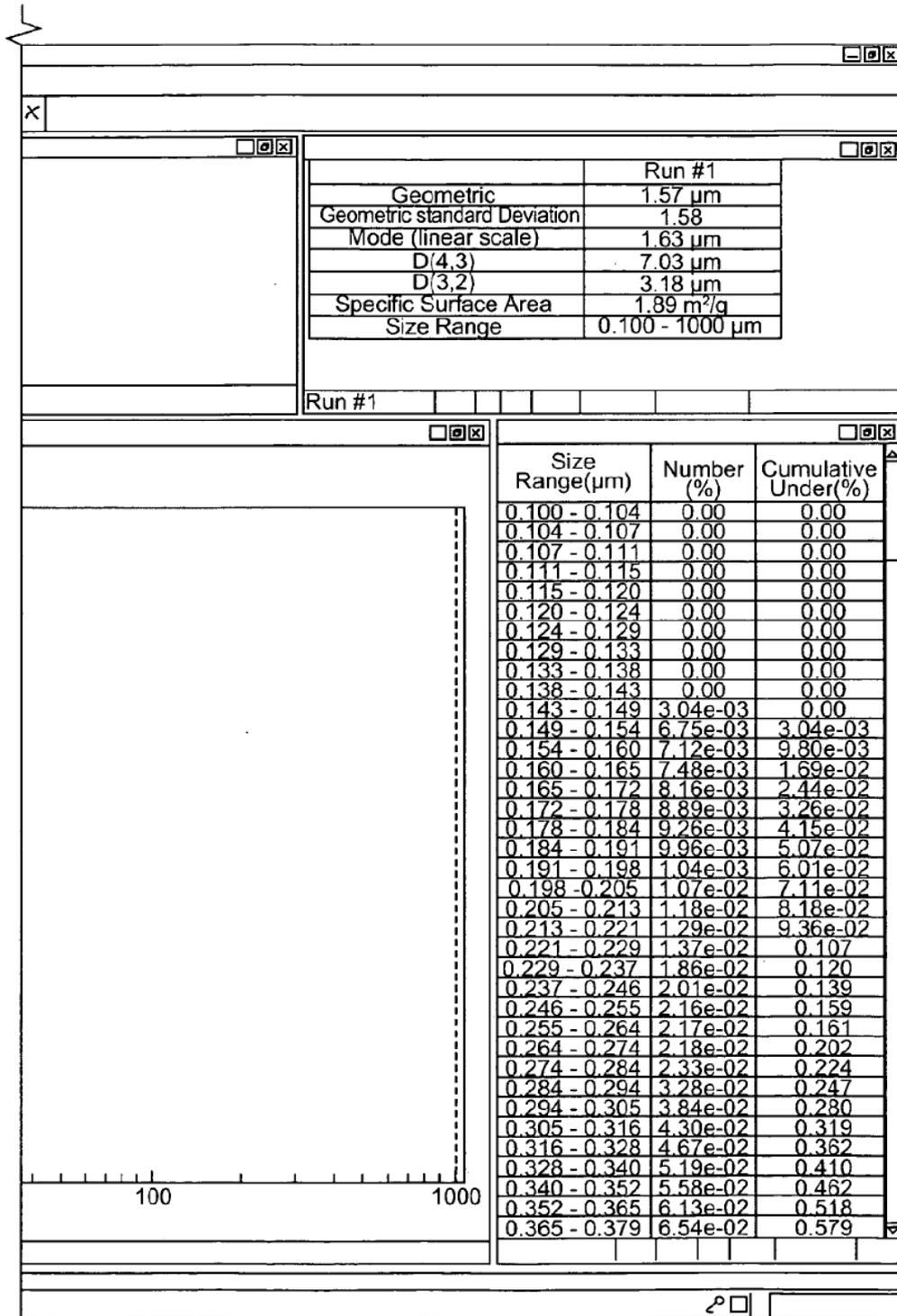


FIG. 29 (Cont.)