

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 642**

51 Int. Cl.:

A01N 49/00 (2006.01)

A01N 35/02 (2006.01)

A01P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.03.2007 PCT/GB2007/000742**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2007 WO07099347**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2007 E 07712821 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.05.2017 EP 2007204**

54 Título: **Agentes repelentes de plagas que comprenden geranilacetona**

30 Prioridad:

03.03.2006 US 779109 P

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

14.09.2017

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY COURT OF THE UNIVERSITY
OF ABERDEEN (50.0%)**

King's College

Aberdeen, Aberdeenshire AB24 3FX, GB y

ROTHAMSTED RESEARCH LIMITED (50.0%)

72 Inventor/es:

PICKETT, JOHN ANTHONY;

LOGAN, JAMES GEORGE;

BIRKETT, MICHAEL ALEXANDER y

MORDUE, ANNE JENNIFER

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 632 642 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

Agentes repelentes de plagas que comprenden geranilacetona

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere, en general, a métodos y a materiales para su uso para repeler, o impedir la atracción de, insectos que pican.

10 **Antecedentes de la técnica**

Existen numerosas publicaciones relacionadas con el suministro de composiciones de las que se dice que, en general, repelen o atraen (por ejemplo, a trampas) insectos que pican. Estos incluyen el documento US 3.668.226; documento GB 899.289; documento US 6.444.216; documento US 6.660.775; documento WO 03/009688; resumen del documento JP2002308706; resumen del documento JP10117657; resumen del documento JP10139602; documento US 4.560.551; documento WO 02/13607; documento US 6.203.786; resumen del documento JP11060421; resumen del documento JP7126110; documento GB 925.243; resumen del documento JP20002363006; resumen del documento JP1019004; documento WO 02/71840; resumen del documento JP9030906; documento US 6.660.288.

Curiosamente, los mosquitos (*Culicidae*), los mosquitos pequeños (*Ceratopogonidae*) y otras moscas (*Diptera*) que pican a una serie de hospedadores vertebrados para obtener sangre, demuestran preferencias entre especies y dentro de una especie hospedadora. Sin embargo, ha habido relativamente pocos estudios que han investigado las preferencias entre especies y dentro de una especie hospedadora en estos organismos^{1-9,14}.

Se cree que son muchos los factores que determinan las preferencias, pero para los hospedadores humanos, los estudios han demostrado que la atracción diferencial está determinada por señales olfativas volátiles (es decir, productos químicos volátiles) que emanan de la piel y de los microorganismos asociados, o de la respiración^{15,16}. En concreto, la evidencia reciente sugiere que la atracción relativa está causada por las diferencias en las señales olfativas proporcionadas por cada hospedador¹⁰⁻¹³. Sin embargo, la base química real para la atracción relativa ha permanecido indefinida.

El documento WO2005/096824 se refiere a composiciones y a procedimientos de manipulación del comportamiento de larvas de gusanos. Entre otros productos químicos, la composición puede incluir geranilacetona.

La publicación de solicitud de patente japonesa JP20030284924 se refiere a un repelente de plagas de insectos que contiene compuestos tales como geranilacetona.

Sin embargo, el suministro de nuevas composiciones o de nuevos usos para controlar el comportamiento de los insectos e inhibir la actividad de los insectos que pican a los hospedadores hacia los que son atraídos proporcionaría una contribución a la técnica.

Divulgación de la invención

Los presentes inventores han demostrado por primera vez, de manera contraria, que hay un mecanismo de enmascaramiento atrayente o repelente implicado en la falta de atracción del mosquito *Aedes aegypti* de la fiebre amarilla y el célebre mosquito pequeño escocés *Culicoides impunctatus* hacia los individuos. Esto es contrario a la suposición que aparece en gran parte de la literatura de que las preferencias pueden estar dictadas por una selección agotada de atractivos, es decir, la opinión de que dichos individuos "poco atractivos" simplemente no secretaron dichas sustancias atrayentes.

En resumen, los inventores primero establecieron el atractivo diferencial para el mosquito de la fiebre amarilla, *Ae. Aegypti*, dentro de un grupo de voluntarios humanos y luego recogieron extractos volátiles de sus cuerpos usando una nueva técnica de recolección. Los registros electrofisiológicos de las antenas de *Ae. Aegypti* y *C. impunctatus*, revelaron 23 compuestos activos, que fueron identificados y cuantificados. Se encontró que varios productos químicos eran producidos en mayores cantidades por los individuos no atractivos, y estos se investigaron más a fondo como se expone en los siguientes ejemplos.

Los resultados mostraron que algunos de estos compuestos causaron una reducción significativa de la actividad de vuelo de *Ae. Aegypti* cuando se presentaron junto con una mano humana en el olfatómetro en tubo Y. Se llevó a cabo un ensayo de campo contra *C. impunctatus* y se puso de manifiesto que algunos de los compuestos activos resultaron ser repelentes más eficaces, a concentraciones naturales, que el DEET repelente de picaduras de moscas comercial. Los compuestos descritos en el presente documento se pueden usar, por tanto, para la protección contra dichos insectos.

Se realizó una presentación oral en la SOVE (Society of Vector Ecology), 4th International Congress of Vector

- Ecology, Nugget Hotel/Casino Reno, Nevada, 2-7 de octubre de 2005 (Jueves, 6 de octubre de 2005; Student Paper Session II - Oral Presentations; SP-16 "Laboratory and field experiments on the effects of synthetic odor blends on the behaviour of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*" Qui, T. Yu, yu.tongqiu@wur.nl, Universidad de Wageningen, Wageningen, Países Bajos, y R. S mallelange, J. Spitzen, J. Cajo, T. Braak, J. Joop, Var Loon, M. Jawara, P. Milligan, B. Knols, W. Takken). La presentación analizaba un olfatómetro y ensayos de campo de una serie de compuestos que se creía que se encontraban en el sudor humano recién producido e incubado. Se demostró que ciertos compuestos, incluyendo los compuestos identificados por los presentes inventores a continuación, eran tanto atrayentes como repelentes en los ensayos.
- 5
- 10 En diciembre de 2005, también se publicó una tesis (Qiu, Y. T. (2005) "Sensory and behavioural responses of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* to human odours". Tesis doctoral, Universidad de Wageningen, Países Bajos).
- En dichas divulgaciones, no se hicieron comparaciones entre los individuos "atractivos" y "poco atractivos". No se realizaron ensayos basados en la aplicación real en la piel del hospedador.
- 15
- En general, la presente memoria descriptiva proporciona métodos de control del comportamiento de los insectos, comprendiendo el método el uso de una composición de la invención, como se describe a continuación, que podría aplicarse, por ejemplo, a un sujeto o a un entorno.
- 20 Así pues, en un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende geranilacetona como principio activo más un principio activo adicional que es 6-metil-hepten-2-ona, en la que la 6-metil-5-hepten-2-ona y la geranilacetona están presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:1.
- Dicha composición se puede usar en un método de inhibición de la actividad de una plaga de insectos contra un sujeto, comprendiendo el método la aplicación a un sujeto de una composición de la invención, como se describe a continuación.
- 25
- El sujeto a quien se aplique la composición, en general, será una especie que sea un hospedador diana normal de la plaga de insecto, y (en ausencia de la composición) sería diana o atraería a la plaga de insecto. Los sujetos que se van a tratar con los compuestos de la presente invención podrían ser, en principio, sujetos humanos o animales (por ejemplo, perros, gatos, caballos, ganado). Preferentemente, el sujeto es un sujeto humano.
- 30
- La plaga de insectos es preferentemente un insecto hematófago, por ejemplo, de la familia *Ceratopogonidae* (preferentemente, del género *Culicoides*) o de la familia *Culicidae*. Preferentemente, la plaga es un insecto seleccionado de la Tabla 1.
- 35
- Lo más preferentemente, es un mosquito o un mosquito pequeño.
- Los mosquitos pequeños que pican pertenecen al género *Culicoides* de la familia *Ceratopogonidae*. Son los más pequeños de los insectos hematófagos, y son plagas comunes en el R.U., noreste de EE.UU. (donde se denominan *punkies*, flebótomos y purrujas) y en muchos otros lugares de todo el mundo.
- 40
- La composición se aplicará en una cantidad eficaz para inhibir la actividad de una plaga de insectos contra el sujeto, por ejemplo, en comparación con el mismo sujeto sin la composición determinada por métodos de campo convencionales (tales como los usados en el Ejemplo que se presenta a continuación, véase la Referencia 18) después bien de 1, 5 o 30 minutos.
- 45
- Los ejemplos descritos a continuación muestran que las composiciones de la invención se pueden usar para inhibir la atracción hacia sujetos (por ejemplo, como se demuestra mediante una reducción significativa en la actividad de vuelo ascendente hacia el sujeto). Las composiciones en el campo demostraron repelencia basándose en un protocolo de la Organización Mundial de la Salud para el ensayo de repelentes. Por lo tanto, es evidente que las composiciones de la invención se pueden usar para afectar negativamente al comportamiento de búsqueda del hospedador de las plagas de insectos, por ejemplo, reducir la atracción hacia un sujeto o aumentar la repulsión del sujeto, y la expresión "inhibición de la actividad" o el término "repelente" o similar, como se usan en el presente documento, serán correspondientemente entendidos por los expertos en la materia.
- 50
- 55
- Como alternativa, la geranilacetona se conoce como 6,10-dimetil-5,9-undecadien-2-ona (*cis* y *trans*); 5,9-undecadien-2-ona; 6,10-dimetil-, *trans*-Geranilacetona; Nerilacetona; Dihidropseudoionona; 6,10-Dimetil-undeca-5,9-dien-2-ona.
- 60
- Lwande *et al.* (1999), *Phytochemistry* 50: 401-405, analizaron la repelencia del aceite esencial del matorral de pastizal anti-garrapatas *Gynandropsis gynandra* en un bioensayo de repelencia de la escalada de garrapatas. Se evaluaron los componentes del aceite y se incluyó *trans*-geranilacetona, nononal y muchos otros. Se concluyó que la mezcla de todos los componentes podría actuar como un repelente de los artrópodos de carácter general, aunque no se ofrecieron pruebas de que fuera eficaz en la aplicación real a un hospedador.
- 65

La inhibición de la actividad en el campo demostrada en el presente documento para las composiciones que contienen geranilacetona es sorprendente, ya que esta se ha analizado anteriormente en el contexto de un atrayente para polillas de la ropa (véase el documento WO 03/009688) y ácaros (véase el resumen del documento JP2002308706; resumen de JP10117657).

5 Las composiciones de la invención incluyen geranilacetona y 6-metil-5-hepten-2-ona. Dichas composiciones de la invención también pueden incluir uno o más compuestos adicionales seleccionados de la lista que consiste en: octanal; decanal; nonanal.

10 La 6-metil-5-hepten-2-ona se conoce como alternativa como 6-metilhept-5-en-2-ona; Sulcatona; 5-Hepten-2-ona, 6-metil-; 6-metil-5-hepten-2-ona; 2-metil-2-hepten-6-ona; -metilhept-5-en-2-ona; metilheptenona; 2-metil-6-oxo-2-hepteno; 2-oxo-6-metilhept-5-eno.

15 Todos los compuestos anteriores han mostrado actividad inhibidora en los ejemplos que se presentan a continuación.

Opcionalmente, las composiciones de la invención también incluyen uno o más compuestos adicionales seleccionados de la lista que consiste en: benzaldehído; naftaleno; acetofenona; (E)-2-octenal.

20 Se ha demostrado que estos compuestos están presentes en cantidades superiores en la piel de los individuos "poco atractivos". Opcionalmente, se pueden añadir a las composiciones de la presente invención.

25 Las composiciones pueden excluir opcionalmente ingredientes tales como uno o más de: limoneno, m-Cimeno, 1-alfa-terpineol, beta-ciclocitral, nerol, carvacrol, beta-ionona, nerolidol y, en particular, isotiocianato de metilo. Las composiciones pueden excluir ingredientes tales como uno o más de: ácido heptanoico, ácido tetradecanoico, 3-metil-1-butanol, 4-etilpentona.

30 Por lo tanto, además de principios activos adicionales, aditivos y un vehículo como se describe a continuación en el presente documento, las composiciones preferidas de la presente invención comprenden geranilacetona en la composición a una concentración de al menos aproximadamente el 0,0001 % en peso.

El vehículo puede ser del 0,1 % al 99,9999 % en peso de la composición total.

Preferentemente, las composiciones de la invención comprenden:

35

Geranilacetona:	0,0001-10 %
Más preferentemente	0,001-10 %

Opcionalmente, las composiciones comprenden uno o más compuestos aditivos adicionales seleccionados de la lista que consiste en:

40

Octanal:	0,00001-1 %
Nonanal	0,1-10 %
Decanal	0,0001-10 %

y principios activos adicionales opcionales, aditivos y un vehículo como se describe a continuación en el presente documento hasta completar el 100 %. En el presente contexto, "%" significa g/100 g (composiciones sólidas, peso total) o g/100 ml (líquidos o pomadas, volumen total).

45 Basándose en los ejemplos expuestos a continuación, dichas concentraciones de ingredientes se pueden emplear para la inhibición del vuelo hacia una diana.

Basándose en experimentos que muestran la orientación lejos de la fuente, las composiciones de la presente invención pueden, en ciertas realizaciones, comprender:

50

Geranilacetona:	0,0001-10 %
-----------------	-------------

y opcionalmente:

Decanal	0,0001-0,1 %
---------	--------------

Las composiciones de la presente invención pueden comprender:

55

Geranilacetona:	del 0,001 al 1 %
y 6-metil-5-hepten-2-ona:	0,001 y 1 %

y, opcionalmente, uno o más compuestos adicionales seleccionados de la lista que consiste en:

Decanal	1 %
Octanal:	0,01 %

Los ejemplos de dichas composiciones han demostrado ser eficaces contra los pequeños mosquitos que pican en ensayos de campo.

- 5 Una mezcla preferida para su uso en las composiciones de la presente invención comprenderá geranilacetona y al menos dos, tres, cuatro o cinco de los compuestos aditivos preferidos descritos anteriormente.

Una mezcla preferida para su uso en las composiciones de la presente invención es la siguiente:

- 10 Geranilacetona: del 0,00001 al 10 %, más preferentemente, del 0,001 al 10 %, más preferentemente, del 0,01 al 10 %, más preferentemente, del 0,1 al 5 %, lo más preferentemente del aproximadamente 1 %, y

6-metil-5-hepten-2-ona: del 0,1 al 10 %, más preferentemente, del 0,1 al 5 %, lo más preferentemente, del aproximadamente 1 %,

- 15 siempre que la 6-metil-hepten-2-ona y la geranilacetona estén presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:1.

Otra mezcla preferida para su uso en las composiciones de la presente invención es la siguiente:

- 20 Geranilacetona: del 0,00001 al 10 %, más preferentemente, del 0,001 al 10 %, más preferentemente, del 0,01 al 10 %, más preferentemente, del 0,1 al 5 %, lo más preferentemente del aproximadamente 1 %,

6-metil-5-hepten-2-ona: del 0,1 al 10 %, más preferentemente, del 0,5 al 5 %, lo más preferentemente, del aproximadamente 1 %.

- 25 Octanal: del 0,001 al 0,1 %, más preferentemente, del 0,005 al 0,05 %, lo más preferentemente, del aproximadamente 0,01 %,

siempre que la 6-metil-hepten-2-ona y la geranilacetona estén presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:1.

- 30 Basándose en el análisis de los individuos "atractivos" y "no atractivos", en las composiciones de la invención que comprenden 6-metil-5-hepten-2-ona y geranilacetona, estas están en una proporción en peso de aproximadamente 1:1.

- 35 Las composiciones de la presente invención se pueden formular como pomadas o soluciones que contienen los principios activos desvelados en el presente documento.

En el presente documento, se describe el uso de geranilacetona, preferentemente en forma de cualquier composición de la invención (como se describe en el presente documento), en la preparación de una formulación inhibidora para el tratamiento de un sujeto para inhibir la actividad de una plaga de insecto contra el sujeto.

- 40

Preferentemente, la composición es para la aplicación tópica al sujeto. Para la aplicación tópica, la formulación puede adoptar la forma de una formulación en aerosol o una formulación en crema o loción.

- 45 Por lo tanto, las composiciones de la presente invención se pueden emplear con vehículos portadores dispersables sólidos y/o líquidos tal como los descritos en el presente documento o, si no, como los conocidos en la técnica y/o con otros agentes activos compatibles conocidos, si se desea, en forma de determinados preparados farmacéuticos para una aplicación específica fabricados a partir de las mismas, tales como soluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, pastas y gránulos como se describen en el presente documento o se conocen en la técnica que están, por tanto, listos para su uso. La formulación puede incluir antioxidantes y absorbentes de UV.

- 50

Las formulaciones líquidas pueden ser acuosas o no acuosas (es decir, disolventes orgánicos tales como etanol, como se usa en los siguientes ejemplos) o combinaciones de los mismos, y pueden emplearse como espumas, geles, suspensiones, emulsiones, microemulsiones o concentrados emulsionables o similares. Los ingredientes pueden incluir agentes reológicos, tensioactivos, emulsionantes, dispersantes o polímeros.

- 55

El documento US 6.444.216 describe el uso de fluidos volátiles de silicio para conferir suavidad y repelencia al agua a composiciones repelentes de insectos. Como se observa en el mismo, los fluidos de silicio volátiles están disponibles en el mercado. Por ejemplo, se informa que Dow Coming usa las designaciones comerciales de 244, 245, 246, 344 y 345, que son mezclas de polidimetilciclosiloxanos (ciclometiconas) y que se componen de tetrámeros (por ejemplo, ciclotetrasiloxano, octametilciclotetrasiloxano), pentámeros (por ejemplo, ciclopentasiloxano, decametilciclopentasiloxano) y hexámeros (por ejemplo, ciclohexasiloxano, dodecametilciclohexasiloxano). Las mezclas de los diversos fluidos de silicona, ya sea con otros fluidos de silicona o sustancias que no contienen silicio, se usan en varios preparados cosméticos para conferir propiedades especiales,

- 60

incluyendo repelencia al agua y protección de la piel. Las formulaciones pueden ser una mezcla sólida que libere un vapor que tenga la misma composición de principio o principios activos que la mezcla sólida. Los agentes para potenciar la sublimación de los principios activos para conseguir esto se describen en el documento GB 925.243.

5 La presente invención también proporciona una formulación tópica, que se puede usar para inhibir la actividad de una plaga de insecto contra un sujeto, formulación que comprende:

- (i) un vehículo dermatológicamente aceptable; y
- (ii) una composición de la presente invención como se ha descrito anteriormente;
- 10 (iii) opcionalmente, uno o más principios activos.

La presente invención también proporciona un artículo de fabricación que comprende:

- 15 (i) una formulación tópica, que se puede usar para inhibir la actividad de una plaga de insecto contra un sujeto como se ha descrito anteriormente;
- (ii) aerosol u otros medios de esterilización para administrar la formulación por vía tópica.

20 Las composiciones repelentes de insectos se encuentran disponibles en el mercado en forma de aerosol, y las tecnologías de aerosol son bien conocidas en la técnica. Los consumidores encuentran las composiciones en aerosol fáciles de administrar tanto en la piel como en la ropa. Además, las composiciones en aerosol ayudan a los consumidores a evitar el inconveniente de tener que aplicar y esparcir el repelente de insectos con las manos. El documento US 6.969.521 se refiere a vehículos de aerosol cosméticamente aceptables para dispersar y suministrar el agente repelente de insectos, teniendo el vehículo un componente de compuesto orgánico volátil.

25 En el presente documento, también se describe un artículo de fabricación que comprende:

- (i) una formulación tópica para inhibir la actividad de una plaga de insecto contra un sujeto como se ha descrito anteriormente;
- 30 (ii) instrucciones para el uso de la formulación contra la plaga de insectos.

35 Cuando se usan las formulaciones de la presente invención, los sujetos pueden ser tratados directa o indirectamente, tal como mediante la aplicación de la formulación en la piel del sujeto o mediante la aplicación de la formulación a un artículo portado por o que protege de otro modo el sujeto. Por ejemplo, prendas de vestir, cinturones, collares u otros artículos usados por el sujeto contra el que se repelerán los insectos. Los ejemplos preferidos pueden incluir un distintivo de liberación lenta llevado en la ropa; en bandas para el brazo, la muñeca o el tobillo; accesorios que incluyen colgantes, collares, pulseras.

40 La formulación puede aplicarse a una red o malla metálica que proteja a un sujeto, en particular, a un sujeto que duerme.

En otra alternativa, las composiciones de la invención se pueden formular en pinturas con una tecnología convencional de microencapsulación.

45 Los compuestos repelentes se aplican adecuadamente mediante cualquier método conocido en la técnica incluyendo, por ejemplo, pulverización, vertido, inmersión, en forma de líquidos concentrados, soluciones, suspensiones, pulverizados, polvos, microgránulos, briquetas, ladrillos y similares, formulados para suministrar una concentración eficaz repelente del compuesto repelente. Se reconocerá que la concentración, la cantidad aplicada y la frecuencia de aplicación variarán con el sujeto y el lugar de aplicación, por ejemplo, en la piel o el cabello de un ser humano.

50 La invención se puede usar mediante la aplicación de la formulación repelente de insectos para conseguir una dosis tópica de cualquier principio activo dado de aproximadamente $0,0025 \text{ ug/cm}^2$ a 100 ug/cm^2 , más preferentemente de $0,25 \text{ ug/cm}^2$ a 25 ug/cm^2 . Una concentración final preferida es de aproximadamente 10 ug/cm^2 basándose en la aplicación de aproximadamente 1 ml en un antebrazo de aproximadamente 400 cm^2 , esto puede conseguirse mediante una concentración de aproximadamente:

- 0,0001 % = $0,0025 \text{ ug/cm}^2$
- 0,01 % = $0,25 \text{ ug/cm}^2$
- 1 % = 25 ug/cm^2
- 60 4 % = 100 ug/cm^2 .

65 Como se ha indicado anteriormente, cuando se usan las formulaciones de la presente invención, los sujetos no se pueden tratar directamente. De este modo, las composiciones se pueden usar o aplicar a un entorno (por ejemplo, una región predefinida, que puede o no estar contenida) del que se desee repeler plagas (o enmascarar la atracción del medio ambiente hacia las plagas). Así pues, como se ha indicado anteriormente, la formulación puede aplicarse a una red o malla metálica que proteja a un sujeto. Como alternativa, puede proporcionarse directamente a un

entorno, por ejemplo, mediante pulverización o mediante el uso de composiciones de aparatos adaptados a la administración de una concentración repelente eficaz del compuesto repelente.

5 Por lo tanto, se entenderá que la invención proporciona un método no terapéutico para repeler una plaga de insecto de un entorno o impedir la atracción hacia un entorno (por ejemplo, enmascarando el atractivo si lo tiene el sujeto), comprendiendo el método la aplicación en el entorno de una composición de la presente invención. Las composiciones pueden ser cualquiera de las analizadas anteriormente o más adelante.

10 La aplicación (o dispensación) a un entorno se puede realizar por medios convencionales que incluyen (solo a modo de ejemplo): velas, serpentines, dispensadores de liberación lenta (por ejemplo, vaporizadores eléctricos y no eléctricos), quemadores eléctricos y no eléctricos de aceite, difusores eléctricos "enchufables". Muchos de dichos dispensadores de sustancias volátiles son muy bien conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, para dispensar incienso, perfume, medicamentos, insecticidas, repelentes de insectos, desinfectantes o fumigantes. En dichos dispensadores, la sustancia volátil puede formularse como un gel para la liberación lenta, por ejemplo, con un agente gelificante seleccionado del grupo que consiste en dibenciliden-sorbital-acetal, goma gelana y polímeros de ácido poliacrílico. Cualquiera de dichos dispensadores o formulaciones conocidos se puede aplicar de manera análoga en la presente invención.

15 Cualquiera de dichos dispensadores que comprende (y está adaptado a dispensar) una composición de la presente invención (opcionalmente, en forma de un gel) proporciona un aspecto adicional de la presente invención, al igual que un método de dispensación de una composición de la presente invención que comprende el uso de cualquiera de dichos dispensadores.

20 Un dispensador preferido es un dispensador electrostático de productos químicos tal como el que está disponible en Aerstream Technology Limited (Wallingford, RU). En uno de dichos sistemas, las gotitas se cargan electrostáticamente de manera que puedan penetrar en un entorno más largo que los aerosoles. Uno de dichos sistemas se describe en la solicitud de patente internacional WO03/000431.

25 Así pues, un dispensador electrostático de productos químicos para su uso con la presente invención puede comprender:

- 30 a) un conducto que contiene, en uso, líquido que se va a atomizar, líquido que comprende, consiste en o consiste esencialmente en una composición de la presente invención;
- 35 b) un electrodo de pulverización; y
- c) un electrodo de descarga.

40 En resumen, en dicho sistema, cada electrodo es adyacente a un dieléctrico, en el que los electrodos están conectados en un circuito eléctrico para permitir que se aplique una diferencia de potencial entre el electrodo de pulverización y el electrodo de descarga para atomizar el líquido y generar vehículos de carga de una primera polaridad en la proximidad del electrodo de pulverización, e iones de una segunda polaridad en la proximidad del electrodo de descarga, y en el que algunos de los vehículos de carga de la primera polaridad se depositan en el dieléctrico adyacente al electrodo de pulverización y algunos de los iones de la segunda polaridad se depositan sobre el dieléctrico adyacente al electrodo de descarga de manera que el líquido atomizado es repelido desde el dieléctrico adyacente al electrodo de pulverización y descargado eléctricamente por iones de segunda polaridad que son repelidos por el dieléctrico adyacente al electrodo de descarga.

45 La invención se describirá ahora además con referencia a las siguientes figuras y ejemplos no limitantes. A los expertos en la materia, se les ocurrirán otras realizaciones de la invención a la luz de estas.

50 **Figuras**

Figura 1. Respuestas conductuales de mosquitos hembra de *Aedes aegypti* en busca de hospedador a las manos de voluntarios, a) Actividad de vuelo – proporción de mosquitos que se registraron contra el viento en el tubo en Y; b) Atracción relativa - proporción de mosquitos que se registraron en el grupo de "ensayo" del tubo en Y. Los datos se presentan como las diferencias entre la respuesta al voluntario y la respuesta al estímulo convencional (mano del voluntario Y01). Se muestran las medias retro-transformadas \pm ETM. Los asteriscos indican las diferencias estadísticamente significativas con respecto al patrón (Y01) (GLM, * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001; ns, no significativo; n = 10-12).

60 Figura 2. Respuestas conductuales de mosquitos hembra de *Aedes aegypti* en busca de hospedador a extractos (+CO₂) recogidos de siete voluntarios y el voluntario de referencia (Y01), a) Actividad de vuelo – proporción de mosquitos que se registraron contra el viento en el tubo en Y; b) Atracción relativa - proporción de mosquitos que se registraron en el grupo de "ensayo" del tubo en Y. Se muestran las medias retro-transformadas \pm intervalos de confianza (95 %). Los asteriscos indican las diferencias estadísticamente significativas con respecto al control (GLM, * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001; ns, no significativo; n = 10-12).

65 Figura 3. Cromatogramas típicos de EAG acoplada a GC, a). Respuesta del mosquito hembra de *Aedes aegypti*

a sustancias humanas extraídas por arrastre de aire (Y01, atractivo) y respuestas de pequeños mosquitos de *C. impunctatus* a sustancias humanas extraídas por arrastre de aire (Y05, poco atractivo). El cromatograma superior corresponde al detector FID del GC. El cromatograma inferior corresponde a la respuesta antenal del preparado de insecto. A. benzaldehído; B. 6-metil-5-hepten-2-ona; C. octanal; D. desconocido 7; E. nonanal y linalol; F. mentol y naftaleno; G. decanal; H. geranilacetona.

Figura 4

(a) Total absoluto (ng); y

(b) cantidades medias (%) de los compuestos activos de la EAG recogidos de arrastres de aire de cuerpo entero de voluntarios pertenecientes al grupo atractivo (n = 6) y al grupo no atractivo (n = 4). Las diferencias significativas entre las dos medias se indican por: * p < 0,05; ** p < 0,01, *** p < 0,001. Números de los compuestos: 1. hexanal; 2. benzaldehído; 3. 6-metil-5-hepten-2-ona; 4. octanal; 5. 1,4-diclorobenceno; 6. 2-etilhexanol; 7. limoneno; 8. desconocido 7, 9. dihidromircenol; 10. nonanal; 11. linalol; 12. undecano; 13. (E)-2-nonenal; 14. ácido octanoico; 15. mentol; 16. naftaleno; 17. decanal; 18. indol; 19. dodecanal; 20. geranilacetona; 21. pentadecano; 22. hexadecano; 23. α -isometiliona; 24. heptadecano. Las diferencias significativas entre los dos grupos se indican por * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001.

(c) Representación de las puntuaciones de las variables canónicas basadas en las cantidades de todos los productos químicos activos de GC-EAG de las sustancias extraídas de arrastre de aire para todos los voluntarios. Cruces negras = Grupo 1 (individuos atractivos); cruces rojas = Grupo 2 (individuos poco atractivos). Los círculos representan intervalos de confianza del 95 %.

Figura 5. Proporción media de mosquitos hembra de *Aedes aegypti* que muestran actividad de vuelo en el tubo en Y en respuesta al patrón (mano de Y01 en un lado del tubo en Y y control de papel de filtro en el otro) y siete dosis de tratamientos químicos de a) 6-metil-5-hepten-2-ona; b) octanal; c) nonanal; d) decanal y e) geranilacetona (mano de Y01 + producto químico en un lado del tubo en Y y control del disolvente de papel de filtro en el otro). (-1 = $1 \times 10^{-1} \text{ g } \mu\text{l}^{-1}$; -2 = $1 \times 10^{-2} \text{ g } \mu\text{l}^{-1}$, etc.). Se muestran las medias retrotransformadas \pm intervalos de confianza del 95 % (calculadas para una distribución binomial) de la escala logística.

Figura 6. Repelencia de compuestos derivados de ser humano activos en la EAG aplicados en los antebrazos de voluntarios y ensayados en mosquitos pequeños de *Culicoides impuctatus* en el campo, a) durante 1 minuto y b) durante 5 minutos.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Definición de voluntarios atractivos y poco atractivos

Se estableció un bioensayo conveniente siguiendo el trabajo de Geier *et al.* (1999)¹⁷ usando un olfatómetro de tubo en Y en el que los mosquitos, *Ae. aegypti*, podían "elegir" entre las emanaciones volátiles de la piel y el aire solo, siendo la "elección" expresada como la actividad de vuelo o la atracción relativa. Inicialmente, la fuente de emanaciones de la piel era las manos individuales de una serie de voluntarios humanos. Se analizaron los voluntarios de esta manera hasta que se obtuvo una serie de ejemplos atractivos y poco atractivos (Fig. 1). Cinco voluntarios (X04, X07, X09, X08 y X05) indujeron mayor actividad de vuelo contra el viento y atracción relativa que el voluntario patrón (Y01). Cuatro voluntarios (X06, Y04, Y05 y Y07) indujeron significativamente menos actividad de vuelo contra el viento y atracción relativa que el patrón (Y01).

Ejemplo 2 - obtención de productos químicos volátiles de voluntarios

Se diseñó un nuevo sistema para obtener productos químicos volátiles de cuerpos enteros. Esto implicó colocar cada voluntario (y el patrón (Y01)) de los grupos atractivo y poco atractivo en una bolsa de plástico aluminizada (LifesystemsTM), con la cabeza afuera, bajo presión positiva de aire limpio y retirando el aire que había pasado sobre el cuerpo, para ser arrastrado a través de una pequeña columna de polímero absorbente. Esto proporcionó muestras, cuyo mismo lote se podría usar para múltiples análisis conductuales, electrofisiológicos y químicos.

Ejemplo 3 – Confirmación de la validez de productos químicos volátiles de voluntarios

Se extrajeron las sustancias volátiles del polímero y se ensayaron de nuevo usando el olfatómetro de tubo en Y contra un control de aire y un voluntario patrón (Y01), todos con adición de CO₂ (Fig. 2). Por primera vez, se demostró que las sustancias volátiles extraídas de los voluntarios humanos mostraban un atractivo o una ausencia de atractivo similares a las emanaciones directas de la piel humana, siendo las sustancias extraídas del patrón (Y01), X04, X07 y X09 significativamente atractivos, y las de X06, Y04, Y05 y Y07 poco atractivos como el control de aire.

Ejemplo 4 - Comparación y análisis de sustancias volátiles extraídas

A continuación, se analizaron las sustancias volátiles extraídas de los voluntarios usados en la Figura 2 mediante preparados electrofisiológicos de antena enteros acoplados directamente a GC de alta resolución, de *Ae aegypti* de

hembra, (6-12 días de vida) para producir electroanteogramas acoplados a GC (GC-EAG), normalmente, como se muestra en la Figura 3. Así pues, se determinaron los componentes que eran fisiológicamente activos y, por tanto, probablemente responsables de las diferencias en el atractivo de los voluntarios humanos.

5 Los compuestos que dan los picos asociados con la actividad electrofisiológica mediante GC-EAG se identificaron tentativamente mediante GC-MS en condiciones similares, y se confirmó la identidad por el aumento de pico en la GC usando dos columnas de polaridad diferente mediante coinyección con compuestos auténticos.

10 Las identificaciones se enumeran en la Tabla 2 y se indican las cantidades absolutas, determinadas mediante un método convencional externo de múltiples puntos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo atractivo (Grupo 1) y el grupo no atractivo (Grupo 2) para:

- benzaldehído,
- 6-metil-5-hepten-2-ona,
- 15 • octanal,
- nonanal,
- decanal,
- naftaleno,
- geranilacetona, siendo los niveles superiores, en el Grupo 2.

20 Además, las cantidades relativas (con respecto a la composición química total, véase la Fig. 4) de 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal y decanal fueron superiores.

25 Un número de compuestos electrofisiológicos activos de los 32 picos activos no se ha identificado de manera concluyente, pero se cree que solo uno está asociado con la ausencia de atractivo.

- 7 desconocido (que se cree que es acetofenona o (E)-2-octenal).

30 Aunque una serie de compuestos electrofisiológicamente activos eran quirales, no se determinó la composición isomérica, ya que estos compuestos no estaban implicados como factores contribuyentes a la ausencia de atractivo humano. Se prestó atención en eliminar la contaminación de los voluntarios, por ejemplo, con productos químicos industriales o cosméticos (véase el apartado de Métodos). Sin embargo, se mostraron compuestos con actividad electrofisiológica incluso si, como con el diclorobenceno y el naftaleno, éstos podían haber surgido de fuentes sintéticas.

35 Confirmando el agrupamiento de los voluntarios, el análisis multivariado reveló que el grupo atractivo (Grupo 1) y poco atractivo (Grupo 2) diferían significativamente en términos de la variabilidad en las cantidades de los siete compuestos químicos activos en la EAG especificados entre los dos grupos (Fig. 4; Tabla 1).

40 Las Tablas 3a y 3b muestran la proporción de estos compuestos de voluntarios "atractivos" y voluntarios "poco atractivos".

Ejemplo 5 - Ensayo de compuestos candidatos

45 Basándose en los resultados anteriores, se escogieron cinco productos químicos como los que tenían más probabilidades de estar implicados de manera natural en la ausencia de atractivo humano, y se sometieron a análisis adicionales:

- 50 (i) 6-metil-5-hepten-2-ona,
- (ii) octanal,
- (iii) nonanal,
- (iv) decanal,
- (v) geranilacetona.

55 Se ensayaron estos compuestos (de Sigma Aldrich) individualmente a diferentes concentraciones en el olfatómetro contra *Ae. Aegypti*. Se registraron la actividad de vuelo a barlovento, la atracción relativa y la actividad de sondaje (alimentación) de los mosquitos hacia la mano de un voluntario atractivo con y sin los productos químicos. Todas las sustancias químicas causaron una reducción significativa en la actividad de vuelo y la geranilacetona causó una reducción en la atracción relativa (Fig. 5, datos de atracción relativa no mostrados). La actividad de sondaje
60 (alimentación) también se redujo significativamente mediante 6-metil-5-hepten-2-ona y geranilacetona (datos no mostrados).

65 Por lo tanto, es evidente que cada uno de estos cinco demostró la capacidad de interferir significativamente con el atractivo de las emanaciones de la piel de la mano de un voluntario atractivo convencional, es decir, Y01, en niveles naturales. Solo el nonanal permitió una actividad de vuelo significativamente mayor que la mano no tratada, pero a

una sola dosis.

5 Solo el octanal se ha descrito previamente como un repelente para *Ae. Aegypti* (H. D. Douglas *et al.* "Chemical Odorant of Colonial Seabird Repels Mosquitoes" *J. Med. Entomol.* 42(4): 647-651 (2005)), y los compuestos recién identificados en el presente documento como repelente, se podrían usar en defensa contra estas otras moscas que pican y, posiblemente, otros artrópodos hematófagos. Los factores químicos que confieren un bajo atractivo humano hacia los mosquitos y los mosquitos pequeños determinados en el presente documento podrían ser aún más eficaces dada una formulación más persistente.

10 Curiosamente, la variación entre el DEET y un repelente más reciente, la picaridina (Bayrepel®), muestra la variabilidad de la repelencia con sujetos humanos¹⁹. Esto puede surgir en parte del tipo de variación individual descrita en el presente documento.

15 Ejemplo 6 – Análisis adicional de sustancias extraídas volátiles

Las sustancias extraídas volátiles de voluntarios humanos también se analizaron mediante GC-EAG en *C. impunctatus*, y se entiende que es la primera vez que se ha realizado una investigación con un ceratopogónido. En la Figura 3, se da un cromatograma típico, y se respondió al mismo intervalo de compuestos, pero, en particular, a aquellos implicados como los que dieron respuestas negativas en muestras de voluntarios no atractivos.

20 Ejemplo 7 – Ensayos de campo de compuestos

25 En el estado de Ormsary, Argyllshire, se realizó un ensayo de campo durante el verano de 2005, en una región con una población natural extremadamente alta de *C. impunctatus*. Se ensayaron compuestos activos para reducir el atractivo humano normal hacia *Ae. aegypti* en el olfatómetro de tubo en Y (6-metil-5-hepten-2-ona, geranilacetona) más seis mezclas, para determinar la repelencia (Tabla 4) usando un protocolo de la OMS¹⁸. Se aplicaron los compuestos a medias (de nylon) y se pusieron en los antebrazos de voluntarios, y se ensayaron a tres concentraciones en etanol (1 %, 0,01 % y 0,0001 %). Todos los compuestos y las mezclas se compararon con el repelente de dietiltoluamida aprobado por la OMS (DEET) (1 % y 40 %).

30 Los resultados (Fig. 6) muestran que el DEET al 40 % no fue más repelente que el DEET al 1 %. Por lo tanto, se hicieron comparaciones estadísticas entre los compuestos o mezclas y el DEET al 1 %.

35 Compuestos individuales

La geranilacetona fue eficaz a todas las concentraciones ensayadas y con una típica respuesta a la dosis de eficacia creciente con una concentración creciente.

40 Para la 6-metil-5-hepten-2-ona en el punto de tiempo de 1 min, al 0,001 % es significativamente repelente; al 0,01 % no es repelente, pero al 1 % es fuertemente repelente, efectivamente más eficaz que el DEET, pero repelente solo al 1 % durante 5 min.

45 Durante 1 min, la geranilacetona al 1 %, 6-metil-5-hepten-2-ona al 1 %, la Mezcla 5 y la Mezcla 6 fueron significativamente mayores que el DEET al 1 %, y durante el período completo de ensayo de 5 min.

La geranilacetona al 1 %, la Mezcla 6 y la Mezcla 5 mostraron un mayor % de repelencia que el DEET; estas diferencias no fueron significativas.

50 Ejemplo 8 – Ensayos de campo adicionales

Métodos

55 Se ensayaron los compuestos derivados del hombre (6-metil-5-hepten-2-ona y geranilacetona) para determinar la repelencia contra mosquitos *Anopheles gambiae* y *Culex quinquefasciatus* en ensayos de repelencia basados en laboratorio, usando un protocolo establecido (Omolo *et al.*, 2004). Los mosquitos fueron criados en laboratorio usando condiciones convencionales en ICIPE, Duguidville. Se usaron mosquitos hembra de 5 a 7 días de vida que habían sido privados de comida durante 18 h, pero que se habían alimentado previamente con solución de glucosa al 6 %. Se usaron dieciocho jaulas (50 x 50 x 50 cm) con 25 mosquitos hembra en cada una. Se seleccionaron seis voluntarios humanos con poca o ninguna reacción alérgica a las picaduras. Se aplicaron soluciones de ensayo (0,5 ml en acetona) a los antebrazos de un voluntario y se cubrió la mano con un guante. La acetona sola (0,5 ml) sirvió como control en el otro brazo. Se introdujo el brazo de control en una jaula y se registró el número de mosquitos que se posaron durante 3 min. A continuación, se introdujo el brazo tratado como antes. Los datos de repelencia se expresaron como la eficacia protectora (EP), y se calculó usando la fórmula $EP = (\% \text{ de la media de control} - \% \text{ de la media del ensayo}) / \% \text{ de la media de control}$. Los datos se transformaron y se sometieron a un ANOVA.

65

Se ensayó cada compuesto a concentraciones que variaban del 0,0001 % al 10 %.

También se ensayaron tres mezclas a las mismas concentraciones y comprendían los siguientes componentes:

5 **Mezcla 1:** 1:1:1:1:1 de 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal, nonanal, decanal y geranilacetona

Mezcla 2: (no de acuerdo con la invención) 1:3:1:0,5:0,5 de 6-metil-5-hepten-2-ona, octanal, nonanal, decanal y geranilacetona

10 **Mezcla 3:** 1:1 de 6-metil-5-hepten-2-ona y geranilacetona.

A continuación, se incorporaron la mezcla 1 y la mezcla 3 a una formulación que consistía en cera NF en emulsión, vaselina y parafina líquida en una proporción de 1,2:2,8:1. Después, se ensayaron estas mezclas formuladas usando la metodología anterior y se repitieron después de 2, 4, 6 y 8 horas para dar la EP a lo largo del tiempo.

15 *Resultados*

Los compuestos de origen humano ensayados contra *Anopheles gambiae* s.s. dieron una repelencia dependiente de la dosis, observándose la máxima repelencia para los compuestos al 10 %. El 100 % de la repelencia se registró solo para la geranilacetona al 10 %.

El DEET dio una mejor repelencia que los compuestos individuales que dieron una repelencia del 100 % al 1 % y 10 % (Tablas 5-7). Sin embargo, la mayor repelencia contra esta especie fue dada por la mezcla 3, que alcanzó una repelencia del 100 % a concentraciones del 1 % y 10 %.

25 A concentraciones inferiores a éstas, se observó también una buena repelencia y, a una concentración del 0,1 %, se registró una repelencia del 87 % en comparación con el DEET, que solo dio un 83 % de repelencia. A una concentración inferior (0,01 %), la mezcla 3 dio una repelencia del 80 % en comparación con el DEET, que solo dio un 20 % de repelencia a esta concentración (Tablas 8-10). Todas las mezclas formuladas dieron una repelencia del 100 % al inicio de los experimentos (es decir, tiempo cero). Se alcanzó aproximadamente el 90 % de repelencia tras 2 horas con la mezcla 1, y esta disminuyó a lo largo del tiempo hasta el 12 % tras 8 horas (Tablas 11-13). Se observó una mayor repelencia para la mezcla 3 con un 98 % de repelencia registrada tras 2 horas. A continuación, la repelencia disminuyó hasta el 64 % tras 4 horas y el 35 % tras 8 horas. El DEET mantuvo el 100 % de efectividad hasta 6 horas y el 94 % después de 8 horas.

35 Los compuestos de origen humano ensayados contra *Culex quinquefasciatus* dieron una repelencia dependiente de la dosis, observándose la mayor repelencia para cada compuesto al 10 %. La geranilacetona y el DEET dieron una repelencia del 100 %, pero solo a una concentración del 10 % (Tablas 14-16).

40 Las mezclas 1 y 3 dieron una repelencia del 100 % a una concentración del 10 %. A concentraciones inferiores, la mezcla 1 dio una mayor repelencia que la mezcla 3, alcanzándose un 84 % y un 77 % de repelencia respectivamente a una concentración del 1 %. Ambas mezclas formuladas dieron una repelencia del 100 % al inicio del experimento, y esta disminuyó ligeramente hasta el 89 % para la mezcla 1 y hasta el 99 % para la mezcla 3 tras 2 horas (Tablas 17 y 18).

45 Tras 8 horas, la repelencia dada por la mezcla 1 había disminuido hasta el 20 %. Sin embargo, para la mezcla 3, la repelencia se mantuvo a un nivel mayor, disminuyendo solo hasta el 80 % tras 4 horas, hasta el 60 % tras 6 horas y hasta el 45 % tras 8 horas. El DEET dio una repelencia del 100 % hasta 6 horas y esto disminuyó hasta el 93 % tras 8 horas (Tablas 19-21).

50 *Conclusiones*

El tratamiento más eficaz contra *Anopheles gambiae* durante 3 minutos fue la mezcla 3, y fue mejor que el DEET a concentraciones equivalentes. Para *Culex quinquefasciatus*, el tratamiento más eficaz fue el decanal solo al 1 %, aunque no fue mejor que el DEET. El mejor tratamiento que comprende compuestos de origen humano fue la mezcla 3 para ambas especies.

Tabla 1. Dianas de insectos y garrapatas

INSECTO	ENFERMEDADES VECTORIZADAS	PAÍS	IRRITACIÓN EN EL HOSPEDADOR
<u>Mosquitos</u>			
Complejo <i>Culex pipiens</i>	Virus del Nilo Occidental Encefalitis japonesa Filariasis	EE.UU. Asia Sudamérica, África	Sí
<i>Aedes aegypti</i>	Fiebre del Dengue Fiebre amarilla	Sudamérica y África	Sí
<i>Anopheles stephensi</i>	Malaria	Asia	Sí
Complejo <i>Anopheles gambiae</i>	Malaria	África	Sí
<u>Mosquitos pequeños</u>			
<i>Culicoides impunctatus</i>	Ninguna	Escocia, RU,	Sí
<i>Culicoides molestus</i>	Ninguna	Australia	Sí
<u>Garrapatas</u>			
<i>Ixodid</i> sp. (Borreliosis)	Borreliosis y enfermedad de Lyme	UE y EE.UU.	No
<u>Flebótomos</u>			
<i>Lutzomyia</i> sp.	Leishmaniasis (visceral, mucosa, cuticular)	UE, Portugal Sudamérica	Sí Sí
<i>Phlebotomine</i> sp.	Leishmaniasis	África	Sí
<u>Mosquitos pequeños</u>			
Otros Mosquitos pequeños <i>Culicoides</i>	Lengua azul Peste equina africana	UE y África	Sí
<u>Garrapatas</u>			
Garrapatas <i>Ixodid</i>	Encefalitis de transmisión por garrapatas Fiebre transmitida por garrapatas	América del norte África	No

Tabla 2. Nombres e índices de retención para 24 compuestos químicos activos en EAG con cargas de CVA

Compuesto n.º	Índice de retención	Nombre del compuesto	Vectores latentes (cargas)
1	776	Hexanal	0,00044
2	932	Benzaldehído	0,00133
3	965	6-Metil-5-hepten-2-ona	-0,00427
4	980	Octanal	0,00062
5	988	1,4-Diclorobenceno	0,00126
6	1.010	2-Etilhexanol	0,00117
7	1.022	Limoneno	-0,0005
8	1.030	Desconocido 7	0,00016
9	1.057	Dihidromircenol	-0,00082
10	1.080	Nonanal	-0,00047
11	1.083	Linalool	0,00047
12	1.100	Undecano	0,0001
13	1.135	(E)-2-nonenal	0,00011
14	1.151	Ácido octanoico	0,00056
15	1.160	Mentol	0,00097
16	1.160	Naftaleno	-0,00102
17	1.184	Decanal	-0,00245
18	1.256	Indol	-0,00233
19	1.384	Dodecanal	-0,00122
20	1.430	Geranilacetona	0,00042
21	1.480	α-isometilionona	0,00037
22	1.500	Pentadecano	-0,00067
23	1.600	Hexadecano	-0,00024
24	1.681	Heptadeceno	0,00115

Tabla 3a. Proporciones de los compuestos basadas en las cantidades medias de compuestos químicos de voluntarios "atractivos" y voluntarios "no atractivos"

Compuesto	Atractivo	No atractivo
Benzaldehído	1	1
6-MHO	2,020595	1,55218
Octanal	0,541551	0,529534
Nonanal	6,510643	2,906716
Naftaleno	0,875217	0,979441
Decanal	1,821094	1,468768
Geranilacetona	5,130115	1,108576

5 **Tabla 3b. Proporciones de la 6-metil-5-hepten-2-ona con respecto a la geranilacetona**

La tabla muestra la proporción en un voluntario no atractivo y las proporciones para las cantidades absolutas medias del grupo de voluntarios atractivos y no atractivos

	Persona no atractiva convencional		Grupo de voluntarios atractivos		Grupo de voluntarios no atractivos	
	Cantidad absoluta	Proporción	Cantidad absoluta media	Proporción	Cantidad absoluta media	Proporción
6-metil-5-hepten-2-ona	350,0	1,8	49,73	0,4	320,08	1,4
Geranilacetona	200	1	126,26	1	228,6	1

Tabla 4. Mezclas de compuestos de origen humano activos en EAG ensayados en *C. impunctatus* en el campo

Mezcla 1	6-metil-hepten-2-ona al 1 %, octanal al 0,01 % (en etanol)
Mezcla 2	6-metil-hepten-2-ona al 1 %, octanal al 0,01 %, geranilacetona al 0,02 % (en etanol)
Mezcla 3	6-metil-hepten-2-ona al 1 %, geranilacetona al 1 %, octanal al 0,01 % (en etanol)
Mezcla 4	6-metil-hepten-2-ona al 1 %, geranilacetona al 0,0001 %, octanal al 0,01 % (en etanol)
Mezcla 5	6-metil-hepten-2-ona al 1 %, geranilacetona al 1 % (en etanol)
Mezcla 6	geranilacetona al 1 %, octanal al 0,01 % (en etanol)

10 **Tabla 5. Repelencia de respuesta a la dosis de geranilacetona y decanal ensayada contra *An. gambiae***

% de concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	7,25 ± 9,5	11,17 ± 12,9	30,13 ± 11	76,97 ± 5,9	100 ± 0

Tabla 6. Repelencia de respuesta a la dosis de 6-metil-5-hepten-2-ona ensayada contra *An. gambiae*

% de concentración	0,0001	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	0,85 ± 3,9	1,57 ± 11,2	19,2 ± 5,5	34,07 ± 6,6	35,73 ± 8,7	74,75 ± 6,1

Tabla 7. Repelencia de respuesta a la dosis de DEET ensayada contra *An. gambiae*

% de concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	6,23 ± 1,7	20,65 ± 6,4	83,78 ± 3,9	100 ± 0	100 ± 0

15 **Tabla 8. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 1:1:1:1:1 de 6MHO:Octanal:Nonanal:Decanal:Geranilacetona ensayada contra *An. gambiae***

% de concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	9,2 ± 1,8	16,93 ± 3,5	44,58 ± 1,1	94,1 ± 1,1	100 ± 0

20 **Tabla 9. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 2:1:3:1:0,5:0,5 de 6MHO:Octanal:Nonanal:Decanal:Geranilacetona ensayada contra *An. gambiae***

% de concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	-3,47 ± 6,4	16,50 ± 5,1	26,93 ± 3,7	59,48 ± 3,1	100,00 ± 0

Tabla 10. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 3:1:1 de 6MHO:Geranilacetona ensayada contra *An. gambiae*

% de concentración	0,0001	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	9,4 ± 2,3	24,38 ± 5,1	79,42 ± 3,7	87,08 ± 3,1	100 ± 0	100 ± 0

Tabla 11. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 1:1:1:1:1 de 6MHO:Octanal:Nonanal:Decanal:Geranilacetona (concentración del 10 %) ensayada contra *An. gambiae* durante 8 horas

Duración (horas)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
% de la EP media ± ET	100 ± 0	89,41 ± 3,67	54,87 ± 4,49	32,11 ± 5,59	12,50 ± 2,1

Tabla 12. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 3:1:1 de 6MHO:Geranilacetona (concentración del 10 %) ensayada contra *An. gambiae* durante 8 horas

Duración (horas)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
% de la EP media ± ET	100 ± 0	98,48 ± 1,51	64,26 ± 6,15	38,82 ± 4,31	30,83 ± 6,96

Tabla 13. Repelencia de respuesta a la dosis de DEET formulado (concentración del 10 %) ensayada contra *An. gambiae* durante 8 horas

Duración (horas)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
% de la EP media ± ET	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	94,35 ± 1,02

Tabla 14. Repelencia de respuesta a la dosis de geranilacetona ensayada contra *Culex quinquefasciatus*

% de concentración	0,0001	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	4,8 ± 2,4	10 ± 1,6	23,7 ± 4,5	33,2 ± 4,5	84,1 ± 84,2	100 ± 0

Tabla 15. Repelencia de respuesta a la dosis de 6-metil-5-hepten-2-ona ensayada contra *Culex quinquefasciatus*

% de concentración	0,0001	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	8,0 ± 1,8	12,7 ± 2,1	21,8 ± 4,9	30,1 ± 4,1	49,7 ± 2,9	100 ± 0

Tabla 16. Repelencia de respuesta a la dosis de DEET ensayada contra *Culex quinquefasciatus*

% de concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	7,6 ± 1,8	12,0 ± 1,7	76,9 ± 5,4	98,2 ± 1,1	100 ± 0

Tabla 17. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 1:1:1:1:1 de 6MHO:Octanal:Nonanal:Decanal:Geranilacetona ensayada contra *Culex quinquefasciatus*

Concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	9,61 ± 3,53	20,82 ± 4,86	33,46 ± 3,76	84,06 ± 6,94	100 ± 0

Tabla 18. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 3:1:1 de 6MHO:Geranilacetona (concentración del 10 %) ensayada contra *Culex quinquefasciatus*

Concentración	0,001	0,01	0,1	1	10
% de la EP media ± ET	11,27 ± 1,86	20,83 ± 2,26	55,64 ± 5,81	77,00 ± 4,53	100 ± 0

Tabla 19. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 1:1:1:1:1 de 6MHO:Octanal:Nonanal:Decanal:Geranilacetona (concentración del 10 %) ensayada contra *Culex quinquefasciatus* durante 8 horas

Duración (horas)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
% de la EP media ± ET	100 ± 0	89,03 ± 4,2	54,17 ± 4,37	28,46 ± 5,15	19,83 ± 3,16

Tabla 20. Repelencia de respuesta a la dosis de la mezcla 3:1:1 de 6MHO:Geranilacetona (concentración del 10 %) ensayada contra *Culex quinquefasciatus* durante 8 horas

Duración (horas)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
% de la EP media ± ET	100 ± 0	98,57 ± 1,43	79,97 ± 1,7	60,91 ± 3,1	45,79 ± 4,13

Tabla 21. Repelencia de respuesta a la dosis de DEET formulado (concentración del 10 %) ensayada contra *Culex quinquefasciatus* durante 8 horas

Duración (horas)	0 h	2 h	4 h	6 h	8 h
------------------	-----	-----	-----	-----	-----

% de la EP media \pm ET	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	100 \pm 0	93,33 \pm 4,08
---------------------------	-------------	-------------	-------------	-------------	------------------

Lista de referencias

- 5 1. Brouwer, R. (1960). "Variations in human body odour as a cause of individual differences of attraction for malaria mosquitoes". *V. Trop. Geogr. Med* 12: 186-192.
2. Khan, A. A. y H. I. Maibach (1966). "Quantitation of Effect of Several Stimuli on Landing and Probing by *Aedes Aegypti*". *Journal of Economic Entomology* 59(4): 902-&.
- 10 3. Mayer, M. S. y J. D. James (1969). "Attraction of *Aedes Aegypti* (L) - Responses to Human Arms Carbon Dioxide and Air Currents in a New Type of Olfactometer". *Bulletin of Entomological Research* 58: 629-&.
- 15 4. Burkot, T. R. (1988). "Non-Random Host Selection by Anopheline Mosquitos". *Parasitology Today* 4(6): 156-162.
5. Schreck, C. E., D. L. Kline, *et al.* (1990). "Mosquito Attraction to Substances from the Skin of Different Humans". *Journal of the American Mosquito Control Association* 6(3): 406-410.
- 20 6. Brady, J., C. Costantini, *et al.* (1997). "The role of body odours in the relative attractiveness of different men to malarial vectors in Burkina Faso". *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 91: S121-S122.
7. Costantini, C. S., N. Gibson, G. Coluzzi, M. (1997). "The role of body odours in the relative attractiveness of different men to malarial vectors in Burkina Faso". *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 91(1): s121-s122.
- 25 8. Lindsay, S. W., J. H. Adiamah, *et al.* (1993). "Variation in Attractiveness of Human-Subjects to Malaria Mosquitos (Diptera, Culicidae) in the Gambia". *Journal of Medical Entomology* 30(2): 368-373.
- 30 9. Qie Y T, Smallegange R. C., Hoppe S. van Loon J. J., Bakker E.J., Takken W. (2004) "Behavioural and electrophysiological responses of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* Giles sensu stricto (Diptera: Culicidae) to human skin emanations". *Med and Vet Entomol.* Diciembre. 18 (4): 429-38.
- 35 10. Acree, F., R. B. Turner, *et al.* (1968). "L-Lactic Acid - a Mosquito Attractant Isolated from Humans". *Science* 161(3848): 1346-&.
11. Smith, C. N., N. Smith, *et al.* (1970). "L-Lactic Acid as a Factor in Attraction of *Aedes-Aegypti* (Diptera-Culicidae) to Human Hosts". *Annals of the Entomological Society of America* 63(3): 760-&.
- 40 12. Steib, B. M., M. Geier, *et al.* (2001). "The effect of lactic acid on odour-related host preference of yellow fever mosquitoes". *Chemical Senses* 26(5): 523-528.
- 45 13. Bernier, U., Kline, D. L., Schreck, C. E., Yost, R. A., Barnard, D. R.. (2002). "Chemical analysis of human skin emanations: comparison of volatiles from humans that differ in attraction of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)". *J Am Mosq Control Assoc.* 18(3): 186-95.
- 50 14. Takken, W. y B. G. J. Knols (1999). "Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes". *Annual Review of Entomology* 44:131-157.
15. Costantini, C., Sagnon, N. F., della Torre, A., Diallo, M., Brady, J., *et al.* (1998) "Odour-mediated host preferences of West African mosquitoes, with particular reference to malaria vectors". *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58, 56-63.
- 55 16. Bernier, U. R., D. L. Kline, *et al.* (2000). "Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. 2. Identification of volatile compounds that are candidate attractants for the yellow fever mosquito (*Aedes aegypti*)". *Analytical Chemistry* 72(4): 747-756.
17. Geier, M. y J. Boeckh (1999). "A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours". *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 92(1): 9-19.
- 60 18. "WHO (1996) Report of the WHO Informal Consultation on the evaluation and testing of insecticides", WHO, Génova, Ref: CTD/WHOPES/IC/96.1 http://whqlibdoc.who.int/hq/1996/CTD_WHOPES_IC_96.1.pdf.
- 65 19. S. Carpenter, K. Eyres, I. McEnderick, L. Smith, J. Turner, W. Mordue y A. J. Mordue (Luntz) (2005) "Repellent efficiency of BayRepel against *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae)". *Parasitology Research* 95 (6): 427-429.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende geranilacetona como principio activo más un principio activo adicional que es la 6-metil-hepten-2-ona, en donde la 6-metil-5-hepten-2-ona y la geranilacetona están presentes en una proporción en peso de aproximadamente 1:1.
2. La composición según la reivindicación 1, que comprende además un vehículo.
- 10 3. La composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la composición comprende octanal como un principio activo adicional.
4. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición consiste esencialmente en geranilacetona en combinación con otros principios activos.
- 15 5. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende geranilacetona: 0,00001-10 % y 6-metil-5-hepten-2-ona: 0,00001-10 % en peso.
- 20 6. Una composición según la reivindicación 5, que comprende octanal: 0,001-0,1 %, 0,005-0,05 % o aproximadamente 0,01 % en peso.
7. Una composición según la reivindicación 6, en donde la composición comprende: geranilacetona: del 0,001 % al 1 % en peso y 6-metil-5-hepten-2-ona: del 0,001 al 1 % en peso.
- 25 8. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un principio activo seleccionado de la lista que consiste en: Nonanal, al 0,1-10 %, Decanal al 0,0001-10 % en peso.
9. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un principio activo seleccionado de la lista que consiste en: benzaldehído, naftaleno, acetofenona, (E)-2-octenal.
- 30 10. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende geranilacetona y al menos dos, tres o cuatro de los principios activos adicionales.
- 35 11. Una composición según la reivindicación 1, en donde la composición comprende una mezcla seleccionada de la lista que consiste en:
6-metil-5-hepten-2-ona al 1 % en peso, geranilacetona al 1 % en peso, octanal al 0,01 % en peso en etanol; o
6-metil-5-hepten-2-ona al 1 % en peso, geranilacetona al 1 % en peso en etanol.
- 40 12. Una formulación que es una pomada, un sólido o una solución adaptados para la aplicación tópica, y que comprende:
(i) un vehículo dermatológicamente aceptable; y
(ii) una composición según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 45 13. Un artículo de fabricación que es:
(i) un aerosol u otro medio de pulverización que comprende una formulación tópica como se reivindica en la reivindicación 12, adecuado para la administración de dicha formulación por vía tópica; o
50 (ii) un artículo para llevar puesto o proteger de otro modo a un sujeto, en donde artículo comprende una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
14. Un dispensador para repeler una plaga de un entorno, comprendiendo el dispensador una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 55 15. Un dispensador según la reivindicación 14, que se selecciona de la lista que consiste en: una vela, un serpentín, un dispensador de liberación lenta, un quemador de aceite, un difusor eléctrico.
- 60 16. Un método no terapéutico para repeler una plaga de insectos hematófagos o garrapatas de un entorno o impedir la atracción hacia un entorno, comprendiendo el método la aplicación en el entorno de una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.
- 65 17. Un método según la reivindicación 16, comprendiendo el método proporcionar un dispensador como se reivindica en la reivindicación 14 o en la reivindicación 15 en dicho entorno, de modo que la composición se dispensa a partir del mismo.
18. Un método no terapéutico de inhibición de la actividad de una plaga de insectos hematófagos o garrapatas

contra un sujeto, comprendiendo el método la aplicación en el sujeto de una composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

- 5 19. Un método según la reivindicación 18, en el que el sujeto es un sujeto humano.
20. Un método según la reivindicación 18 o la reivindicación 19, en el que la plaga de insectos hematófagos es de la familia *Ceratopogonidae* o de la familia *Culicidae*.
- 10 21. Un método según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, en el que la plaga de insectos hematófagos se selecciona de la lista que consiste en: miembros del complejo *Culex pipiens*, *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, complejo *Anopheles gambiae*, *Culicoides impunctatus*, *Culicoides molestus*, especies de *Lutzomyia*, especies de *Phlebotomine*, mosquitos pequeños.
- 15 22. Un método según lo reivindicado en una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21, en el que el tratamiento comprende la aplicación de la composición hasta alcanzar una dosis tópica de cada principio activo de 0,0025 ug/cm² a 100 ug/cm² o de 0,25 ug/cm² a 25 ug/cm².

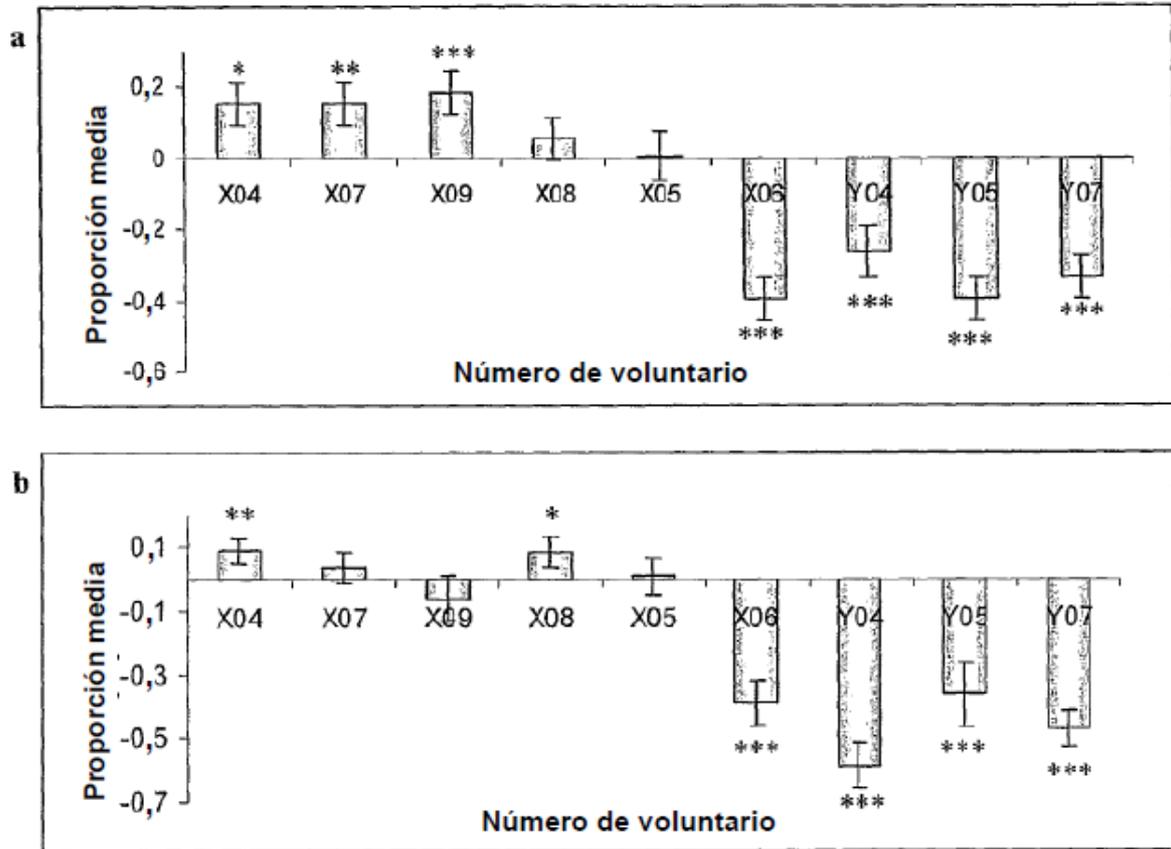


Figura 1

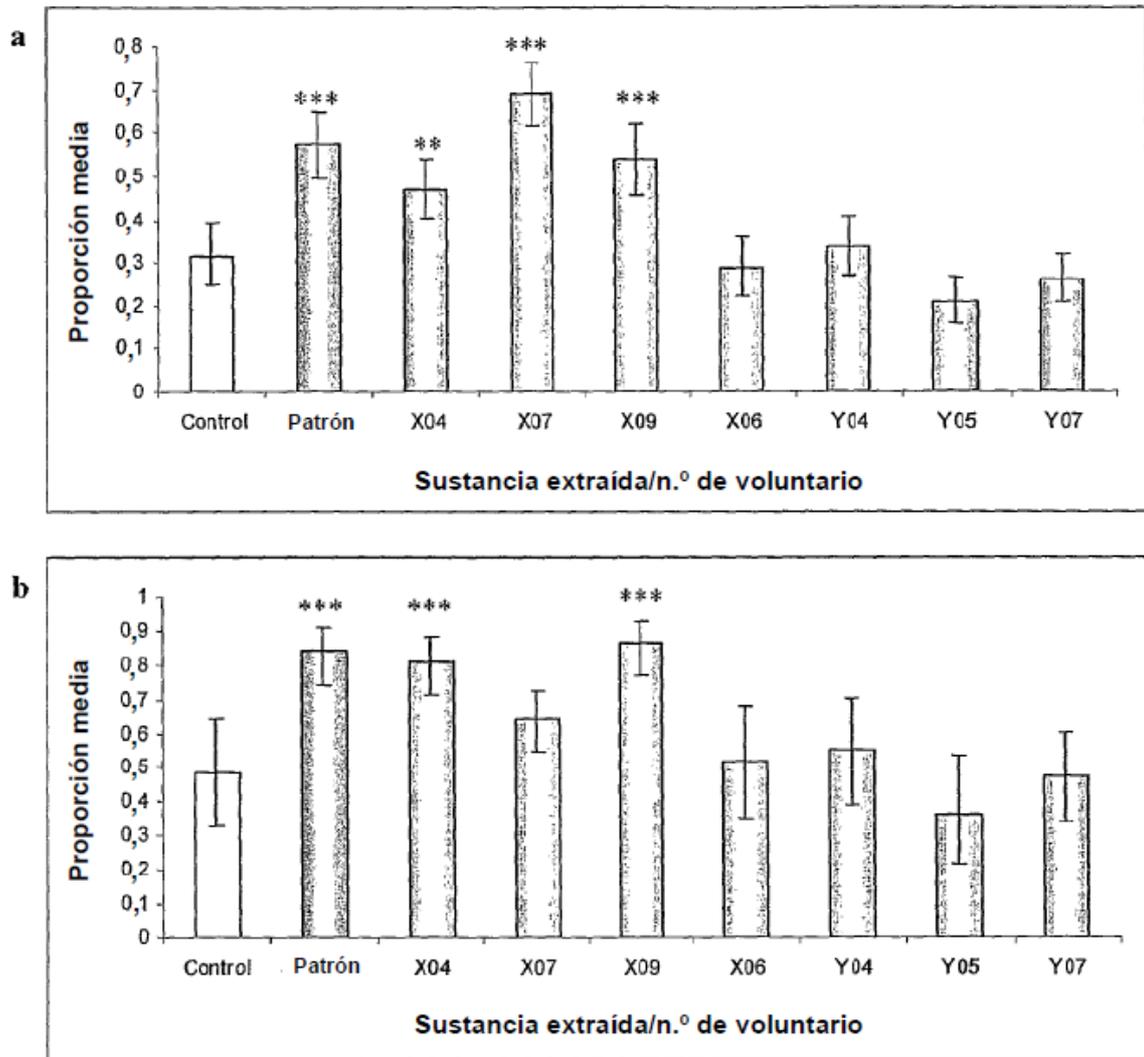


Figura 2

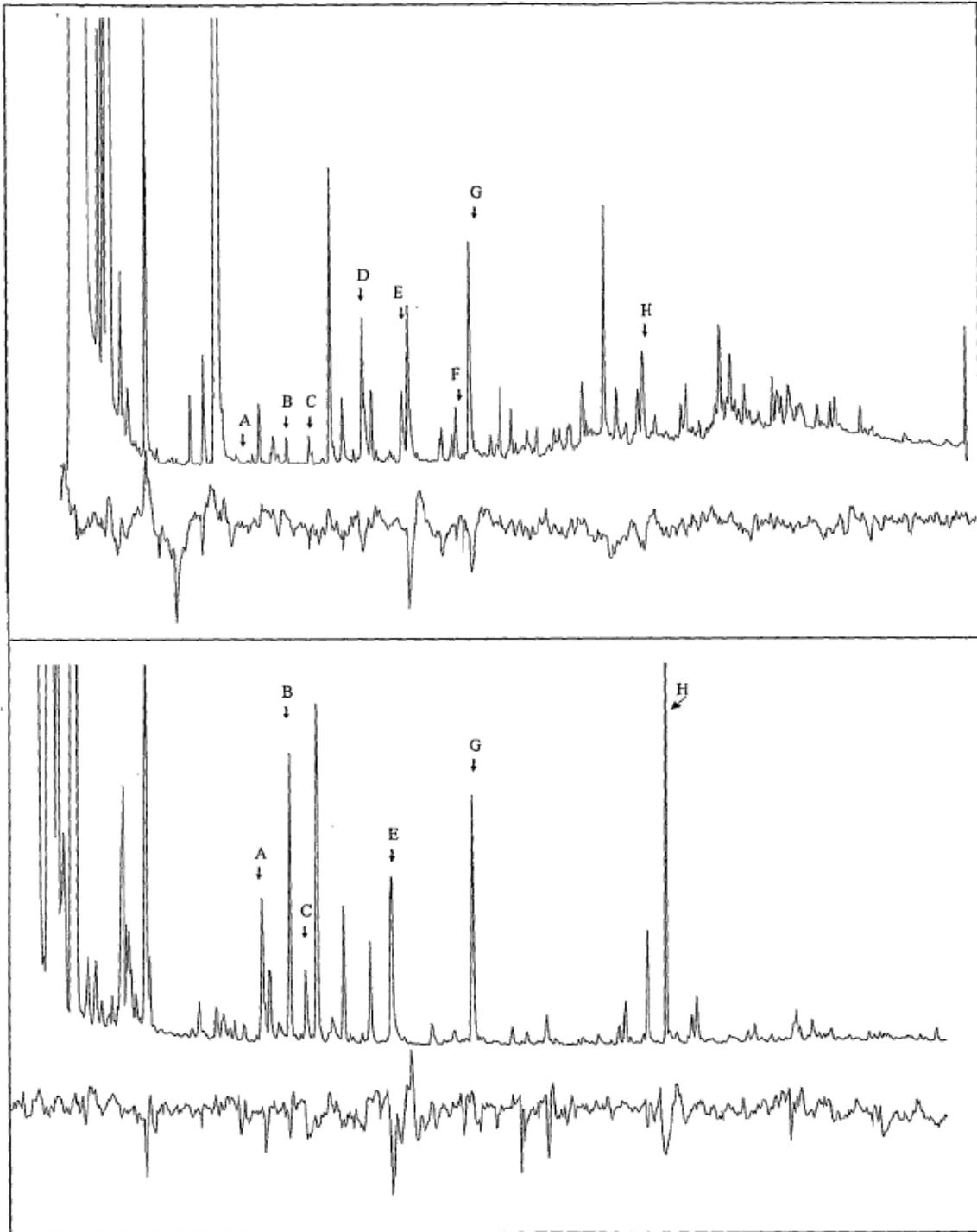


Figura 3

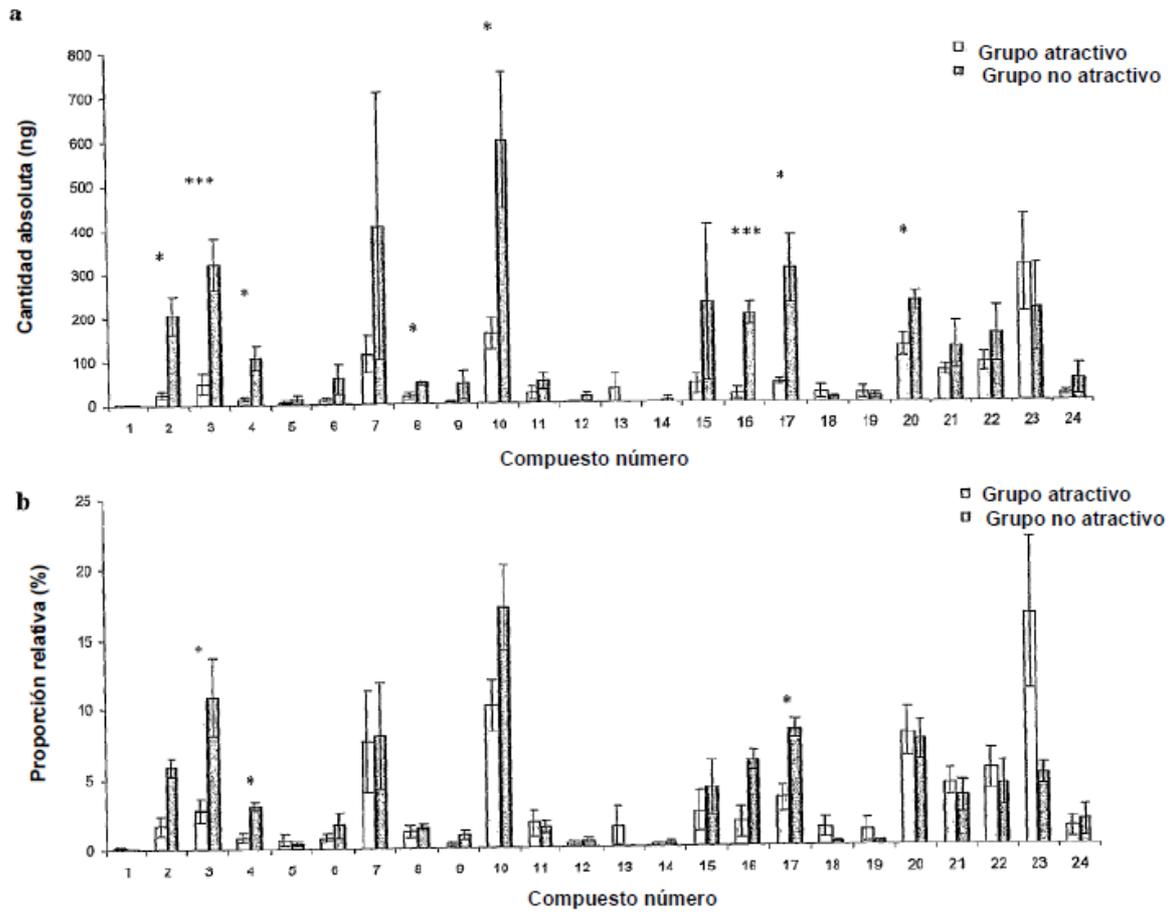


Figura 4a y b

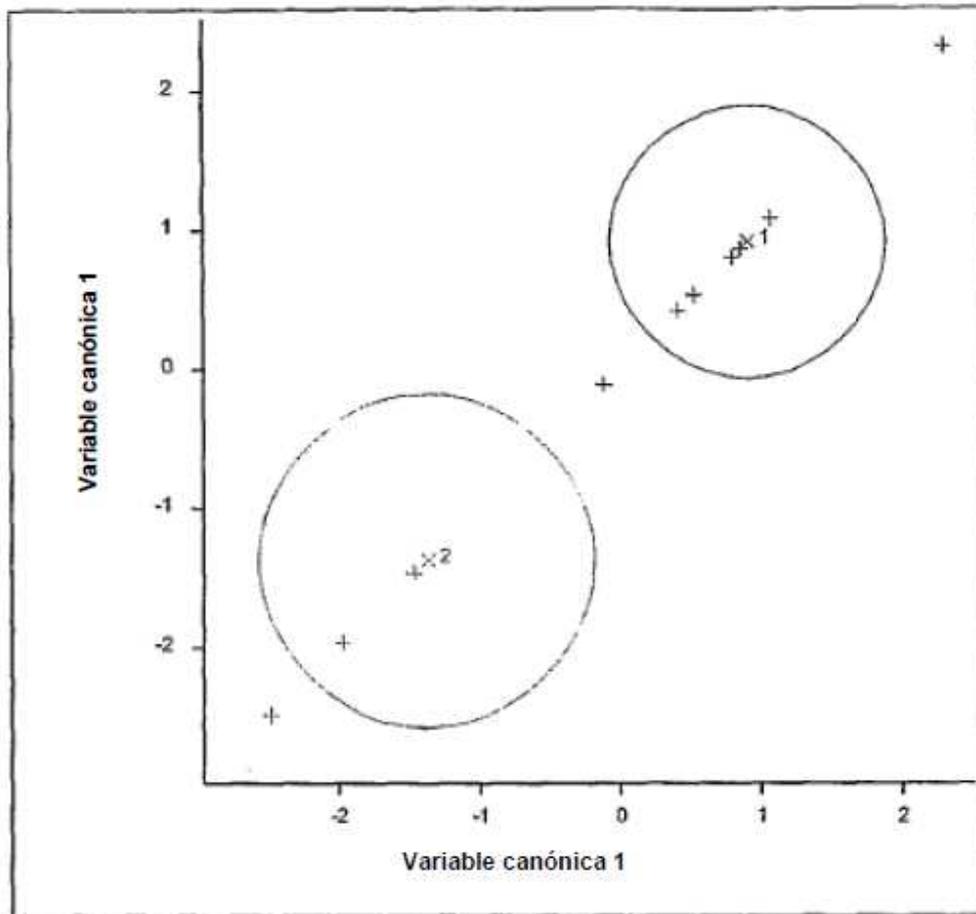


Figura 4c

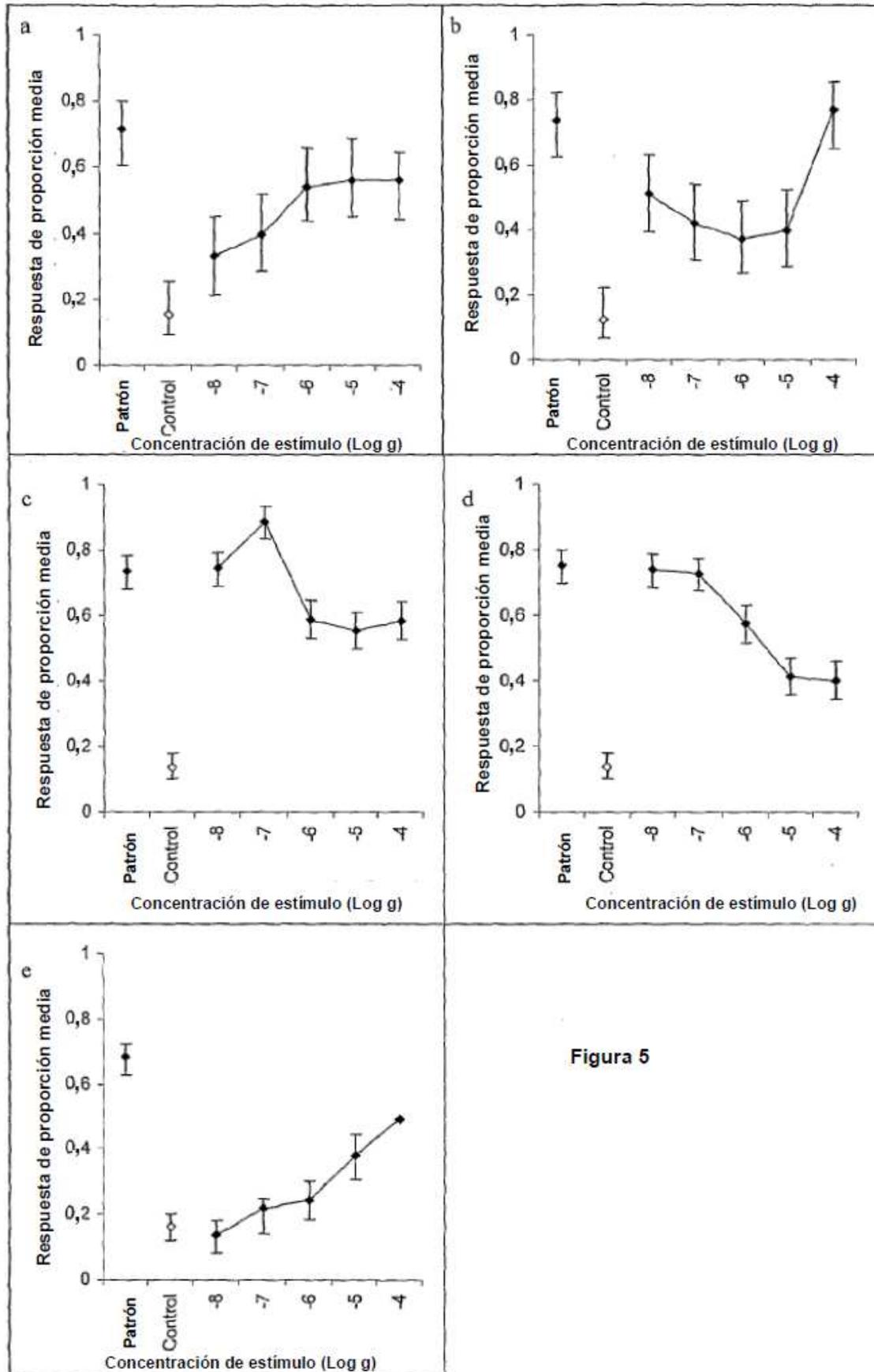


Figura 5

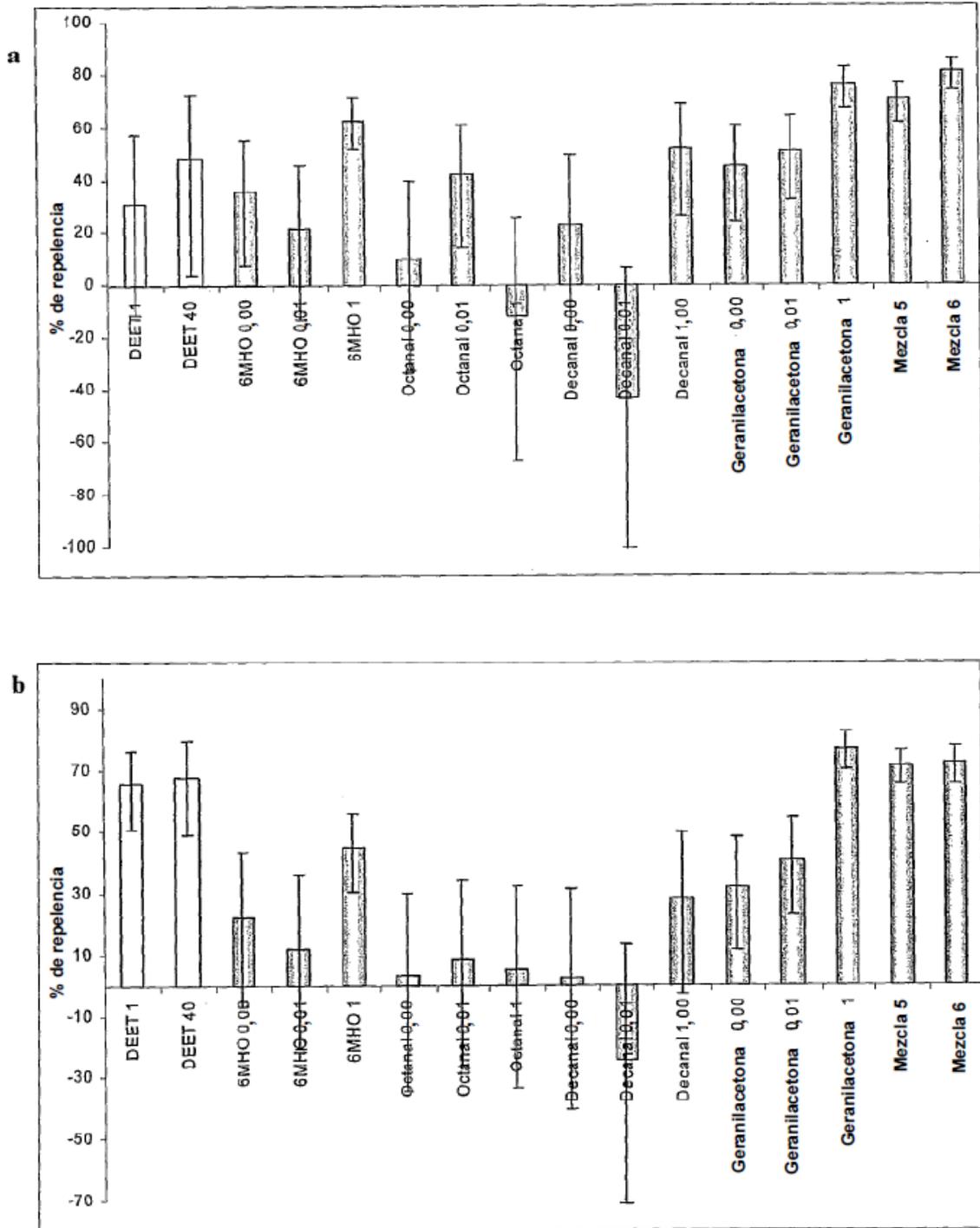


Figura 6