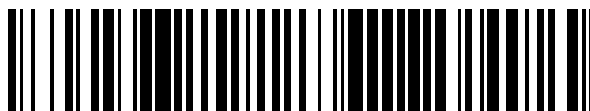


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 701 417**

51 Int. Cl.:

**A01N 25/00** (2006.01)

**A01N 63/02** (2006.01)

**C07K 7/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.09.2014 PCT/IL2014/050841**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2015 WO15052701**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2014 E 14852937 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.11.2018 EP 3054770**

54 Título: **Nuevos neuropéptidos útiles como insecticidas**

30 Prioridad:

**07.10.2013 IL 22876813**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.02.2019**

73 Titular/es:

**THE STATE OF ISRAEL, MINISTRY OF  
AGRICULTURE & RURAL DEVELOPMENT,  
AGRICULTURAL RESEARCH ORGANIZATION  
(ARO) (VOLCANI CENTER) (100.0%)  
P.O. Box 6  
50250 Bet Dagan, IL**

72 Inventor/es:

**SCHWARZ, MIRIAM ALTSTEIN**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 701 417 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

Nuevos neuropéptidos útiles como insecticidas

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a fragmentos de péptidos y análogos derivados de la secuencia de aminoácidos de la familia PBAN (Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide) de neuropéptidos que activan la biosíntesis de piroquinina (PK)/feromona inhibitoria, que tienen actividades biológicas inhibitorias en los insectos. Los fragmentos peptídicos de la invención son insecticidas útiles ya que, p. ej., interrumpen la producción de feromonas, la melanización y otras actividades controladas por PK/PBAN.

10 La presente invención se refiere también a un método para la represión de insectos aplicando a los insectos los fragmentos de péptidos mencionados anteriormente, ya sea por aplicación tópica, p. ej. pulverizando el entorno, las plantas o los propios insectos, o alimentando o mojando a los insectos con alimentos o agua que contengan dichos fragmentos de péptidos.

**Antecedentes de la invención**

15 Los neuropéptidos juegan un papel clave en la regulación de una variedad de funciones fisiológicas en los insectos. Por ejemplo, están implicados en el desarrollo embrionario y post-embrionario (por ejemplo, muda, diapausa y metamorfosis), en la homeostasis, osmorregulación, diuresis y digestión. También se sabe que los neuropéptidos de insectos controlan patrones de comportamiento esenciales tales como la migración, el apareamiento y la oviposición.

20 Los neuropéptidos de insectos intervienen en diversos procesos fisiológicos y, por tanto, tienen un gran potencial como agentes para la represión o control de plagas, basándose en la interferencia con su actividad. La presente invención aborda una etapa en el curso de la regulación neuroendocrina, como es la unión de los neuropéptidos a sus receptores y la activación de su órgano diana. Concretamente, la presente invención se refiere a la actividad inhibitoria de fragmentos de péptidos derivados de la familia PK/PBAN.

25 La comunicación sexual entre polillas macho y hembra está regulada por las feromonas sexuales. Las feromonas sexuales son sintetizadas y segregadas por la hembra a partir de la glándula de la feromona. La incapacidad de la hembra para producir feromonas sexuales tiene como resultado una marcada disminución del apareamiento y, por tanto, reduce significativamente la población de insectos. Debido a su importante papel en el apareamiento, las feromonas sexuales han sido estudiadas de forma intensiva. Por ejemplo, se ha encontrado que las feromonas sexuales de las polillas consisten en mezclas de compuestos alifáticos C<sub>10</sub>-C<sub>18</sub>. La diversidad entre las feromonas de diferentes especies está indicada por las diferencias en la longitud de cadena, la posición y la configuración de los enlaces olefínicos, y por la naturaleza química del grupo funcional. La mayoría de las feromonas son aldehídos, alcoholes o acetatos. Sin embargo, algunos pueden aparecer como epóxidos, cetonas e hidrocarburos.

30 Se ha encontrado que un factor neuroendocrino, denominado PBAN, está implicado en la regulación de la biosíntesis de las feromonas sexuales. El neuropéptido PBAN es un péptido amidado C-terminalmente lineal que contiene 33 aminoácidos. La estructura del PBAN ha sido completamente identificada, y desde 1989 se han desvelado sus secuencias primarias de aminoácidos en más de veinte especies de polillas. El PBAN se sintetiza en el cerebro y en el ganglio subesofágico que se proyecta hacia los cuerpos cardiacos y en los ganglios del cordón nervioso ventral. El péptido se transporta a su órgano diana a través de la hemolinfa, o bien actúa localmente. Está presente tanto en las polillas macho como en las hembra y su actividad biológica está mediada por el cAMP y depende de la presencia de iones Ca<sup>++</sup>.

40 Otros estudios de neuropéptidos de insectos revelaron que la secuencia C-terminal de PBAN – FXPRLa (X = S) – también está presente en otros neuropéptidos de insectos (donde X representa S, T, G o V). Todos los péptidos que comparten las secuencias anteriores se agruparon en una familia, que se designó como familia FXPRLa o familia PK/PBAN. Además de la actividad feromonotrópica de esta familia, también se ha demostrado que los péptidos PK/PBAN y los fragmentos derivados de la misma controlan la melanización cuticular, la contracción muscular y la diapausa embrionaria y pupal.

50 El documento JP 4-208300 describe la secuencia completa de 33 aminoácidos del péptido PBAN aislado de los gusanos de seda, así como algunos de sus fragmentos. El documento US 5.032.576 se refiere al aislamiento, caracterización y síntesis de PBAN de *Helicoverpa zea*. El documento US 5.032.576 usa el PBAN de longitud completa y varios de sus análogos (todos ellos con una longitud de 33 aminoácidos) para controlar las polillas o larvas hembra. Sin embargo, el documento US 5.032.576 no sugiere, ni siquiera insinúa, la posibilidad de utilizar fragmentos de PBAN más cortos. Alstein M. et al. (Peptides 28, 2007, 574 – 584) describe la inhibición de funciones mediadas por PK/PBAN en insectos por varios péptidos derivados del hexapéptido C-terminal de PBAN1.

Una forma de inhibir los péptidos PK/PBAN es mediante antagonistas, que son inhibidores selectivos capaces de bloquear el sitio del receptor del neuropéptido y de evitar así que el péptido endógeno se una al receptor y ejerza su actividad biológica. Por tanto, los antagonistas PK/PBAN pueden servir como inhibidores específicos para su actividad y pueden servir como insecticidas potenciales. Un problema o reto sustancial en la implementación de la estrategia anterior para el manejo de insectos es que no hay protocolos definidos para convertir los agonistas peptídicos en antagonistas. Además, los neuropéptidos son inestables y son fácilmente atacados por enzimas. Por tanto, el desarrollo de neuropéptidos como compuestos antagonistas no es común. Una forma de superar el problema se basa en buscar y crear compuestos peptidomiméticos que muestren una estabilidad biológica mejorada. Para diseñar antagonistas peptidomiméticos, ha de revelarse la relación estructura-actividad de los péptidos, deben diseñarse y sintetizarse análogos constreñidos conformacionalmente basándose en su sitio activo, luego deben identificarse los restos activos e inactivos en esas moléculas, y los compuestos peptidomiméticos que contienen los restos activos han de ser diseñados, sintetizados y ensayados en relación con su actividad antagonista estable. Este es normalmente un proceso laborioso y largo basado en la disponibilidad de muchas bibliotecas de péptidos, así como un análisis químico instrumental detallado combinado con un análisis computacional *in silico* (cibernético) altamente avanzado. Todas las operaciones requieren experiencia en química de péptidos y química analítica instrumental, sin ningún compromiso o medio para predecir el éxito. Una vez completado, tal enfoque conduce al descubrimiento de muchos compuestos peptidomiméticos, la mayoría de los cuales son de producción muy costosa, y también muchas veces se ha encontrado que son ineficaces.

Por consiguiente, un objeto de la invención es simplificar el proceso y proporcionar nuevos antagonistas basados en péptidos que, por una parte, muestran una alta potencia inhibitoria y una alta estabilidad y biodisponibilidad, y que por otra parte son sencillos de diseñar y sintetizar. Además, otro objetivo es hacer que sea rentable dicha producción. Dichos antagonistas tienen una longitud de 5 a 6 aminoácidos y se derivan de la secuencia PK/PBAN.

Para que sean efectivos, los insecticidas deben poder penetrar la cutícula del insecto y/o ser estables en la ingestión. Por tanto, se prefiere usar insecticidas con un peso molecular bajo. Por consiguiente, una realización de la invención la constituyen péptidos de bajo peso molecular que muestran una alta capacidad de penetración de la cutícula, así como estabilidad en la ingestión. En otra realización, la presente invención se refiere a péptidos que incluyen un residuo suplementario que aumenta aún más su capacidad de penetración oral y cuticular.

#### Compendio de la invención

La presente invención proporciona fragmentos de péptidos derivados de la secuencia de aminoácidos del neuropéptido activador de la biosíntesis de piroquinina/feromona (PK/PBAN) que muestra actividad biológica inhibitoria a dosis bajas (1 – 100 pmol), y su uso como insecticidas. Estos péptidos derivados de PK/PBAN de la invención pueden actuar de diferentes maneras, p. ej. interrumpiendo la producción de feromonas, la melanización y otras actividades controladas por la familia de péptidos PK/PBAN.

Los fragmentos peptídicos PK/PBAN de la invención tienen la fórmula:



en donde X es acetilo, Fmoc o ciclohexilo e Y es [dPhe]-Pro-Arg o Ser-Pro-[dPhe].

También se describen los fragmentos peptídicos de PK/PBAN de la invención, seleccionados entre el grupo consistente en Acetil-Arg-Tyr-Phe-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; y Acetil-Arg-Tyr-Phe-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida.

De acuerdo con otra realización, los fragmentos peptídicos PK/PBAN de la invención se seleccionan entre el grupo que consiste en: Acetil-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Acetil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Ciclohexil-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Ciclohexil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Fmoc-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; y Fmoc-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida.

La presente invención también proporciona los fragmentos peptídicos PK/PBAN mencionados anteriormente para uso como insecticidas o como agentes de represión de insectos. Además, la invención proporciona el uso de dichos fragmentos peptídicos PK/PBAN en la preparación de insecticidas o agentes de represión de insectos.

También se describen en este documento composiciones para reprimir insectos que comprenden fragmentos peptídicos y/o análogos derivados de la secuencia de aminoácidos de PK/PBAN, que tiene al menos un resto dPhe, en donde dichos fragmentos peptídicos y/o análogos tienen penetrabilidad cuticular y/o biodisponibilidad oral y/o estabilidad ambiental.

También se describe una composición insecticida que comprende los fragmentos peptídicos PK/PBAN de la invención. Se describe una composición para la represión de insectos que comprende los fragmentos peptídicos de PK/PBAN de la invención.

De acuerdo con una realización, dicha composición para la represión de insectos comprende el péptido de la presente invención, en donde X de la fórmula es Fmoc o Ciclohexilo, en donde el péptido es biodisponible por vía oral.

5 La presente invención proporciona también un método para controlar y/o prevenir la infestación por insectos, que comprende dispersar al menos uno de los fragmentos peptídicos PK/PBAN de la invención, o la composición de la invención, y un portador aceptable para uso agrícola en el área deseada.

De acuerdo con un aspecto, el método para controlar y/o prevenir la infestación por insectos de acuerdo con la invención comprende administrar a los insectos al menos uno de los fragmentos peptídicos de PK/PBAN mencionados anteriormente, o composiciones, aplicándolos a productos agrícolas o al área que se desee. Alternativamente, dicho método se lleva a cabo alimentando a los insectos con dichos compuestos o composiciones.

10 La presente invención también proporciona el uso de al menos uno de los fragmentos peptídicos PK/PBAN mencionados anteriormente, o composiciones que los comprenden, junto con un disolvente, y opcionalmente otro insecticida, en la preparación de un insecticida o una composición para la represión de insectos. De acuerdo con un aspecto, dicho disolvente es IIS (que consiste en 0,5% de etanol, 0,05% de Tween-80 en DDW), DMSO o DDW (agua bidestilada).

15 Lo expuesto anteriormente y otros objetos y ventajas de la invención se harán evidentes a medida que se realice la descripción.

20 A menos que se indique otra cosa, todos los términos técnicos y/o científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que normalmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece la invención. Aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento se pueden usar en la práctica o en el ensayo de realizaciones de la invención, se describen a continuación métodos y/o materiales ejemplares. Además, los materiales, métodos y ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden ser necesariamente limitantes.

#### Breve descripción de los dibujos

25 Lo anterior y otras características y ventajas de la invención serán más evidentes a través de los siguientes ejemplos, y con referencia a los gráficos adjuntos, en los que:

30 La Fig. 1 es un gráfico que muestra la actividad agonista feromonotrópica de los péptidos a una concentración de 100 pmol (A) y 1 nmol (B). La actividad agonista se expresa como porcentaje del grado de melanización obtenido con 5 pmol de PBAN (definido como 100%). El análisis estadístico comparó la actividad de cada péptido con la obtenida con 5 pmol de PBAN. Los péptidos analizados son los que se enumeran en la Tabla 1 (1 - 10, respectivamente).

35 La Fig. 2 es un gráfico que muestra el efecto de los péptidos, aplicados por vía tópica, en la inhibición de la biosíntesis de las feromonas sexuales en las polillas hembra de *Heliothis peltigera*. Los péptidos analizados son los listados en la Tabla 1 (1 a 10, respectivamente). Los péptidos se probaron a una concentración de 10 pmol y se aplicaron en IIS (etanol al 0,5%, Tween-80 al 0,05% en DDW) y DDW durante 1 h. El contenido de feromonas sexuales se expresa como porcentaje del contenido de feromonas endógenas obtenidas usando polillas no tratadas como control (definidas como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas en presencia de cada péptido con el obtenido con los disolventes correspondientes (indicado por un asterisco). No hubo diferencias significativas entre la cantidad de contenido de feromonas generadas por hembras testigo no tratadas y la de las polillas tratadas con disolvente (DDW o IIS).

40 La Fig. 3 es un gráfico que muestra la respuesta a la dosis de Ac-A-dPhe-4 (A) o Ac-A-dPhe-6 (B) sobre la inhibición de la biosíntesis de la feromona sexual en polillas hembra *Heliothis peltigera*. Los péptidos se aplicaron en DDW durante 1 h. El contenido de feromona sexual se expresa como porcentaje del contenido de feromona endógena obtenida usando polillas testigo sin tratar (definidas como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromona en presencia de cada péptido en las concentraciones indicadas con el obtenido con el propio disolvente (indicado mediante un asterisco). También se realizó un análisis estadístico similar frente al contenido de feromonas de las polillas no tratadas (indicado por #). No hubo diferencias significativas entre la cuantía del contenido de feromonas generadas por hembras control sin tratar y la de las polillas tratadas con disolvente (DDW). Las diferencias en la potencia de los péptidos en las concentraciones indicadas se representan con letras. Las barras con la misma letra no difieren significativamente.

50 La Fig. 4 es un gráfico que muestra la respuesta en el tiempo de 1 nmol de Ac-A-dPhe-4 y Ac-A-dPhe-6 (aplicado en DDW) sobre la inhibición de la biosíntesis de la feromona sexual en las polillas hembra de *Heliothis peltigera*. El contenido de feromona sexual se expresa como porcentaje del contenido de feromonas endógenas obtenidas utilizando polillas de control sin tratar (definidas como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas en presencia de cada péptido en los momentos indicados, con el obtenido con el propio disolvente en el mismo momento (indicado por un asterisco). No hubo diferencias significativas entre el contenido de feromonas

generadas por controles hembra sin tratar y las de las polillas tratadas con disolvente (DDW) en los momentos indicados. Las diferencias en la potencia de los péptidos en los tiempos indicados se representan con letras. (Ac-A-dPhe-4: letras minúsculas; Ac-A-dPhe-6: letras mayúsculas). Las barras con la misma letra no difieren significativamente.

5 La Fig. 5 es un gráfico que muestra el efecto de los péptidos de aplicación tópica sobre la inhibición de la biosíntesis de las feromonas sexuales en las polillas hembra *Heliothis peltigera*. Los péptidos analizados son los que están listados en la Tabla 1 (1 - 6, respectivamente). Los péptidos se ensayaron a una concentración de 1.000 pmol (A), 300 pmol (B) o 100 pmol (C) y se aplicaron en DDW, DMSO e IIS durante 7 h. El contenido de feromonas sexuales se expresa como porcentaje del contenido de feromonas endógenas obtenidas usando polillas de control no tratadas (definidas como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas en presencia de cada péptido en un disolvente dado (DDW, DMSO o IIS) con el obtenido con los disolventes mismos (indicado por un asterisco). No hubo ninguna diferencia significativa entre la cantidad de contenido de feromonas generadas por hembras testigo sin tratar y la de las polillas tratadas con disolvente.

10 La Fig. 6 es un gráfico que muestra el efecto de un péptido de aplicación tópica (Péptido 12 en la Tabla 1) sobre la estimulación de la biosíntesis de las feromonas sexuales en polillas *Heliothis peltigera*. El péptido se probó a una concentración de 300 pmol y se aplicó en DDW, DMSO e IIS para diferentes momentos (con un intervalo de 0,5 a 7 h). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas en presencia del péptido en un disolvente dado (DDW, DMSO o IIS) en diferentes instantes (indicados por letras negras pequeñas) y entre disolventes al mismo instante (indicado con letras mayúsculas de color gris claro). Las barras con la misma letra no difieren significativamente.

15 La Fig. 7 es un gráfico que muestra la dosis-respuesta de un péptido de aplicación tópica [Péptido 12 (A) y Péptido 11 (B)] sobre la estimulación de la biosíntesis de las feromonas sexuales en polillas hembra de *Heliothis peltigera*. El péptido se probó a las concentraciones indicadas y se aplicó en DDW, IIS y DMSO durante 3 h. El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas en presencia del péptido en un disolvente dado (DDW, DMSO o IIS) a diferentes concentraciones (indicadas por letras negras) y entre disolventes en la misma concentración (indicada con letras mayúsculas gris claro). Las barras con la misma letra no difieren significativamente.

20 La Fig. 8 es un gráfico que muestra el efecto de los péptidos ingeridos por vía oral sobre la inhibición de la biosíntesis de las feromonas sexuales en polillas hembra de *Heliothis peltigera*. El péptido se probó a una concentración de 1.000 pmol durante 1 hora y se proporcionó en una solución de azúcar al 10% preparada en DDW. El contenido de feromonas sexuales se expresa como porcentaje del contenido de feromonas endógenas obtenidas usando polillas testigo sin tratar (definidas como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas en presencia de cada péptido con el obtenido con la polilla privada de alimento durante el mismo periodo de tiempo antes de su exposición a una solución de azúcar al 10% (indicada por un asterisco). No hubo diferencias significativas entre la cantidad de feromonas generadas por hembras testigo sin tratar y la de las polillas muertas por inanición.

25 La Fig. 9 es un gráfico que muestra la estabilidad del Péptido 12 en forma de polvo bajo diferentes condiciones de almacenamiento. La estabilidad se evaluó determinando la producción de feromonas sexuales en hembras de *Heliothis peltigera* expuestas a dicho péptido. Las condiciones de almacenamiento son: (i) exposición a la luz solar directa y una temperatura medio de aproximadamente 31 °C durante 1 semana ("1 semana a la intemperie"); (ii) temperatura ambiente (RT); y (iii) -80 °C. El contenido de feromonas sexuales se expresa como porcentaje del contenido de feromonas obtenidas por inyección de un péptido almacenado a -80 °C (definido como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas generadas por la inyección de un péptido almacenado a temperatura ambiente (RT) durante 1 semana o un péptido mantenido en la intemperie durante 1 semana, con el del control (un péptido almacenado a -80 °C). No hubo diferencia significativa entre la cantidad de feromonas generada por los tratamientos anteriores. Las barras con la misma letra no difieren significativamente.

35 La Fig. 10 es un gráfico que muestra la estabilidad del Péptido 12 disuelto en DDW o IIS a una concentración de 1 nmol (A) o 100 pmol (B) en diferentes condiciones de almacenamiento. La estabilidad se evaluó determinando la producción de feromonas sexuales en hembras de *Heliothis peltigera* expuestas a dicho péptido. Las condiciones de almacenamiento son: (i) exposición a la luz solar directa y una temperatura promedio de aproximadamente 31 °C durante 1 semana ("1 semana a la intemperie"); y (ii) -80 °C. El contenido de feromonas sexuales se expresa como porcentaje del contenido de feromonas obtenidas por inyección de un péptido almacenado como un polvo seco a -80 °C (definido como 100%). El análisis estadístico comparó el contenido de feromonas generadas por los diferentes tratamientos con el del control (un péptido almacenado a -80 °C). No hubo diferencia significativa entre la cantidad de feromonas generadas por los tratamientos anteriores.

40 La Fig. 11 es un gráfico que muestra la estabilidad del Péptido 12 disuelto en DDW (A) o IIS (B) a una concentración de 1 nmol, y expuesto a la luz solar directa y a temperaturas en el intervalo de 27 °C a 31 °C durante 1 - 4 semanas o por un péptido almacenado a 4 °C durante 1 - 4 semanas. La estabilidad se evaluó determinando la producción de feromonas sexuales en hembras de *Heliothis peltigera* expuestas a dicho péptido. La actividad se expresa como porcentaje de la obtenida por el Péptido 12 almacenado a -80 °C (definido como 100%, no mostrado en las figuras). El análisis estadístico comparó la actividad en el mismo tiempo de almacenamiento a 4 °C y en el

exterior, y como una función del tiempo dentro del mismo tratamiento (en el exterior o a 4 °C) en función del tiempo de almacenamiento (letras mayúsculas). No se indicaron diferencias en los diferentes tiempos de almacenamiento entre los péptidos mantenidos en el exterior y a 4 °C. Las barras con la misma letra no difieren significativamente.

La Fig. 12 es un gráfico que muestra la actividad inhibitoria melanotrópica de los péptidos de la invención contra diferentes inductores (elicitores) de la familia PK/PBAN: PBAN, PT (feromonotropina), LPK (leucopiroquinina), DH (hormona de la diapausa). El grado de melanización cuticular se expresa como un porcentaje de la melanización obtenida por inyección del propio inductor (PBAN, PT, LPK o DH) en ausencia del péptido analizado (no mostrado). El análisis estadístico comparó el grado de melanización en presencia y en ausencia del péptido ensayado con cualquier inductor dado. Un asterisco indica una diferencia significativa entre el grado de melanización obtenido en presencia del péptido.

### Descripción detallada de la invención

Se llevaron a cabo estudios de actividad de los diferentes compuestos examinando su actividad inhibitoria feromonotrópica y melanotrópica, así como su biodisponibilidad cuticular y oral. La actividad se probó principalmente en *Heliothis peltigera* y *Spodoptera littoralis*, utilizando bioensayos como se describen en la sección de Ejemplos a continuación. Los compuestos probados son: Arg-Tyr-Phe-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Arg-Tyr-Phe-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Acetil-Arg-Tyr-Phe-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Acetil-Arg-Tyr-Phe-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Acetil-Ala-dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Acetil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Ciclohexil-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Ciclohexil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Fmoc-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Fmoc-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida (véase la Tabla 1). Los péptidos agonistas 11 y 12 (Tyr-Phe-Trp-Pro-Arg-Leu-amida; y Acetyl-Tyr-Phe-Trp-Pro-Arg-Leu-amida) (véase la Tabla 1) se probaron para determinar la biodisponibilidad y la estabilidad ambiental.

Tabla 1

	Nombre	Fórmula	Aminoácidos (de término N- a C-)
1	dPhe-4	RYF [dF] PRLa	Arg-Tyr-Phe- [dPhe] -Pro-Arg-Leu-amida
2	dPhe-6	RYFSP[dF] La	Arg-Tyr -Phe-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida
3	Ac-dPhe-4	Ac-RYF [dF] PRLa	Acetil-Arg-Tyr-Phe-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida
4	Ac-dPhe-6	Ac-RYFSP [dF] La	Acetil-Arg-Tyr-Phe-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida
5	Ac-A-dPhe-4	Ac-A [dF] PRLa	Acetil-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida
6	Ac-A-dPhe-6	Ac-ASP [dF] La	Acetil-Ala-Ser-Pro-[dPhe] -Leu-amida
7	Cyc-A-dPhe-4	Cyc-A [dF] PRLa	Ciclohexil-Ala- [dPhe]-Pro- Arg-Leu-amida
8	Cyc-A-dPhe-6	Cyc-ASP [dF] La	Ciclohexil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida
9	Fmoc-A-dPhe-4	Fmoc-A [dF] PRLa	Fmoc-Ala- [dPhe] -Pro-Arg-Leu-amida
10	Fmoc-A-dPhe-6	Fmoc-ASP [dF] La	Fmoc-Ala-Ser-Pro-[dPhe] -Leu-amida
11	Péptido 11	YFTPRLa	Tyr-Phe-Trp-Pro-Arg-Leu-amida
12	Péptido 12	Ac-YFTPRLa	Acetil-Tyr-Phe-Trp-Pro-Arg-Leu-amida

Fmoc es fluorenilmetiloxycarbonilo, Cyc es ciclohexilo y Ac es acetilo.

El efecto de los péptidos anteriores sobre varias actividades de PK/PBAN fue examinado usando varios ensayos en diferentes concentraciones, que se encuentran en el intervalo de 1 pmol a 1.000 pmol. Los ejemplos de tales ensayos incluyen:

- Aplicación tópica (TA), para determinar su penetrabilidad cuticular,
- inyección, para probar sus propiedades agonistas/antagonistas y para analizar su bioestabilidad;
- alimentación, para examinar su biodisponibilidad oral; y
- estabilidad, para probar su estabilidad en el almacenamiento a la intemperie.

Los bioensayos feromonotrópicos *in vivo* en polillas *Heliothis peltigera* hembra revelaron que los péptidos de la invención son antagonistas puros, y no tienen actividad agonista (véanse las Figs. 1A y 1B); la actividad antagonista se probó mediante la aplicación tópica de los péptidos de la invención disueltos en DDW (agua bidestilada) o IIS (etanol al 0,5%, Tween-80 al 0,05% en DDW) (véase la Fig. 2). Como puede observarse en la Fig. 2, la mayoría de los péptidos probados penetran fácilmente en la cutícula de los insectos adultos y alcanzan su órgano diana (es decir, la glándula de feromonas), en donde el péptido más activo es Ac-A-dPhe-4 (disuelto en DDW), que muestra un 83% de inhibición de la biosíntesis de feromonas.

Otro fenómeno observado es que la composición de la solución utilizada apenas tiene efecto sobre la bioactividad de los péptidos, como se puede observar al comparar los péptidos disueltos en DDW y en IIS.

5 En un intento de determinar la dosis efectiva que se debe emplear, se realizó un análisis de dosis respuesta. Como se puede ver en las Figs. 3A y 3B, los péptidos de la invención son altamente penetrables y bioactivos incluso a una dosis tan baja como 1 pmol. Además, los péptidos de la invención son estables y activos durante periodos de tiempo prolongados, y tienen una bioestabilidad muy alta dentro del insecto durante al menos 7 horas después de la aplicación (véanse las Figs. 4 y 5A-C).

10 En particular, parece que el disolvente portador usado para transferir los péptidos de la invención a los insectos (por aplicación tópica) casi no tiene efecto sobre la penetración de la cutícula. Sin ánimo de vincularse a ninguna teoría en particular, los autores de la presente invención creen que esto se debe probablemente al hecho de que todos los péptidos de la invención contienen un residuo dPhe que puede tener en la biodisponibilidad un papel mayor que el del disolvente portador.

15 En consecuencia, los péptidos de la invención son altamente bioestables *in vivo* y son capaces de penetrar la cutícula del insecto muy rápidamente (en una hora) (véanse las Figs. 2 - 4). Como se usa en este documento, la expresión "altamente bioestable" significa que los péptidos mantienen su actividad biológica durante al menos 7 horas después de la penetración en el insecto. Además, los resultados muestran que los péptidos de la invención son antagonistas puros capaces de inhibir las actividades de PK/PBAN (por ejemplo, la biosíntesis de feromonas sexuales o síntesis de melanina cuticular) en el insecto en más del 90%, incluso a una dosis de 1 pmol (Fig. 3A).

20 Como puede verse en las Figs. 6 y 7, el portador de disolvente utilizado para aplicar tópicamente el péptido, afecta significativamente a la penetrabilidad de dicho péptido. Sin embargo, la presencia en el péptido de un resto dPhe mejora su penetrabilidad y prevalece el efecto del portador. Por consiguiente, un aspecto de la invención son los fragmentos de péptidos y análogos derivados de la secuencia de aminoácidos de PK/PBAN, que tienen al menos un resto dPhe. También se describen insecticidas que comprenden dichos péptidos, y su uso para tratar y/o prevenir infestaciones por insectos.

25 Las pruebas de biodisponibilidad oral (véase la Fig. 8) muestran que los péptidos de la invención tienen una alta actividad inhibitoria, es decir, una inhibición de más del 60%. Esto significa que la presencia de un resto dPhe en el péptido también podría mejorar su biodisponibilidad y estabilidad orales. En consecuencia, un aspecto de la invención es el péptido de la presente invención con una penetrabilidad cuticular y/o una biodisponibilidad oral mejoradas.

30 Las pruebas de estabilidad ambiental indican que los péptidos cortos derivados de PK/PBAN son altamente estables. Como se usa en el presente documento, la expresión "altamente estable" significa que los péptidos no pierden su actividad después de un almacenamiento prolongado, ya sea como un polvo seco o disuelto en un disolvente. Como se usa en el presente texto, la expresión "almacenamiento prolongado" significa almacenamiento de varios años de duración a temperatura ambiente sin perder actividad. Además, los péptidos cortos derivados de PK/PBAN son resistentes a la luz solar directa y son altamente estables en un intervalo de temperatura de -80 °C a 31 °C. De acuerdo con una realización específica, los péptidos son altamente estables incluso durante un período de tiempo más prolongado cuando se disuelven en IIS (véanse las Figs. 9 a 11).

Los péptidos de la presente invención son por tanto insecticidas útiles ya que son inhibidores potentes de las actividades de PK/PBAN, incluyendo la biosíntesis de feromonas y la formación de melanina.

40 A diferencia de otros péptidos conocidos en la técnica, los péptidos de la presente invención son insecticidas altamente eficientes, ya que son (i) efectivos incluso a dosis bajas de menos de 1 pmol, (ii) antagonistas puros, (iii) altamente biodisponibles a través de la cutícula y/u oralmente, y (iv) extremadamente estables, tanto durante el almacenamiento como después de la ingesta de los insectos. Los péptidos de la presente invención se han formulado para minimizar los efectos secundarios nocivos para los animales y los seres humanos, en primer lugar por ser altamente específicos para los insectos, y en segundo lugar por ser efectivos en dosis extremadamente bajas que no podrían afectar a un animal grande. Por consiguiente, en una realización, los péptidos de la invención también pueden aplicarse en vehículos seguros para el medio ambiente, p. ej. DDW e IIS.

Los péptidos de la presente invención se pueden aplicar a los insectos por cualquier medio conocido, por ejemplo mediante pulverización, fumigación, masaje, alimentación, riego, etc. Para facilitar la aplicación, los péptidos de la invención se pueden disolver en cualquier solución acuosa (agua), tal como DDW, IIS, etc.

50 Los expertos en la técnica entenderán fácilmente que los péptidos de la invención pueden usarse como un único agente para la represión de insectos o pueden usarse en cualquier combinación de los mismos en la preparación de composiciones para el control de insectos. Especialmente, los péptidos de la invención se pueden usar para inhibir funciones adicionales mediadas por péptidos PK/PBAN y se pueden aplicar a diversas plagas de insectos. Además, el experto en la técnica entendería que las características de los péptidos de la invención conseguidas por sus diversas modificaciones, p. ej. su estabilidad metabólica y ambiental, su biodisponibilidad oral y su capacidad para penetrar a

través de la cutícula, pueden utilizarse en la preparación de péptidos adicionales para la represión de insectos basándose en otros neuropéptidos o péptidos de los insectos.

5 Los ejemplos que siguen se exponen para ilustrar con más detalle la presente invención. Estos ejemplos que siguen, sin embargo, no deben interpretarse en modo alguno como limitantes de la presente invención. Por el contrario, debe entenderse claramente que se puede recurrir a otras realizaciones, modificaciones y equivalentes de los mismos que, después de la lectura de la descripción del presente documento, se pueden sugerir a los expertos en la técnica sin apartarse del espíritu de la presente invención y/o el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

### EJEMPLO 1

Bioensayos

10 a) Aplicación tópica (TA)

Este ensayo se usa para determinar la penetrabilidad cuticular. Los péptidos ensayados se aplican al insecto (por ejemplo, polillas) en la escotofase (cuando la feromona se sintetiza naturalmente) en un disolvente dado para los valores del tiempo indicados.

b) Inyección

15 Este ensayo se utiliza para probar las propiedades agonistas de los péptidos analizados (en hembras adultas) y para determinar las propiedades agonistas o antagonistas melanotrópicas de los péptidos (en larvas). También se usó para determinar la actividad de los péptidos que se almacenaron a la intemperie durante diferentes períodos de tiempo. Los péptidos se inyectan en insectos hembra adultos (por ejemplo, polillas) en fotofase (cuando la feromona no se sintetiza de forma natural, pero el insecto tiene la capacidad de producir feromona tras la estimulación con un agonista) o bien  
20 en larvas en el quinto instar.

Las propiedades agonistas se probaron mediante la inyección de los péptidos solo; las propiedades antagonistas se determinaron mediante la inyección del péptido junto con un estimulador.

El contenido de feromonas se determinó 2 h después de la inyección.

c) Alimentación

25 Este ensayo se utiliza para determinar la biodisponibilidad oral de los péptidos. Las hembras adultas fueron expuestas a los péptidos de la invención disueltos en una solución de azúcar al 10%.

### EJEMPLO 2

Falta de actividad agonista

30 Se ha encontrado que los péptidos 1 – 10 son antagonistas puros, lo que significa que carecen de cualquier actividad agonista. Esto se determinó mediante un ensayo biológico feromonotrópico *in vivo* en polillas hembra de *Heliothis peltigera*: se inyectaron péptidos a las hembras y la producción de feromona se controló cuantitativamente mediante cromatografía de gases.

La inactividad de todos los péptidos a 100 pmol y 1 nmol se representa en las Figs. 1A y 1B.

### EJEMPLO 3

35 Biodisponibilidad cuticular

La actividad antagonista se probó a una concentración de 10 pmol y los péptidos se aplicaron tópicamente en dos disolventes: DDW e IIS (Fig. 2). Bajo las condiciones de ensayo (en donde los péptidos se aplicaron una hora antes del análisis de las feromonas), la mayoría de los péptidos mostraron una alta penetrabilidad y bioactividad cuticulares, como indica una inhibición significativa de la producción de feromonas en comparación con el propio disolvente. Tres péptidos: dPhe-4 y Cyc-A-dPhe-4 en IIS y dPhe-6 en DDW no consiguieron reducir el contenido de feromonas en comparación con el disolvente, debido probablemente a una penetrabilidad cuticular escasa. El péptido más activo fue Ac-A-dPhe-4 en DDW que inhibió la biosíntesis de feromonas en un 83%. Ac-A-dPhe-6 fue el segundo mejor en la biosíntesis de las feromonas inhibidoras de IIS en un 74%. La comparación de la actividad de cada péptido en DDW e IIS no reveló diferencias significativas entre los disolventes bajo las condiciones ensayadas. Resultados similares se obtuvieron cuando algunos de los péptidos (Ac-A-dPhe-4, Ac-A-dPhe-6, Cyc-A-dPhe-4 y Fmoc-A-dPhe-4) se ensayaron en agua corriente: no se obtuvieron diferencias entre péptidos aplicados en IIS frente al agua corriente.  
40  
45



**EJEMPLO 4**

## Respuesta a la dosis

Se ha analizado la respuesta a la dosis de los dos péptidos más activos, como son Ac-A-dPhe-4 y Ac-A-dPhe-6, en un intervalo de concentración de 1 a 1.000 pmol (Figs. 3A y 3B). Se ha encontrado que ambos péptidos son muy activos: penetraron fácilmente a través de la cutícula (cuando se disolvieron en DDW) e inhibieron la producción de feromonas en un 80 - 99%, en todas las concentraciones analizadas. Solo se observan pequeñas diferencias en la actividad como función de una dosis (con la excepción de Ac-A-dPhe-4 a 1.000 pmol, que inhibe la producción de feromonas en un grado menor de aproximadamente el 50%).

Sobre todo, estos resultados muestran la alta penetrabilidad y bioactividad de ambos péptidos a una concentración muy baja de 1 pmol.

Todos los experimentos se llevaron a cabo en la escotofase y los péptidos se aplicaron una hora antes de extirpar las glándulas de feromona (+5) y de analizar el contenido de feromonas (en la sexta hora de la escotofase cuando el contenido de feromonas está en su nivel más alto). La alta inhibición obtenida bajo las condiciones ensayadas indica la penetrabilidad y bioactividad extremadamente rápidas y elevadas de los péptidos de la invención.

Para probar si los péptidos están activos durante períodos de tiempo más largos, se aplicaron (a una dosis de 1 nmol) 3 y 7 horas antes del análisis de la feromona (indicado en la Fig. 4 por +3 y -1, respectivamente). Ac-A-dPhe-4 y Ac-A-dPhe-6 se aplicaron en DDW una hora antes del inicio de la escotofase y en la tercera y quinta horas de la escotofase. Los datos de la Fig. 4 revelan claramente que los péptidos están activos durante al menos 7 horas, como indica la cantidad significativamente menor de feromona en la glándula en el momento -1. La cantidad de feromona en las polillas hembra tratadas a la 3ª hora de la escotofase fue menor que la encontrada en las hembras tratadas durante 7 horas, y la de las hembras tratadas durante solo 1 hora fue la más baja, aunque una comparación entre la actividad de cada péptido en los tres instantes indicó que la potencia de Ac-A-dPhe-6 no difería en función del tiempo de aplicación.

**EJEMPLO 5**

## Penetración de la cutícula

Basándose en los resultados anteriores, se probó la capacidad de los péptidos para penetrar la cutícula e inhibir la biosíntesis de la feromona sexual cuando se aplica 7 h antes del análisis de feromonas, a una concentración de 1 nmol, 300 pmol y 100 pmol.

Los datos de las Figs. 5A-C muestran que los péptidos ensayados están activos en las 3 concentraciones en todos los disolventes (DDW, DMSO e IIS). La comparación de la actividad de cada péptido en función del portador utilizado para la aplicación tópica no reveló diferencias entre los péptidos en las tres concentraciones (excepto para dPhe-4, que tuvo en DDW e IIS una actividad más baja en comparación con DMSO a 300 pmol).

La falta de diferencias de actividad en función de los disolventes portadores puede ser resultado del hecho de que todos los péptidos contienen un resto dPhe que puede tener un papel en la biodisponibilidad que anula la importancia del disolvente portador. La comparación de la actividad de cada péptido en función de la dosis en los diferentes disolventes no reveló ninguna diferencia en la actividad en ninguno de los disolventes (excepto para Ac-A-dPhe-4, que fue menos activo a 100 pmol en comparación con 300 y 1.000 pmol en IIS y DMSO). Esta ausencia de diferencias entre las concentraciones indica que incluso la dosis más baja utilizada en esta serie de experimentos (es decir, 100 pmol) fue aún muy alta en comparación con la dosis que se necesita para la inhibición y, por tanto, no permitió obtener una respuesta real a la dosis. Esto se refuerza aún más por los resultados de las Figs. 3A y 3B que indican una alta actividad inhibitoria a dosis bajas de los péptidos (aunque los primeros experimentos se llevaron a cabo solamente durante 1 h).

**EJEMPLO 6**

## Efecto del disolvente sobre la penetrabilidad

Se realizó el examen del efecto del disolvente portador sobre la penetrabilidad y la actividad en función del tiempo y de la concentración con los péptidos 11 y 12 (véase la Tabla 1) que son péptidos agonistas, es decir, que estimulan la producción de feromonas sexuales en polillas hembra. La Fig. 6 indica claramente que el vehículo utilizado afecta a la biodisponibilidad del péptido. Por ejemplo, se ha encontrado que IIS es el mejor portador: tanto la amplitud de la actividad como la duración en la que el péptido todavía estaba activo, son los más elevados y más prolongados con IIS como portador.

El análisis de la respuesta a la dosis del Péptido 12 (en la Tabla 1) mostró también una mayor actividad en IIS en comparación con DDW o DMSO (Fig. 7A). Sin embargo, el péptido 11 (en la Tabla 1) apenas tuvo actividad en DDW

e IIS, pero fue muy activo en DMSO (Fig. 7B). Estos resultados indican la importancia del disolvente sobre la penetrabilidad en péptidos que carecen de un resto dPhe.

### EJEMPLO 7

Biodisponibilidad oral

- 5 La capacidad de los péptidos antagonistas para inhibir la biosíntesis de las feromonas sexuales después de la ingestión oral se ensayó con todos los péptidos. La Fig. 8 muestra esa alta actividad inhibitoria (más del 60% de inhibición) en la producción de feromonas sexuales por los péptidos dPhe-4, Ac-dPhe-6, Cyc-A-dPhe-6 y Fmoc-A-dPhe-4. Todos los demás péptidos (excepto Ac-A-dPhe-6) mostraron una actividad menor pero significativa (entre 40 y 55%).

### EJEMPLO 8

- 10 Estabilidad ambiental

Para evaluar la estabilidad ambiental de los péptidos, se analizó el péptido 12 (en la Tabla 1). La estabilidad se controló exponiendo un tubo que contenía el péptido, ya sea en forma de polvo seco o en una solución preparada en DDW o IIS, a una concentración de 100 pmol o 1 nmol, a la luz solar directa y a un intervalo de temperatura de 27 a 31 °C ("a la intemperie").

- 15 La exposición del péptido (en forma de polvo) a la luz solar directa y a una temperatura media de 31 °C durante 1 semana reveló que su capacidad para estimular la producción de feromonas sexuales en polillas *Heliothis peltigera* hembra no difiere significativamente de la de un péptido almacenado a temperatura ambiente (RT) o a -80 °C (Fig. 9), lo que indica que el péptido es muy estable en las condiciones ensayadas.

- 20 La exposición del péptido durante 1 semana a la luz solar directa y una temperatura media de 31 °C, en DDW o IIS (a una concentración de 1 nmol), no reveló diferencias significativas entre la actividad del péptido, incluso cuando se compara con el péptido en polvo seco. Además, no se observó ninguna diferencia significativa en la actividad del péptido "a la intemperie" y la de un péptido almacenado a -80 °C, lo que significa que el péptido no se ve afectado por la exposición a la luz solar ni a altas temperaturas en estado seco o disuelto (Fig. 10A). Se obtuvieron resultados similares a una dosis de péptido más baja, de 100 pmol (Fig. 10B).

- 25 También se ensayó la estabilidad del péptido durante 4 semanas cuando está disuelto en DDW o IIS, a una concentración de 1 nmol, en las mismas condiciones que antes, en un intervalo de temperatura de 27 °C a 31 °C. Los resultados de las Figs. 11A y 11B muestran que existe una diferencia de estabilidad entre los dos disolventes: en DDW, la actividad disminuyó en el curso del almacenamiento, aunque no hubo diferencias significativas entre las muestras almacenadas en el exterior y a 4 °C; y en IIS el péptido era mucho más estable en el almacenamiento a la intemperie. Todas las muestras presentaron una actividad similar y las muestras a la intemperie indujeron la producción de feromonas sexuales en un grado similar al obtenido por las muestras almacenadas a 4 °C.

- 30 La exposición de los péptidos a las condiciones de intemperie (es decir, luz solar directa y una temperatura de aproximadamente 27 °C a aproximadamente 31 °C) como polvo seco o disuelto en una solución a una dosis de 100 pmol o 1 nmol, no da lugar a una pérdida de actividad. Sin embargo, parece que el péptido es más estable cuando se disuelve en IIS que cuando se disuelve en DDW, al exponerlo a condiciones externas durante un período prolongado de tiempo (es decir, 4 semanas).

### EJEMPLO 9

Inhibición de la formación de melanina: larvas de polilla

La capacidad de los péptidos para inhibir la síntesis de melanina cuticular se probó en larvas de *Spodoptera littoralis*.

- 40 La actividad inhibitoria se probó inyectando los péptidos a las larvas de *Spodoptera littoralis* junto con un estimulador dado: PBAN, PT, LPK y DH. La inhibición se expresa como 100 menos la relación en porcentaje (%) entre la cuantía de la melanización cuticular obtenida en presencia y en ausencia del péptido ensayado (Tabla 2).

- 45 Es interesante observar que los péptidos ensayados eran selectivos frente a diferentes estimuladores de la síntesis de melanina, es decir, que ninguno de los péptidos inhibió todos los estimuladores. 4 inhibieron PBAN (Ac-dPhe-4, AcA-dPhe-4, Ac-A-dPhe-6, y Ciclo-A-dPhe-6); 3 inhibieron PT (Ac-dPhe-4, Ac-A-dPhe-4, Ac-A-dPhe-6); 4 inhibieron LPK (Ac-A-dPhe-4, Ac-A-dPhe-6, Ciclo-A-dPhe-4 y Ciclo-A-dPhe-6) y ninguno inhibió DH (Fig. 12 y Tabla 2).

Los resultados demuestran que los péptidos de la invención no solo son útiles como inhibidores de la biosíntesis de las feromonas, sino que también son potentes antagonistas puros capaces de inhibir la formación de melanina provocada por diferentes estimuladores de la familia de péptidos PK/PBAN.

Tabla 2

## Actividad inhibidora melanotrópica de péptidos

<b>Estimulante</b>	<b>PBAN</b>	<b>PT</b>	<b>LPK</b>	<b>DH</b>
	100 pm	100 pm	100 pm	100 pm
dPhe-4	18	59	10	33
dPhe-6	49	74	78	15
Ac-dPhe-4	70	100	51	22
Ac-dPhe-6	59	100	8	35
Ac-A-dPhe-4	54	100	31	6
Ac-A-dPhe-6	63	100	0	29
Cyc-A-dPhe-4	7	6	100	15
Cyc-A-dPhe-6	67	26	100	15
Fmoc-A-dPhe-4	68	100	100	28
Fmoc-A-dPhe-6	67	100	100	35

5 La inhibición y los detalles experimentales son como se indica en la Fig. 12. Los valores con resalte gris indican actividad de antagonistas puros; el resalte gris claro indica la actividad inhibitoria de los péptidos que son agonistas/antagonistas mixtos (es decir, que muestran cierta actividad agonista/estimulante).

10 Todos los métodos descritos en el presente texto pueden realizarse por un orden adecuado cualquier, a menos que se indique otra cosa o el contexto lo contradiga claramente. El uso de cualquiera y de todos los ejemplos, o ejemplo de lenguaje (p. ej. "tal como") proporcionado en este documento, pretende simplemente ilustrar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la misma a menos que se indique otra cosa. Ningún lenguaje en la especificación debe considerarse indicador de ningún elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

15 Aunque la presente invención se ha descrito anteriormente en relación con ciertas realizaciones ilustrativas, se ha de entender que se pueden usar otras realizaciones similares o se pueden hacer modificaciones y adiciones a las realizaciones descritas para realizar la misma función de la presente invención sin desviarse de ella. Además, todas las realizaciones descritas no están necesariamente en la alternativa, ya que pueden combinarse varias realizaciones de la invención para proporcionar las características deseadas.

Por tanto, la presente invención no debe limitarse a ninguna realización ilustrativa única, sino que más bien debe interpretarse en amplitud y alcance de acuerdo con la lectura de las reivindicaciones adjuntas.

**REIVINDICACIONES**

1. Un fragmento de péptido derivado de la secuencia de aminoácidos del neuropéptido activador de la biosíntesis de piroquinina/feromona (PK/PBAN), que consiste en la fórmula:



5 en donde X es acetilo, Fmoc o ciclohexilo, e Y es [dPhe]-Pro-Arg o Ser-Pro-[dPhe].

2. El péptido según la reivindicación 1, que se elige entre el grupo que consiste en: Acetil-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Acetil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Ciclohexil-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; Ciclohexil-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida; Fmoc-Ala-[dPhe]-Pro-Arg-Leu-amida; y Fmoc-Ala-Ser-Pro-[dPhe]-Leu-amida.

10 3. El péptido según la reivindicación 1, para su uso como insecticida o como agente para la represión de insectos.

4. El uso de los péptidos según la reivindicación 1, en la preparación de insecticidas o como agentes para la represión de insectos.

5. Una composición para la represión de insectos, que comprende el péptido según la reivindicación 1, en donde dicho péptido tiene una penetrabilidad cuticular o una biodisponibilidad oral mejoradas.

15 6. Una composición para la represión de insectos, que comprende el péptido según la reivindicación 1, en donde el péptido muestra penetrabilidad cuticular.

7. Una composición para la represión de insectos, que comprende el péptido según la reivindicación 1, en donde la X de la fórmula es Fmoc o Ciclohexilo, en donde el péptido es disponible oralmente.

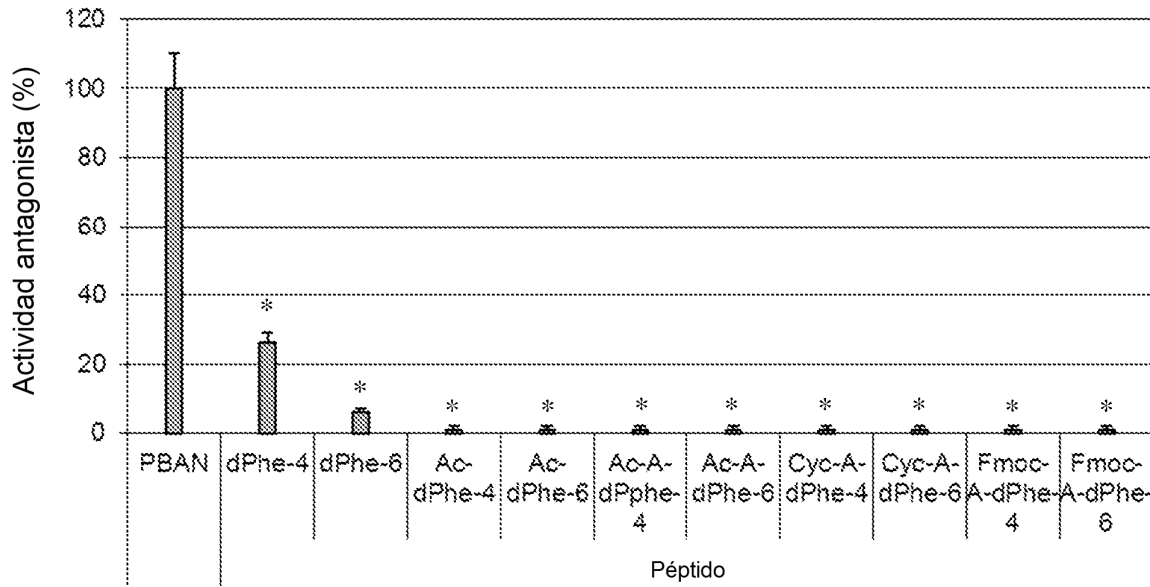
20 8. Un método para controlar y/o prevenir la infestación por insectos, que comprende dispersar al menos uno de los péptidos según la reivindicación 1, o la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, y un vehículo aceptable en agricultura sobre el área deseada.

9. Un método para reprimir y/o prevenir la infestación por insectos, que comprende administrar a los insectos mediante alimentación al menos uno de los péptidos según la reivindicación 1, o la composición según la reivindicación 7.

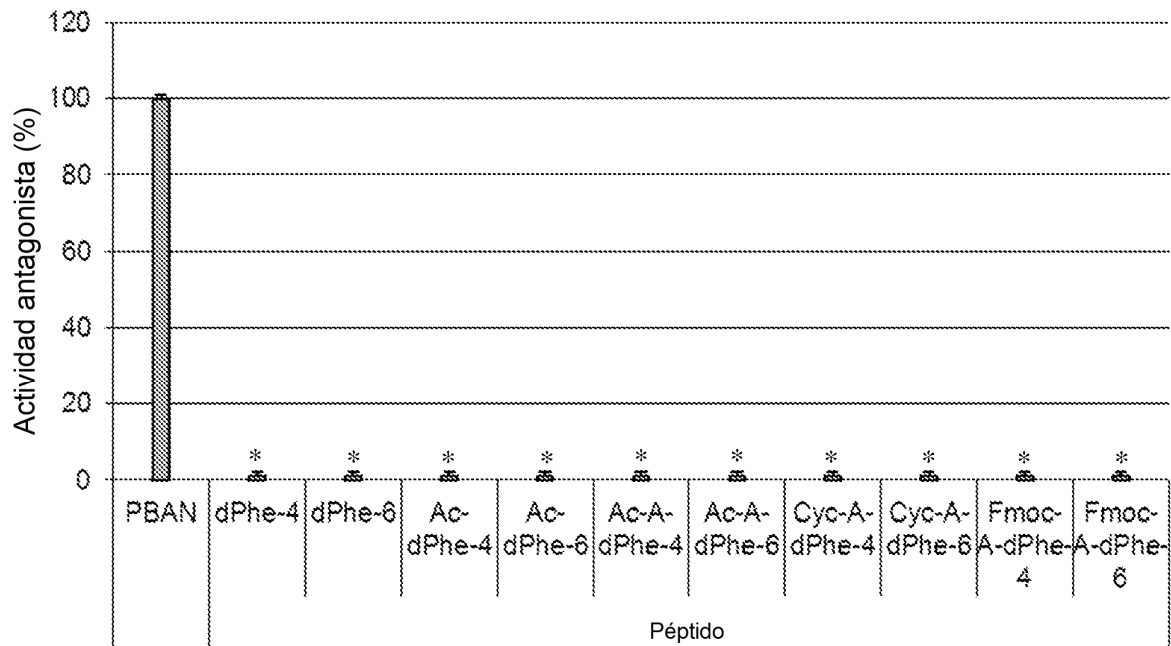
25 10. El uso de al menos uno de los péptidos según la reivindicación 1 junto con un disolvente, y opcionalmente otro insecticida, en la preparación de un insecticida o una composición para la represión de insectos.

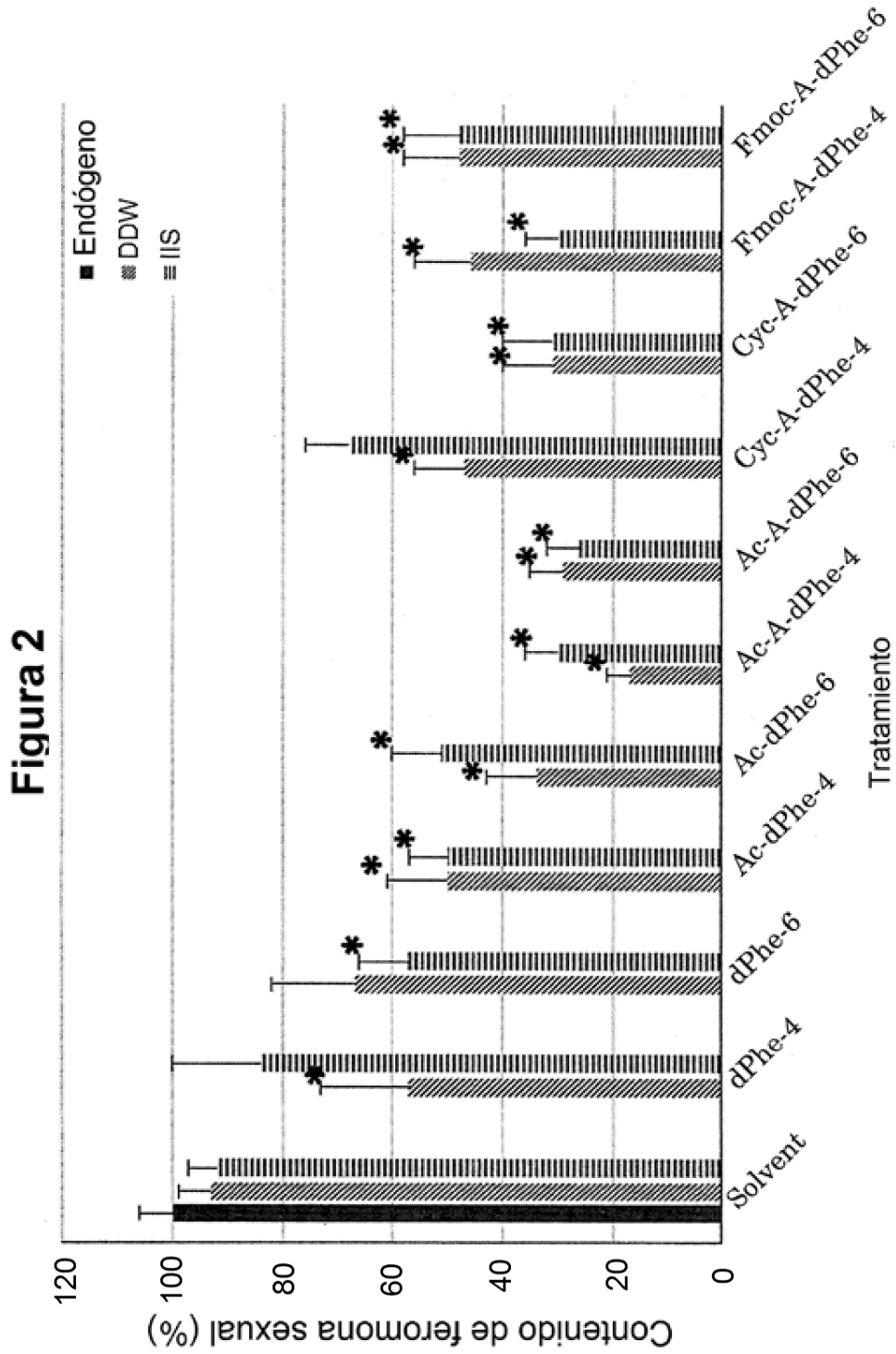
11. El uso según la reivindicación 10, en el que dicho disolvente es IIS (etanol al 0,5%, Tween-80 al 0,05% en DDW), DMSO o DDW.

**Figura 1A**

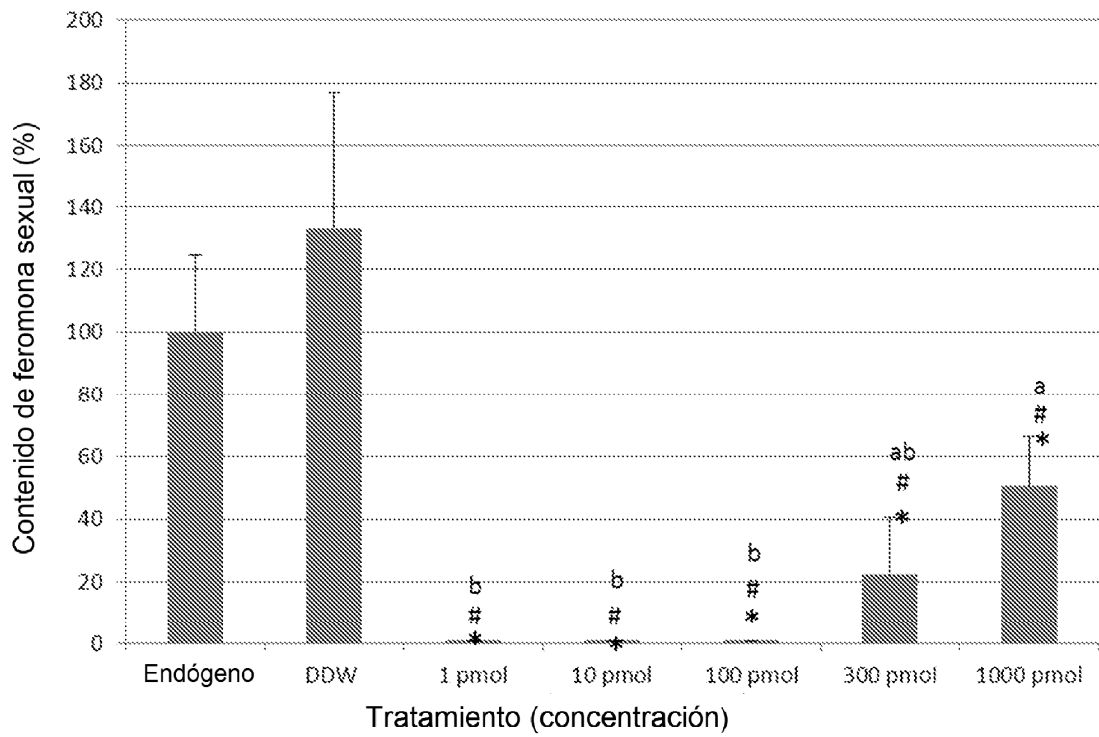


**Figura 1B**

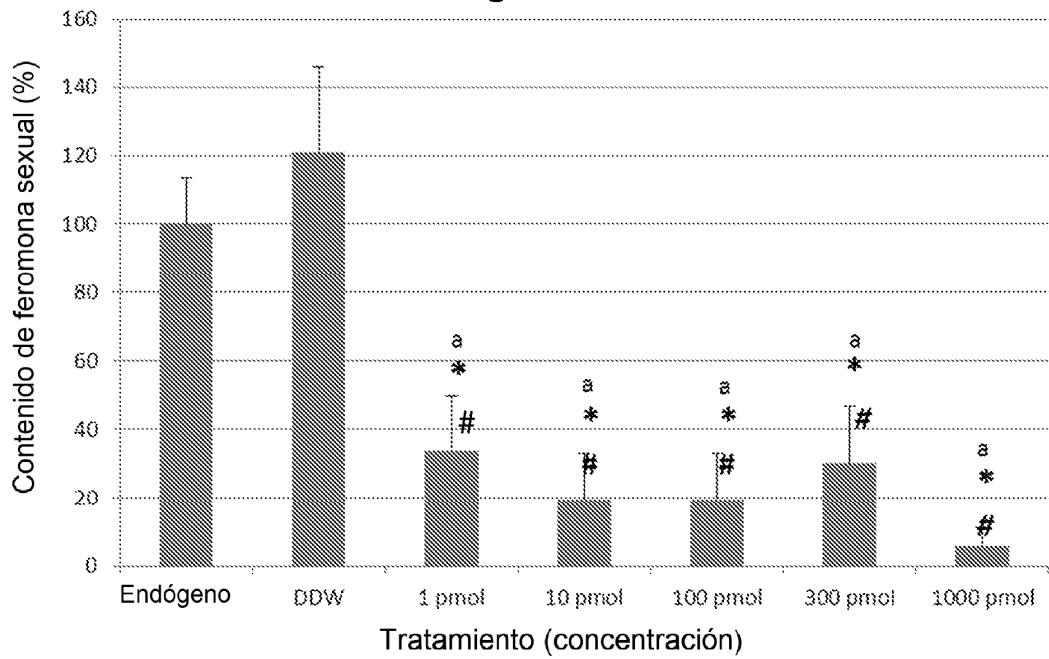




**Figura 3A**



**Figura 3B**



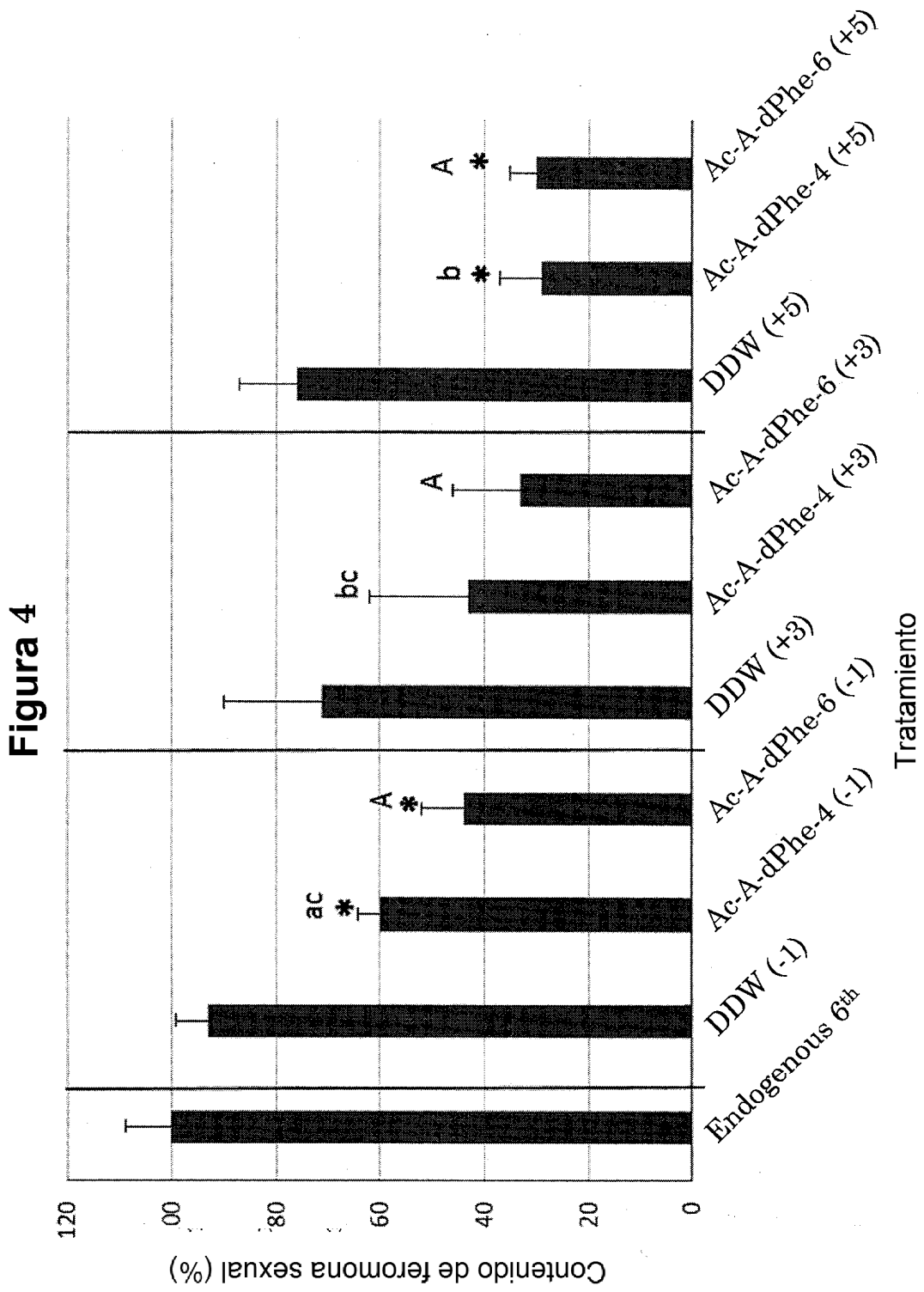




Figura 5A

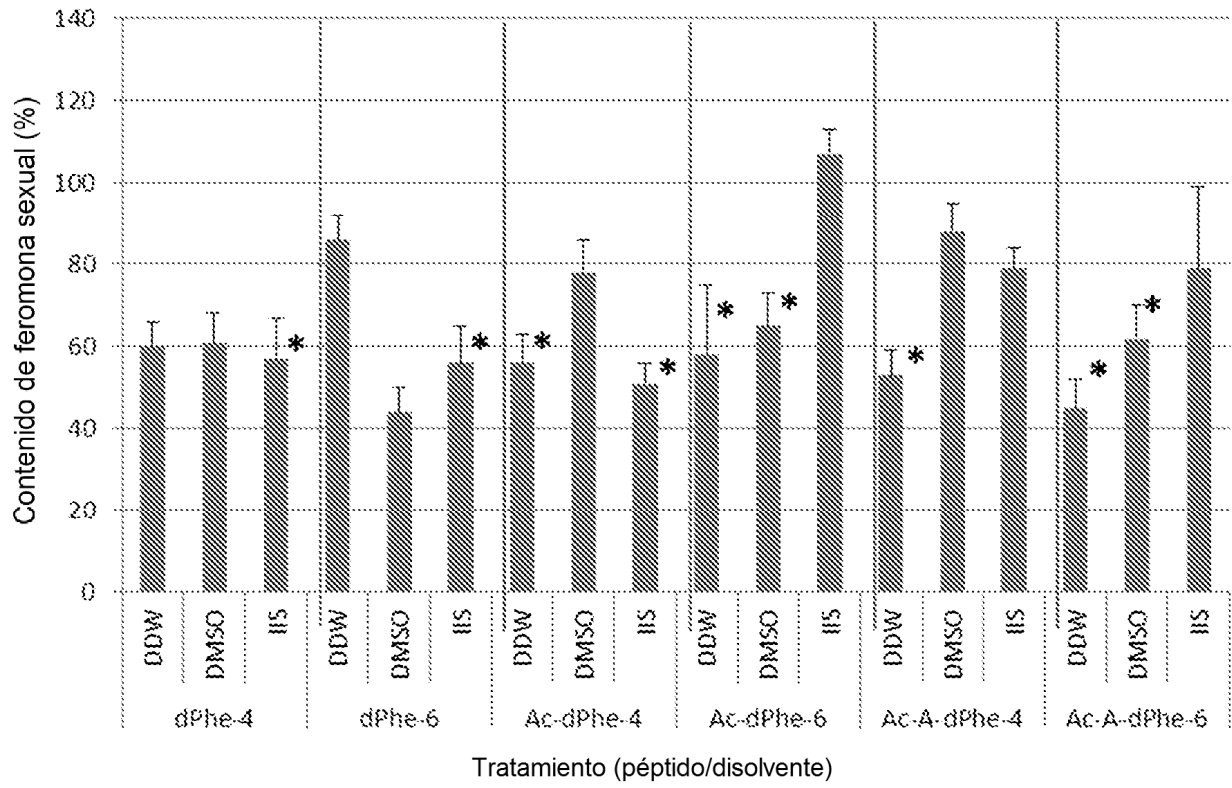


Figura 5B

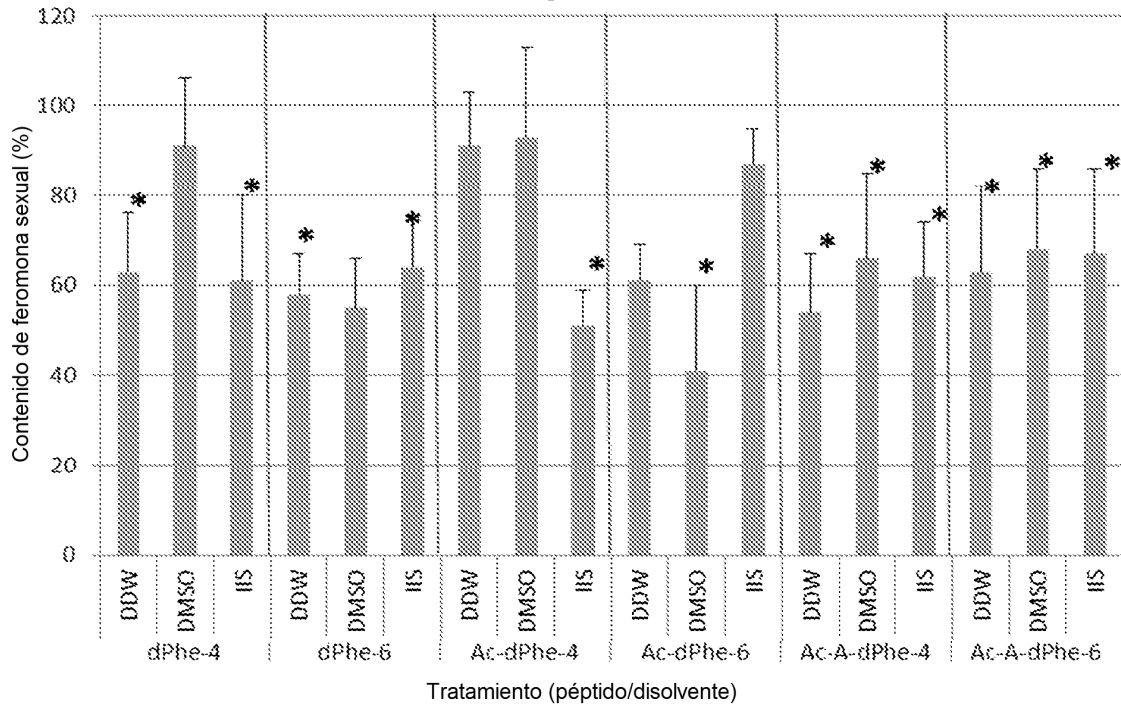


Figura 5C

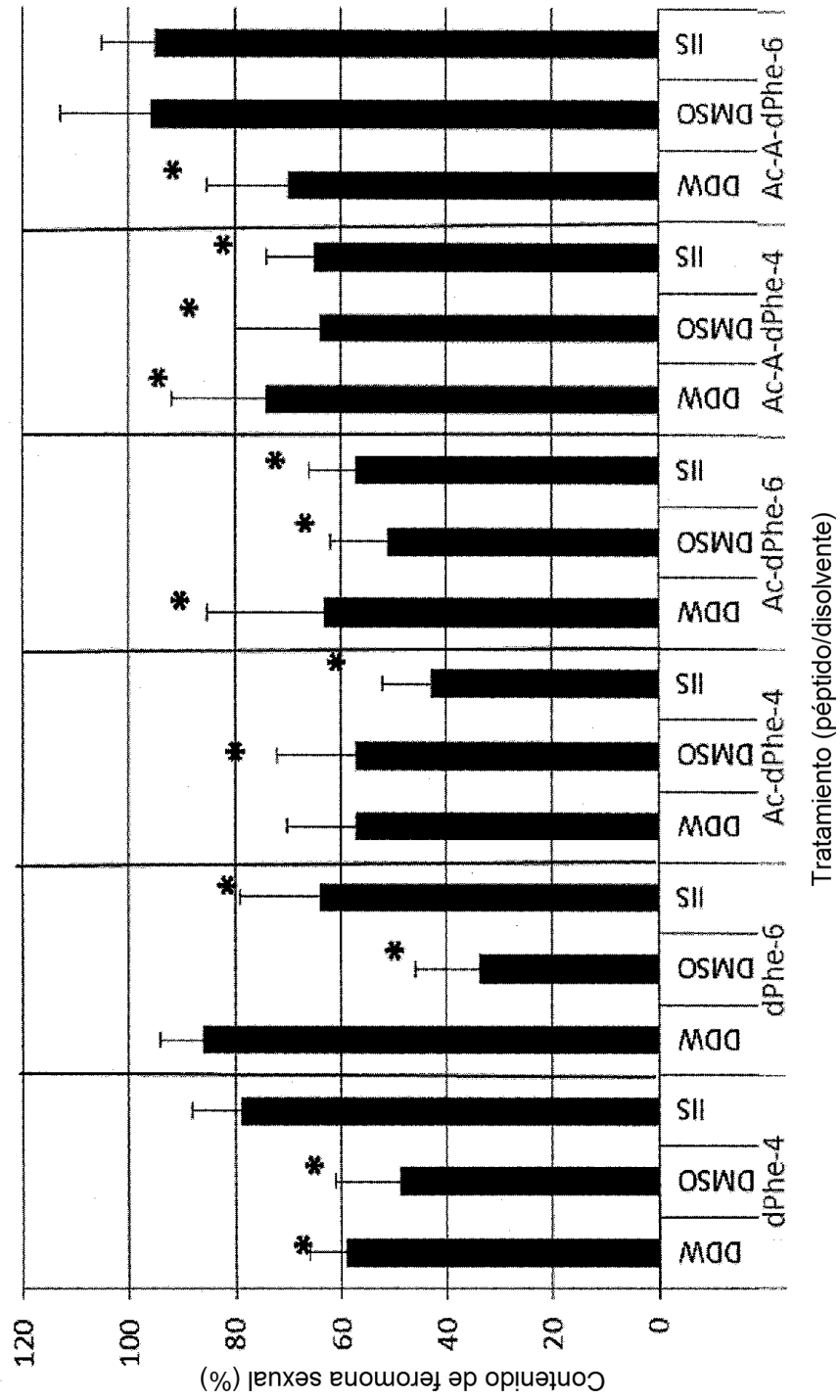


Figura 6

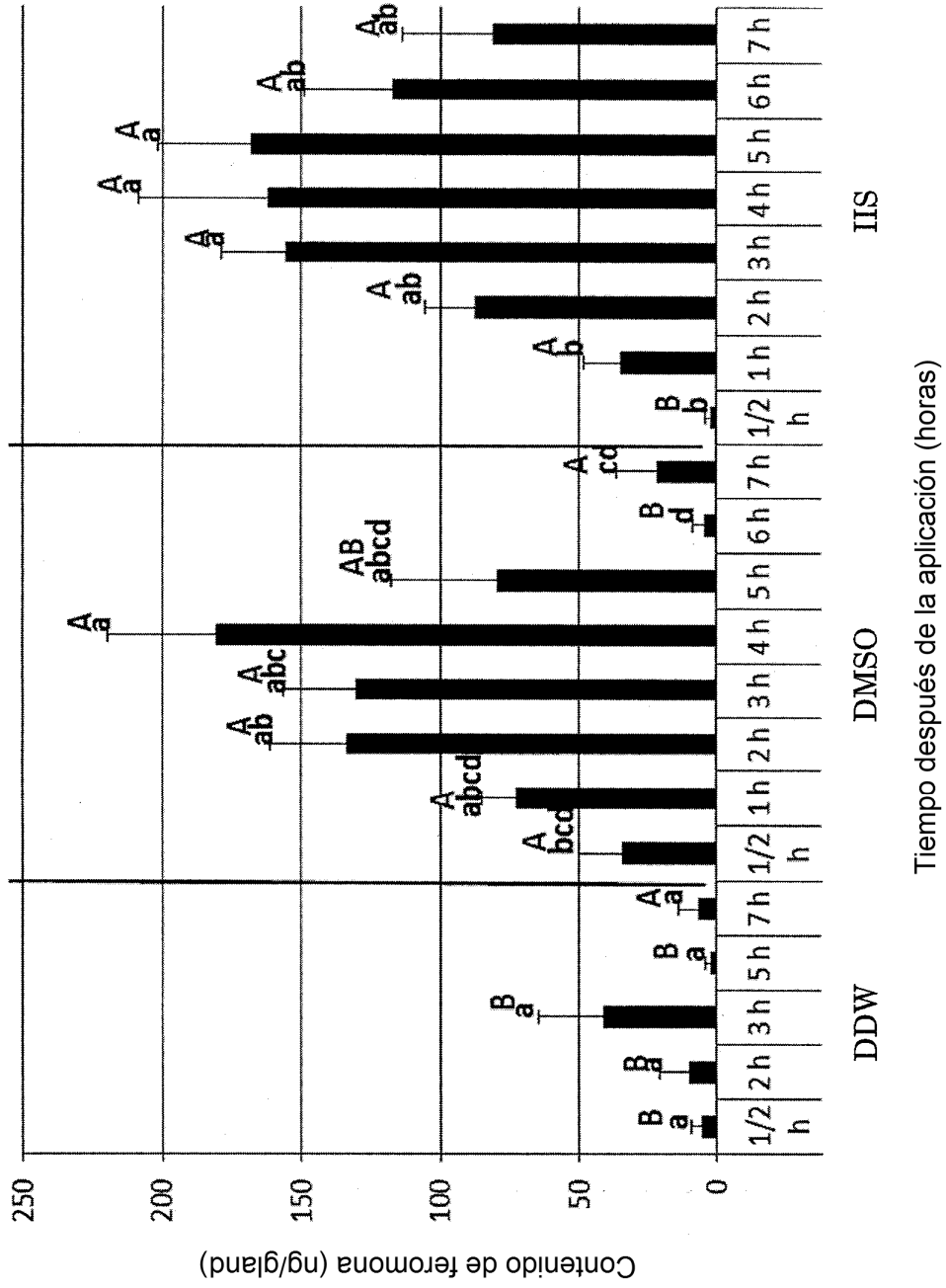


Figura 7A

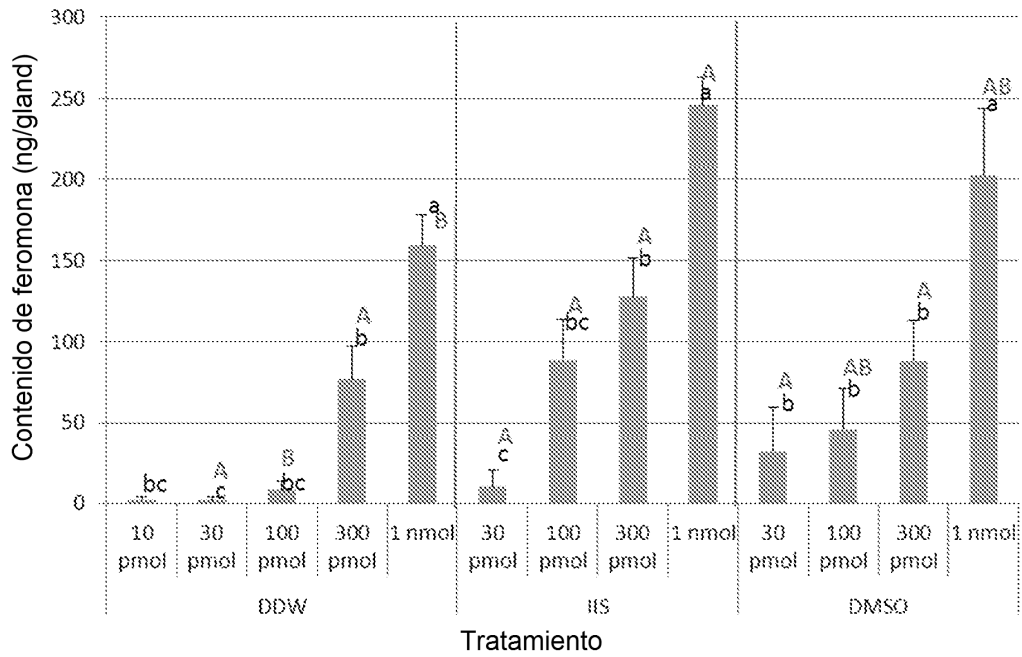
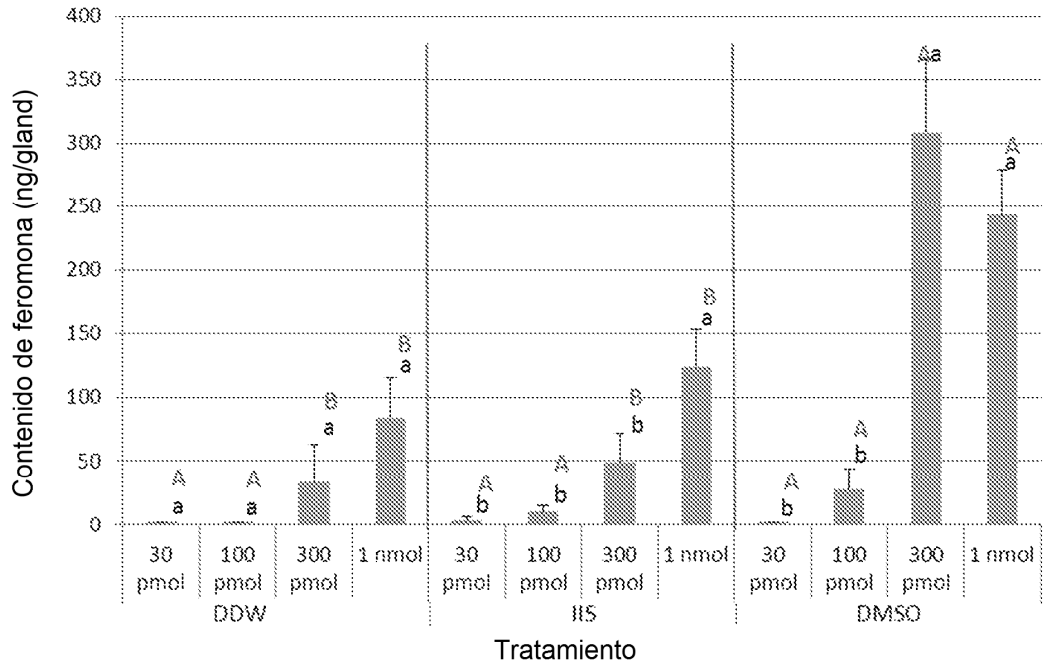
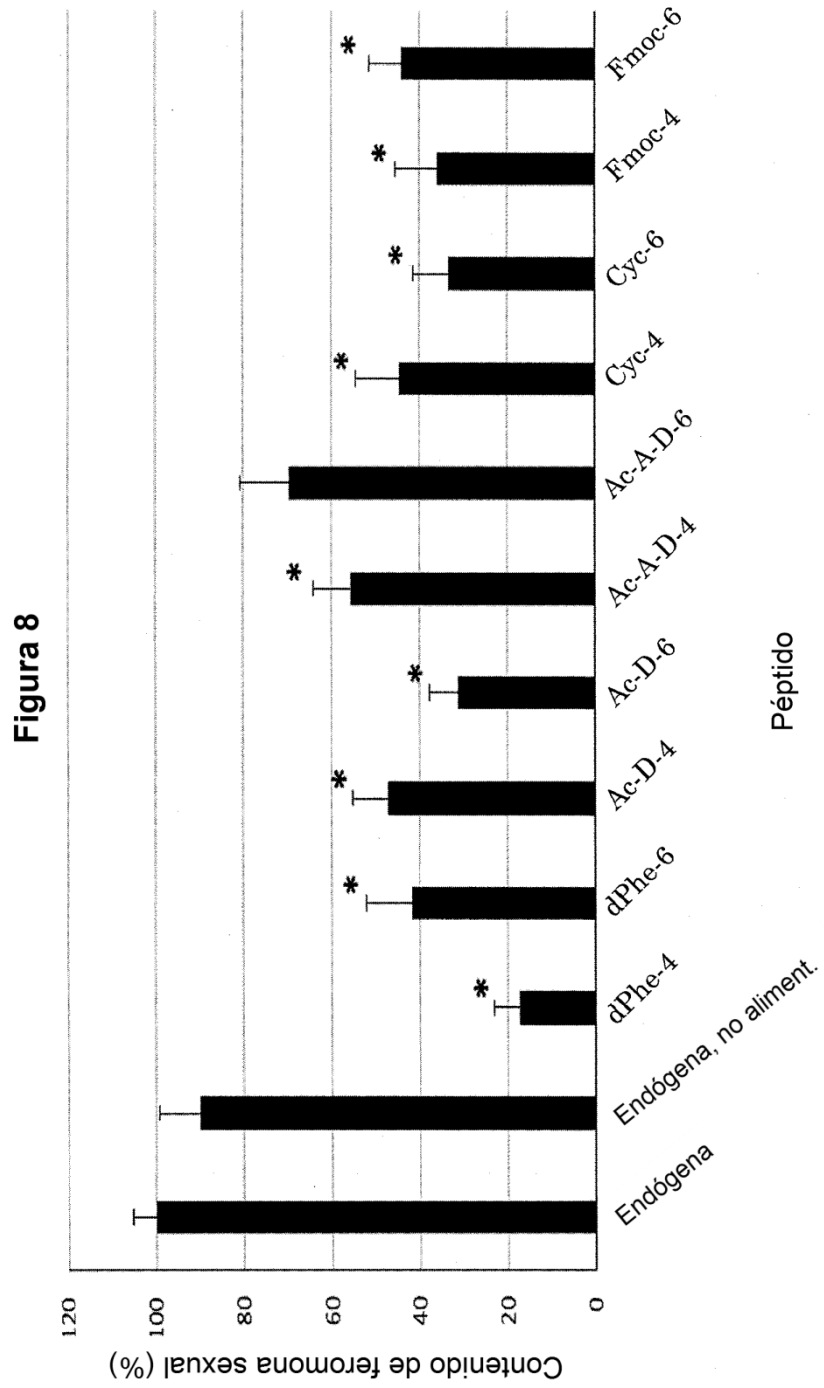
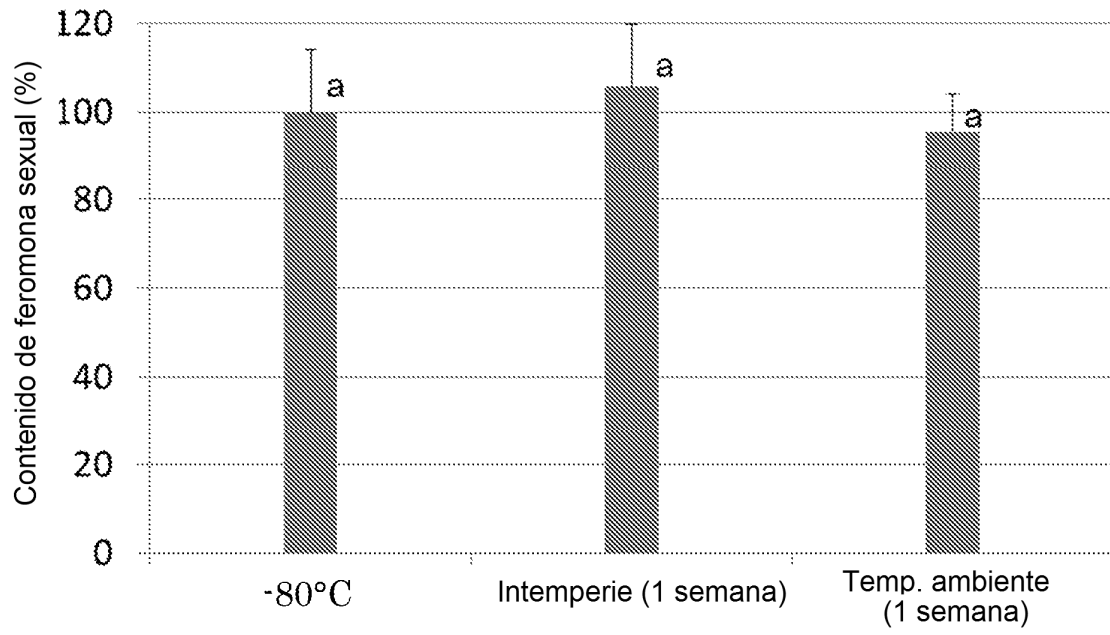


Figura 7B

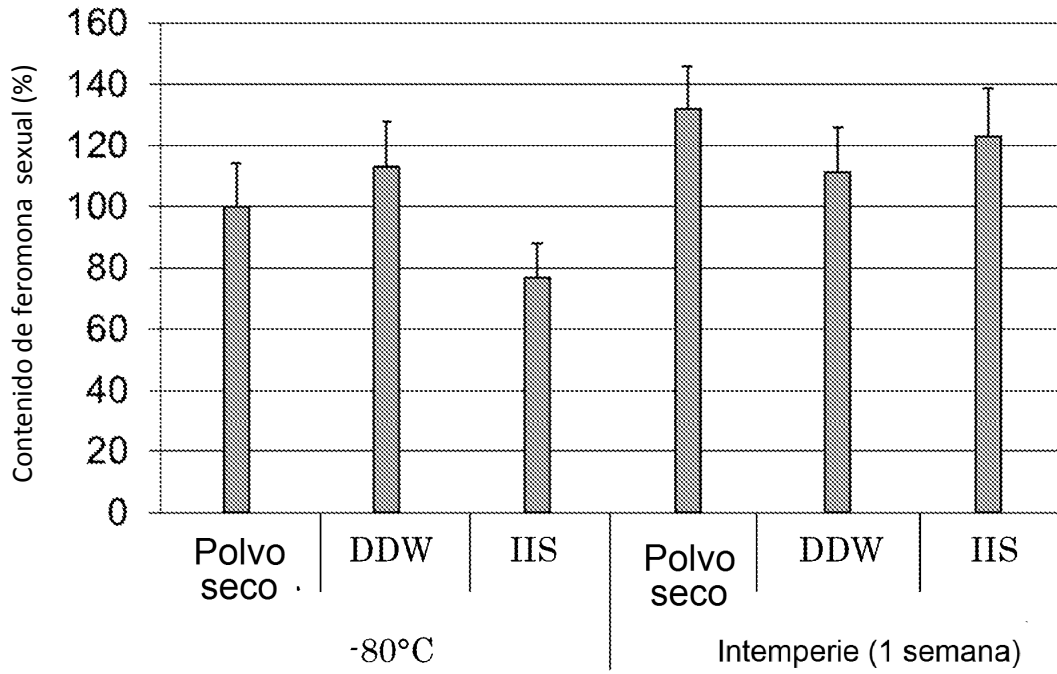




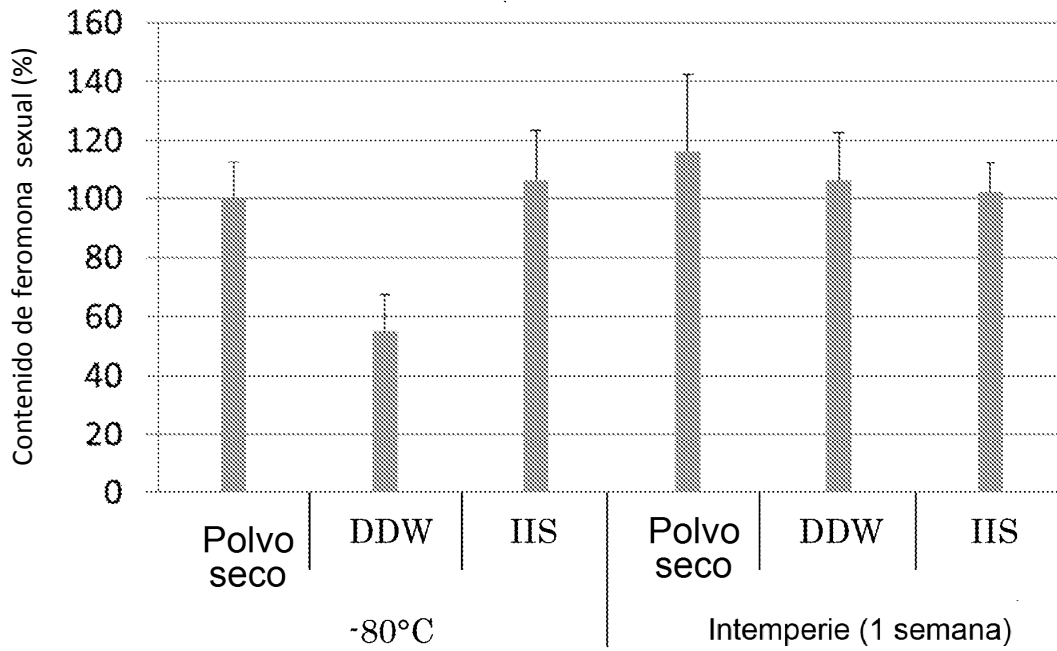
**Figura 9**



**Figura 10A**

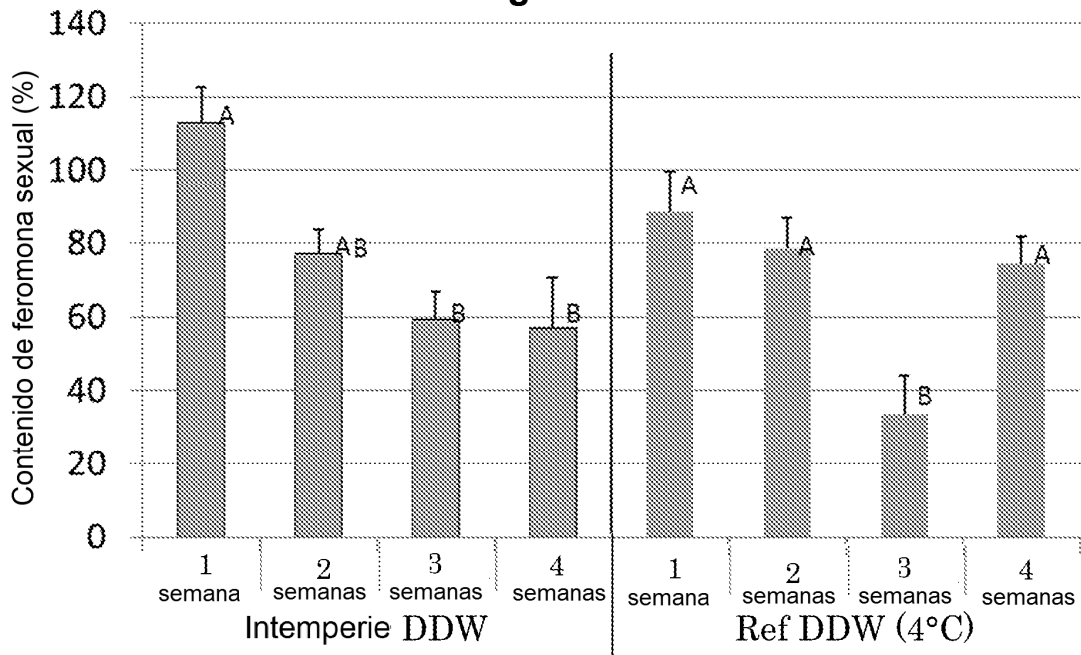


**Figura 10B**





**Figura 11A**



**Figura 11B**

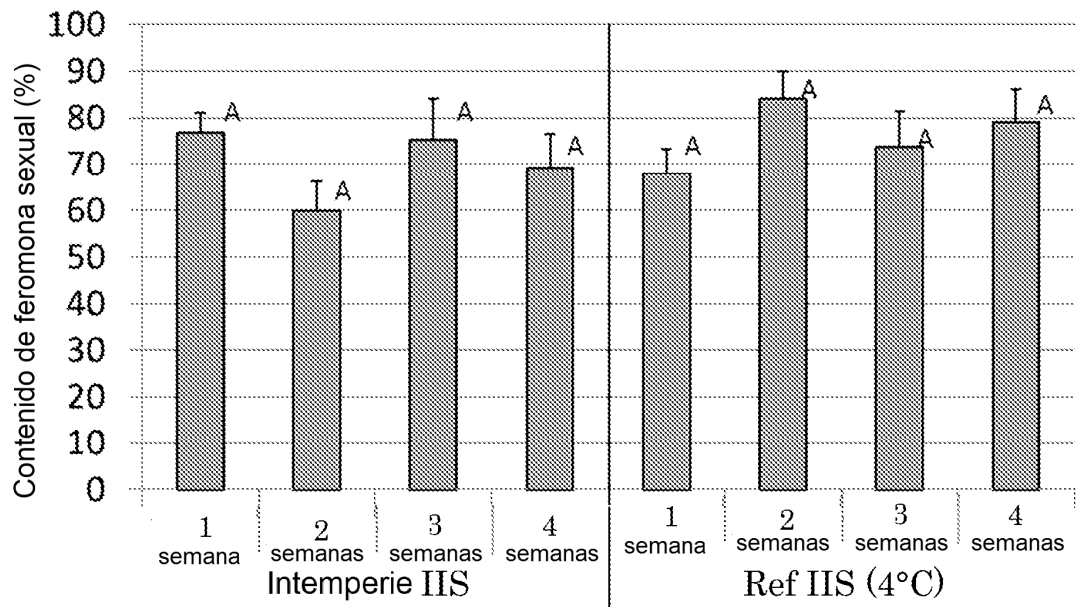


Figura 12

