(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 764 555**

(51) Int. Cl.:

***A01N 31/06*** (2006.01)
***A01N 25/18*** (2006.01)
***A01P 17/00*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2016** **PCT/GB2016/053430**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **18.05.2017** **WO17081445**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2016** **E 16793996 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019** **EP 3370521**

(54) Título: **Composición repelente de insectos y método de uso**

(30) Prioridad:

**10.11.2015 GB 201519781**
**10.10.2016 GB 201617161**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**03.06.2020**

(73) Titular/es:

**NEO-INNOVA HEALTHCARE LIMITED (100.0%)**
**10 Station Road, Henley-on-Thames**
**Oxfordshire RG9 1AY, GB**

(72) Inventor/es:

**HYWEL DAVIES, JOHN y**
**MOSES, JOHN**

(74) Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 764 555 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

Composición repelente de insectos y método de uso

La presente invención se refiere a una composición repelente de insectos y a un método de utilización de la misma para repeler insectos durante un período de tiempo prolongado. Las composiciones de la invención incluyen repelentes naturales de insectos y pueden proporcionar una prolongación de los tiempos de protección completa hasta un mínimo de 12 horas, permitiendo así un régimen de dosificación de una vez al día.

Las composiciones de la invención tienen una utilidad particular en términos de repeler moscas de la familia Culicidae o Ceratopogonidae, especialmente mosquitos y mosquitas (descritos colectivamente en la presente memoria como "moscas picadoras"), donde el efecto repelente puede prolongarse considerablemente en comparación con los patrones actuales y puede durar 12 horas o más. El objetivo fundamental es proporcionar a los consumidores un tratamiento único y conveniente una vez al día, para mejorar la conformidad del paciente.

Por una variedad de factores, incluyendo la quimofobia del consumidor bien comprendida y en crecimiento, existe una demanda cada vez mayor por parte de los usuarios en todo el mundo de repelentes de insectos que sean de origen natural y no estén basados en repelentes químicos sintéticos, que han dominado el mercado en los últimos 70 años o más[1]. Por lo tanto, los llamados "repelentes naturales" han crecido rápidamente en términos de uso durante los últimos años y ahora son, muy a menudo, productos de primera elección en términos de preferencia del consumidor, particularmente en países tales como Estados Unidos y Reino Unido.

Sin embargo, ciertas especies de mosquitos, de mayor importancia en la salud general en términos de mortalidad clínica, son vectores bien conocidos de enfermedades graves, que incluyen los mayores "picadores"/asesinos de niños (malaria) y en los últimos años se han observado importantes aumentos en la mortalidad asociada con otras enfermedades graves tales como la fiebre del Dengue (especialmente en el subcontinente indio), la fiebre Amarilla y el virus del Nilo Occidental.

Por ejemplo, para 2015, la fiebre del Dengue había aumentado a proporciones epidémicas en algunas áreas del este (más de 500.000 casos actuales solo en Mumbai, India), mientras que en el oeste de los Estados Unidos de América, las tendencias más preocupantes han visto grandes aumentos documentados en Virus del Nilo Occidental y enfermedad de Lyme.

Finalmente, en 2016, la rápida aparición del virus del Zika, causado por el mosquito vector *Aedes aegypti* a tenido enormes efectos negativos en la atención médica en las principales áreas de América del Sur, tal como Brasil, lo que ha provocado que la OMS confirme el estado de emergencia en tales regiones. El supuesto vínculo entre el virus del Zika y la rápida aparición de numerosos casos de defectos congénitos graves, p. ej., la microcefalia en niños es una perspectiva aterradora en términos de su amenaza potencial de "migrar" de América del Sur a otras regiones del mundo.

Esta no es una amenaza hipotética, ya que eventos muy recientes en Florida, EE. UU., han demostrado que se han encontrado colonias de *Aedes aegypti* criadas localmente en el área y, por consiguiente, el descubrimiento de casos de Zika en el continente americano por primera vez. Esto ha llevado a una advertencia sin precedentes del Centro para el Control de Enfermedades (CDC) para que las mujeres embarazadas no viajen a una parte de los Estados Unidos, por primera vez en su historia.

Sí bien, el mosquito vector de la malaria es la especie *Anofeles*, el vector actual para el dengue, la fiebre Amarilla y el Zika es *Aedes aegypti,* mientras que el mosquito vector *Culex* es la causa del virus del Nilo Occidental en los Estados Unidos. En consecuencia, un repelente de mosquitos moderno y eficaz debe ofrecer un amplio espectro de actividad de especies durante períodos prolongados de tiempo.

La primera línea de defensa aceptada actualmente, acordada por todos los organismos de sanidad/reguladores destinados a la prevención de enfermedades es la repelencia más eficaz. Existe la necesidad de composiciones que muestren altos niveles de eficacia contra al menos estas tres especies de mosquitos vectores y que puedan ofrecer protección durante períodos de horas de manera constante por encima de los patrones actuales, p. ej., hasta y por encima de 12 horas por día. También existe la necesidad de composiciones repelentes de insectos que se puedan utilizar en un régimen de dosificación de una vez al día, y como tales podrían mantener suficiente repelencia de insectos durante un período prolongado de tiempo, tal como hasta 12 horas por día o más. Las composiciones repelentes de insectos conocidas no serían adecuadas para su uso en tales regímenes de dosificación una vez al día debido a la falta de repelencia adecuada durante períodos prolongados de tiempo. Sin embargo, los autores de la presente invención actuales han desarrollado sorprendentemente composiciones que abordan las necesidades anteriores y, en particular, permiten una dosificación eficaz una vez al día al tiempo que proporcionan una repelencia eficaz durante largos períodos de tiempo. Por lo tanto, la presente invención proporciona claramente ventajas en comparación con la técnica anterior.

Si bien la experiencia de estar expuesto a las actividades de las moscas picadoras es invariablemente una

experiencia incómoda en muchas partes de Europa, donde los repelentes se utilizan ampliamente para fines de conveniencia, la necesidad clínica de maximizar la protección en las otras zonas del mundo que padecen enfermedades graves, incluida la malaria, la fiebre del Dengue y el Zika requieren una búsqueda urgente de repelentes más eficaces que ofrezcan una protección más prolongada.

En cuanto a la fiebre del Dengue y el virus del Zika, el mosquito vector *Aedes aegypti* es inusualmente un "picador de día", por lo que el requisito resultante de protección de 12 horas es un requisito previo real para un repelente de insectos eficaz para esta especie.

La prueba de repelentes de insectos tiene un número bien establecido de procedimientos probados en términos de aceptación reguladora y otras pruebas recomendadas por organismos eminentes tales como la OMS y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) de los EE. UU. Los dos tipos de pruebas más preferidos son los que se realizan en un laboratorio (las llamadas pruebas de "brazo o mano dentro de la cabina") y las realizadas en el entorno natural "abierto" (las llamadas pruebas de "campo").

Tradicionalmente, en estas pruebas, uno de los parámetros más preferidos para la evaluación de la capacidad de los repelentes (ya sea de origen natural o sintético) para proteger a los consumidores/pacientes ha sido la medición de los tiempos de protección, particularmente los tiempos de protección completa (también, llamados CPT). Los repelentes hacen que los humanos no sean atractivos para las moscas picadoras, tales como un mosquito, por lo que la mosca picadora evitará áreas del cuerpo que hayan sido tratadas con el producto. Los repelentes no destruyen las moscas picadoras, tales como los mosquitos. Los mejores repelentes proporcionarán protección contra las picaduras durante un largo período de tiempo a partir de una sola aplicación. Una prueba bien reconocida para evaluar la eficacia de tales repelentes se basa en la cantidad de tiempo que el producto continuará repeliendo las moscas picadoras, tales como un mosquito, después de una aplicación a la piel.

Los tiempos de protección completa se calculan como el número de minutos (u horas) transcurridos entre el momento de la aplicación del repelente y el primer aterrizaje o sondeo del mosquito. Los Tiempos de Protección Completa se citan en la presente memoria como un valor de la mediana del tiempo de protección proporcionado por cada individuo. Los Tiempos de Protección Completa se abrevian en la presente memoria como CPT. La prueba empleada para determinar los mismos consistió en insertar un brazo tratado con repelente (de acuerdo con la presente invención) en una cabina de 35 cm por cada lado, que contenía 200 moscas picadoras criadas en laboratorio, tales como los mosquitos *Aedes aegypti* no alimentados con sangre que tenían entre 5 y 7 días de edad y midiendo el tiempo transcurrido hasta el primer aterrizaje o sondeo (que se refiere a un insecto que aterriza y penetra la piel con sus piezas bucales, sin ingerir sangre).

En general y hasta la fecha, los CPT han oscilado entre 2 horas y 6 horas para los principales repelentes comercializados, tales como el repelente químico líder, DEET [*N,N*-Dietil-3-metilbenzamida], o el repelente natural líder, *p*-mentano-3,8-diol, conocido en EE. UU., como aceite de eucalipto de limón (OLE), o como PMD en la Unión Europea (actualmente disponible bajo las marcas comerciales "Citriodiol" y/o "Citrepel").[1 2]

El producto sintético dominante en el mercado, DEET como se mencionó anteriormente, se ha utilizado a concentraciones relativamente altas entre 50-100% y un número limitado de formulaciones que contienen DEET han reivindicado CPT de más de 6 horas[2] en algunas comunicaciones. De hecho, en el mercado australiano hay un gel DEET comercializado por Bushman que contiene una concentración de 80% de DEET.

Si bien estos intervalos de CPT fueron/son razonable o potencialmente aceptables para los llamados "fines cosméticos", ha habido tendencias recientes en aumento en numerosas partes del mundo de tasas inaceptablemente altas de enfermedad y/o mortalidad asociadas con las enfermedades bien reconocidas causada por mosquitos vectores, tales como la malaria, y más recientemente otras enfermedades potencialmente mortales.

Los recientes brotes de enfermedades posteriores a 2010, tales como la fiebre del Dengue, la fiebre Amarilla y ahora el virus del Zika, se han sumado al siempre presente problema de control de enfermedades y han creado una necesidad mucho más urgente de repelentes que demuestren niveles adicionales de protección con CPT que permitan 12 horas de eficacia (o incluso más, es decir, protección muy por encima del nivel tradicional de protección satisfactoria).

Los intentos de intervenir en técnicas de formulación farmacéutica bien conocidas para ampliar los tiempos de protección "convencionales" no son nuevos ni revolucionarios y, de hecho, se han concentrado predominantemente en el repelente químico líder, DEET, en varios estudios previos.[3 4]

El DEET fue desarrollado para las fuerzas militares estadounidenses para su uso durante y después de la Segunda Guerra Mundial y finalmente se lanzó a los mercados mundiales como repelente de insectos alrededor de 1957. Desde entonces, se estima que se han administrado más de 8 mil millones de aplicaciones de los diversos productos que contienen DEET[4].

En términos del perfil de CPT para DEET, con referencia al estudio militar fundamental de EE. UU., de Buescher *et*

*al.*[6], 1983, su respuesta a la dosis confirma que su actividad se estabiliza alrededor de 5-6 horas a concentraciones de alrededor de 50%, como se demuestra en la Figura 1.

Esta fue probablemente la razón de los intentos de mejorar el perfil de CPT de DEET más allá de las 6 horas sin aumentar su concentración en las formulaciones comercializadas. Aunque DEET tiene una razón beneficio/riesgo positiva aceptada, varias autoridades sanitarias reguladoras líderes se han preocupado cada vez más por su toxicidad y su probada absorción sistémica, una característica inusual en contraste con la mayoría de los otros repelentes. Algunas autoridades han sugerido una concentración superior de DEET de 20% (Europa) o de 30% (Canadá). Una reciente revisión independiente realizada por Goodyear *et al.,* confirmó que un límite de 30% sería una concentración máxima prudente[5].

En el estudio fundamental anterior de Gupta *et al.*[3], se evaluaron varias tecnologías de liberación ampliada (hasta 6 de hecho) en términos comparativos con DEET y los CPT resultantes se ampliaron de aproximadamente 2 a 4 horas a más de 6 horas en algunos casos (sujeto a condiciones de prueba) - una mejora positiva pero apenas llamativa, como se demuestra en las Figuras 2, 3 y 4.

Está claro que los niveles observados de aumento en la protección no fueron muy pronunciados y estuvieron muy por debajo del objetivo mínimo óptimo de 12 horas requerido en la era actual. Tales tiempos de protección ampliados claramente no son una tarea fácil de lograr.

Siguiendo los niveles de éxito sin precedentes del repelente químico sintético DEET, otros investigadores han desarrollado repelentes químicos más recientes, tales como el butilacetilaminopropionato de etilo (IR3535) y la picaridina (KBR 3023). Una comparación más detallada de estos repelentes sintéticos se proporciona en los documentos de Goodyear[2] y Maia[8].

Sin embargo, ni el butilacetilaminopropionato de etilo (IR3535) ni la picaridina (KBR 3023) han demostrado una superioridad significativa al DEET en términos de CPT.

En este contexto, se ha postulado previamente que el efecto repelente (CPT) de algunos repelentes de insectos sintéticos y naturales (por ejemplo, *N*,*N*-Dietil-3-metilbenzamida (DEET), etil hexanodiol, ftalato de dimetilo, 3,4-dihidro-2,2-dimetil 4-oxo-2*H*-piran-6-carboxilato de butilo (disponible bajo la marca registrada Indalone), monohexil éter de trietilenglicol, monoheptil éter de trietilenglicol y 2-etilhexil éter de trietilenglicol) se puede prolongar mezclando el repelente con vanilina (4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído) y aplicando esa mezcla a un usuario (véase Kahn et al. "Addition Of Vanillin To Mosquito Repellents To Increase Protection Time" Mosquito News, junio de 1975).

De ese documento puede observarse que la prolongación se logró mediante el uso de cantidades sustanciales de vanilina (la mitad, igual o dos a tres veces la cantidad de repelente). Sin embargo, la adición de vanilina no mejoró en gran medida los CPT, y ciertamente no proporcionó CPT lo suficientemente largos como para proporcionar protección al usuario durante toda una noche, por ejemplo, o durante un período de 10 a 12 horas después de una sola aplicación del tratamiento al comienzo del día, o de hecho, todo el día desde la mañana hasta la tarde en términos de la protección necesaria contra el picador específico diurno, *Aedes aegypti.*

Una desventaja obvia de estas altas concentraciones de vanilina sería indudablemente el olor de la formulación terminada debido al olor bastante abrumador de la vanilina, que se experimenta incluso a concentraciones bajas/medias.

Finalmente, con respecto al DEET y también a los repelentes sintéticos en general, el uso de repelentes sintéticos tales como el DEET tiene varios inconvenientes, incluidos posibles riesgos y preocupaciones para la salud, especialmente para los niños, ya que el DEET se absorbe a través de la piel humana. Además, el olor de DEET es considerado por muchos como "químico" y desagradable y puede escocer cuando se aplica a la piel. Por lo tanto, se necesita una formulación repelente adecuada, cómoda para el consumidor.

En vista de los posibles inconvenientes asociados con el DEET, ha habido una tendencia en el mercado y el desarrollo para la introducción de "repelentes naturales", siendo el avance más significativo la aceptación del primer repelente natural por parte del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU., en 2005, a saber, p-mentano-3,8-diol (también conocido como "PMD" en muchos países del mundo, "OLE", aceite de eucalipto de limón, en EE. UU.). Su historial positivo y los resultados de las nuevas pruebas de laboratorio y de campo se han resumido elocuentemente en el documento fundamental de Carroll.[9]

Por lo tanto, en los últimos años, varios de los mercados internacionales desarrollados para repelentes de insectos han mostrado constantemente tendencias alejadas de los productos repelentes químicos sintéticos tales como DEET. Se ha desarrollado una aceptación cada vez mayor de posibles soluciones naturales, con mejoras aceptadas en la tolerancia y ventajas en términos de toxicidad reducida y una aceptabilidad más amplia del paciente.

Un terpenoide "natural" particularmente preferido es el mencionado anteriormente *p*-mentano-3,8-diol (también

conocido como PMD/Aceite de eucalipto de limón), que se lanzó con éxito en el Reino Unido en la década de 1990, antes de su aprobación por parte de la CDC en EE. UU., en 2015.

El "Citriodiol" (marca registrada) fue el primer ingrediente activo repelente de insectos a base de *p*-mentano-3,8-diol (PMD) que se introdujo en el mercado europeo, como ingrediente activo con la marca de producto de uso final disponible bajo la marca comercial "Mosi-guard" en 1995, cuando salió al mercado en el Reino Unido. Su eficacia superior en comparación con otros repelentes de insectos de origen natural se conocía durante muchos años antes de esto en China (donde se conocía como "Quwenling" - "repelente de mosquitos eficaz") y su uso allí condujo a que se llevara al mercado en Europa. Su superioridad como repelente natural fue reconocida en una serie de estudios fundamentales realizados por Hill[6], Moore[10], Trigg[14] etc., varios investigadores/científicos líderes en la mundialmente conocida Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres (véase la lista de referencias). Además de que el producto disponible bajo la marca comercial "Mosi-guard" se vendió en el Reino Unido durante más de 20 años, un producto correspondiente ha estado disponible en otros mercados líderes de la UE, tales como España y Francia, desde aproximadamente 2000.

El producto disponible bajo la marca comercial "Citriodiol" de Citrefine International también se ha utilizado como ingrediente activo en otras marcas dirigidas al consumidor durante muchos años, apareciendo primero en Suecia y después en una serie de otros países, incluidos Dinamarca, Alemania, Italia, Grecia y Hungría. El "Citriodiol" actualmente también se utiliza en repelentes para caballos, gatos y perros y como repelente de piojos. Su uso en estos y en los repelentes más tradicionales aplicados por vía cutánea para seres humanos actualmente está muy extendido en Europa y en todo el mundo.

A pesar de una amplia gama de afirmaciones anecdóticas e injustificadas de varios otros productos naturales de diferentes regiones del mundo, es fundamental tener en cuenta que una serie de productos terminados que contienen estos llamados activos no han sido respaldados por evidencia clínica y científica creíble, incluyendo productos tales como citronela, Lemongrass, etc.[1 2 8]

Durante su período de uso bien establecido desde la década de 1990 en adelante, se observaron diferentes duraciones de CPT con PMD en numerosos estudios[6 9 10 11 12 13 14] que variaban de 4 a 6 horas en general. En consecuencia, con formulaciones previas, una aplicación tuvo que repetirse en más de una ocasión para lograr CPT de 12 horas o más, lo que condujo a un probable cumplimiento negativo con la mayoría de los consumidores/pacientes. La facilidad de uso y los beneficios claramente vinculados en el mejor cumplimiento del paciente es un objetivo clave en el desarrollo de medicamentos y tratamientos modernos, siendo la dosis una vez al día el objetivo de desarrollo óptimo.

Una de las propiedades fisicoquímicas aceptadas demostradas por este tipo de aceite natural es un alto nivel de volatilidad asociado con la evaporación rápida y, por lo tanto, el desafío principal de aumentar los CPT en más de 6 horas hasta más de 12 horas es particularmente difícil en este grupo de compuestos naturales interesantes.

Los autores de la presente invención señalaron que PMD tiene la volatilidad más baja observada de este grupo de productos naturales y de hecho se ha demostrado que es similar a la de DEET, en términos de perfil, como se muestra en la Figura 5. Si uno se centra en la línea 1 (DEET) y la línea 2 (PMD), las similitudes en la volatilidad observada se pueden ver fácilmente.

Al desarrollar las composiciones de la presente invención, los autores de la presente invención seleccionaron PMD como un aceite natural para utilizar en sus composiciones. Esta propiedad inusual de PMD, en comparación con otros aceites esenciales, fue por lo tanto un factor importante en su uso como un repelente natural de elección en las composiciones de la presente invención.

Como se indicó anteriormente, la toxicidad de DEET ha sido objeto de una serie de revisiones debido a sus riesgos potenciales para la salud y las preocupaciones de los consumidores, particularmente en el contexto de su inusual sistema de absorción a través de la piel humana. Por otra parte, aunque el producto tiene una revisión equilibrada aceptable de la razón beneficio/riesgo, a muchos consumidores no les gusta su "olor químico" y su frecuente sensación de escozor cuando se aplica a la piel.

Por otra parte, numerosos estudios de campo, realizados en varios continentes, han confirmado menos protección contra especies tales como *Anopheles,* la especie vector de la malaria, como se indica en el documento fundamental de Goodyear[2]:

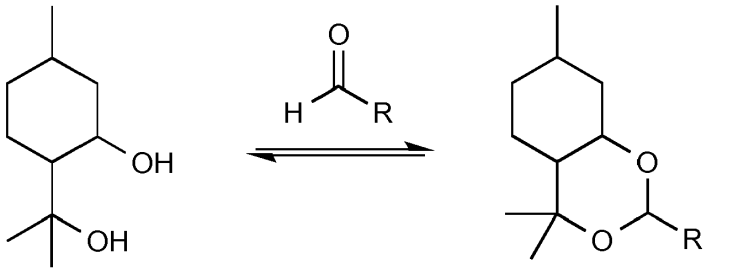
*"The response of different mosquito species to* DEET *is variable.*[17] *Field tests of repellent formulations containing* DEET *against biting Culex spp., Aedes spp., Mansonia spp., and Verrallina spp. have been reported.*[5] *The protection provided by* DEET *was longer against these genera than provided against Anopheles spp."*

Son las preocupaciones de este tipo las que han sido una motivación para que otros investigadores, investiguen más a fondo el posible papel de los repelentes naturales debido al cada vez mayor cinismo/restricciones de los consumidores de este tipo con los repelentes sintéticos. Además, los autores de la presente invención han

descubierto que el aceite natural PMD puede alcanzar el objetivo de un CPT mínimo de 12 horas.

Por lo tanto, el desafío de desarrollo básico al que se enfrentaron los autores de la presente invención fue cómo emplear métodos farmacéuticos innovadores de liberación prolongada para ampliar la protección ofrecida por un repelente de insectos natural, tal como PMD. También hubo la necesidad de que este se utilizara como un terpenoide en monoterapia, y que incorporara este principio activo en una formulación de acción prolongada. El objetivo de los autores de la presente invención era proporcionar formulaciones naturales que ofrecieran CPT de 12 horas o más. Esta ganancia adicional de 6 horas, o más, claramente representó un "salto cualitativo" muy significativo en los CPT ofrecidos por productos conocidos.

Una de las vías más prometedoras de investigación relevante seguida por los autores de la presente invención se ha concentrado en las posibles combinaciones de PMD con otras moléculas que comprendan grupos funcionales aldehído que puedan formar compuestos tales como acetales, de manera reversible. Si bien no desean estar limitados por la teoría, los autores de la presente invención han postulado que estos acetales de PMD, que son menos volátiles que PMD, pueden administrarse en formulaciones dérmicas, por lo que los acetales se descomponen en el PMD constituyente y aldehído a una velocidad de liberación lenta, prolongando de ese modo la protección repelente del PMD activo. Los autores de la presente invención postulan el siguiente esquema de reacción basado en la formación reversible de acetales de PMD a partir de PMD y aldehídos.

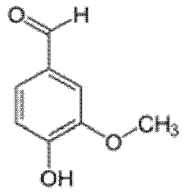



PMD ACETALES DE PMD

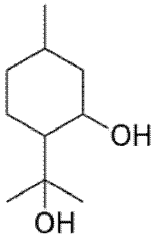
R = alquilo, arilo, heteroarilo

La molécula, la vanilina, fue investigada previamente por los investigadores de DEET y parecía mostrar un potencial limitado como fijador. Por lo tanto, a partir de estos estudios de DEET, no hubo ningún incentivo en la técnica anterior para utilizar la vanilina como fijador en una composición repelente de insectos debido a la eficacia limitada que se demostró para la vanilina como fijador. En vista de los CPT ventajosos logrados por las formulaciones de la presente invención que incluyen vanilina, los autores de la presente invención creen que vanilina puede tener el tipo apropiado de estructura química para combinarse eficazmente con PMD, a diferencia de DEET, como se muestra a continuación. No hubo ninguna indicación en la técnica anterior de los CPT que los autores de la presente invención han logrado actualmente para una composición repelente de insectos PMD.

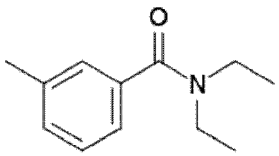
Estructura molecular de vanilina




Estructura molecular de PMD




Estructura molecular de DEET



Claramente, la estructura molecular de DEET es considerablemente diferente a la de vanilina y PMD, como se muestra anteriormente.

La vanilina también se ha utilizado como fijador combinada con dos terpenoides en la patente de Estados Unidos 7,846,464 B2 (Darling) en concentraciones más bajas. Sin embargo, en la patente, el alcance real de la protección observada producida por la adición del segundo compuesto activo, Lemon Grass, como fijador en sí mismo, no se registró y, por supuesto, los "tiempos de protección" observados fueron solo del orden de 4-6 horas. Tales tiempos de protección son considerablemente más bajos que el objetivo de 12 horas en este programa de desarrollo y, como tal, una persona experta en la técnica no se habría sentido inclinada a seguir las enseñanzas de la patente de Estados Unidos 7,846,464 B2 cuando se busca desarrollar una composición que sea capaz de proporcionar los CPT objetivo de 12 o más horas.

Una consideración importante adicional para un lector experto de la patente de Estados Unidos 7,846,464 B2, habría sido que en Europa y los Estados Unidos, Lemon Grass no es un repelente de insectos natural aprobado (véase Artículo 95 del Reglamento sobre Biocidas). De hecho, solo el "Citriodiol" (PMD) está aprobado en el momento de la redacción. Por lo tanto, los productos de la combinación de PMD, tales como los descritos en la patente de Estados Unidos 7,846,464 B2, no serían composiciones repelentes de insectos posibles en la práctica, ya que se descartarían solo por motivos reglamentarios. Además, Lemon Grass no es un repelente de insectos aprobado por la EPA en los EE. UU. y se ha demostrado que su eficacia como repelente de insectos es de un orden menor en otros estudios.[8]

Los autores de la presente invención han encontrado claras ventajas asociadas con el uso de vanilina en las composiciones de la presente invención. Estas ventajas incluyen una estructura química apropiada para permitir la formación de acetal como se indicó anteriormente, un buen registro de sensibilización dermatológica, un excelente registro general de seguridad/toxicidad (principio GRAS en EE. UU.) y buena tolerabilidad como excipiente con los reguladores de la UE y EE. UU. Sin embargo, antes de la presente invención, las ventajas proporcionadas por la presente invención no podían haberse pronosticado y, de hecho, un lector experto de la técnica anterior no se habría sentido inclinado a utilizar la vanilina en una composición de acuerdo con la presente invención. Más específicamente, el lector experto habría sido consciente de las siguientes propiedades potencialmente negativas que están asociadas con la vanilina: su estructura de aldehído rica en electrones podría hacerla menos reactiva a la formación de acetal y, como tal, no es ideal para utilizar como fijador en una composición que requiere CPT prolongados, su registro bien documentado de inestabilidad, su fotosensibilidad (degradación de la luz solar c.5 horas), su tendencia a oxidarse en el agua - degradación abiótica, el requisito generalmente esperado de altas concentraciones y su olor abrumador - inaceptable para algunos consumidores.

En contraste con las formulaciones descritas en la patente de Estados Unidos 7,846,464 B2, el objetivo de esta innovación fue ofrecer monoterapia en términos de un terpenoide a concentraciones medias de PMD con un "salto cualitativo" de alguna proporción (alrededor de 6 horas) hasta 12 horas como CPT mínimo. La presente invención, como se describirá con más detalle a continuación, aborda así las deficiencias asociadas con los regímenes conocidos de la técnica anterior.

Las siguientes figuras ilustran las ventajas de la presente invención.

Figura 1: Curva de respuesta a la dosis para DEET, de Buescher et al[6].

Figura 2: Rendimiento de las formulaciones repelentes de DEET en ambientes forestales/húmedos contra *Aedes aegypti.*

Figura 3: Rendimiento de las formulaciones repelentes de DEET en ambientes tropicales contra *Aedes aegypti.*

Figura 4: Rendimiento de las formulaciones repelentes de DEET en un ambiente seco y caliente contra *Aedes aegypti.*

Figura 5: curvas TGA de la tasa de evaporación de DEET (1), PMD (2), aceite de Eucalyptus citriodora modificado (3), aceite de E. citriodora (4) y citronelal puro (+) (5).

Figura 6: Curva de respuesta a la dosis de un repelente de mosquitos con % de PMD/vanilina variables.

Figura 7: Curva de respuesta a la dosis de un repelente de mosquitos con % de PMD/vanilina variables.

Figura 8: Comparación de PMD (30%)/vanilina (10%) formulada en una solución hidroalcohólica con numerosas marcas líderes en el Reino Unido y Estados Unidos bien conocidas.

Figura 9: CPT con 20% de "Citrepel" y 30% de "Citriodiol" y diferentes cantidades en % de vanilina.

Figura 10: CPT con "Citriodiol" y "Citrepel" 75.

Figuras 11 y 12: Se observó fotosensibilización y oxidación secundaria de la vanilina tanto a temperatura ambiente como a 54°C.

Figura 13: Carencia de fotosensibilización y oxidación secundaria de la vanilina en presencia de bisulfito de sodio.

Figura 14: CPT con "Citriodiol", vanilina y bisulfito de sodio.

Figuras 15 y 16: CPT con diferentes concentraciones de PMD, vanilina y bisulfito de sodio.

Figura 17: Esta ilustra CPT con 40% de "Citriodiol" y 10% de vanilina contra la especie de mosquito *Culex*.

De acuerdo con la presente invención, actualmente se proporciona una composición repelente de insectos que proporciona un tiempo de protección completo de al menos 8 horas, comprendiendo la composición p-metano-3,8-diol en una cantidad de al menos 20% en peso de la composición, vanilina en una cantidad de 5 a 15% en peso de dicha composición, bisulfito de sodio y un vehículo de suministro.

También se proporciona una composición repelente de insectos que comprende p-metano-3,8-diol como único repelente de insectos en una cantidad de al menos 20% en peso de la composición, vanilina, bisulfito de sodio y un vehículo de suministro, en la presente memoria dicha composición repelente de insectos proporciona un tiempo de protección completo de al menos 8 horas.

La composición repelente de insectos puede estar en forma de pulverización, loción, gel o rolón.

La invención también proporciona un recipiente que comprende una composición de la invención, o un artículo de fabricación que está impregnado con una composición de acuerdo con la invención.

La invención también proporciona una composición de acuerdo con la invención para su uso en la prevención de un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: estados de enfermedad causados por una mosca picadora, estados de enfermedad causados por *Aedes aegypti,* la fiebre del Dengue, la fiebre Amarilla y el virus del Zika cuyo uso comprende administrar a la piel de un usuario una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para repeler una "mosca picadora", cuyo método comprende administrar a la piel de un usuario una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.

Los aspectos adicionales de la invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

Protocolo Experimental

El primer conjunto de experimentos incluyó una investigación completa de la respuesta a la dosis de PMD en sí misma a concentraciones bajas, medias y altas para determinar si PMD por sí solo podría alcanzar los tiempos de protección objetivo. Otros estudios habían investigado las diversas dosis de PMD, pero no en un estudio controlado y científico de respuesta a la dosis, como se planificó en los siguientes experimentos.

Además del nuevo estudio de respuesta a la dosis, se planificó la inclusión de concentraciones bajas a medias del primer fijador, la vanilina, en este caso, hasta un c.15% para la investigación.

El tipo de prueba de investigación seleccionada fue la prueba de laboratorio del brazo o de la mano en la cabina y la primera especie de mosquito seleccionada fue *Aedes aegypti.* Las pruebas se realizaron de acuerdo con la normativa de la OMS, como se describe en las siguientes secciones con los métodos básicos que se resumen a continuación:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Especies de prueba | mosquitos hembra **Aedes *aegypti***, de 5-7 días de edad, alimentados con azúcar, sin harina de sangre antes de la prueba, mantenidos en ayunas durante 12 horas antes de la prueba | | |
| Número de mosquitos por cabina | 200 hembras | | |
| Área de prueba | De muñeca a codo | | |
| Área de superficie tratada | Promedio de circunferencia en la muñeca, codo multiplicado por la distancia de la muñeca al codo | | |
| Informe de resultados | Duración de la protección repelente hasta el momento de la primera picadura para cada sujeto de prueba | | |
| Exposición de mano tratada | 5 minutos | | |
| Exposición de mano no tratada | 30 segundos | | |

Los experimentos se llevaron a cabo en el centro internacional de excelencia, altamente experimentado, Ross Lifesciences, Pune, Maharashtra, India.

Ejemplo 1 - Estudio de respuesta a la dosis de monoterapia (PMD activo - "Citrepel 75"); efectos del fijador (concentraciones bajas/medias de vanilina)

Se planificaron experimentos con concentraciones de PMD que oscilaban de 10 a 50%, con al menos intervalos de 10% y a continuación se combinaron concentraciones específicas que oscilaban de 20%, 25% y 30% con 3 concentraciones individuales del fijador, vanilina. Se proporciona un resumen de los resultados en las Figuras 6 y 7.

En estos experimentos, también se investigaron varios controles negativos (por ejemplo, la propia vanilina) o controles positivos (DEET y algunos otros).

Se puede observar que los CPT de 12 horas se lograron de manera óptima con concentraciones de PMD de 30 a 40% y concentraciones de vanilina que oscilaban de 5 a 15%.

Por lo tanto, los resultados del uso de concentraciones medias de PMD solo, como monoterapia, además de concentraciones bajas/medias de vanilina como fijador, proporcionaron el resultado objetivo sorprendentemente satisfactorio de CPT de 12 horas como mínimo. Los resultados se lograron sin la inclusión esperada y planificada de fijadores adicionales.

Cabe señalar que debido al control ético del estudio, el protocolo no permitía ni preveía la realización de pruebas de voluntarios por encima de las 12 horas, por lo que algunas pruebas planificadas se redujeron a 40% PMD y 15% de vanilina, por razones éticas. Los datos sugerirían que se podría alcanzar el incremento de los CPT por encima de las 12 horas a concentraciones más altas de PMD y/o vanilina, aunque ciertos estudios planificados a 40% y 50% no se completaron por estas consideraciones éticas descritas.

El gran aumento muy sorprendente en los CPT observados es indicativo de una posible sinergia inesperada entre PMD y vanilina.

Un método simple pero fiable para evaluar las interacciones en los experimentos de combinación PMD/vanilina es calcular el llamado coeficiente de interacción farmacológica (CDI). Este cálculo establecerá si los principios están interactuando, de una de estas formas posibles: a) aditiva; b) antagónica; c) sinérgica.

El CDI se calcula como se muestra a continuación: CDI = AB/AxB - donde AB es el resultado para el producto combinado y A y B son los resultados separados para los componentes individuales.

Si CDI es <1, esto muestra sinergia. Si <0,7, esto muestra sinergia significativa

Si CDI = 1, en ese caso el efecto es aditivo

Si CDI > 1, en ese caso muestra antagonismo.

Por lo tanto, para 20% PMD con 15% de vanilina, los datos experimentales muestran protección durante 7 h. Por lo tanto, CDI = 7/(2,5 x 3,07) = 0,912. Esto indica sinergia (débil) ya que CDI <1.

Para 25% de PMD con 15% de vanilina, los datos experimentales muestran protección durante 9,3 h.

Por lo tanto, CDI = 9,3/(2,5 x 6,3) = 0,6. Esto indica una sinergia significativa ya que CDI <0,7.

Debido a los truncamientos de la prueba, PMD 30%/vanilina 15% no se realizó debido a las limitaciones de la prueba por razones éticas.

Ejemplo 2 - Comparación de formulaciones de concentración óptima con marcas internacionales (India, Reino Unido, EE. UU.)

Se emprendió un segundo conjunto de experimentos de laboratorio de Mano en Cabina (“Hand in Cage”) para comparar la "combinación optimizada" elegida de PMD (30%)/vanilina (10%) formulada en una solución hidroalcohólica con numerosas marcas líderes bien conocidas en el Reino Unido y Estados Unidos como se muestra en la Figura 8.

Se puede observar que la solución de prueba (NEO-INNOVA) es superior en términos de CPT observados a todas las principales marcas internacionales naturales y sintéticas con la excepción de una, una formulación DEET de liberación prolongada de alta concentración donde se demostró una equivalencia. Sin embargo, como ya se discutió, DEET tiene sus propios inconvenientes y existe un mayor deseo de utilizar repelentes de insectos naturales como se describió anteriormente en la presente memoria.

El CPT del control positivo (DEET 15%) fue de 4,5 horas.

Ejemplo 3: Respuesta a la dosis de PMD para el principio activo "Citriodiol" (bajas concentraciones de PMD)

El tercer conjunto de experimentos demostró los resultados proporcionados a continuación para concentraciones más bajas de PMD que las pruebas anteriores con el "segundo" principio activo "Citriodiol", aprobado en el Reino Unido y Estados Unidos, y suministrado por la empresa Citrefine International Limited. Los resultados se muestran en la Figura 9.

El éxito del fijador de vanilina se confirmó claramente a las concentraciones más bajas comercializadas de "Citrepel"/"Citriodiol" de 20% - 30%, equivalentes a 12,8% y 19,2% de PMD por sí solo, de la mezcla de producto concentrado.

Cuando se compararon los diferentes principios activos utilizadas "Citrepel 75" y "Citriodiol" en términos de CPT observados, se observaron diferencias significativas a pesar de la información previa proporcionada por los dos proveedores separados del principio activo; este fue un resultado muy sorprendente, inesperado a partir de la bibliografía previa disponible.

La segunda, y extremadamente importante diferencia práctica desde una perspectiva de formulación/optimización del producto, es que este conjunto de experimentos dio como resultado un efecto de "disminución" del fijador no observado previamente a las concentraciones más altas de PMD.

Por lo tanto, la elección de los niveles óptimos de fijador añadido puede variar significativamente dependiendo de la concentración y la formulación de PMD.

Los resultados en la Figura 10 sugerirían que el segundo PMD activo, llamado "Citriodiol", ofrece mayor protección que el otro, "Citrepel 75", cuando se combina en este nuevo tipo de formulación.

Para evaluar el alcance de las interacciones entre "Citriodiol" y la vanilina, se calcularon los CDI de las dos combinaciones de vanilina a 15%, una vez más, como se muestra a continuación.

Coeficiente de interacciones farmacológicas (CDI):

CDI = Combinación AB / A x B

Si CDI = <1, sinergia

Si CDI = <0,7, sinergia significativa

Si CDI = 1, en ese caso el efecto es aditivo

Si CDI = > 1, en ese caso muestra antagonismo.

Cifras para el cálculo

Vanilina @ 15% [es decir $V_{15}$] = 2,5 horas
"Citriodiol" @ 20% = 5,0 horas [$C_{20}$%]

"Citriodiol" @ 30% = 7,5 horas [$C_{30}$%]

Combinación 1 [$C_{20}$% $V_{15}$] = 9,0 horas

Combinación 2 [$C_{30}$% $V_{15}$] = 10,0 horas

Cálculos para la sinergia

1.

Combinación $C_{20}\%V_{15}$ = 9 / 2,5 x 5,0 = 0,72 (sinergia)

2.

Combinación $C_{30}\%V_{15}$ = 10 / 2,5 x 7,5 = 0,53 (sinergia significativa)

Parece que "Citriodiol" ofrece la posibilidad de reducir la concentración final óptima de PMD al tiempo que ofrece un producto con un CPT de 12 horas.

Ejemplo 4 - Pruebas de estabilidad

Uno de los problemas potenciales que experimentaron los autores de la presente invención con el uso de la vanilina fue su fotosensibilización y susceptibilidad a la decoloración. Esto debía ser abordado si los autores de la presente invención podían avanzar con los resultados sinérgicos que lograron como resultado de la inclusión de la vanilina.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención que incluyen vanilina (pero sin aditivo para evitar la decoloración) se expusieron a las primeras condiciones de prueba estabilizadas descritas por las actuales Regulaciones de Productos Biocidas 528/2012. Las condiciones aceleradas de primera línea recomiendan realizar pruebas a 54°C durante 14 días (véase BPR 528/2012: Volumen I. Parte A, Capítulo III: Requirements for Biocide Products, Versión 1.1 Noviembre de 2014).

La fotosensibilización y la oxidación secundaria de la vanilina se observaron tanto a temperatura ambiente como a 54°C como se ilustra en las Figuras 11 y 12.

En consecuencia, se llevaron a cabo una serie de otras pruebas con una variedad de antioxidantes actualmente favorecidos, incluidos los resultados de BHA, BHT y galato de propilo que también fueron negativos con varios de estos antioxidantes probados con una excepción significativa, a saber, bisulfito de sodio, como se demuestra en la Figura 13.

A la vista de los resultados anteriores con bisulfito de sodio, se realizaron pruebas adicionales con "Citriodiol" como principio activo. El objetivo de los nuevos estudios de eficacia era confirmar que la adición de 1% de antioxidante no tenía ningún efecto perjudicial sobre la eficacia. Fue aún más sorprendente encontrar que se demostró una mejora aún más significativa en la eficacia como se muestra en la Figura 14.

Esta mejora totalmente inesperada en los CPT demuestra claramente la doble ventaja de añadir el excipiente preferido, bisulfito de sodio, a la formulación optimizada final, es decir, un efecto adicional a sus propiedades antioxidantes previstas.

Aunque el mecanismo exacto de este efecto inesperado aún no se ha aclarado por completo, el bisulfito de sodio muy probablemente reacciona con la vanilina para formar aductos. Este es un mecanismo muy diferente a la forma en que otros antioxidantes, tales como el tocoferol, podrían estabilizar la vanilina.

Ejemplo 5 - Pruebas con concentraciones más altas de "Citriodiol" (40% y 47%)

Además de demostrar tiempos de protección (CPT) muy por encima de cualquier otro visto anteriormente con repelentes naturales (incluido el propio PMD), los resultados con 40 y 47% de "Citriodiol", como se ilustra en las Figuras 15 y 16, superan todos los demostrados con productos químicos sintéticos (incluyendo el propio DEET).

La conclusión obvia de estos resultados es que se pueden lograr CPT considerablemente superiores al objetivo original de 12 horas utilizando el principio activo "Citriodiol" a concentraciones de 40% (alrededor de 25,6% PMD) y 47% (alrededor de 30% PMD). Evidentemente, tales CPT están muchas horas por delante de los resultados vistos previamente con PMD o cualquier otra combinación repelente natural, la gran mayoría de las formulaciones sintéticas, incluido el propio DEET.

Resumen de los ejemplos (especie *Aedes aegypti*)

Por lo tanto, para resumir, los ejemplos anteriores frente a la especie *Aedes aegypti* han confirmado ciertos resultados inequívocos, incluyendo el resultado clave de que la vanilina a concentraciones medias (<15%) puede

actuar como un fijador altamente eficaz y prolongar la acción repelente de PMD más allá de las 6 horas para lograr 12 horas o más de repelencia.

Ejemplo 6 - Pruebas de eficacia (mano en cabina) con el mosquito vector *Culex*

Se realizó una prueba contra una especie de de mosquito vector diferente, *Culex* que ha causado daños considerables en Estados Unidos; es el vector que está vinculado al problemático virus del Nilo Occidental.

A diferencia de la especie vectora *Aedes aegypti*, *Culex* es predominantemente un "picador nocturno", por lo que estas pruebas se realizaron con voluntarios que permanecieron en el laboratorio durante la noche.

La formulación de prueba seleccionada para este experimento fue la formulación "Citriodiol" 40%/vanilina 10% que se había investigado previamente en el programa de prueba con *Aedes.* Las formulaciones se prepararon como sigue.

| Formulación Núm. | IPA | Agua | 1% Bisulfito de sodio (35% IPA: 65% agua) | Aproximadamente 40% de citriodiol en g (p/p) | Contenido de PMD (%) en citriodiol | Potenciador | Especie y número de mosquitos en cabina | Horas de repelencia (promedio de 4 voluntarios) | 1 | 2 | 3 | 4 | Mediana |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 27 | 43,11 | 5,39 | 5,39 | 36,11 | 25,6 | 10 | Culex, 200 núm. | 15 | 15 | 15 | 15,5 | 14,5 | 15 |
| | | | | | | | Hora pico de picadura 10 p.m-6 a.m | | | | | | |

La mediana de CPT observada contra *Culex* también se muestra en la Figura 17. Se puede observar que la tecnología de acción prolongada utilizada con PMD brinda resultados de protección positivos adicionales en comparación con *Culex* dado que el nivel de protección es de hecho superior a 12 horas con el resultado de la mediana de CPT a las 15 horas.

La preparación de la muestra y el protocolo de prueba fueron los siguientes:

Secuencia seguida para la preparación de la muestra:

La solución de bisulfito de sodio se preparó disolviendo 1 g de bisulfito de sodio (Núm. CAS 7631-90-5) en 65 g de agua y 35 g de IPA (alcohol isopropílico, núm. CAS 67-63-0) y se obtuvo una solución transparente agitándola durante 15-20 minutos.

Secuencia de adición:

Se agitaron IPA + "Citriodiol" (que contenía 70,9% de PMD) durante 5 minutos.

Se añadió agua, seguida de vanilina (Código 140821000). La mezcla se agitó durante 15 minutos.

Se añadió solución de 1% de bisulfito de sodio y la mezcla se agitó durante 10-15 minutos para obtener una solución transparente.

Método para el estudio de la mano en cabina:

Se utilizaron para los estudios hembras adultas de mosquitos *Aedes aegypti* alimentadas con 10% de sacarosa y sin harina de sangre antes de la prueba.

El tiempo de protección completo proporcionado por cada producto se evaluó siguiendo los estudios de mano en cabina de acuerdo con un protocolo modificado de la OMS (HTM/NTD/WHOPES/2009.4).

Por lo general, la prueba consistió en insertar un brazo tratado con repelente en una cabina que media 35 cm por cada lado, que contenía un número 200 mosquitos *Aedes aegypti* no alimentados con sangre criados en laboratorio que tenían aproximadamente 5-7 días de edad y se determinó el tiempo transcurrido hasta el primer aterrizaje o sondeo (que se refiere a un aterrizaje del insecto y la penetración en la piel con sus piezas bucales, sin ingerir sangre).

Todos los productos que fueron adquiridos fueron enmascarados y codificados antes de entregarlos para la prueba.

En el caso de pulverizadores/lociones, se aplicó 1 g de producto a 600 cm cuadrados del área entre la muñeca y el codo de la piel del antebrazo de los sujetos de prueba.

Las cabinas se colocaron en una cámara de vidrio de 30 metros cúbicos en donde la temperatura ambiente se mantuvo a 27 ± 2°C y una humedad relativa de 80 ± 10%.

Las pruebas se realizaron durante el día con un número de 4-6 voluntarios con el mismo número para cada género. En caso de mosquitos *Culex* se realizaron pruebas desde el anochecer hasta el amanecer, que es el momento pico de picadura de esta especie de mosquitos. Los voluntarios pertenecían al grupo de edad de 22 a 50 años y se seleccionaron basándose en el consentimiento informado firmado antes de la participación. Los sujetos de prueba recibieron instrucciones de evitar el alcohol, la cafeína y los productos de fragancia 12 horas antes y durante la prueba. Para los sujetos tratados y no tratados, los antebrazos se lavaron con jabón sin perfume, se enjuagaron con agua y después se lavaron con una solución de 70% de alcohol y 30% de agua y se secaron con una toalla limpia. Después de la aplicación del repelente, los sujetos recibieron instrucciones de no frotar, tocar o mojar el brazo tratado. Los sujetos se sentaron en una sala con una temperatura mantenida a 27 ± 2°C y una humedad relativa de alrededor de 80 ± 10% para evitar el calor excesivo y la sudoración.

La disponibilidad de los mosquitos para picar (presión de picadura) se verificó insertando el brazo no tratado durante 1 minuto antes de insertar el brazo tratado a intervalos de 30 minutos cada uno. Se mantuvo una cabina separada para el brazo del voluntario no tratado (control) y los sujetos de prueba para verificar la presión de picadura. Se consideró cinco o más aterrizajes en un minuto en el brazo no tratado el umbral correcto para iniciar la prueba con el brazo tratado. La prueba se realizó a intervalos de 30 minutos manteniendo el brazo tratado en la cabina que contenía los mosquitos durante 3 minutos, para determinar la actividad de aterrizaje o sondeo. Este procedimiento se repitió continuamente cada 30 minutos hasta que se observó el primer aterrizaje o sondeo. El tiempo de protección completa se calculó como el número de minutos (u horas) transcurridos entre el momento de la aplicación del repelente y el primer aterrizaje o sondeo del mosquito. El Tiempo de Protección Completa (CPT) se informó como una mediana del valor del tiempo de protección proporcionado por cada individuo.

Ejemplo 7 - Composición de acuerdo con la presente invención

Se preparó una composición de acuerdo con la presente invención basándose en lo siguiente.

"'Citriodiol" 40% (PMD - mínimo 25%)

Vanilina 10%

Alcohol isopropílico alrededor de 40%

Bisulfito de sodio 1%

Agua hasta 100%

**Referencias**

1. Rodriguez SD et al. The Efficacy of Some Commercially Available Insect Repellents for Aedes Aegypti (Diptera: Culicidae) and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae). J. Insect Sci. (2015) 15(1)

2. Goodyear et al. Expert Review of the Evidence Base for Arthropod Bite Avoidance. Journal of Travel Medicine 2010; Volumen 17 (Edición 3): 182-192

3. Gupta et al. Laboratory Evaluation of Controlled-Release Repellent Formulations on Human Volunteers Under Three Climatic Regimens. Journal of the American Mosquito Control Association Vol.5, Núm. I Marzo 1989

4. Khan et al. Addition of Vanillin to Mosquito Repellents to Increase Protection Time. Mosquito News Junio 1975. Vol. 35 Núm. 2 pág. 223-225

5. Goodyear et al. Short Report: The Safety and Toxicity of Insect Repellents. Am. J. Trop. Med. Hyg., 59(2), 1998, pág. 323-324

6. Hill et al. Randomised, double-blind control trial of p-menthane diol repellent against malaria in Bolivia. BMJ 2007; 335:1023.

7. Buescher et al. The Dose-Persistence Relationship of DEET Against Aedes Aegypti. Mosquito News Vol. 43, Núm. 3 1983.

8. Maia et al. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. Malaria Journal 2011, 10(Supl 1):S11

9. Carroll et al. a registered botanical mosquito repellent with DEET-like efficacy. J Am Mosq Control Assoc 2006; 22:507-514.

10. Moore et al. Field Evaluation of three plant-based insect repellents against malaria vectors in Vaca Diez Province, the Bolivian Amazon. J Am Mosq Control Assoc. 2002 Junio; 18(2):107-10

11. Trigg et al. Evaluation of a Eucalyptus-based Repellent Against Anopheles Spp. In Tanzania. Journal of American Mosquito Control Association, 12(2):243-246, 1996

12. Govere et al. Efficacy of three insect repellents against the malaria vector Anopheles arabiensis. Medical and Veterinary Entomology (2000) 14, 441-444

13. Barnard et al. Laboratory evaluation of mosquito repellents against Aedes albopictus, Culex nigripalpus, and Ochlerotatus triseriatus (Diptera: Culicidae). J Med Entomol 2004; 41:726-730.

14. Trigg et al. Laboratory evaluation of a eucalyptusbased repellent against four biting arthropods. Phytother Res 1996; 10:313-316.

15. Durnez et al. Residual Transmission of Malaria: An Old Issue for New Approaches. Intech Open Access Article 2013

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición repelente de insectos que comprende p-mentano-3,8-diol en una cantidad de al menos 20% en peso de la composición, vanilina en una cantidad de 5 a 15% en peso de dicha composición, bisulfito de sodio y un vehículo de suministro.

2. Una composición repelente de insectos de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende p-mentano-3,8-diol como único repelente de insectos.

3. Una composición repelente de insectos que comprende p-mentano-3,8-diol como único repelente de insectos en una cantidad de al menos 20% en peso de la composición, vanilina, bisulfito de sodio y un vehículo de suministro.

4. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, para la prevención de un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: estados de enfermedad causados por *Aedes aegypti,* fiebre del Dengue, fiebre Amarilla y virus del Zika.

5. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente para la prevención de un estado de enfermedad causado por el mosquito *Culex*.

6. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicho bisulfito de sodio está presente en una cantidad de 0,5 a 1,5% en peso de la composición.

7. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, para la prevención de un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: estados de enfermedad causados por el mosquito *Culex* y el virus del Nilo Occidental.

8. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicha vanilina está presente en una cantidad de 10% en peso de dicha composición.

9. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicho p-mentano-3,8-diol está presente en una cantidad de al menos 25% en peso de dicha composición.

10. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicho p-mentano-3,8-diol está presente en una cantidad de al menos 30% en peso de dicha composición.

11. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicho vehículo de suministro es un vehículo de suministro acuoso.

12. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, en donde dicho vehículo de suministro comprende agua y al menos un alcohol.

13. Una composición repelente de insectos de acuerdo con la reivindicación 12, en donde dicho alcohol comprende alcohol isopropílico.

14. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, que comprende p-mentano-3,8-diol, vanilina, bisulfito de sodio, agua y alcohol isopropílico.

15. Una composición repelente de insectos de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho alcohol isopropílico está presente en una cantidad de aproximadamente 40% en peso de dicha composición.

16. Una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquier reivindicación precedente, que es una pulverización, loción, gel o rolón.

17. Un recipiente que contiene una composición de acuerdo con la reivindicación 16.

18. Un artículo de fabricación que está impregnado con una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.

19. Un artículo de acuerdo con la reivindicación 18, que comprende una mosquitera o una toallita dérmica.

20. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, para su uso en la prevención de un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: estados de enfermedad causados por una mosca picadora, estados de enfermedad causados por *Aedes aegypti,* La fiebre del Dengue, la fiebre Amarilla y el virus del Zika cuyo uso comprende administrar a la piel de un usuario una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.

21. Un método para repeler una mosca picadora y cuyo método comprende administrar a la piel de un usuario una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16.

22. Una composición de acuerdo con la reivindicación 20, para la prevención de un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en: estados de enfermedad causados por el mosquito *Culex* y el virus del Nilo Occidental.

23. Un método de acuerdo con la reivindicación 21, para repeler mosquitas, incluyendo la mosquita de las Tierras Altas Escocesa (*Meanbhchuileag).*

24. El uso de una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, para repeler insectos.

25. El uso de una composición repelente de insectos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, para la administración una vez o dos veces al día.

26. El uso de una composición repelente de insectos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, para repeler mosquitas, incluyendo la mosquita de las Tierras Altas Escocesa (*Meanbh-chuileag).*

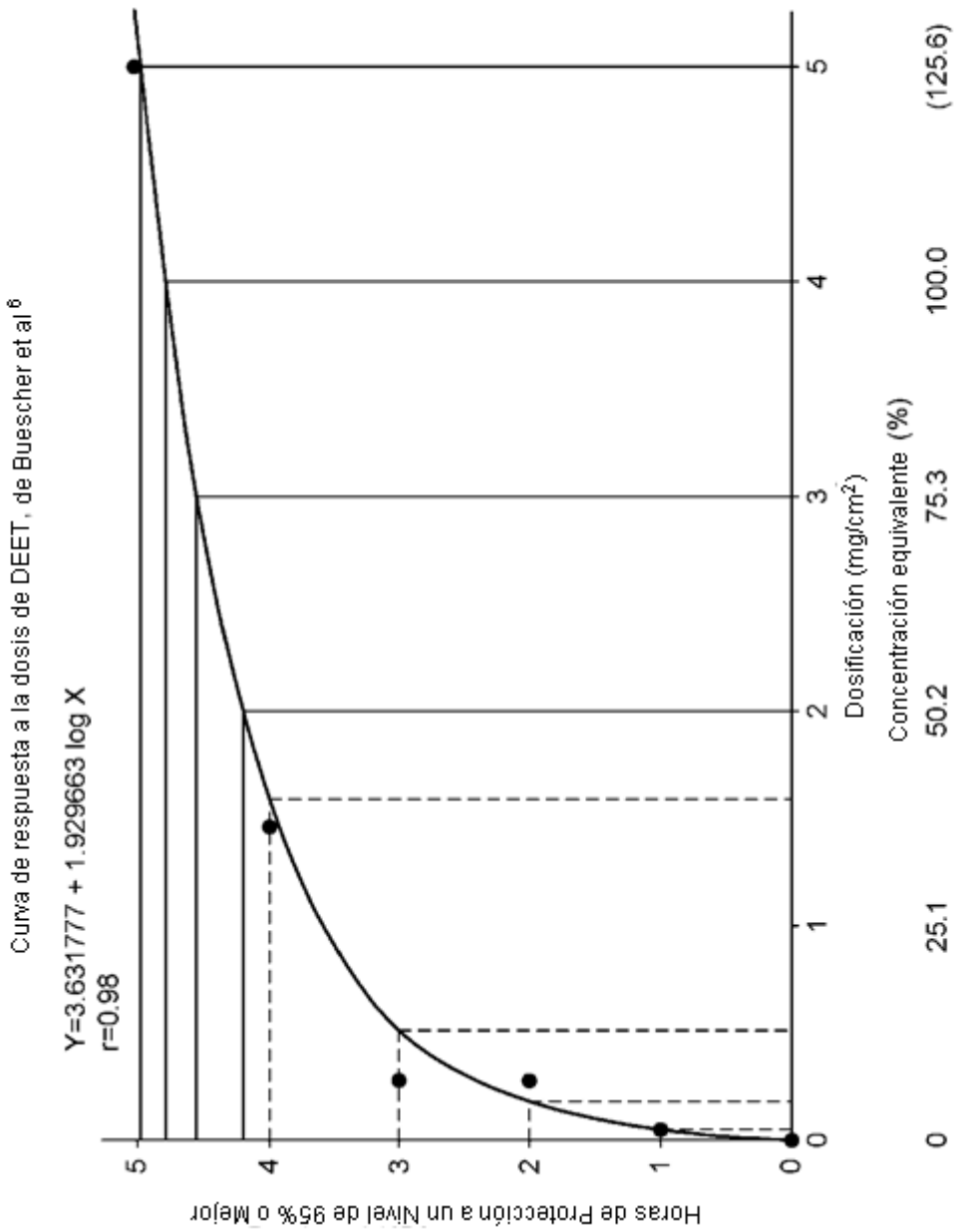

Curva de respuesta a la dosis de DEET, de Buescher et al [6]
Y=3.631777 + 1.929663 log X
r=0.98
Horas de Protección a un Nivel de 95% o Mejor
0
1
2
3
4
5
Dosificación (mg/cm²)
0
1
2
3
4
5
Concentración equivalente (%)
0
25.1
50.2
75.3
100.0
(125.6)

*FIG. 1*

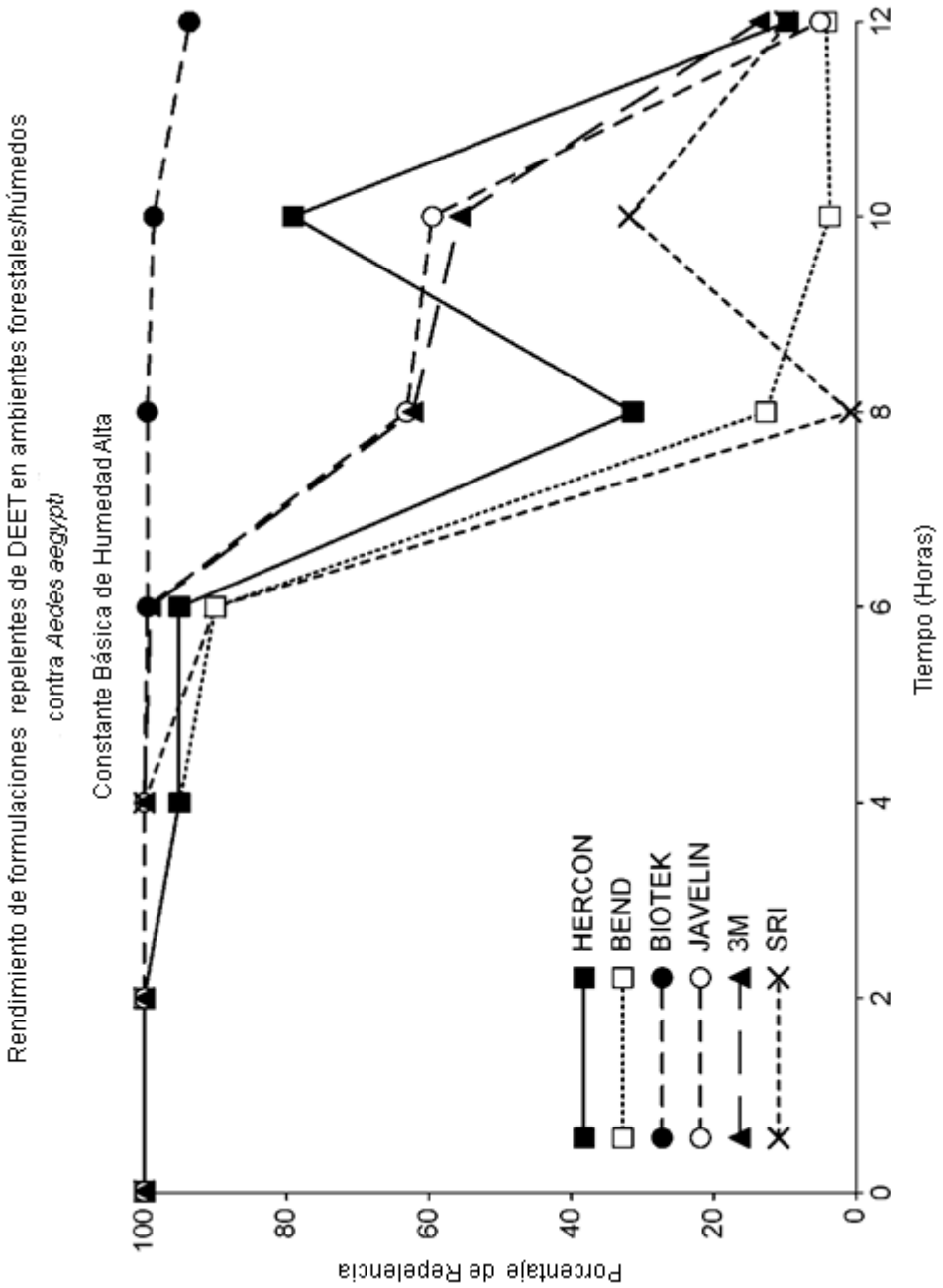

Rendimiento de formulaciones repelentes de DEET en ambientes forestales/húmedos
contra *Aedes aegypti*
Constante Básica de Humedad Alta
Porcentaje de Repelencia
100
80
60
40
20
0
0
2
4
6
8
10
12
Tiempo (Horas)
HERCON
BEND
BIOTEK
JAVELIN
3M
SRI

*FIG. 2*

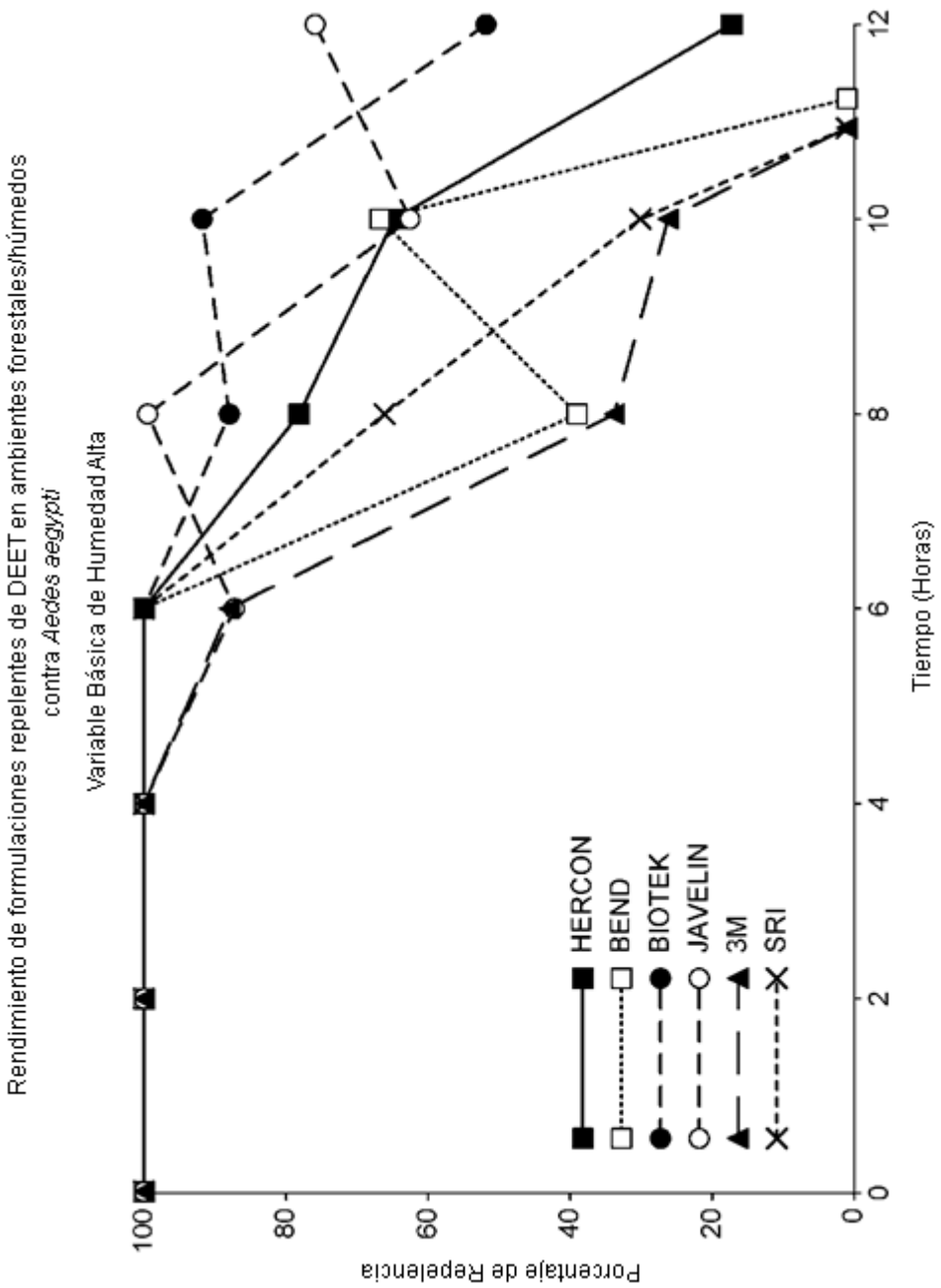

Rendimiento de formulaciones repelentes de DEET en ambientes forestales/húmedos
contra *Aedes aegypti*
Variable Básica de Humedad Alta
Porcentaje de Repelencia
100
80
60
40
20
0
0
2
4
6
8
10
12
Tiempo (Horas)
HERCON
BEND
BIOTEK
JAVELIN
3M
SRI

*FIG. 3*

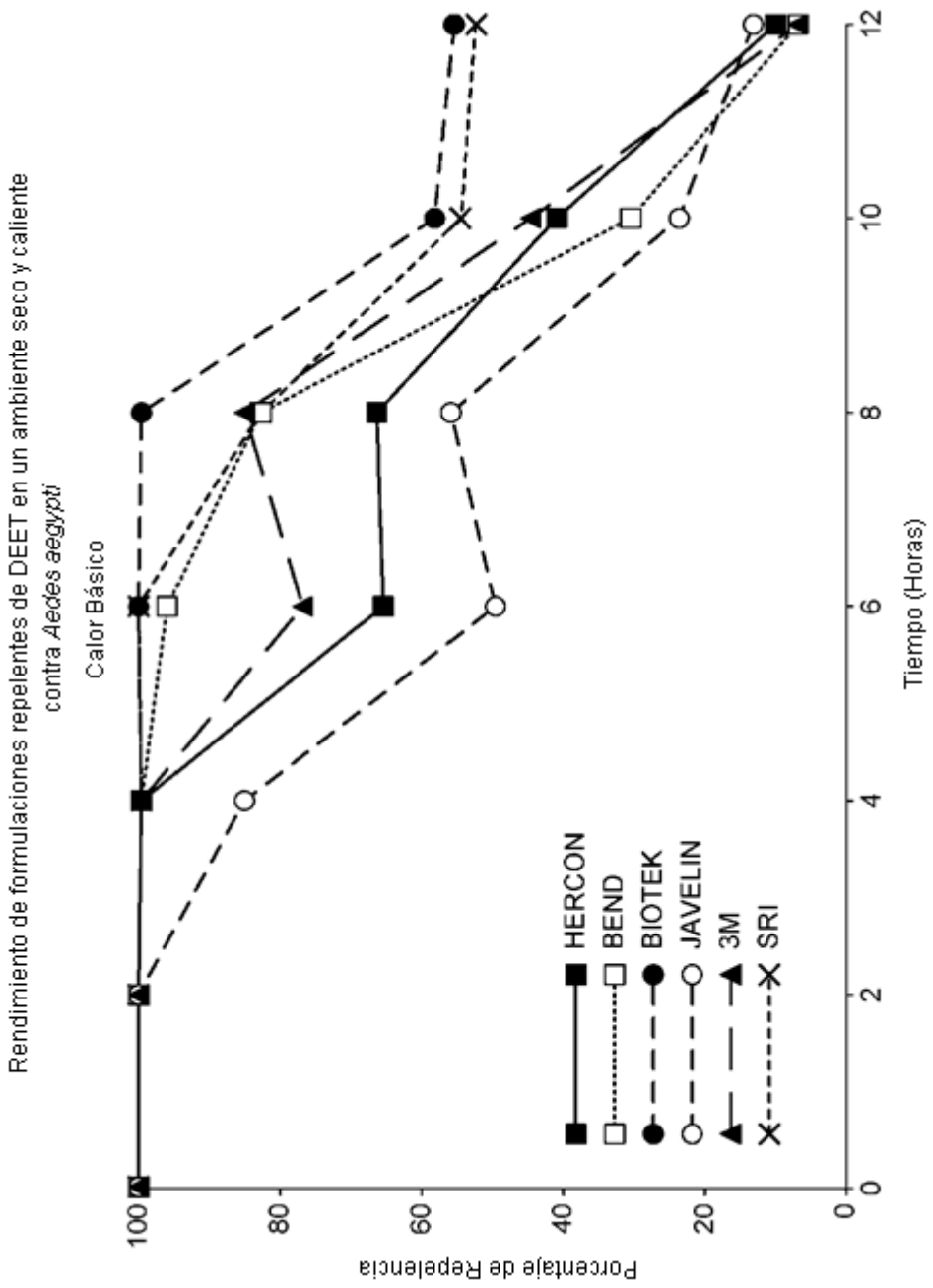

Rendimiento de formulaciones repelentes de DEET en un ambiente seco y caliente
contra *Aedes aegypti*
Calor Básico
Porcentaje de Repelencia
100
80
60
40
20
0
0
2
4
6
8
10
12
Tiempo (Horas)
HERCON
BEND
BIOTEK
JAVELIN
3M
SRI

*FIG. 4*

Curvas TGA de la tasa de evaporación de DEET (1), PMD (2), aceite de *Eucalyptus citriodora* modificado (3), aceite de E. citriodora (4) y citronelal puro (+) (5) en una atmósfera nitrogenada a 33°C + 1°C. Las lineas verticales representan el tiempo de protección obtenido del estudio de repelencia de la solución de DEET (1´), la solución de PMD a 20% en peso y 13% en peso (2´-2"), el aceite modificado (3´) y el aceite puro de *E. citriodora* (4´).

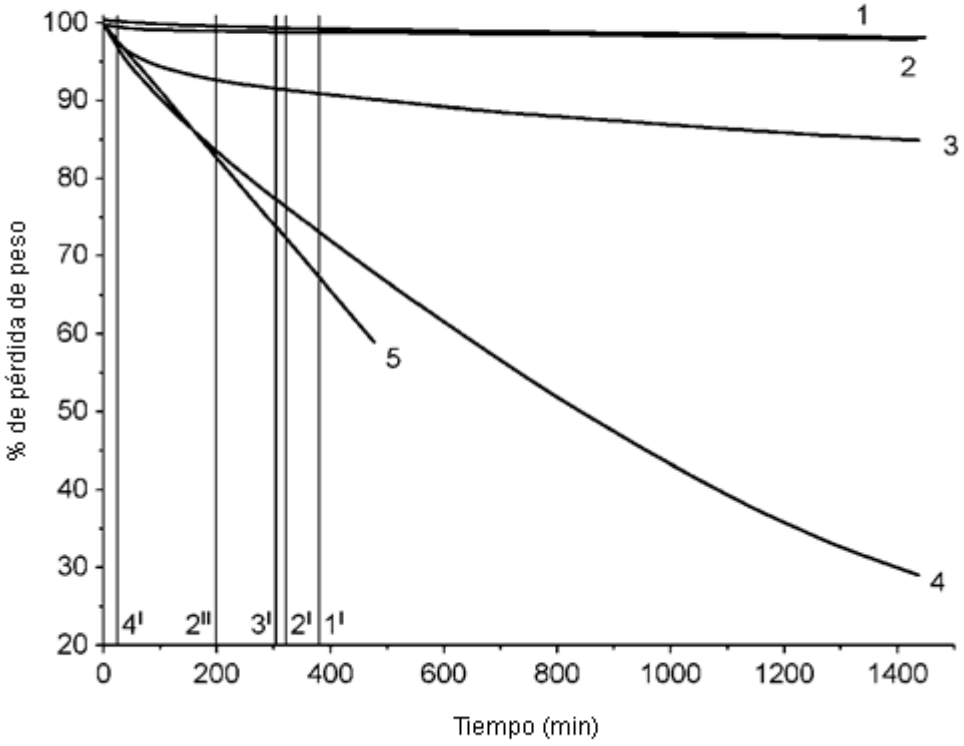



*FIG. 5*

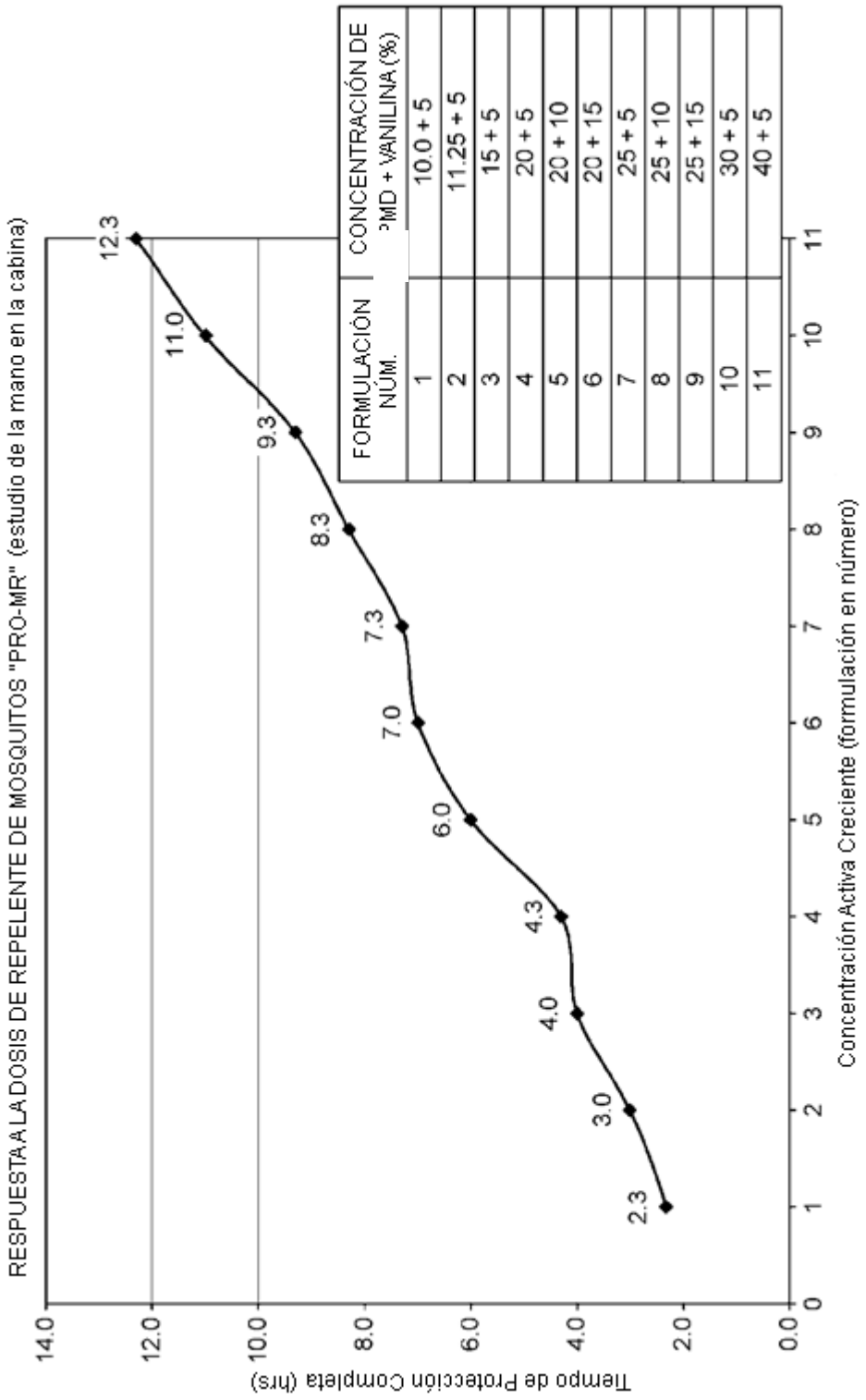

RESPUESTA A LA DOSIS DE REPELENTE DE MOSQUITOS "PRO-MR" (estudio de la mano en la cabina)
Tiempo de Protección Completa (hrs)
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12.3
11.0
9.3
8.3
7.3
7.0
6.0
4.3
4.0
3.0
2.3
Concentración Activa Creciente (formulación en número)
FORMULACIÓN NÚM.
CONCENTRACIÓN DE PMD + VANILINA (%)
1 10.0 + 5
2 11.25 + 5
3 15 + 5
4 20 + 5
5 20 + 10
6 20 + 15
7 25 + 5
8 25 + 10
9 25 + 15
10 30 + 5
11 40 + 5

FIG. 6

B

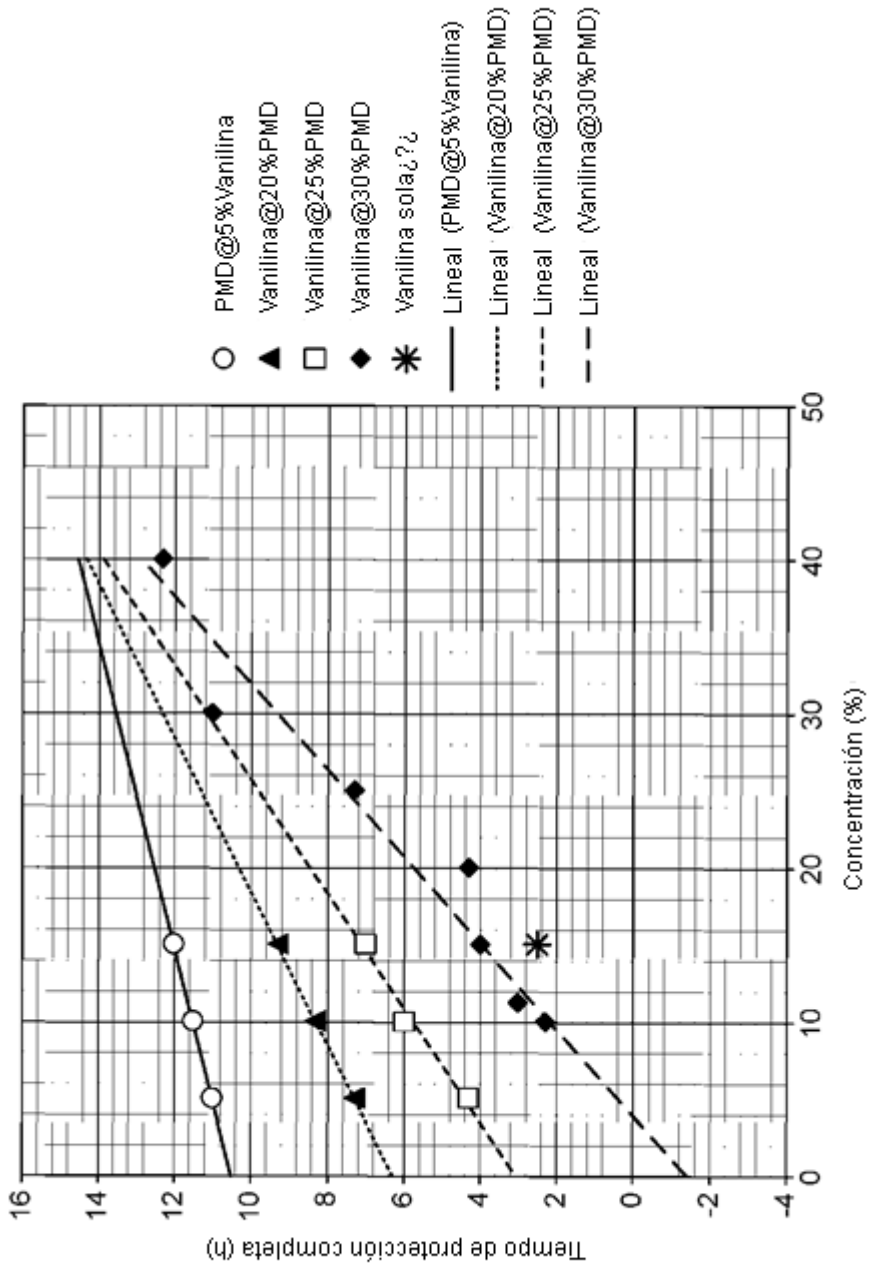

PMD@5%Vanilina
Vanilina@20%PMD
Vanilina@25%PMD
Vanilina@30%PMD
Vanilina sola¿?¿
Lineal (PMD@5%Vanilina)
Lineal (Vanilina@20%PMD)
Lineal (Vanilina@25%PMD)
Lineal (Vanilina@30%PMD)
Tiempo de protección completa (h)
16
14
12
10
8
6
4
2
0
-2
-4
0
10
20
30
40
50
Concentración (%)

FIG. 7

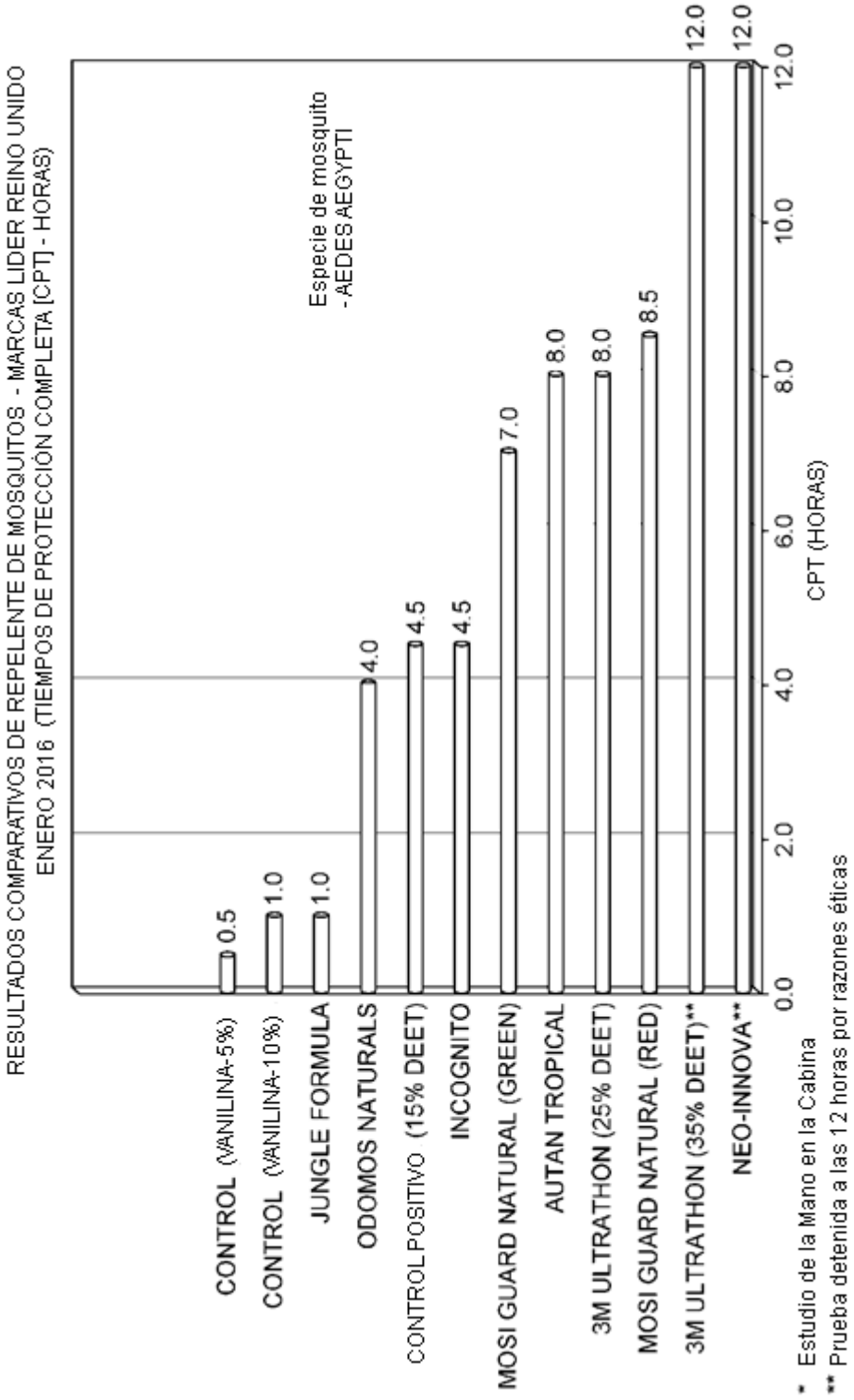

RESULTADOS COMPARATIVOS DE REPELENTE DE MOSQUITOS - MARCAS LIDER REINO UNIDO
ENERO 2016 (TIEMPOS DE PROTECCIÓN COMPLETA [CPT] - HORAS)
Especie de mosquito
- AEDES AEGYPTI
CONTROL (VANILINA-5%)
CONTROL (VANILINA-10%)
JUNGLE FORMULA
ODOMOS NATURALS
CONTROL POSITIVO (15% DEET)
INCOGNITO
MOSI GUARD NATURAL (GREEN)
AUTAN TROPICAL
3M ULTRATHON (25% DEET)
MOSI GUARD NATURAL (RED)
3M ULTRATHON (35% DEET)**
NEO-INNOVA**
0.5
1.0
1.0
4.0
4.5
4.5
7.0
8.0
8.0
8.5
12.0
12.0
0.0
2.0
4.0
6.0
8.0
10.0
12.0
CPT (HORAS)
* Estudio de la Mano en la Cabina
** Prueba detenida a las 12 horas por razones éticas

*FIG. 8*

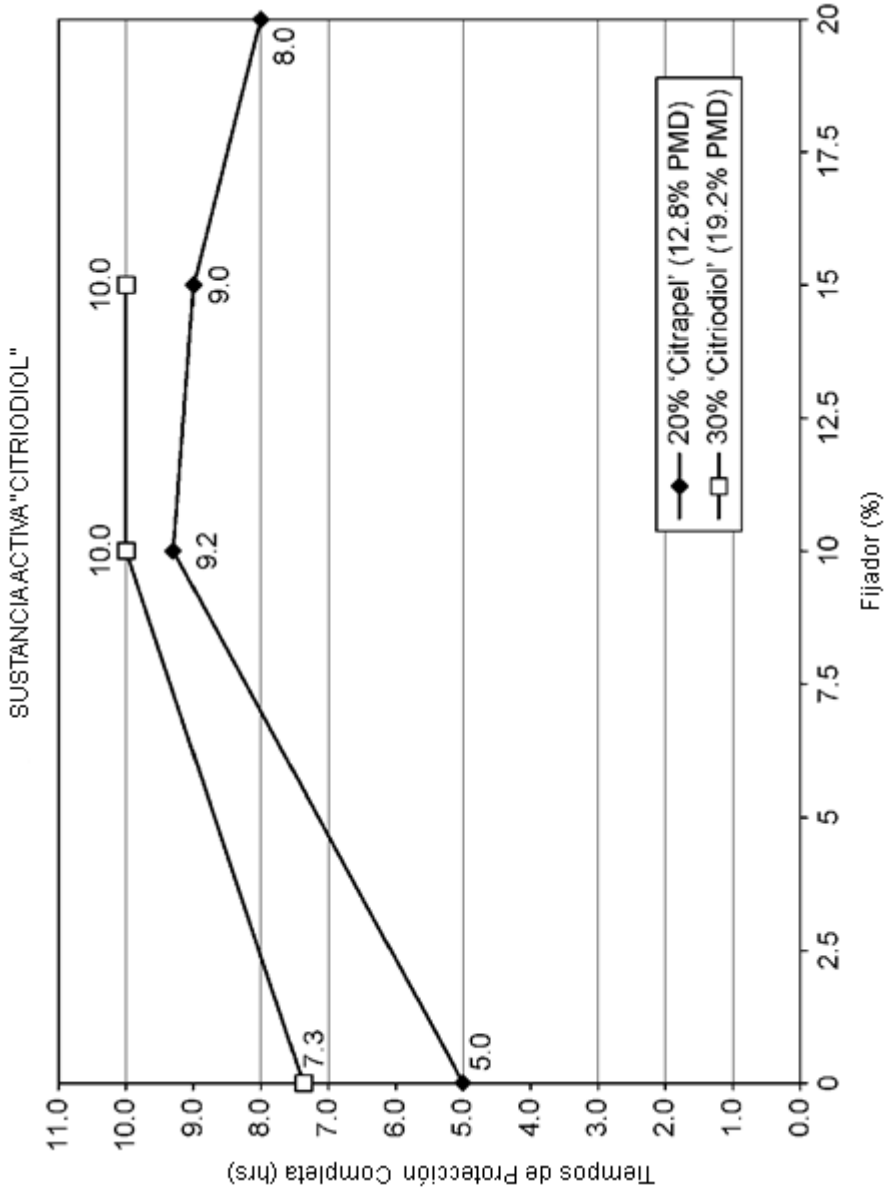

SUSTANCIA ACTIVA "CITRIODIOL"
Tiempos de Protección Completa (hrs)
11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
2.5
5
7.5
10
12.5
15
17.5
20
Fijador (%)
10.0
10.0
9.2
9.0
8.0
7.3
5.0
20% 'Citrapel' (12.8% PMD)
30% 'Citriodiol' (19.2% PMD)

*FIG. 9*

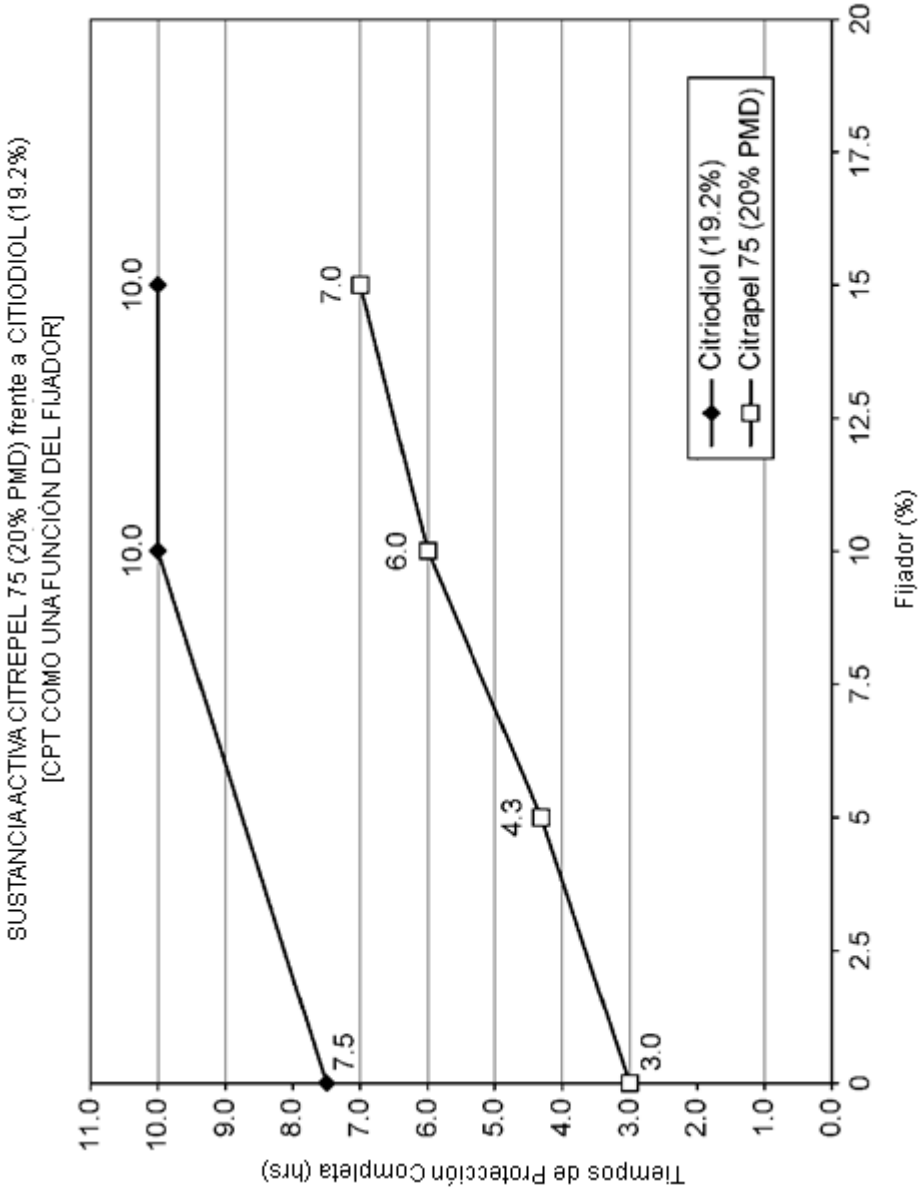

SUSTANCIA ACTIVA CITREPEL 75 (20% PMD) frente a CITIODIOL (19.2%)
[CPT COMO UNA FUNCIÓN DEL FIJADOR]
Tiempos de Protección Completa (hrs)
11.0
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
2.5
5
7.5
10
12.5
15
17.5
20
Fijador (%)
10.0
10.0
7.5
7.0
6.0
4.3
3.0
Citriodiol (19.2%)
Citrapel 75 (20% PMD)

*FIG. 10*

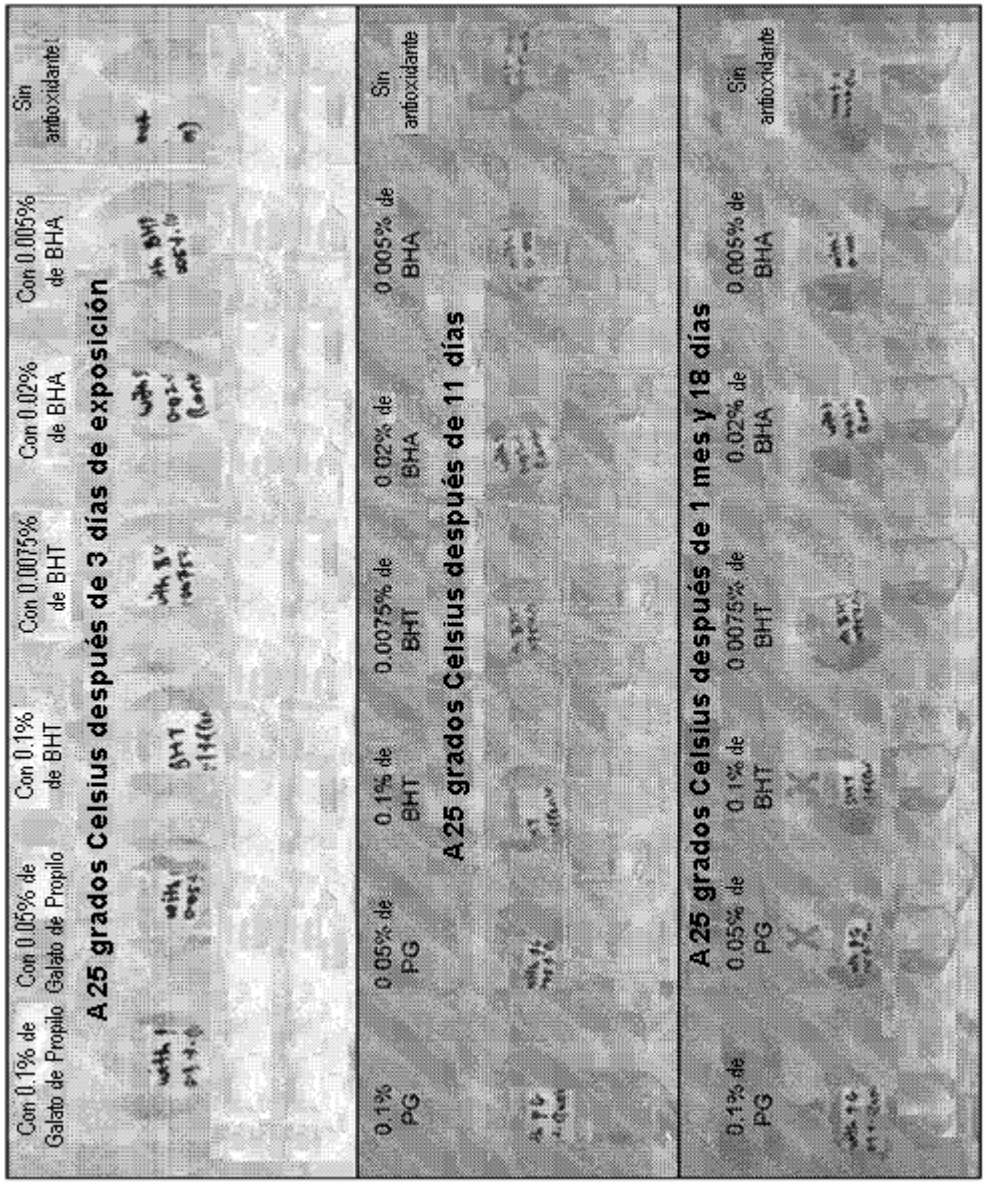

Con 0.1% de Galato de Propilo
Con 0.05% de Galato de Propilo
Con 0.1% de BHT
Con 0.0075% de BHT
Con 0.02% de BHA
Con 0.005% de BHA
Sin antioxidante
A 25 grados Celsius después de 3 días de exposición
0.1% PG
0.05% de PG
0.1% de BHT
0.0075% de BHT
0.02% de BHA
0.005% de BHA
Sin antioxidante
A 25 grados Celsius después de 11 días
0.1% de PG
0.05% de PG
0.1% de BHT
0.0075% de BHT
0.02% de BHA
0.005% de BHA
Sin antioxidante
A 25 grados Celsius después de 1 mes y 18 días

FIG. 11

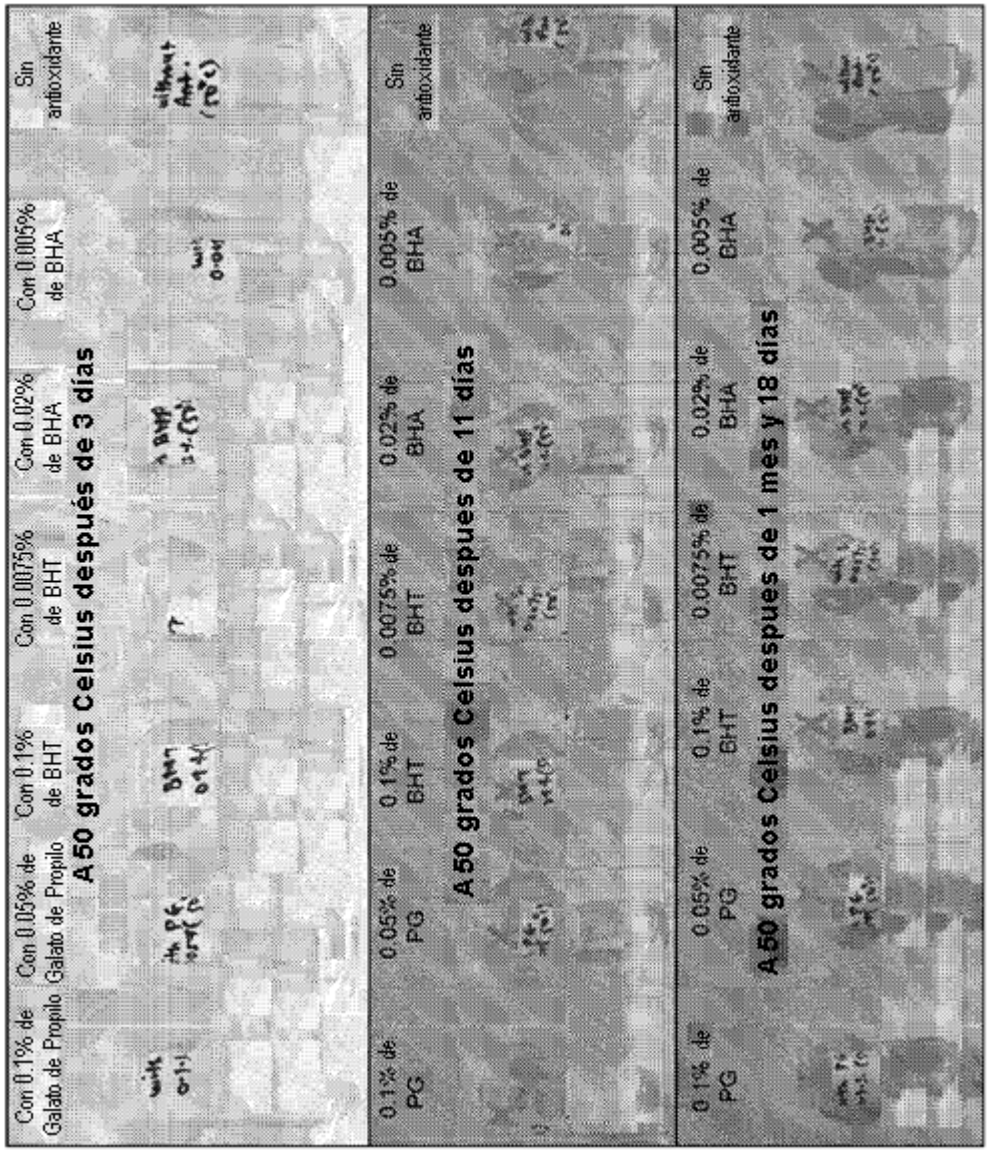

Con 0.1% de Galato de Propilo
Con 0.05% de Galato de Propilo
Con 0.1% de BHT
Con 0.0075% de BHT
Con 0.02% de BHA
Con 0.005% de BHA
Sin antioxidante
A 50 grados Celsius después de 3 días
0.1% de PG
0.05% de PG
0.1% de BHT
0.0075% de BHT
0.02% de BHA
0.005% de BHA
Sin antioxidante
A 50 grados Celsius despues de 11 días
0.1% de PG
0.05% de PG
0.1% de BHT
0.0075% de BHT
0.02% de BHA
0.005% de BHA
Sin antioxidante
A 50 grados Celsius despues de 1 mes y 18 días

FIG. 12

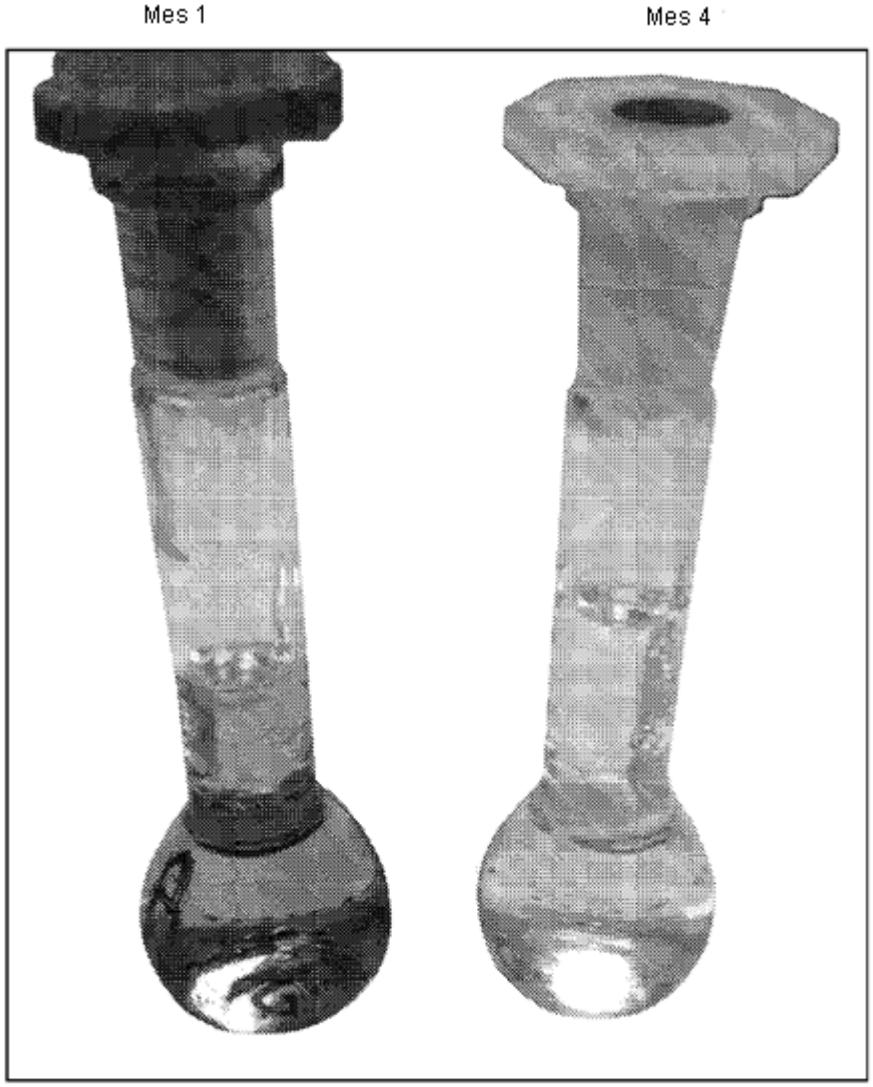



FIG. 13

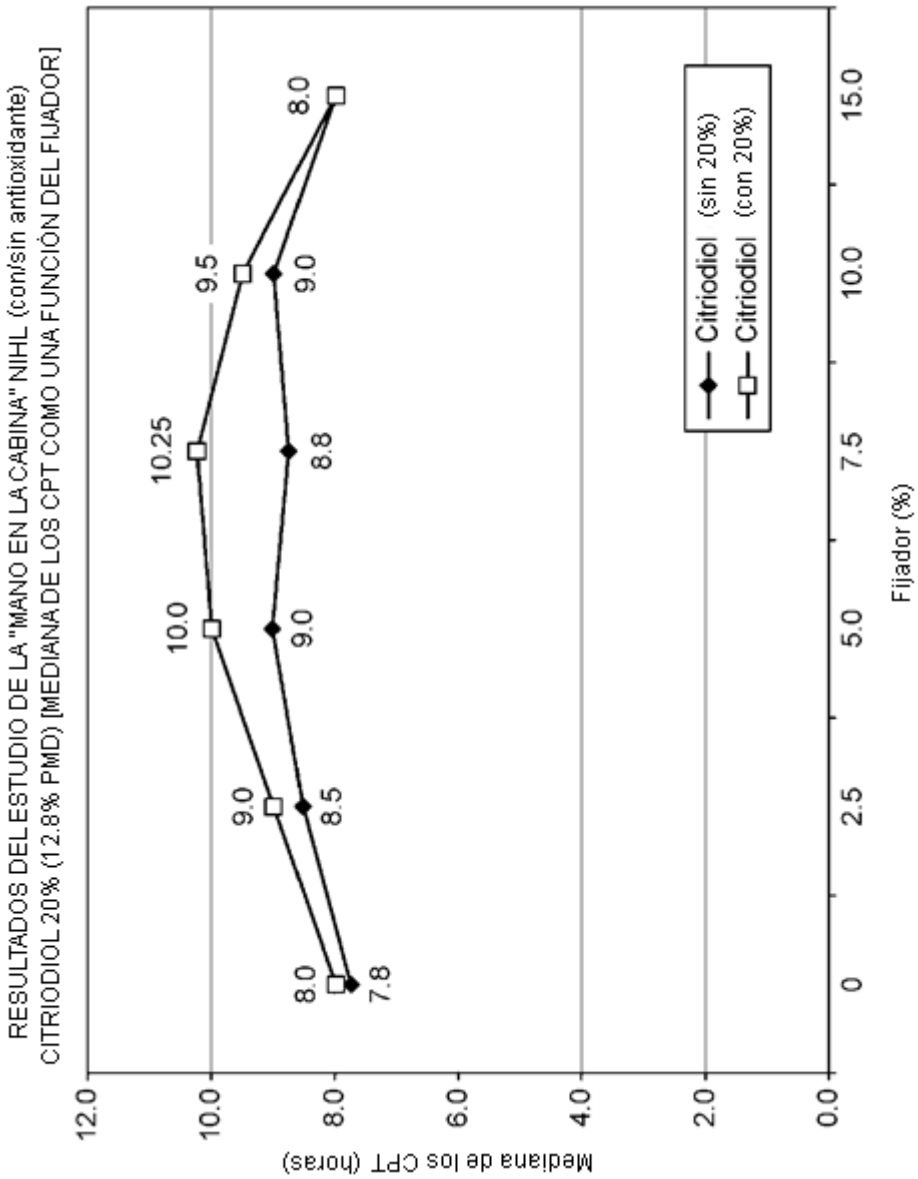

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LA "MANO EN LA CABINA" NIHL (con/sin antioxidante)
CITRIODIOL 20% (12.8% PMD) [MEDIANA DE LOS CPT COMO UNA FUNCIÓN DEL FIJADOR]
Mediana de los CPT (horas)
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
0
2.5
5.0
7.5
10.0
15.0
Fijador (%)
8.0
9.0
10.0
10.25
9.5
8.0
7.8
8.5
9.0
8.8
9.0
Citriodiol (sin 20%)
Citriodiol (con 20%)

FIG. 14

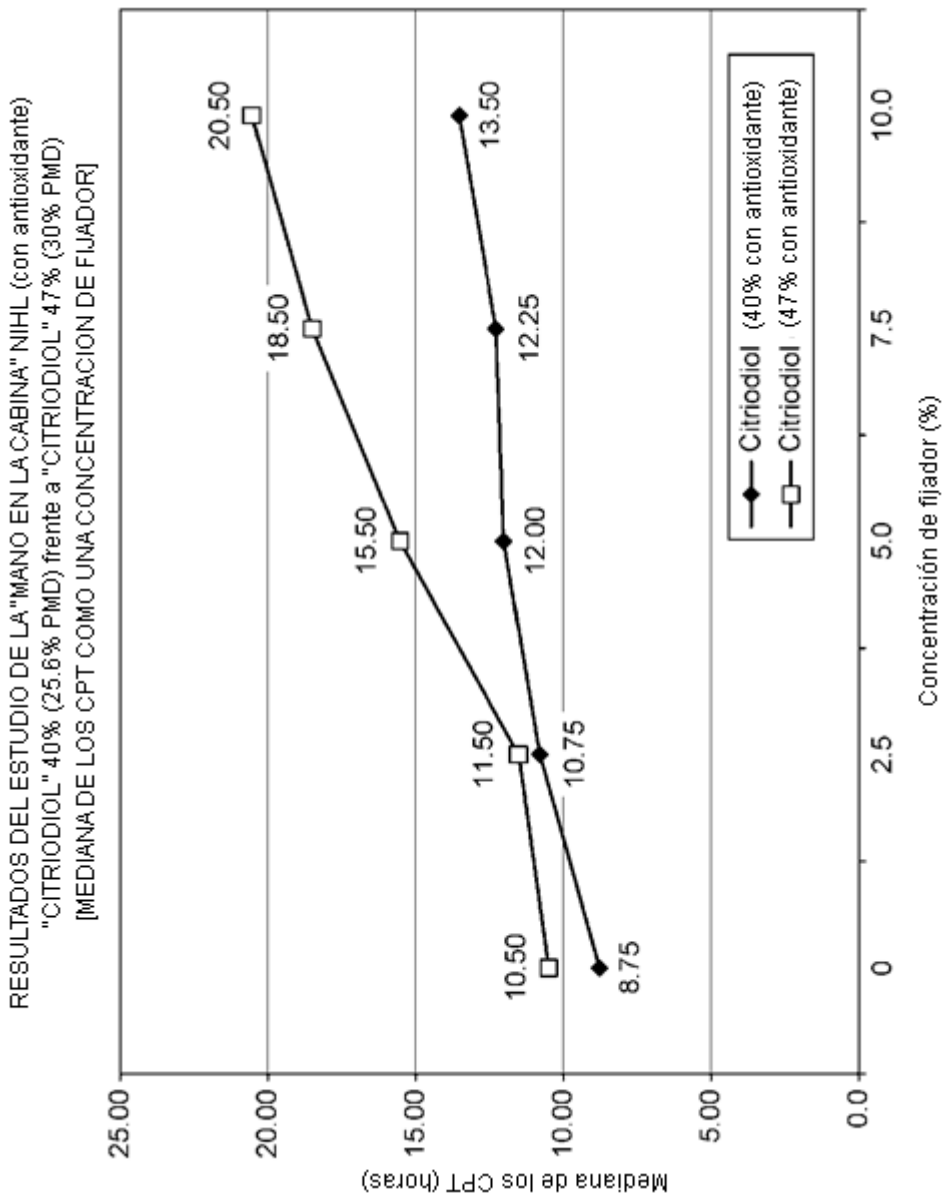

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LA "MANO EN LA CABINA" NIHL (con antioxidante)
"CITRIODIOL" 40% (25.6% PMD) frente a "CITRIODIOL" 47% (30% PMD)
[MEDIANA DE LOS CPT COMO UNA CONCENTRACION DE FIJADOR]
Mediana de los CPT (horas)
25.00
20.00
15.00
10.00
5.00
0.0
0
2.5
5.0
7.5
10.0
Concentración de fijador (%)
20.50
18.50
15.50
11.50
10.50
13.50
12.25
12.00
10.75
8.75
Citriodiol (40% con antioxidante)
Citriodiol (47% con antioxidante)

FIG. 15

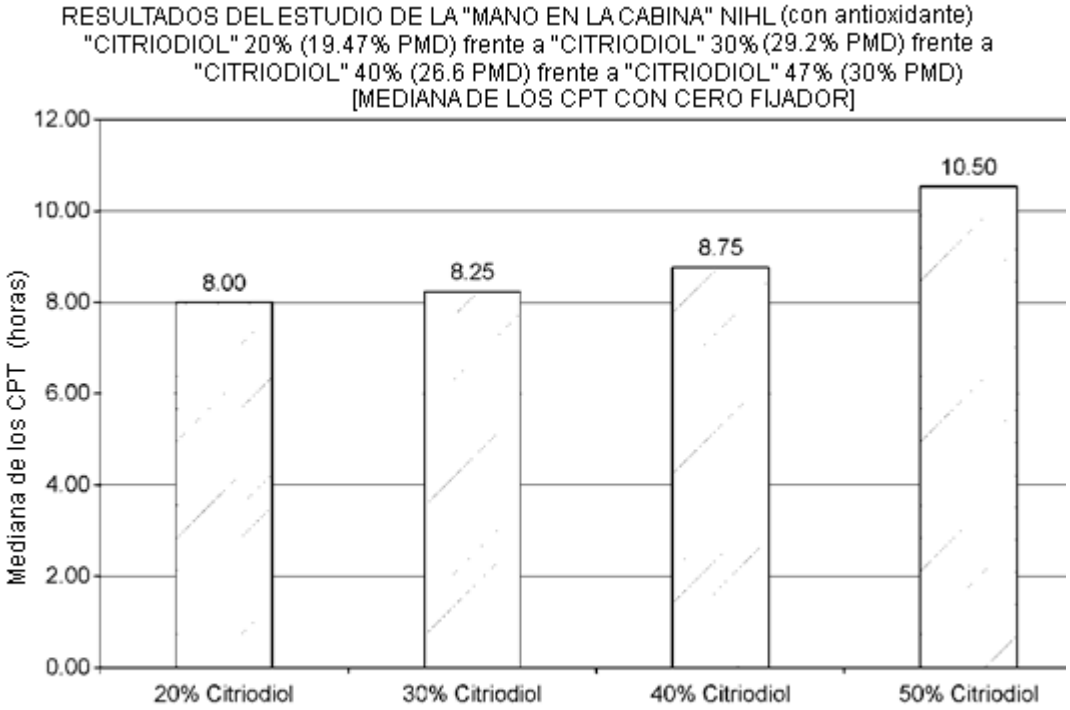

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LA "MANO EN LA CABINA" NIHL (con antioxidante)
"CITRIODIOL" 20% (19.47% PMD) frente a "CITRIODIOL" 30% (29.2% PMD) frente a
"CITRIODIOL" 40% (26.6 PMD) frente a "CITRIODIOL" 47% (30% PMD)
[MEDIANA DE LOS CPT CON CERO FIJADOR]
Mediana de los CPT (horas)
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
8.00
8.25
8.75
10.50
20% Citriodiol
30% Citriodiol
40% Citriodiol
50% Citriodiol

*FIG. 16*

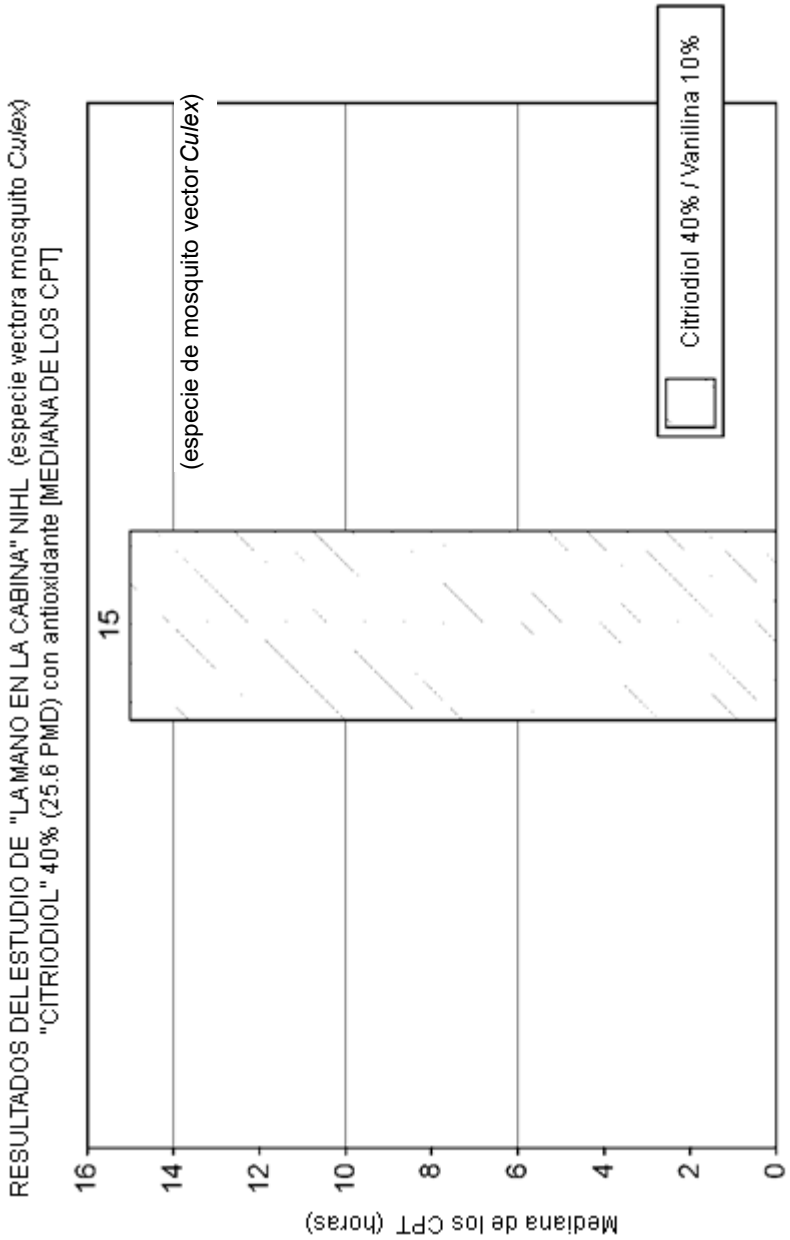

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE "LA MANO EN LA CABINA" NIHL (especie vectora mosquito *Culex*)
"CITRIODIOL" 40% (25.6 PMD) con antioxidante [MEDIANA DE LOS CPT]
Mediana de los CPT (horas)
16
14
12
10
8
6
4
2
0
15
(especie de mosquito vector *Culex*)
Citriodiol 40% / Vanilina 10%

*FIG. 17*