

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication : **2 906 441**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **06 08554**

⑤1 Int Cl⁸ : A 01 N 31/02 (2006.01), A 01 N 27/00, A 01 P 17/00

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 29.09.06.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 04.04.08 Bulletin 08/14.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : AB7 INDUSTRIES Société anonyme
— FR.

⑦2 Inventeur(s) : MAKOUMBOU URBAIN, CHELLE
RENE, FOISSEAU CLEMENT et MAUZAC MONIQUE.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : CABINET MORELLE ET BARDOU.

⑤4 REPULSIF INSECTES A BASE DE MOLECULES NATURELLES.

⑤7 La présente invention consiste en une composition li-
pophile d'actifs naturels issus de la matière végétale ayant
un effet insectifuge caractérisée en ce qu'elle comprend le
mélange synergique d'au moins:

- un alcool terpénique,
- une huile essentielle,
- une huile non active.

FR 2 906 441 - A1



REPULSIF INSECTES A BASE DE MOLECULES NATURELLES

La présente invention a trait au domaine des compositions à effet repulsif sur les insectes. La formulation de répulsifs à base de substances de synthèse a été comparée par rapport à ceux à base de substances extraites des plantes ou de la matière végétale, et plus particulièrement des répulsifs essentiellement formulés à base d'alcools terpéniques naturels et/ou d'huiles essentielles, de très haut niveau d'efficacité insectifuge sur les arthropodes et autres parasites suceurs de sang.

10

Les insectes, et particulièrement les piqueurs ou suceurs de sang, sont reconnus comme étant les vecteurs de multiples maladies souvent mortelles pour l'homme ou les animaux. C'est le cas bien connu des différents genres de moustiques qui sont à l'origine aujourd'hui de très grands fléaux. Les principaux responsables des piqûres chez l'homme sont les moustiques des genres *Anopheles*, *Culex* et *Aedes*.

15

On peut les catégoriser en :

- a. Agent de nuisance : *Culex pipiens* (moustique urbain), *Aedes detritus*, *Aedes caspius* (dans les régions littorales).
- 20 b. Vecteur du paludisme : *Anopheles* (*Anopheles labranchiae* et *An. Sergenti*), on en compte une soixantaine d'espèces et le paludisme tue un enfant toutes les 30 secondes en Afrique et entre 1 et 3 millions de personnes par an. Deux milliards d'individus, soit 40% de la population mondiale, sont exposés et on estime à 500 millions le nombre de cas cliniques survenant chaque année (OMS).
- 25 c. Vecteur de la fièvre à virus West Nil : espèces appartenant au genre *Culex* (*C. pipiens* qui se reproduit dans les eaux polluées par des matières organiques, il est principalement présent en milieu urbain). La fièvre du Nil se développe à grande vitesse en Amérique.
- d. Vecteur de la dengue et de la fièvre jaune : espèces appartenant aux genres *Aedes*,
30 *Aedes aegypti*.
- e. Vecteur du chikungunya : *Aedes albopictus* qui sévit actuellement dans les îles de l'Océan Indien.

L'éradication du moustique étant un problème difficilement soluble, on préconise la protection des personnes, surtout de manière individuelle, grâce à différentes techniques. Nous retiendrons particulièrement l'utilisation des insectifuges, c'est à dire toute composition repoussant les moustiques sans les tuer.

35

La substance la plus usitée dans l'élaboration des insectifuges est le N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide ou encore N-N diméthyltoluamide, ou enfin N,N,-diéthyl-m-toluamide (DEET). On lui attribue la meilleure efficacité répulsive. Selon les préparations, le DEET est
5 utilisé à des doses différentes. Mais plus son taux dans la formulation est élevé, plus il présente des risques de toxicité qui semblent se situer pour les produits topiques au dessus de 20% (Ricarda Hoop et al., 2005, Insectifuges, PAEDIATRICA vol.16 N°3).

Développé en 1946 par le Département américain de l'agriculture, pour usage militaire, le
10 DEET a été commercialisé en 1957. Depuis sa commercialisation, le DEET est généralement considéré comme l'un des insectifuges parmi les plus sécuritaires et les plus efficaces. Pourtant l'innocuité du DEET a été mise en cause à plusieurs reprises par des articles scientifiques qui font état d'effets toxiques consécutifs à l'application topique ou à l'ingestion de DEET (Lyse Lefebvre, avril 1998, Innocuité de l'insectifuge DEET, Bulletin
15 d'information toxicologique, vol. 14, N°2).

Michael Meyhoefer (U.S. Patent TO 424405000) confirme les risques présentés par le DEET surtout pour les enfants. Il souligne également d'autres désavantages associés au DEET : c'est une molécule de synthèse à spectre d'activité limité, ayant notablement une mauvaise
20 odeur ; le DEET est un puissant dissolvant des matières plastiques et des surfaces peintes ; le DEET plastifie à la longue les ingrédients inertes typiques utilisés dans les formulations topiques. Ces éléments contribuent à diminuer l'acceptabilité des formulations au DEET. Alison Lewey (424405000 (USPTO), A01N065/00 (Intl Class)) renchérit dans ce sens en attribuant au DEET un risque carcinogène, tandis que William G. Reifenrath (U.S. Patent
25 6953814, october 11, 2005) estime que le DEET a des effets de sensibilisation dermatologiques.

En conséquence, d'autres molécules ont été introduites dans des formulations dont les plus représentatives sont :

30

- a. N butyl, N acétyl-3- éthylaminopropionate ou 35/35, dont l'efficacité optimale est obtenue à la concentration de 20% pour une durée moyenne limitée à 4 heures;
- b. Les pyrethrinoides de synthèse qui ne doivent pas être mises au contact avec la
35 peau à cause de la sensation de brûlure qu'elles provoquent;
- c. Ethylhexanediol ou EHD qui présente peu de toxicité cutanée (préféré pour les enfants), mais dont la durée de protection moyenne n'est que de 2 heures dans les

meilleures conditions (Thérèse Duriez, Lucien Dujardin, Daniel Afchain, 2003, Insecticides, Insectifuges et Acaricides, Arachosia Univ. Lille 2);

d. Diméthylphtalate ou DMP, en concentration de 40%.

5 La majorité de ces molécules de synthèse présentent soit plus de risques de toxicité que le DEET, soit généralement beaucoup moins d'efficacité. Pour y remédier, certains auteurs ont préconisé des formulations combinant des huiles essentielles insectifuges avec des substances chimiques ou non naturelles. Par exemple, Uick, Publication Internationale N° WO 97/49380, publiée le 13 déc. 1997, préconise un insectifuge contenant une ou plusieurs
10 huiles essentielles et/ou du DEET. De même, Watkins, et al., U.S. Pat. N° 6,451,844, du 17 sept. 2002, annonce utiliser une multitude de substances répulsives, incluant des huiles essentielles en conjonction avec diverses molécules chimiques. Garrison, et al., U.S. Patent N° 6,355,264, du 12 mars 2002, dévoile l'utilisation d'une huile essentielle répulsive en association avec des additifs chimiques et de l'alcool. En effet, pour Warren, al., U.S. Patent
15 N° 6,143,288, du 7 nov. 2000, plusieurs alcools insaturés ont un effet attractif tandis que d'autres sont répulsifs sur les insectes. Sont ainsi cités comme répulsifs de *Musca domestica* L. (Diptera : Muscidae) et *Aedes aegypti* dans U.S. Patent N° 4,764,367, du 16 août 1988 et U.S. Patent N° 5,118,711, du 2 juin 1992, les alcools 1-octen-4-ol et 1-nonen-3-ol ; par contre dans U.S. Patent N° 4,152,442, du 1^{er} mai 1976, présente 6-nonen-1-ol comme étant
20 attractif pour le mâle de la Mouche de fruit Méditerranéen. D'autres encore comme Beldock, et al., U.S. Patent N°s 5,227,406, 5,346,922 et 5,621,013, abondent dans le sens du mélange des substances naturelles avec des molécules de synthèse.

Traditionnellement, ceux qui n'acceptent pas de molécules de synthèse dans la formulation
25 des répulsifs insectes utilisent des extraits de citronnelle dont l'efficacité est mise en doute sans doute à juste raison dans certains cas, mais aussi souvent à tort. En effet, les citronnelles sont multiples, avec des compositions différentes :

- a. **Citronnelle ou verveine des Indes**, *Cymbopogon citratus* dont les principes actifs sont :
- 30 I. **Monoterpènes** : limonène (1 – 11%);
II. **Monoterpénals (79 – 86%)** : citrals dont néral (22 – 33%) et géraniol (37 – 45,5%) ; citronnellal (1 – 13,5%).
- b. **Lemongrass**, *Cymbopogon flexuosus citraliferum* dont les principes actifs sont :
- I. **Alcools monoterpéniques** : α -terpinéol (2,25%), bornéol (1,9%), géraniol
35 et nérol (1,5%);
II. **Alcools sesquiterpéniques** : farnésol (12,8%);
III. **Aldéhydes monoterp.** (60 – 85%) : citrals (75%), néral (27,7%), géraniol (46,6%);

IV. **Aldéhydes sesquiterp.** : farnésal (3%).

c. **Palmarosa**, *Cymbopogon martinii* var. *motia* dont les principes actifs sont :

I. **Alcools monoterp.** (80 – 95%) : linalol (2 – 4%), géraniol (70 – 80%), nérol (0,2 – 1,5%), p-mentha-1,8(10)-dien-9-ol;

5 II. **Alcools sesquiterp.** : élémol (0,3 – 1,4%);

10 III. **Esters terp. et aliph.** : formiates de géranyle (5 – 15%) et de néryle (0,5 – 1%) ; acétates de géranyle (5 – 15%) et de p-mentha-1,8(10)-dien-9-yle butyrate (0,5 – 1%) et isobutyrate de géranyle, isovalérates de prényle et de géranyle (0,5 – 1%), hexanoates d'amyle, de prényle et de géranyle (0,5 – 1%) ; octanoates de prényle et de géranyle (0,5 – 1%).

d. **Gingergrass**, *Cymbopogon martinii* var. *sofia* dont les principes actifs sont :

I. **Monoterpènes** : (+)-limonène, (+)- α -phellandrène;

II. **Alcools** : géraniol (35 – 65%) ; alcool périllique;

III. **Monoterpénones** : carvone.

15 e. **Citronnelle de Ceylan**, *Cymbopogon nardus* dont les principes actifs sont :

I. **Alcools terp.** (35%) : géraniol (18%), bornéol (6,5%), citronnellol (8,5%);

II. **Aldéhydes** (5 – 15%) : (+)-citronnellal (5%);

III. **Esters** (9%) : formiate et butyrate de géranyle (4 et 1,5%);

20 IV. **Phénols méthyl-éthers** (9%) : isoeugénol M.E. (7%).

f. **Citronnelle de Java**, *Cymbopogon winterianus citrionnellaliferum* dont les principes actifs sont :

I. **Alcools monoterp.** (30-40%) : géraniol (15 – 24%), citronnellol (12 – 15%);

25 II. **Esters terp.** : acétates de géranyle (3 – 8%) et de citronnellyle (2 – 4%);

III. **Aldéhydes monoterp.** (35 – 45%) : (+)-citronnellal (33 – 45%).

30 Les différentes citronnelles tirent leur efficacité de la présence dans leurs huiles essentielles de certains alcools terpéniques comme le Géraniol, le Citronnellol et le Nérol, en synergie avec les aldéhydes correspondants et les limonènes. C'est justement ces composés qui se retrouvent dans différentes formulations de répulsifs insectes comme celles proposées par Warren, et al., U.S. Patent N° 6,143,288, du 7 nov. 2000.

35 L'utilisation des extraits des citronnelles peut donc être optimisée en mettant l'accent sur les différents composés qu'ils contiennent et en jouant sur leur synergie. Pour cela, des huiles essentielles de citronnelles ont été traitées pour en mettre plus en évidence les principaux composants. Marin, et al., U.S. Patent N° 5,753,686, du 19 mai 1998, proposent une transformation de l'huile essentielle de Palmarosa pour obtenir un milieu riche en Géraniol

que l'on va enrichir en Citronnellol et en Nérol pour en accentuer l'efficacité répulsive et obtenir du GERANIOL CŒUR dit naturel; la même transformation peut se faire pour l'huile essentielle de Citronnelle de Java.

5 La présente invention vise à pallier les inconvénients de l'art antérieur décrit ci-dessus et à apporter d'autres avantages. Plus précisément, l'invention consiste en une composition lipophile d'actifs naturels issus de la matière végétale ayant un effet insectifuge caractérisée en ce qu'elle comprend le mélange synergique d'au moins:

- un alcool terpénique,
- 10 -une huile essentielle,
- une huile non active.

La présente invention s'intéresse particulièrement à ces alcools terpéniques à effet répulsif sur les insectes et notamment le Géraniol, le Nérol et le tétrahydrogéraniol, ainsi qu'aux
15 molécules apportées par les huiles essentielles comme le linalol, le 1-terpinène-4ol, le 1,8-cinéole, les α - et γ – terpinènes, l'acétate de linalyle, etc.

La présente invention a pour objectif la réalisation d'un répulsif insectes sur la base d'actifs naturels issus de la matière végétale et ayant un effet insectifuge sur les trois genres de
20 moustiques à savoir : Culex, Aedes et Anophèles.

Le répulsif de base doit se présenter sous forme liquide lipophile contenant au moins deux des molécules majeures insectifuges de certaines plantes, agissant en synergie comme: Géraniol, Nérol, Tétrahydrogéraniol, linalol, 1-terpinène-4-ol, 1,8-cinéole, α - et γ –
25 terpinènes, acétate de linalyle, etc. en dispersion dans de l'huile de ricin, de l'huile de coco et/ou de l'huile d'amande douce.

On se propose d'obtenir une efficacité répulsive au moins aussi bonne que celle du DEET, en tout cas meilleure que celle des formulations aux extraits de Citronnelle, mais sans les
30 inconvénients du DEET.

La formule de base doit pouvoir s'adapter à différentes formes galéniques et topiques, allant de l'incorporation dans des matrices polymères à la formulation de sprays.

35 Les buts précités sont atteints grâce à un choix minutieux des composants qui sont tous naturels, en fonction de leurs effets directs sur les insectes en général et particulièrement sur le moustique Aedes aegypti qui est parmi les plus résistants, et la mouche Musca domestica L. utilisée pour les tests en laboratoire.

Plus précisément, on préconise selon l'invention de sélectionner une ou plusieurs substances ayant un effet « Knock down » évident et pouvant être associée(s) à une ou plusieurs substances à effet retard pour couvrir un spectre insectifuge plus large. L'effet « Knock down » est obtenu lorsque les mouches par exemple tombent brutalement au fond de l'enceinte de test, complètement inconscientes. L'association des substances à effet insectifuge doit également tenir compte d'une différence de volatilité nécessaire entre elles, de manière à ce que l'on ait au moins une ou plusieurs substances actives moins volatiles que les autres. Une huile dite non active doit servir de milieu dispersant des substances actives.

Les substances retenues doivent être mélangées dans des proportions conférant une synergie due aux caractéristiques apportées par chaque substance. La synergie tient surtout à combiner d'une part l'effet Knock down rapide de certaines molécules, qui est dû à l'effet de leurs produits métabolisés qui se fixent sur les chromosomes, mais de façon réversible, donc pouvant amener l'insecte à reprendre vie, avec d'autre part des molécules à effet plus lent, mais définitivement létal. Ledit mélange synergique est caractérisé en ce qu'il se compose, pour 100 %, dans les conditions d'utilisation, de :

20 Alcools terpéniques comme repellents

- a. 0,75% à 2,1% en poids de Nérol [CAS : 106-25-2, EINECS : 203-378-7] issu de la distillation d'essence de pin et/ou
- b. 0,1% à 25% en poids de Géraniol [CAS : 106-24-1, EINECS : 203-377-1], substance à effet retard, issue de la distillation d'essence de pin et/ou
- 25 c. 0,1% à 0,6% en poids de Tétrahydrogéraniol [CAS : 106-21-8, EINECS : 203-374-5] issu de la distillation d'essence de Pin;

Huiles essentielles comme repellents

- a. 1,6% à 75% en poids d'huile essentielle de *Melaleuca alterniflora* ou Tea tree [CAS : 85085-48-9, EINECS : 285-377-1], particulièrement riche en 1-terpinène-4-ol, α - et γ -terpinènes, α -terpinolène, α -terpinéol, 1,8-cinéole et p-cymène et/ou
- b. 2% à 47% en poids d'huile essentielle de lavandin [91722-69-9, EINECS : 294-470-6] riche en linalol et acétate de linalyle, molécules qui permettent d'élargir le spectre d'activité antimoustique.
- 35

Substances moins volatiles

- a. 0,4% à 3% en poids d'huile de ricin et/ou

- b. 1% à 10% en poids d'huile végétale, normalement liquide à la température ambiante, comme substance de transit et de transfert pour le mélange actif;

Substances parfumantes

- a. 0,3% à 5% en poids d'huile essentielle de mandarine ou de pamplemousse et menthe, ou de citron vert, ou encore de verveine, etc.;

Excipients

- a. 86% à 95% en poids de milieu dispersant dans le cas d'application topique, ce milieu étant constitué par exemple de 10% d'alcool, de 9% de tensioactif et de 76% d'eau ou
- b. 80% à 95% d'une huile naturelle ou une combinaison d'huiles gélifiantes, non grasses sur les surfaces, ayant une rigidité suffisante pour rester solides à la température ambiante;
- c. dans le cas d'application galénique, le milieu dispersant est remplacé par 75% à 86,3% en poids d'un polymère servant de matrice.

FIG. 1 représente un graphe du mélange d'huiles essentielles de théier et de lavandin objet de l'invention, montrant les différents actifs principaux à savoir : 2,15% mole de α -terpinène, 2,47% mole de d-limonène, 6,85% mole de γ -terpinène, 1,5% mole de α -terpinolène, 1,42% mole de α -terpinéol, 3,05% mole de 1,8-cinéole, 4,02% mole de p-cymène, 18,88% mole de acétate de linalyle, 20,13% mole de linalol, 19,75% mole de 1-terpinène-4-ol, 4,44% mole de tétrahydrogéraniol et 15,33% mole de géraniol.

FIG. 2 représente le dispositif qui a permis de réaliser les tests sur mouches au laboratoire. Il s'agit d'une série d'erlenmeyers de 250 ml (1), dans le fond desquels on a mis un rond de papier filtre collé sur un rond de papier aluminium (3). Les erlenmeyers sont fermés par de la gaze retenue par un élastique (2). On introduit dans chaque erlenmeyer 6 à 8 mouches (4) prélevées d'un élevage. On a utilisé *Musca domestica* L. pour ces tests. Le produit à tester est introduit à l'aide d'une pipette pasteur par gouttes déposées sur le fond de l'erlenmeyer. L'évaluation des résultats se fait sur la base d'observations visuelles suivant les critères du tableau I donné en exemple.

FIG. 3 représente le dispositif utilisé pour tester les formulations en spray. Il s'agit d'un cube en verre de 27 dm³ (1), muni d'un couvercle grillagé comportant une ouverture à rabat (2) pour l'introduction des mouches et une fente par laquelle l'on passe un morceau de textile de 25 cm X 15 cm (3) retenu par un support plat fermant la fente. Le textile est imbibé de

produit à tester par pulvérisation. On introduit dans le dispositif 10 mouches (4), puis le textile imbibé, et l'on observe le comportement des mouches pendant un temps défini. Puis on retire le textile que l'on éloigne du lieu du test. On procède à un changement de mouches. On répète l'opération avec le même textile, à intervalles de temps réguliers, jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'effet sur les mouches. On aura ainsi mesuré la durée de l'efficacité du produit formulé en spray.

TABLEAU I : Test insectifuge/insecticide sur mouches *Musca domestica* L. N° : 27

10 ECHANTILLON A=1 goutte de la formule objet de l'invention ECHANTILLON B=6 gouttes de la même formule objet de l'invention

TEMPS (min)	A total mouches : 6						B total mouches : 6					
	Agitées	En l'air	Agglutinées	« Knock down »	KO	Mortes	Agitées	En l'air	Agglutinées	« Knock down »	KO	Mortes
1	toutes	Toutes		toutes			toutes	toutes		toutes	1	1
2			plusieurs									
3					1						toutes	3
4												toutes
5					3							
6												
7												
8												
9												
10						toutes						

Légende : - **Agitées** : agitation des mouches dans tous les sens sous l'effet du produit introduit, en volant très vite ou en tourbillonnant ; - **En l'air** : les mouches arrivent à voler vers l'entrée de l'erlenmeyer et restent en l'air ; - **Agglutinées** : lorsque les mouches s'agglutinent au même endroit sur le fond de l'erlenmeyer ou en haut sur un même endroit de la gaze sous l'effet du produit introduit, comme pour se soutenir mutuellement ; - **Knock down** : lorsque les mouches tombent brutalement sur le fond de l'erlenmeyer ; - **KO** : lorsque les mouches sont assommées et restent inanimées sur le fond de l'erlenmeyer ; - **Mortes** : lorsque les mouches ne bougent absolument plus du tout pendant longtemps.

20 Le tableau II récapitule plusieurs exemples pour des besoins de comparaison, sur la base des mêmes critères que le tableau I précédent :

TABLEAU II :Récapitulatif résumé de tests mouches effectués avec différentes formulations

Echantillons	Toutes Knock down	Toutes KO	1 ^{re} morte	Toutes mortes
Géraniole	2 min	5 min	2 min	10 min
Tétrahydrogéraniole	5 min	7 min	5 min	9 min
Tea tree	1 min	1 min	5 min	9 min
Lavandin	2 min	6 min	6 min	17 min
Formule 2 de l'invention	1 min	1 min	3 min	6 min

Exemple 1

Une formulation combinant un alcool terpénique, le Géraniol et une huile essentielle à effet
5 insectifuge, l'huile essentielle du théier ou tea tree oil, ou encore *Melaleuca alternifolia*
(maiden et betche) Cheel. *Terpinène-4-olifera* qui est un Melaleuca à feuilles alternes à
terpinéol-4 (fe.) Myrtacées, (présentée sous forme de succession de molécules essentielles
composantes) comme repellent objet de cette invention a été réalisée mettant ainsi à
10 contribution les composants dont la liste suit (les pourcentages constituent les proportions en
poids de la composition totale du répulsif) :

25% de géraniol,

30,60% de 1-terpinène-4-ol,

15

16,32% de γ -terpinène,

7,46% de α -terpinène,

20 2,63% de α -terpinolène,

2,18% de 1,8-cinéole,

1,94% de α -pinène,

25

1,91% de α -terpinéol,

1,85% de symène,

30 0,89% de aromadendrine,

0,76% de d-limonène.

Pour obtenir une forme liquide du repellent, tous les mélanges se font à température
35 ambiante. Une quantité de 1 kg est obtenue comme suit :

- a. On commence par bien veiller à ce que toutes les huiles soient bien en l'état liquide et homogène;

- b. On met dans le mélangeur 250 grammes de géranol, on ajoute sous agitation 750 grammes d'huile essentielle de tea tree. On laisse mélanger sous bonne agitation pendant 30 minutes avant de procéder au prélèvement d'échantillons.

5

Le répellent ainsi obtenu est testé sur des mouches en comparaison avec d'autres répulsifs insectes comme l'Insect Killer GA de FULLTEC qui est élaboré à base d'extraits de plantes, utilisé dans le Mosquito Protector et dont la molécule est connue commercialement sous l'appellation de mentholglycol; le Diazinon, molécule chimique organophosphorée, a également été mis dans les conditions du répellent objet de cette invention pour en être comparé.

10

Pour la réalisation du test, on choisit d'utiliser une dose pouvant être létale afin de mieux ressortir les différences entre les différents produits, soit 6 gouttes introduites dans chaque erlenmeyer contenant 6 mouches.

15

Les mouches sont prélevées sur la même population d'un même élevage, introduites dans les erlenmeyers et laissées au repos une dizaine de minutes. Les erlenmeyers sont placés dans les mêmes conditions de lumière et d'environnement, en évitant toute possibilité d'interférences extérieures.

20

Les observations commencent dès l'instant où la pipette pasteur est introduite dans le goulot de l'erlenmeyer, à travers la gaze de protection.

25 Les résultats obtenus montrent une différence de fonctionnement des trois répulsifs à savoir :

Le répulsif au diazinon présente un effet répulsif, matérialisé par une forte agitation des mouches au bout de 3 minutes, que nous qualifions de tardif. L'effet létal intervient en 25 minutes après une longue agonie. Ce phénomène est celui qui caractérise les insecticides organophosphorés.

30

Le répulsif au mentholglycol a un effet répulsif plus rapide, dès la 1^{ère} minute. L'effet létal se manifeste entre 15 et 22 minutes, après une longue agonie qui commence dès la 4^e minute. Même si cette molécule est plus rapide que le diazinon, on ne peut manquer de noter l'analogie de leur processus d'action sur les mouches. Les mouches assommées reprennent vie au bout d'une heure ou deux.

35

Le repellent objet de l'invention a un effet répulsif instantané, dès l'introduction de la pointe de la pipette pasteur dans l'erenmeyer, avant même que la première goutte ne soit libérée. On note un effet Knock down dès la 1^{ère} minute. L'effet KO intervient de la 3^e à la 9^e minute.

5

Dans tous les cas de ces trois répulsifs, un contact direct avec le produit a foudroyé les mouches. De ce qui précède, on déduit que le repellent objet de l'invention présente un effet répulsif immédiat qui se traduit par l'agitation des mouches, les tuant définitivement, et présente donc à ce stade une plus grande efficacité que les deux autres molécules.

10

Exemple 2

Le protocole précédent est repris presque à l'identique, sauf que le mélange géraniol/tea tree est enrichi par un apport d'une deuxième huile essentielle à effet insectifuge, l'huile essentielle de lavandin ou *Lavandula x burnatii* Briquet clone Reydovan (som. fl.) Lamiacées, dans les proportions de 12,5% de géraniol, 37,5% de tea tree et 50% de lavandin, pour un ensemble de molécules principales suivant :

20

12,5% de géraniol,

15,42% de 1-terpinène-4-ol,

8.16% de γ -terpinène,

25

3,73% de α -terpinène,

1,31% de α -terpinolène,

30

2,77% de 1,8-cinéole,

0,97% de α -pinène,

1,07% de α -terpinéol,

35

0,93% de symène,

0,44% de aromadendrine,

0,38% de d-limonène,

15,07% de linalol,

5 1,51% de bornéol,

20,92% d'acétate de linalyle,

2,41% de camphre,

10

0,78% d'acétate de lavandulyle,

0,99% de β -caryophyllène,

15 0,65% de β -farnésène.

Prises individuellement, ces huiles présentent les effets suivants sur la mouche *Musca domestica* L. :

- 20
- a. le lavandin a un effet Knock down en 2 à 3 minutes, met les mouches KO en 19 minutes et les tue en 1 heure;
 - b. le tea tree a un effet Knock down plus rapide en 1 minute alors que le KO n'intervient qu'en 11 minutes et l'effet létal en 30 minutes;
 - c. le mélange à parts égales du tea tree dans le lavandin donne un effet Knock down en 1 minute, le KO en 11 minutes et l'effet létal en 1 heure. Selon le sens du mélange, l'effet synergique obtenu n'est pas le même;
 - d. le mélange à parts égales de lavandin dans le tea tree donne par contre un effet Knock down en 1 minute, le KO en 6 minutes et l'effet létal en 21 minutes. La synergie des deux huiles permet de raccourcir les délais de la mise KO et de l'effet létal.

30

Le même effet est réalisé en mélangeant à parts égales de l'huile essentielle de lavandin dans du géraniol déjà utilisé dans les formulations précédentes. Le géraniol tout seul a un effet Knock down en 12 minutes, le KO en 22 à 30 minutes et l'effet létal en 3 heures. Le mélange synergique a un effet Knock down en 1 minute, le KO en 6 minutes et l'effet létal en 30 minutes.

35

La combinaison de ces trois substances dans les proportions de 37,5 % de mole de tea tree, 12,5 % de mole de géraniol et 50 % de mole de lavandin nous apporte une synergie payante

en donnant un effet Knock down en 1 minute, le KO en 6 minutes et l'effet létal en 18 minutes. Cette amélioration est sans doute aussi due à la largeur ainsi apportée au spectre insecticide par la qualité des molécules mises ensemble.

5 Ce mélange testé sur les moustiques *Aedes aegypti* dans les conditions déjà décrites dans l'exemple 1 a eu un effet létal à 100 % dès la première heure. Avec une dilution du milieu par un facteur 3 en augmentant le volume de l'enceinte de test et en laissant une issue de sortie aux moustiques, les résultats ont été tempérés à 6 heures d'efficacité sans une seule piqûre, donc à 100%.

10

Les formules aux huiles essentielles concentrées sont beaucoup plus insecticides que celles aux alcools terpéniques aux mêmes concentrations. Diluées, les formules aux huiles essentielles perdent de l'efficacité répulsive sans doute à cause de leur niveau de volatilité qui est inférieur à celui des formules aux alcools terpéniques.

15

Toutes les huiles essentielles utilisées figurent sur la liste des substances actives notifiées dans l'annexe V.B de la Directive L 307 ou Directive 98/8/CE sur les substances biocides [Official Journal of the European Union].

20 **Exemple 3**

On procède à l'incorporation du mélange précédemment éprouvé dans une matrice polymère en polychlorure de vinyle (PVC) par compoundage, pour préfigurer l'une des utilisations du principe insectifuge objet de l'invention.

25

Le mélange est réalisé en présence des ingrédients de plastification du PVC, à chaud, dans un mélangeur rapide.

Le principe répulsif à incorporer est complété par des éléments techniques et se présente
30 comme suit :

30,2% d'huile essentielle de tea tree,

10% de géraniole,

35

40,03% d'huile essentielle de lavandin,

2,56% d'huile essentielle de pamplemousse dans le but de couvrir la forte odeur de l'huile essentielle du théier, en association avec l'huile essentielle de lavandin et de l'huile essentielle de menthe,

5 2,56% d'huile essentielle de menthe,

3% d'huile de ricin comme substance peu volatile à effet insectifuge,

9,23% d'huile de coprah comme support des huiles essentielles et véhicule dans la matrice polymère,

2,6% d'une solution de citrate trisodique.

15 Le mélange contient 13,5% de répellent et 86,5% de matrice formée de 55% de PVC et 31,5% d'ingrédients de plastification du PVC. Les mélanges peuvent être testés comme tels, mais préférentiellement transformés en lanière par extrusion ou en objets injectés.

20 La même opération est réalisée avec du mentholglycol à la place du répulsif objet de l'invention, pour obtenir dans les mêmes conditions un mélange analogue au précédent afin de produire des pièces éléments de comparaison.

On prélève 5 grammes de chaque lanière que l'on introduit dans l'erlenmeyer contenant déjà 6 mouches.

25 Les observations faites dans les différents dispositifs donnent les résultats suivants :

30 La lanière au mentholglycol provoque un phénomène d'agglutinement des mouches dès la 1^{ère} minute. Elles commencent à s'agiter à la deuxième minute pour subir un effet Knock down à la 3^e minute. La mortalité est enregistrée à partir de la 14^e minute.

La lanière au répulsif objet de l'invention provoque l'agitation des mouches, synonyme de l'effet répulsif dès la 1^{ère} minute. Le phénomène d'agglutinement n'est pas observé, alors que l'effet Knock down intervient à la 3^e minute. La mortalité commence à la 12^e minute.

35 L'adjonction des substances de fragrance ne vient pas perturber l'efficacité du répellent à l'avantage de l'objet de l'invention.

Ces observations confortent le constat fait dans le premier exemple et placent le repellent objet de l'invention en bonne position par rapport au mentholglycol. L'incorporation dans un polymère n'altère pas la qualité du repellent.

5 Exemple 4

Pour objectiver l'efficacité répulsive de la formule objet de l'invention vis-à-vis des moustiques, on réalise des tests sur *Aedes aegypti*.

- 10 Pour disposer d'éléments de comparaison, les tests sont réalisés également pour un répulsif à base d'alcools terpéniques et une référence AUTAN.

Le répulsif objet de l'invention se compose de différentes proportions de molécules actives selon les formulations (cf. tableau 1) dont les détails sur les molécules sont donnés (tableau 2) :

TABLEAU 1 : Différentes formules testées sur les moustiques (en %)

	Géraniole	Tea tree	Lavandin	Pamplemousse	Menthe 3	Huile ricin	Huile coprah	Citrate trisodique
EGIN3-041	11,75	35,25	47	3	3	--	--	--
EGIN3-042	25	75	--	--	--	--	--	--
EGIN3-043	4,17	12,52	16,68	1,065	1,065	--	64,5	--
EGIN3-051	10,28	30,85	41,13	2,63	2,63	3	9,48	--
EGIN3-054	10	30,02	40,03	2,56	2,56	3	9,23	2,6

TABLEAU 2 : Compositions des formulations testées sur les moustiques

	% de base	EGIN3-042	EGIN3-041	EGIN3-043	EGIN3-051	EGIN3-054
		à 75%	à 35,25%	à 12,52 %	à 30,85 %	à 30,02 %
TEA TREE						
1-terpinène-4-ol	40,8	30,6	14,38	5,11	12,59	12,25
γ-terpinène	21,76	16,32	7,67	2,72	6,71	6,53
α-terpinène	9,94	7,46	3,50	1,24	3,07	2,98
α-terpinolène	3,5	2,63	1,23	0,44	1,08	1,05
1,8-cinéole	2,9	2,18	1,02	0,36	0,89	0,87
α-pinène	2,58	1,94	0,91	0,32	0,80	0,77
α-terpinéol	2,55	1,91	0,90	0,32	0,79	0,77
Symène	2,47	1,85	0,87	0,31	0,76	0,74
Aromadendrène	1,18	0,89	0,42	0,15	0,36	0,35
Limonène	1,01	0,76	0,36	0,13	0,31	0,30
LAVANDIN						
Linalol	30,14		14,17	5,03	12,40	12,07
Bornéol	3,01		1,41	0,50	1,24	1,20
1-terpinène-4-ol	0,23		0,11	0,04	0,09	0,09

Acétate de linalyle	41,84	19,66	6,98	17,21	16,75
Camphre	4,81	2,26	0,80	1,98	1,93
1,8-cinéole	3,35	1,57	0,56	1,38	1,34
α-terpinéol	0,21	0,10	0,04	0,09	0,08
Acét. lavandulyle	1,56	0,73	0,26	0,64	0,62
β-caryophyllène	1,98	0,93	0,33	0,81	0,79
β-farnésène	1,29	0,61	0,22	0,53	0,52
GERANIOL	25%	11,75%	4,17%	10,28%	10%

La formule GIN2-L13444 est composée essentiellement d'alcools terpéniques. Elle sert de référence parce que ses effets sur le terrain sont connus.

Le témoin TEC est la souris qui n'est pas traitée.

5

Les tests sont menés sur souris de type « hairless » (sans poils) par le laboratoire TEC à l'ANGLET.

10 Les femelles « Bora-bora » utilisées pour les essais sont âgées de 6 à 10 jours et ont subi un jeûne préalable de 24 heures.

La souris dont les yeux sont protégés, est enduite de 0,1 gramme de produit à tester sur une zone de 5 cm x 3 cm, puis est introduite dans une cage contenant de 80 à 100 femelles de moustiques.

15

L'essai dure 10 minutes et durant ce délai, on enregistre le nombre de moustiques qui se sont posés sur la souris (effet landing), puis le nombre de piqûres effectives (sauf si inefficacité manifeste).

20 L'essai est recommencé avec de nouveaux lots de moustiques, à intervalles de temps de 2 heures jusqu'à 8, 10 ou 12 heures selon la limite de persistance des produits (la souris est libérée entre-temps).

25 Le même essai est réalisé avec des souris n'ayant pas reçu de produit afin de vérifier la tendance naturelle des moustiques à piquer.

30 Trois répétitions sont menées par formule à tester et ce sur 3 souris, soit 9 essais individuels par produit. L'essai est arrêté au bout de 5 piqûres (« stop »). Les données de landing correspondent au nombre de moustiques qui se sont posés sur la zone traitée, mais qui sont repartis sans avoir piqué.

La synthèse des résultats obtenus est présentée dans le tableau suivant :

TABLEAU 3 : Persistance de l'effet repellent en heures sur *Aedes aegypti*

Formule	<i>Aedes aegypti</i>
EGIN3-041	Entre 6 et 8 heures
EGIN3-042	Entre 6 et 8 heures
EGIN3-043	Entre 2 et 4 heures
EGIN3-051	Entre 6 et 8 heures
EGIN3-054	Entre 6 et 8 heures
GIN2-L 13444	Entre 8 et 10 heures

5

L'essai est arrêté au bout de 5 piqûres (« stop » dans le tableau des données brutes en annexe).

10 Les données du « landing » correspondent au nombre de moustiques se posant sur la zone traitée, mais qui repartent sans avoir piqué. Cette donnée peut renseigner sur la limite de persistance des produits car les moustiques s'approchent de plus en plus de la zone traitée jusqu'à ce que l'effet répulsif soit suffisant et qu'il y ait piqûre effective.

15 Les conditions de réalisation de ces tests ont été particulières, avec un volume d'expérimentation 3 fois plus grand que le volume classique, du fait de l'efficacité létale trop élevée des formules présentées qui empêchait la poursuite des tests au-delà de 1 heure.

Dans les conditions de ces essais, les formules de l'invention ont montré une efficacité répulsive jugée excellente, assurant une durée de protection entre 6 et 8 heures.

20

25

30

REVENDICATIONS

1- Composition lipophile d'actifs naturels issus de la matière végétale ayant un effet
5 insectifuge caractérisée en ce qu'elle comprend le mélange synergique d'au moins :
-un alcool terpénique,
-une huile essentielle,
-une huile non active.

10 2- Composition selon la revendication 1 caractérisée en ce que ladite au moins une
huile essentielle comprend :
-de 1,6% à 75% en poids d'huile essentielle de *Melaleuca alterniflora* (ou Tea tree) et/ou
-de 2% à 47% en poids d'huile essentielle de lavandin.

15 3- Composition selon la revendication 2 caractérisée en ce que l'huile essentielle de
Melaleuca alterniflora (ou Tea tree) comprend les molécules suivantes:
1-terpinène-4-ol, α - et γ -terpinènes, α -terpinolène, α -terpinéol, 1,8-cinéole et p-cymène.

4- Composition selon la revendication 2 caractérisée en ce que l'huile essentielle de
20 lavandin comprend les molécules suivantes :
linalol et acétate de linalyle.

5- Composition selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce que
ledit au moins un alcool terpénique comprend :
25 -de 0,75% à 2,1% en poids de Nérol et/ou
-de 0,1% à 25% en poids de Géraniol et/ou
-de 0,1% à 0,6% en poids de Tétrahydrogéraniol.

6- Composition selon les revendications 3 et 5 caractérisée en ce qu'elle comprend au
30 moins deux des molécules suivantes :
Nérol, Géraniol, Tétrahydrogéraniol, 1-terpinène-4-ol, α - et γ -terpinènes, α -terpinolène, α -
terpinéol, 1,8-cinéole, p-cymène, linalol et acétate de linalyle.

7- Composition selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce que
35 ladite au moins une huile non active comprend :
-de 0,4% à 3% en poids d'huile de ricin et/ou
-de 1% à 10% en poids d'huile végétale, liquide à la température ambiante.

8- Composition selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce qu'elle comprend 0,3 à 5 % d'au moins une des substances parfumantes suivantes:

-huile essentielle de mandarine, de pamplemousse, de menthe, de citron vert, de verveine.

5 9- Composition selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce qu'elle comprend des excipients.

10- Composition selon la revendication 9 caractérisée en ce que les excipients représentent :

10 de 86% à 95% en poids de milieu dispersant.

11- Composition selon la revendication 9 caractérisée en ce que les excipients représentent :

15 de 80% à 95% d'une huile naturelle ou une combinaison d'huiles gélifiantes, non grasses sur les surfaces.

12- Composition selon la revendication 9 caractérisée en ce que les excipients représentent :

20 de 75% à 86,3% en poids d'un polymère servant de matrice.

13- Composition selon l'une des revendications précédentes caractérisée en ce qu'elle présente un effet insectifuge sur les trois genres de moustiques :

-Culex

-Aedes

25 -Anophèles

14- Procédé de fabrication de la composition selon la revendication 2 caractérisée en ce que le mélange synergique est obtenu par addition d'huile de lavandin dans l'huile de *Melaleuca alterniflora* (ou Tea tree).

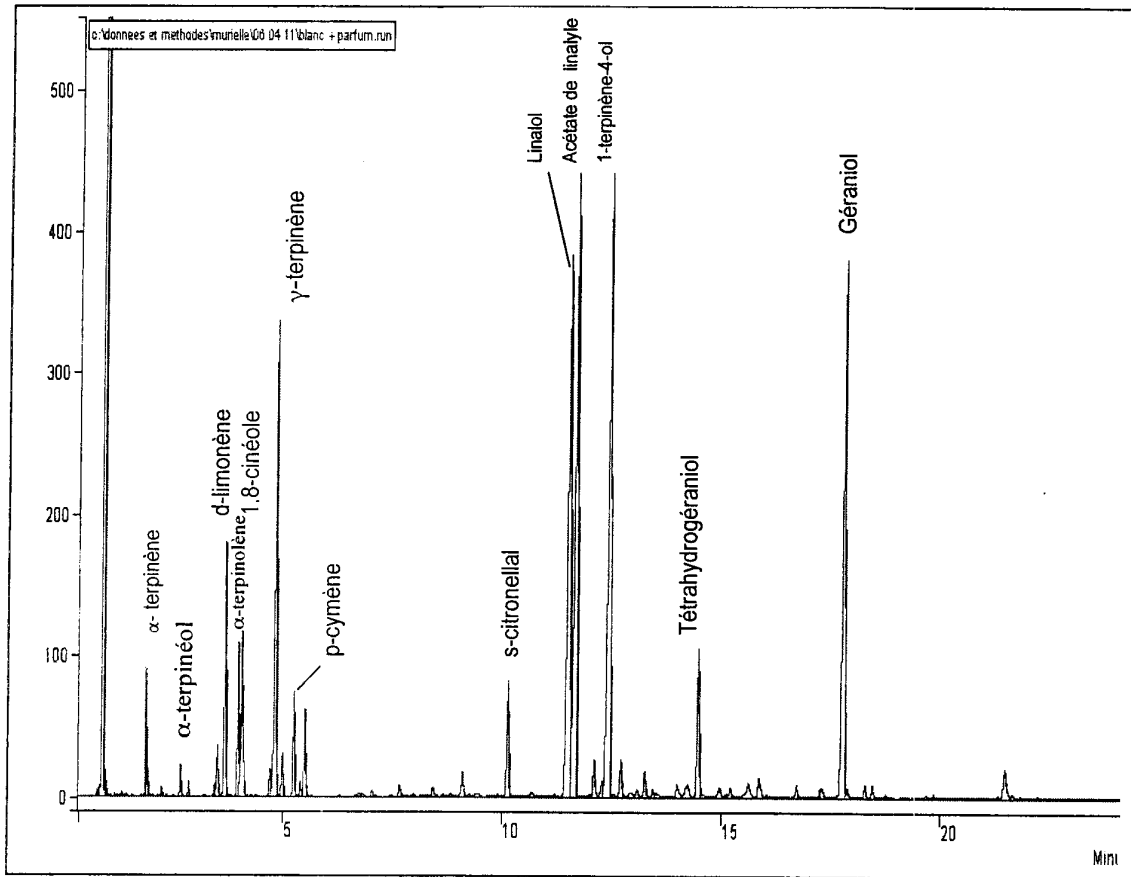


FIG. 1

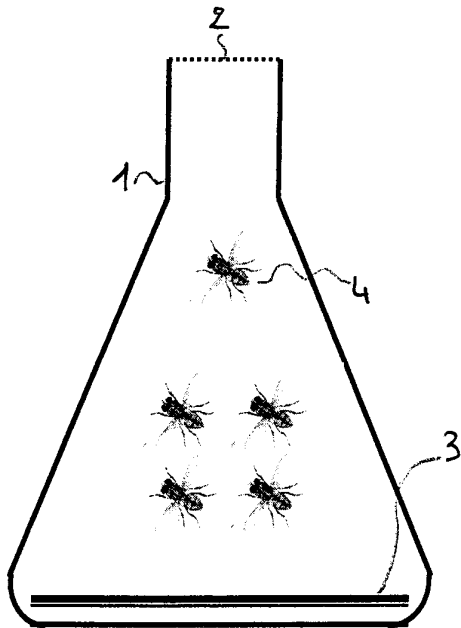


FIG. 2

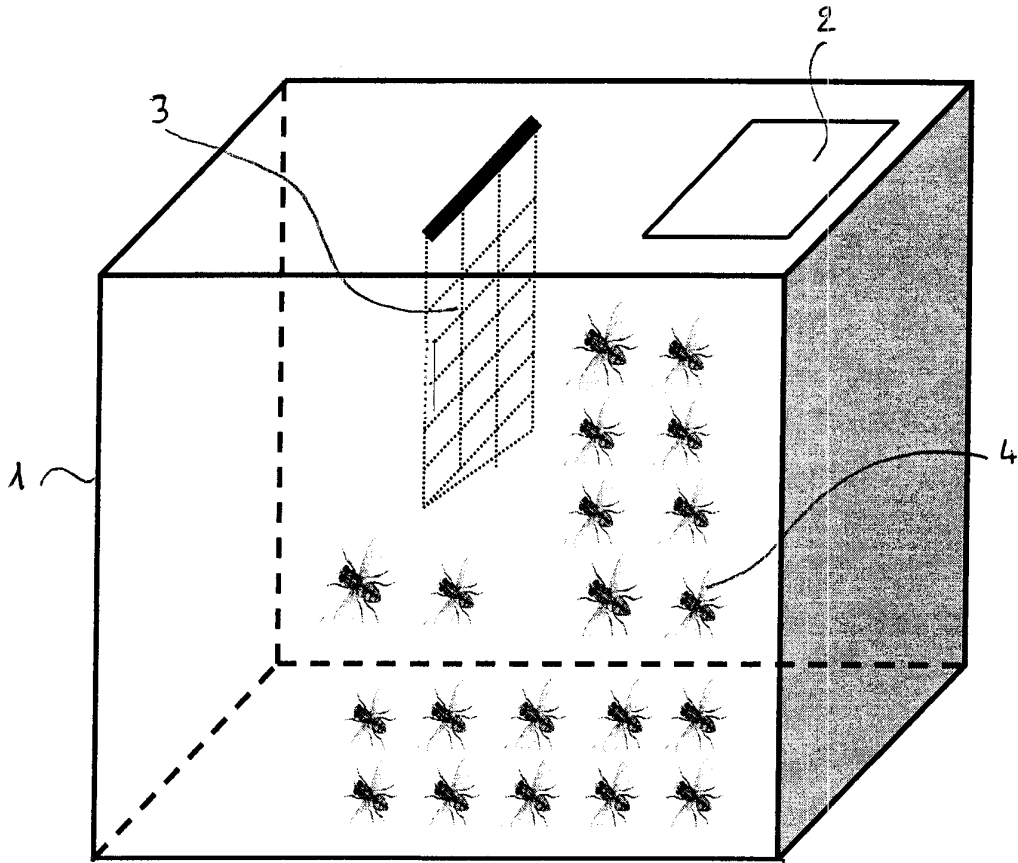


FIG. 3



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 684351
FR 0608554

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 2004/082358 A (CAMPRASSE GEORGES [FR]; CAMPRASSE SERGE [FR]) 30 septembre 2004 (2004-09-30) * page 13, ligne 24 - page 16, ligne 30 * -----	1-14	A01N31/02 A01N27/00 A01P17/00
X	EP 1 048 293 A (UNIV LONDON PHARMACY [GB]) 2 novembre 2000 (2000-11-02) le document entier -----	1-14	
X	WO 00/00213 A1 (ARBOR VIDA NATURAL PRODUCTS [US]; WOLFF RICKI DE [US]) 6 janvier 2000 (2000-01-06) le document entier * page 2, ligne 26 - page 5, ligne 11 * * page 5, ligne 23 - page 6, ligne 2 * * page 9, ligne 21 - ligne 30 * -----	1-14	
X	WO 2004/100971 A (UNIV VANDERBILT [US]; ENAN ESSAM [US]) 25 novembre 2004 (2004-11-25) le document entier -----	1,5-14	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	US 2003/175369 A1 (KHAZAN-ENACHE DONNA [US]) 18 septembre 2003 (2003-09-18) * exemples 1,2 * -----	1,5-14	A01N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
8 mai 2007		Fort, Marianne	
<p>CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p>		<p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0608554 FA 684351**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 08-05-2007

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2004082358 A	30-09-2004	EP 1606036 A2 FR 2852204 A1	21-12-2005 17-09-2004
EP 1048293 A	02-11-2000	AUCUN	
WO 0000213 A1	06-01-2000	AU 4727999 A	17-01-2000
WO 2004100971 A	25-11-2004	AU 2004238220 A1 BR P10410491 A CA 2523489 A1 EP 1624881 A1 JP 2007502860 T	25-11-2004 13-06-2006 25-11-2004 15-02-2006 15-02-2007
US 2003175369 A1	18-09-2003	AUCUN	