

Resumen

Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) es un mosquito transmisor de enfermedades virales provocadas por arbovirus: Dengue, Chikungunya y Fiebre Amarilla. Una alternativa para evitar la infección, es el uso de repelentes. La *N,N*-dietil-m-toluamida (DEET) es el repelente sintético más utilizado debido a su gran efectividad; sin embargo, se le han atribuido efectos colaterales. Debido a estos problemas, resulta de interés el uso de formulaciones basadas en componentes de origen natural. Se ha demostrado que los aceites esenciales (AE) de *Eucalyptus* y sus componentes presentan actividad repelente contra un gran número de insectos, incluidos los mosquitos. La hibridación interespecífica de *Eucalyptus* es una estrategia que permite modular la composición química de los terpenos presentes en los AE. La modificación de la composición química de las especies híbridas, en comparación a las especies parentales, permite obtener aceites esenciales enriquecidos en ciertos componentes con mayor actividad biológica.

Los AE de *Eucalyptus grandis*, *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. badjensis*, *E. nitens* y sus híbridos se analizaron mediante cromatografía GC-MS en columnas polares y no polares para conocer su composición química. Además, se evaluó la modificación del perfil de los terpenos en las especies híbridas en comparación a las parentales. El 1,8-cineol o eucaliptol, un monoterpeno oxigenado, es uno de los principales componentes de los aceites esenciales de *Eucalyptus*. Las especies híbridas se enriquecen en este componente, en comparación a las especies parentales. Muchos de los componentes presentes en las especies parentales, no se observan en los híbridos. En ningún caso se observó en los híbridos componentes que no aparecen en las especies parentales, es decir, que no se biosintetizan terpenos nuevos. El híbrido *E. badjensis* x *E. nitens* es el único que contiene sesquiterpenos.

Los AE se analizaron mediante cromatografía GC-MS en columnas quirales para conocer la composición enantiomérica de los principales monoterpenos. Los AE

son mezclas complejas de componentes con estructuras químicas muy similares. Es por esto que muchas veces suelen producirse coeluciones entre compuestos en los análisis cromatográficos con columnas convencionales y en fases estacionarias quirales también. Una de las columnas quirales más utilizada para el análisis de volátiles y terpenos se basa en ciclodextrinas permetiladas. El uso de una única columna quiral no logró resolver todos los enantiómeros de los AE. Un ejemplo de esto es el (R)-(+)-limoneno, que se superpone con el 1,8-cineol. Con el objetivo de separar los compuestos que coeluyen, se diseñó un sistema cromatográfico que consiste en dos columnas cromatográficas conectadas en serie: como fase inicial se utilizó DB-WAX y como segunda, la fase quiral. Este sistema logró resolver ambos enantiómeros de limoneno, aunque uno de ellos se solapaba parcialmente con el 1,8-cineol. En base a estos resultados se optó por utilizar un método de prefraccionamiento de la muestra: Cromatografía Líquida de Alta Performance o HPLC. Para el análisis de los enantiómeros del limoneno y β -pineno se requirió un fraccionamiento previo por HPLC en escala semipreparativa. El (R)-(+)- α -pineno predomina en todos los AE con excesos enantioméricos (EE) entre 73-89%, excepto para *E. tereticornis*, *E. camaldulensis* y *E. nitens* que presentan valores entre 47-56%. El (R)-(+)-limoneno predomina en todos los AE, con gran variabilidad entre las especies de *Eucalyptus*. Para los alcoholes monoterpénicos, (\pm)- α -terpineol, (\pm)-4-terpineol y (\pm)-borneol, se observaron marcadas diferencias en la proporción de enantiómeros entre los AE, e inclusive cual de los enantiómeros es el predominante.

Se evaluó el efecto repelente de los aceites esenciales siguiendo las normativas propuestas por la Organización Mundial de la Salud. La efectividad se determina midiendo el tiempo de protección total de soluciones de aceite esencial al 20% p/v. Los aceites esenciales presentan actividad repelente, aunque en la mayoría de ellos la duración de la actividad es baja en comparación a la DEET, el activo más utilizado en la actualidad. Los monoterpenos son componentes muy volátiles e inducen una respuesta de repelencia en el mosquito *Aedes albopictus* al inicio de la aplicación. Sin embargo, al transcurrir el tiempo, los monoterpenos pierden

efectividad debido a su volatilización. Se observó además diferente respuesta comportamental frente a los enantiómeros de un monoterpeno. El (R)-(+)- α -pineno fue efectivo hasta 20 minutos posteriores a su aplicación, mientras que el (S)-(-)- α -pineno no presentó actividad repelente. El aceite esencial de *E. nitens* fue uno de los más efectivos como repelente frente a *Aedes albopictus*. Esto puede ser explicado por la presencia de componentes de menor volatilidad y mayor peso molecular: sesquiterpenos y β -tricetonas cíclicas. La cromatografía gaseosa acoplada a detección electroantenográfica permite evaluar la respuesta de un componente volátil sobre la antena de un insecto. Los componentes que son activos inducen una despolarización en el axón, que se expresa como una disminución en el potencial registrado. En los ensayos con aceites esenciales, el (R)-(+)- α -pineno elicó una señal en la antena del insecto, pero no así el (S)-(-)- α -pineno. Esto explica la falta de respuesta comportamental en los ensayos de repelencia frente a este compuesto. Estas observaciones resultan muy interesantes para futuras investigaciones. Basándose en estos hallazgos, las formulaciones pueden ser mejoradas con el agregado de aditivos que prolonguen la efectividad del producto repelente.