

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 496 940**

51 Int. Cl.:

C07H 17/08 (2006.01)

C12P 19/62 (2006.01)

A01N 45/02 (2006.01)

A01N 63/00 (2006.01)

A01N 63/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.03.2002 E 02719327 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 1373290**

54 Título: **Derivados plaguicidas de las espinosinas**

30 Prioridad:

21.03.2001 US 277601 P

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

22.09.2014

73 Titular/es:

**DOW AGROSCIENCES, LLC (100.0%)
9330 Zionsville Road
Indianapolis, Indiana 46268, US**

72 Inventor/es:

**HAHN, DONALD R.;
BALCER, JESSE L.;
LEWER, PAUL;
GILBERT, JEFFREY R. y
GRAUPNER, PAUL R.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 496 940 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

Derivados plaguicidas de las espinosinas

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a un nuevo grupo de análogos de productos plaguicidas naturales, y a nuevos mutantes de una especie de *Saccharopolyspora* que produce los compuestos.

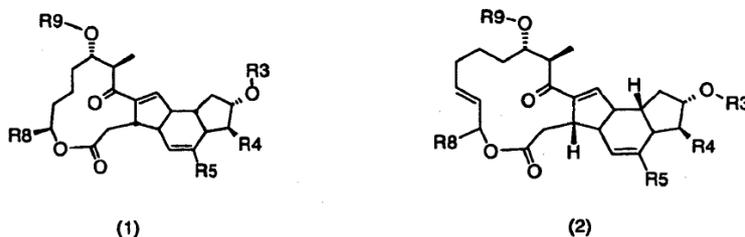
Antecedentes de la invención

Los compuestos tipo espinosinas producidos en la naturaleza constan de un sistema de anillos 5,6,5-tricíclicos, condensado con una lactona macrocíclica de 12 ó 14 miembros. Las espinosinas están típicamente sustituidas con un azúcar neutro (ramnosa) en la posición C-9 y un segundo azúcar, preferiblemente amino-sustituido (por ej., forosamina) (véase Kirst et al., 1991; Lewer et al., 2000), pero también neutro (véase Lewer et al., 2000) en la posición C-17. Si el segundo azúcar no está presente, a los compuestos se los ha denominado como la pseudoaglicona, o si el azúcar neutro (ramnosa) no está presente, entonces a los compuestos se los ha denominado como la pseudoaglicona inversa. Se conocen dos clases distintas de espinosinas: las espinosinas y las butenil-espinosinas. Estas dos clases de espinosinas difieren en la sustitución de la cola de átomos de carbono unida al anillo macrocíclico en la posición C-21. Las espinosinas naturales, que se describen en la Patente de EE.UU. No. 5.362.634, están sustituidas con un grupo metilo o etilo en la posición C-21, mientras que las butenil-espinosinas naturales, que se describen en el documento WO 01/19840, están sustituidas con una cadena de 2-4 átomos de carbono en la posición C-21, con varios grados de oxidación.

Las espinosinas (A83543) son producidas por derivados de *Saccharopolyspora spinosa* NRRL18395 que incluyen las cepas NRRL 18537, 18538, 18539, 18719, 18720, 18743 y 18823 y sus derivados. Una nomenclatura más preferida para las espinosinas es referirse a las pseudoagliconas como espinosina A 17-Psa, espinosina D 17-Psa, etc., y a las pseudoagliconas inversas como espinosina A 9-Psa, espinosina D 9-Psa, etc. (véase Kirst et al., 1991). A los miembros conocidos de esta familia se les ha denominado factores o componentes, y a cada uno se le ha dado una designación de letras identificadoras. De aquí en adelante, en la presente memoria a estos compuestos se les denominará como espinosina A, B, etc. Los compuestos tipo espinosinas son útiles para el control de arácnidos, nemátodos e insectos, en particular de las especies *Lepidoptera* y *Diptera*, y son bastante medioambientalmente amigables y tienen un perfil toxicológico atractivo.

La patente de EE.UU. No. 5.362.634 y la correspondiente Solicitud de Patente Europea No. 375316 A1 describen espinosinas A, B, C, D, E, F, G, H y J. El documento WO 93/09126 describe espinosinas L, M, N, Q, R, S y T. Los documentos WO 94/20518 y US 5.670.486 describen espinosinas K, O, P, U, V, W e Y, y sus derivados. Se han realizado un gran número de modificaciones sintéticas a los compuestos tipo espinosinas, como se describe en la patente de EE.UU. No. 6.001.981 y en el documento WO 97/00265.

Más recientemente, se ha aislado una nueva familia de macrólidos relacionados a partir de *Saccharopolyspora* sp. LW107129 (NRRL 30141) como se describe en el documento WO 01/19840.



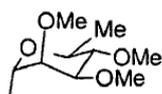
35

Tabla I

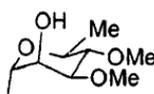
Compuesto nº	Nombre	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
1	for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9a)
2	N-oxi-for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9b)
3	N-demetil for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9c)
4	2"-hidroxi-for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9d)

Compuesto nº	Nombre	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
5	For-(2'-O-demetil ram)-I	(1)	(3b)	H	H	1-butenil	(9a)
6	For-(3'-O-demetil ram)-I	(1)	(3c)	H	H	1-butenil	(9a)
7	for-ram-II	(1)	(3a)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
8	for-ram-III	(1)	(3a)	OH	H	1-butenil	(9a)
9	24-hidroxi-for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
10	24-hidroxi-N-demetilfor-ram-I	(1)	(3a)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
11	24,25-dehidro-for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
12	ami-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9e)
13	3"-O-metil-glu-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9f)
14	ami-ram-III	(1)	(3a)	OH	H	1-butenil	(9e)
15	mol-ram-III	(1)	(3a)	OH	H	1-butenil	(9g)
16	24-demetil-for-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-propenil	(9a)
17	ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	H
18	ram-II	(1)	(3a)	H	CH ₃	1-butenil	H
19	ram-III	(1)	(3a)	OH	H	1-butenil	H
20	24-hidroxi-ram-I	(1)	(3a)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
21	24-hidroxi-ram-III	(1)	(3a)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
22	24,25-dehidro-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1,3-butadienil	H
23	22,23-dihidro-ram-I	(1)	(3a)	H	H	n-butil	H
24	(4'-N-demetil-1",4"-diepi-for)-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9h)
25	5"-epifor-ram-I	(1)	(3a)	H	H	1-butenil	(9i)
26	24,25-dehidro-for-ram-III	(1)	(3a)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
27	8-OH-for-ram-II	(1)	(3a)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
28	24-demetil-for-ram-III	(1)	(3a)	OH	H	1-propenil	(9a)
29	2'-O-demetil ram-I	(1)	(3b)	H	H	1-butenil	H
30	3'-O-demetil ram-I	(1)	(3c)	H	H	1-butenil	H
31	For-ram-IV	(2)	(3a)	H	H	etil	(9a)

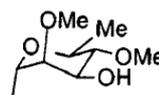
*R³ es un grupo que tiene una de las siguientes fórmulas (3a) a (3c)



(3a)

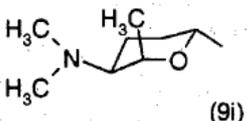
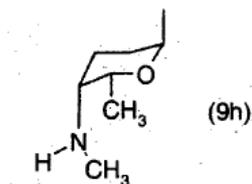
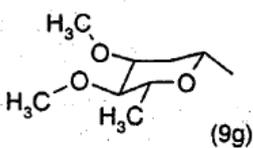
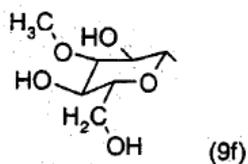
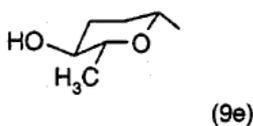
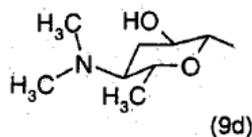
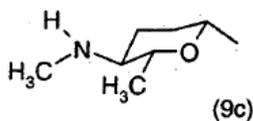
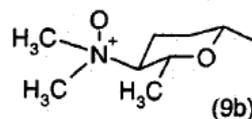
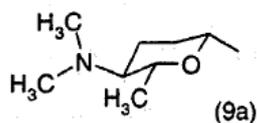


(3b)



(3c)

**R⁹ es un grupo que tiene una de las siguientes fórmulas (9a) a (9i)



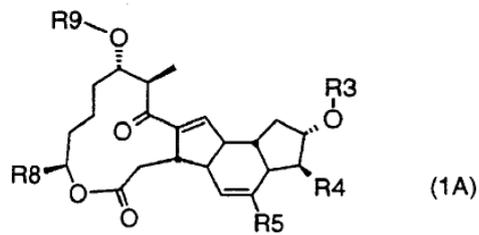
Las butenil-epinosinas se nombran en la tabla I y de aquí en adelante en la presente memoria se las denominará por los acrónimos estructurales "for-ram-I", "for-ram-II", "for-ram-III" y sus derivados. En estos casos I, II y III se refieren a la estructura de macrólido apropiadamente sustituida (I: $R^4 = R^5 = H$; II: $R^5 = CH_3$, $R^4 = H$ u OH ; III: $R^5 = H$, $R^4 = OH$), "for" representa el azúcar en la posición C-17 (for = forosamina), y "ram" representa el azúcar en la posición C-9 (ram = tri-O-metilramnosa). Un segundo tipo de estructura tipo macrólido que es producida por la cepa NRRL 30141, con la fórmula general (2) que tiene un anillo macrólido de 14 miembros, es denominada de aquí en adelante en la presente memoria como IV y al compuesto completamente glicosilado como "for-ram-IV". Los compuestos tipo butenil-epinosinas de las fórmulas (1) y (2) son útiles para el control de arácnidos, nemátodos e insectos, en particular de las especies *Lepidoptera* y *Diptera*, y son bastante medioambientalmente amigables y tienen un perfil toxicológico atractivo.

Las butenil-epinosinas exhiben varias variaciones de la serie de las epinosinas que incluyen modificaciones extensas en la posición C-21, hidroxilación en la posición C-8 y sustitución de azúcares alternativos, que incluyen azúcares neutros, de la forosamina en la posición C-17. Además, el compuesto (31) posee un sistema de anillos 5,6,5-tricíclico, condensado con un anillo macrocíclico de 14 miembros con forosamina y ramnosa unidas en las posiciones C-17 y C-9.

15 Sumario de la invención

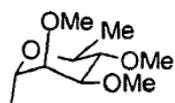
La presente invención proporciona nuevas cepas aisladas de *Saccharopolyspora* sp., designadas 30141.2, 30141.3, 30141.4, 30141.5, 30141.8 y 30141.13.

La invención también proporciona una nueva serie de compuestos tipo butenil-epinosinas que pueden producirse cultivando estas cepas en medios adecuados, y que tienen la siguiente fórmula general (1A):

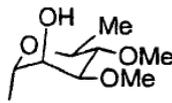


En la que:

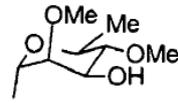
R³ es un grupo seleccionado de



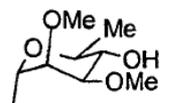
(3a)



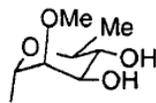
(3b)



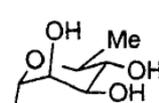
(3c)



(3d)

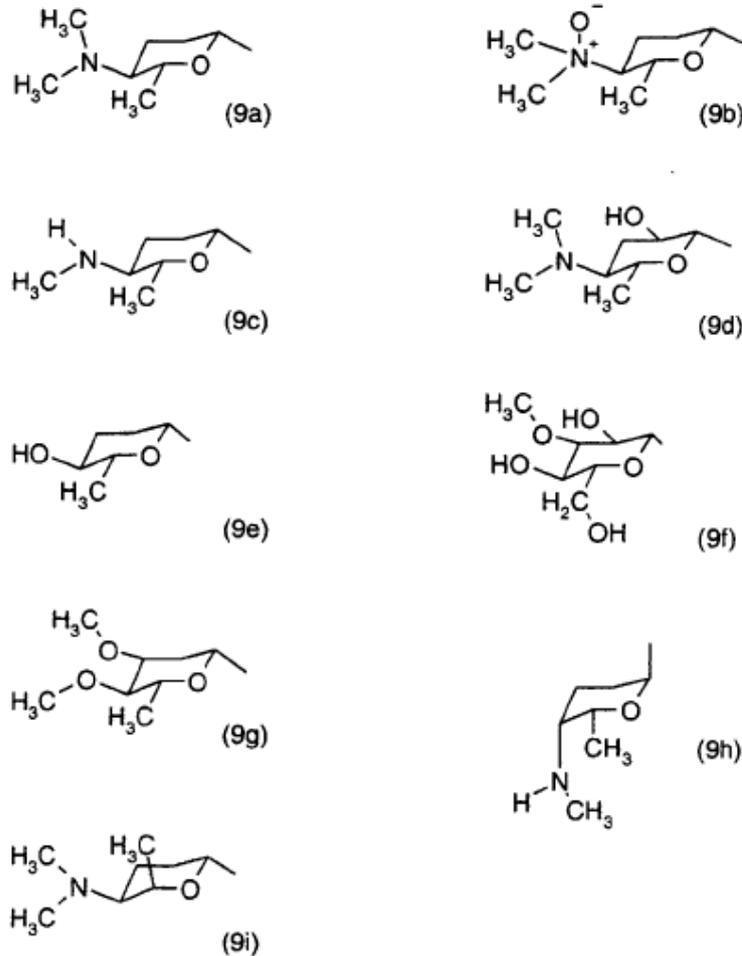


(3e)



(3f)

- 5 R⁴ es un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo,
 R⁵ es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,
 R⁸ es 1-butenilo, 1,3-butadienilo, n-butilo, 3-hidroxi-1-butenilo, butan-3-ona, 1,2-epoxi-butilo o 1-propenilo, y
 R⁹ es un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de

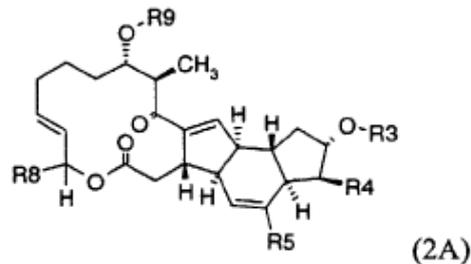


Siempre que:

- a) Si R^3 es un grupo de fórmula (3b) o (3c), R^4 y R^5 son H, y R^8 es 1-butenilo, entonces R^9 no es ni H ni un grupo de fórmula (9a); y
- 5 b) Si R^3 es un grupo de fórmula (3a), entonces R^4 y R^5 son H, R^8 es 1-propenilo, y R^9 es H.

Con la condición de que a) excluya los compuestos conocidos 6 y 30. Con la condición de que b) excluya los compuestos conocidos en los que R^3 es un grupo de fórmula (3a).

La invención también proporciona nuevos compuestos de la siguiente fórmula general (2A), los cuales también pueden producirse cultivando las nuevas cepas aisladas de la invención:



10

En la que R^3 , R^4 , R^5 , R^8 , R^9 son como se definieron para la fórmula (1A).

En la tabla II se identifican nuevos compuestos específicos de las fórmulas (1A) y (2A) que han sido preparados y aislados cultivando las cepas de *Saccharopolyspora* sp. mutantes anteriormente identificadas.

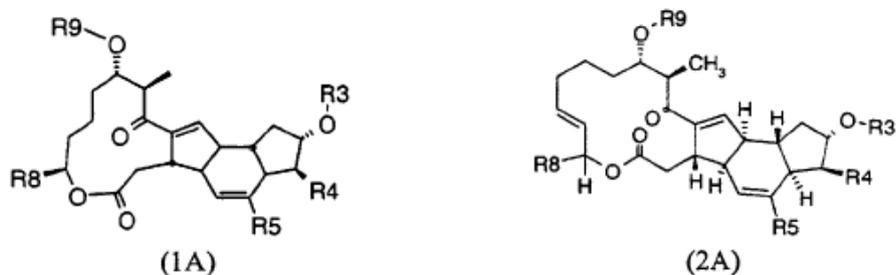


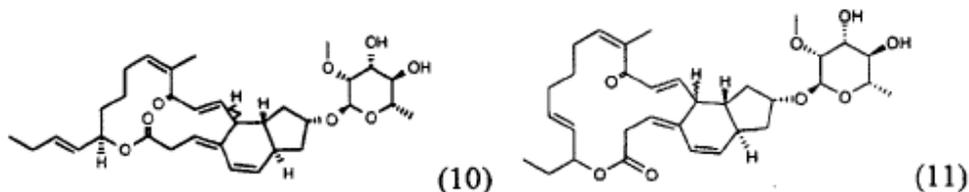
Tabla II

Compuesto nº	Nombre	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
5	For-(2'-O-demetil ram)-I	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9a)
6	For-(3'-O-demetil ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9a)
32	For-(4'-O-demetil ram)-I	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9a)
33	For-(2', 3', 4'-tri-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9a)
34	For-(4'-O-demetil ram)-III	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	(9a)
35	(4"-N-demetil-for)- (4'-O-demetil ram)-I	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9c)
36	For-(4'-O-demetil ram)-II	(1A)	(3d)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
37	For-(3',4'-di-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9a)
38	24-demetil-ram-I	(1A)	(3a)	H	H	1-propenil	H
39	(4'-O-demetil ram)-I	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	H
40	For-(3',4'-di-O-demetil-ram)-III	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	(9a)
41	For-(3'-O-demetil ram)-III	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9a)
42	(N-oxi-for)-(3',4'-di-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9b)
43	24-demetil-for-(3',4'-di-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3e)	H	H	1-propenil	(9a)
44	for-(3',4'-di-O-demetil-ram)-II	(1A)	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
137	(4"-N-demetil-for)- (3'-O-demetil ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9c)
76	for-(3',4'-di-O-demetil-ram)-II	(1A)	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
141	24-hidroxi-for-(3'-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
143	24,25-dehidro-for-(3'-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
148	24-demetil-for-(3'-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	1-propenil	(9a)
161	for-(3'-O-demetil-ram)-IV	(2A)	(3c)	H	H	etil	(9a)
163	for-(3',4'-di-O-demetil-ram)-IV	(2A)	(3e)	H	H	etil	(9a)
165	24-ceto-22,23-dihidro-for-(3'-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	butan-3-ona	(9a)
166	22,23-epoxi-for-(3'-O-demetil-ram)-I	(1A)	(3c)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)

5 * Las fórmulas (3a)-(3f) son como se definieron anteriormente.

** Las fórmulas (9a)-(9i) son como se definieron anteriormente.

También se aislaron dos compuestos adicionales con un puentado alterado del anillo macrocíclico. Estos dos compuestos tenían las siguientes estructuras (10) y (11).



5 Excepto para los compuestos 5 y 6, todos los componentes listados en la tabla II son estructuralmente distintos de las espinosinas o butenil-espinosinas previamente conocidas. Además, aunque los compuestos 5 y 6 de la tabla I son producidos por la cepa NRRL 30141, son producidos en tan pequeñas cantidades por esa cepa que el aislamiento es difícil y el uso de estos compuestos estaba hasta ahora muy restringido. Las nuevas cepas descritas en esta solicitud producen estos compuestos en cantidades fácilmente aislables por métodos descritos en la presente memoria.

10 La cepa 30141.2 produce como productos principales los compuestos 5 y 33. La cepa 30141.3 produce como productos principales los compuestos 6, 37, 42, 43 y 44. La cepa 30141.4 produce como productos principales los compuestos 17, 32, 34, 35, 36 y 39. La cepa 30141.5 produce como productos principales los compuestos 6, 8, 40 y 41. La cepa 30141.8 produce como productos principales los compuestos 6, 37, 44, 76, 137, 141, 143, 148, 161, 163, 165 y 166. La cepa 30141.13 produce como productos principales los compuestos 17 y 38.

15 Las cepas 30141.2, 30141.3 y 30141.4 fabrican entre ellas como productos principales derivados de butenil-espinosinas (1) los cuales están O-demetilados en el resto tri-O-metil-ramnosa en la posición 2' o en la posición 3' o en la posición 4', o en combinaciones tales como las posiciones 3'+4' ó 2'+3'+4'. Éstos son ejemplificados mediante los compuestos 5, 6, 32, 37 y 33, respectivamente. Los productos minoritarios producidos mediante estas nuevas cepas incluyen similarmente derivados demetilados en combinación con otras modificaciones estructurales presentes en metabolitos de la cepa padre 30141, como se ejemplifica mediante los compuestos 34 (4'-O-demetil, 8-hidroxi), 35 (4'-O-demetil, 4"-N-demetil), 36 (4'-O-demetil, 6-metil), 43 (3', 4'-di-O-demetil, 24-demetil), etc. Así, los expertos en la técnica esperarían que estas cepas produjeran todos los metabolitos presentes en la cepa padre NRRL 30141 modificada con cada uno de los nuevos patrones de demetilación de ramnosa descritos en la presente memoria, en todas las combinaciones.

25 Tales metabolitos pueden obtenerse realizando el aislamiento con extractos de lotes más grandes de caldo de cultivo. Por consiguiente, los siguientes compuestos adicionales son obtenibles a partir de las cepas mutantes de la presente invención:

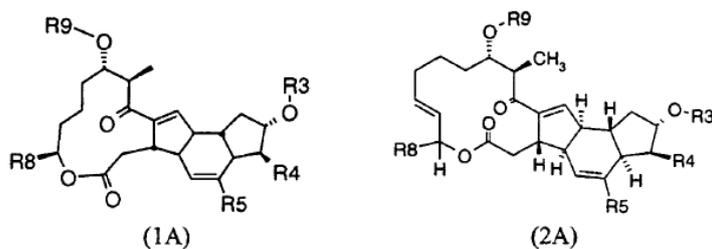


Tabla III

Compuesto nº	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
45	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9c)
46	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9d)
47	(1A)	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
48	(1A)	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
49	(1A)	(3d)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
50	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9e)

ES 2 496 940 T3

Compuesto nº	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
51	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9f)
52	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	(9e)
53	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	(9g)
54	(1A)	(3d)	H	H	1-propenil	(9a)
55	(1A)	(3d)	H	CH ₃	1-butenil	H
56	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	H
57	(1A)	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
58	(1A)	(3d)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
59	(1A)	(3d)	H	H	1,3-butadienil	H
60	(1A)	(3d)	H	H	n-butil	H
61	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9h)
62	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9i)
63	(1A)	(3d)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
64	(1A)	(3d)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
65	(1A)	(3d)	OH	H	1-propenil	(9a)
66	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9c)
67	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9d)
68	(1A)	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
69	(1A)	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
70	(1A)	(3e)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
71	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9e)
72	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9f)
73	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	(9e)
74	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	(9g)
75	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	H
76	(1A)	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	H
77	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	H
78	(1A)	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
79	(1A)	(3e)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
80	(1A)	(3e)	H	H	1,3-butadienil	H
81	(1A)	(3e)	H	H	n-butil	H
82	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9h)
83	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9i)
84	(1A)	(3e)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
85	(1A)	(3e)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
86	(1A)	(3e)	OH	H	1-propenil	(9a)

ES 2 496 940 T3

Compuesto nº	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
87	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9b)
88	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9c)
89	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9d)
90	(1A)	(3f)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
91	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	(9a)
92	(1A)	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
93	(1A)	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
94	(1A)	(3f)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
95	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9e)
96	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9f)
97	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	(9e)
98	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	(9g)
99	(1A)	(3f)	H	H	1-propenil	(9a)
100	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	H
101	(1A)	(3f)	H	CH ₃	1-butenil	H
102	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	H
103	(1A)	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
104	(1A)	(3f)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
105	(1A)	(3f)	H	H	1,3-butadienil	H
106	(1A)	(3f)	H	H	n-butil	H
107	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9h)
108	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9i)
109	(1A)	(3f)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
110	(1A)	(3f)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
111	(1A)	(3f)	OH	H	1-propenil	(9a)
112	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9b)
113	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9c)
114	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9d)
115	(1A)	(3b)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
116	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	(9a)
117	(1A)	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
118	(1A)	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
119	(1A)	(3b)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
120	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9e)
121	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9f)
122	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	(9e)

ES 2 496 940 T3

Compuesto nº	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
123	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	(9g)
124	(1A)	(3b)	H	H	1-propenil	(9a)
125	(1A)	(3b)	H	CH ₃	1-butenil	H
126	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	H
127	(1A)	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
128	(1A)	(3b)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
129	(1A)	(3b)	H	H	1,3-butadienil	H
130	(1A)	(3b)	H	H	n-butil	H
131	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9h)
132	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9i)
133	(1A)	(3b)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
134	(1A)	(3b)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
135	(1A)	(3b)	OH	H	1-propenil	(9a)
136	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9b)
137	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9c)
138	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9d)
139	(1A)	(3c)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
140	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9a)
141	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
142	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
143	(1A)	(3c)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
144	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9e)
145	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9f)
146	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9e)
147	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9g)
148	(1A)	(3c)	H	H	1-propenil	(9a)
149	(1A)	(3c)	H	CH ₃	1-butenil	H
150	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	H
151	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
152	(1A)	(3c)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
153	(1A)	(3c)	H	H	1,3-butadienil	H
154	(1A)	(3c)	H	H	n-butil	H
155	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9h)
156	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9i)
157	(1A)	(3c)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
158	(1A)	(3c)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)

Compuesto n°	Fórmula	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
159	(1A)	(3c)	OH	H	1-propenil	(9a)
167	(1A)	(3d)	H	H	butan-3-ona	(9a)
168	(1A)	(3d)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
169	(1A)	(3e)	H	H	butan-3-ona	(9a)
170	(1A)	(3e)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
171	(1A)	(3e)	H	H	butan-3-ona	(9a)
172	(1A)	(3e)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
173	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9a)
174	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)

* Las fórmulas (3a)-(3f) son como se definieron anteriormente.

** Las fórmulas (9a)-(9i) son como se definieron anteriormente.

5 El escalado de la cepa 30141.8 permitió el aislamiento de varios nuevos derivados de butenil-espinosinas (1) con nueva sustitución en la posición C-21 como se ejemplifica mediante los compuestos 165 (24-ceto-22-23-dihidro-for-(3'-O-demetil-ram)-I) y 166 (22-23-epoxi-for-(3'-O-demetil-ram)-I). Por tanto, los expertos en la técnica esperarían que la cepa padre produjera todos los metabolitos presentes en la cepa padre NRRL 30141 modificados con cada uno de los nuevos patrones de modificación en la posición C-21 descritos en la presente memoria, en todas las combinaciones (tabla IIIb). Tales metabolitos pueden obtenerse realizando el aislamiento con extractos de lotes más grandes de caldo de cultivo.

Tabla IIIb

Compuesto n°	Fórmula [†]	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
175	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9a)
176	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
177	(1A)	(3a)	OH	H	butan-3-ona	(9a)
178	(1A)	(3a)	OH	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
179	(1A)	(3a)	H	CH ₃	butan-3-ona	(9a)
180	(1A)	(3a)	H	CH ₃	1,2-epoxi-butil	(9a)
181	(1A)	(3a)	OH	CH ₃	butan-3-ona	(9a)
182	(1A)	(3a)	OH	CH ₃	1,2-epoxi-butil	(9a)
183	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9b)
184	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9c)
185	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9d)
186	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9e)
187	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9f)
188	(1A)	(3a)	OH	H	butan-3-ona	(9e)
189	(1A)	(3a)	OH	H	butan-3-ona	(9g)
190	(1A)	(3a)	H	CH ₃	butan-3-ona	H
191	(1A)	(3a)	OH	H	butan-3-ona	H
192	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9h)
193	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9i)

Compuesto nº	Fórmula [†]	R ^{3*}	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ^{9**}
194	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9b)
195	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9c)
196	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9d)
197	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9e)
199	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9f)
200	(1A)	(3a)	OH	H	1,2-epoxi-butil	(9e)
201	(1A)	(3a)	OH	H	1,2-epoxi-butil	(9g)
202	(1A)	(3a)	H	CH ₃	1,2-epoxi-butil	H
203	(1A)	(3a)	OH	H	1,2-epoxi-butil	H
204	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9h)
205	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9i)
206	(1A)	H	H	H	butan-3-ona	(9a)
207	(1A)	H	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)

† La fórmula 1A es como se definió anteriormente.

* Las fórmulas (3a)-(3f) son como se definieron anteriormente.

** Las fórmulas (9a)-(9i) son como se definieron anteriormente.

5 Otro aspecto de esta invención es un procedimiento para producir compuestos de fórmula (1A), el cual comprende cultivar una cepa de *Saccharopolyspora* sp., seleccionada de las cepas 30141.2, 30141.3, 30141.4, 30141.5, 30141.8, y 30141.13 en un medio adecuado para producir los compuestos deseados. Los compuestos de fórmula (1A) son extraídos del caldo de fermentación y del micelio con disolventes orgánicos polares. Los compuestos pueden además purificarse mediante técnicas bien conocidas en la técnica, tales como cromatografía en columna.

10 Debido a que las cepas 30141.2, 30141.3, 30141.4, 30141.5, 30141.8 y 30141.13 son cepas recién descubiertas, esta invención proporciona además un cultivo biológicamente purificado de estos microorganismos. Estas nuevas cepas se depositaron según los términos del tratado de Budapest en el Midwest Area Regional Research Center, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 818 North University Street, Peoria, IL 61604, en las fechas indicadas en la siguiente tabla.

Cepa	Número de depósito	Fecha de depósito
30141.2	NRRL 30424	8 de marzo de 2001
30141.3	NRRL 30423	8 de marzo de 2001
30141.4	NRRL 30422	8 de marzo de 2001
30141.5	NRRL 30438	15 de marzo de 2001
30141.8	NRRL 30421	8 de marzo de 2001
30141.13	NRRL 30437	15 de marzo de 2001

15 Los compuestos de fórmula (1A) en la que R⁹ es diferente de H, de aquí en adelante denominados en la presente memoria compuestos de fórmula 1B, son útiles para el control de ácaros e insectos, particularmente de las especies *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Homoptera* y *Diptera*. Por lo tanto, las composiciones insecticidas y acaricidas y los métodos para reducir las poblaciones de insectos y ácaros usando estos compuestos también son parte de esta invención.

20 Los compuestos de fórmula (1A) también son útiles como compuestos intermedios en la preparación de compuestos insecticidas y acaricidas. Por ejemplo, estos compuestos pueden ser alquilados o acilados en cualquier grupo hidroxilo libre de ramnosa. La alquilación o acilación pueden llevarse a cabo por síntesis química o por bioconversión microbiana, usando procedimientos descritos, por ejemplo, en el documento WO 97/00265.

Descripción detallada de la invención

Descripción del cultivo

5 Las cepas recién aisladas derivadas de *Saccharopolyspora* sp. LW107129 (NRRL30141) se hicieron crecer en siete medios de agar extendidos en placas y se compararon respecto al crecimiento, color inverso, producción de hifas áreas, color de la masa de esporas y producción de pigmentos. Además, los mutantes fueron analizados respecto a la capacidad de fermentar 14 azúcares. Tanto en los ensayos morfológicos como en los fisiológicos no se observó ninguna diferencia significativa entre NRRL 30141, que se describe en el documento WO 01/19840, y cualquiera de los cultivos descritos en la presente memoria (30141.2, 30141.3, 30141.4, 30141.5, 30141.8, ó 30141.13).

10 Un aspecto de la presente invención es la preparación de un compuesto de fórmula 1A cultivando una cepa que produce 3'-ODM-ram tal como 30141.3, 30141.5, 30141.8 ó uno de sus mutantes que producen 3'-ODM-ram. Un "mutante que produce 3'-ODM-ram" es una cepa derivada de una cualquiera de las cepas de NRRL 30141 productoras de butenil-espinosinas o de cepas de NRRL 30141 que producen ODM-ram, la cual es capaz de producir cantidades recuperables de compuestos tipo 3'-O-demetil-ram.

15 Otro aspecto de la presente invención es la preparación de un compuesto de fórmula 1A cultivando una cepa que produce 2'-ODM-ram tal como 30141.2, o uno de sus mutantes que producen 2'-ODM-ram. Un "mutante que produce 2'-ODM-ram" es una cepa derivada de una cualquiera de las cepas de NRRL 30141 productoras de butenil-espinosina o de las cepas de NRRL 30141 que producen ODM-ram, la cual es capaz de producir cantidades recuperables de compuestos tipo 2'-O-demetil-ram.

20 Aún otro aspecto de la presente invención es la preparación de un compuesto de fórmula 1A producido cultivando una cepa que produce 4'-ODM-ram tal como 30141.4, o uno de sus mutantes que producen 4'-ODM-ram. Un "mutante que produce 4'-ODM-ram" es una cepa derivada de una cualquiera de las cepas de NRRL 30141 productoras de butenil-espinosinas o de las cepas de NRRL 30141 que producen 4'-ODM-ram, la cual es capaz de producir cantidades recuperables de compuestos tipo 4'-O-demetil-ram.

25 Los compuestos de fórmula (1A) pueden separarse del medio de cultivo en el que son producidos usando varios procedimientos de aislamiento y purificación, los cual son bien entendidos en la técnica. Por razones de economía de producción, rendimiento óptimo y facilidad de aislamiento del producto, se prefieren ciertos medios de cultivo. Por ejemplo, la fuente de carbono preferida en la fermentación a gran escala es glucosa, aunque también pueden usarse ribosa, fructosa, glicerol, manosa, manitol, ribosa, almidón soluble, dextrina de patata, aceites como aceite de soja y similares. Las fuentes de nitrógeno preferidas son harina de semilla de algodón, harina de soja, caseína peptonizada y licor de la maceración del maíz, aunque pueden usarse peptona, extracto de levadura, caseína hidrolizada con enzimas, extracto de carne y similares. Entre las sales inorgánicas nutrientes que pueden incorporarse al medio de cultivo son sales solubles habituales capaces de dar zinc, sodio, potasio, magnesio, calcio, amonio, cloruro, carbonato, sulfato, nitrato, fosfato e iones semejantes. Los elementos traza esenciales comúnmente aparecen como impurezas en otros sustituyentes del medio en cantidades suficientes para reunir los requisitos de crecimiento del organismos, aunque pueden añadirse sales capaces de proporcionar molibdeno, cobalto, cobre, manganeso, boro, hierro y similares.

35 Usualmente, si la formación de espuma es un problema, pueden añadirse al medio de fermentación a gran escala pequeñas cantidades de un agente antiespumante tal como polipropilenglicol u otros antiespumantes comúnmente usados por los expertos en la técnica. Adicionalmente, si se desarrolla espuma puede añadirse un aceite.

40 Para producir cantidades sustanciales de los compuestos de fórmula (1A) se prefiere la fermentación aerobia sumergida; sin embargo, pueden obtenerse pequeñas cantidades de un compuesto de fórmula (1A) mediante cultivo en un matraz agitado. Es preferible usar un inóculo vegetativo para la inoculación de biorreactores grandes. El inóculo vegetativo se prepara inoculando un pequeño volumen de medio de cultivo de un cultivo madre conservado en nitrógeno líquido o en un congelador a temperatura ultra baja, para obtener un cultivo reciente de ese organismo que crezca activamente. El cultivo vegetativo se transfiere a continuación a un biorreactor mayor. El medio de inóculo vegetativo puede ser el mismo que el usado para la fermentación, pero también son adecuados otros medios.

50 El compuesto de fórmula (1A) es producido por las cepas productoras de ODM-ram cuando se hacen crecer a temperaturas entre aproximadamente 24°C y aproximadamente 33°C. Las temperaturas óptimas de producción parecen ser de aproximadamente 28°C a aproximadamente 31°C. Como es habitual en procedimientos de cultivos aerobios, se hace borbotear aire estéril por el depósito desde el fondo, mientras que el medio es agitado con rodetes de turbina. En general, el caudal de aireación debe ser suficiente para mantener la concentración de oxígeno disuelto requerida por el organismo.

La producción de compuestos de fórmula (1A) puede ser seguida durante la fermentación analizando extractos del caldo de cultivo. Un método preferido para seguir la producción es el análisis de extractos de caldo de cultivo por

cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Un método más preferido para seguir la producción es el análisis de extractos de caldo de cultivo por HPLC-espectrometría de masas (LC-MS). Sistemas adecuados para analizar se describen en los ejemplos 1 y 2.

5 Tras la producción en matraces agitados o en reactores agitados, los compuestos de fórmula (1A) pueden recuperarse del medio de fermentación mediante métodos conocidos por los expertos en la técnica. Los compuestos creados durante la fermentación de la cepa que produce butenil-espinosinas se producen tanto en el micelio como en el caldo de cultivo. En ausencia de un aceite en la fermentación, una recuperación más eficiente del compuesto de fórmula (1A) se consigue filtrando inicialmente todo el caldo de cultivo para separar el micelio del caldo de cultivo. Los compuestos de fórmula (1A) son lipófilos; por lo tanto, cuando se usa un aceite en la fermentación, una cantidad sustancial de los compuestos de fórmula (1A) puede estar en el caldo de cultivo.

10 Una técnica preferida para aislar los compuestos de fórmula (1A) del caldo de cultivo implica añadir un volumen igual de etanol a todo el caldo de cultivo, agitar durante 1-2 horas para completar la extracción y centrifugar para separar la masa de células extraídas. Los compuestos de fórmula (1A) se extraen a continuación repartiendo el extracto acuoso-etanólico del caldo de cultivo con diclorometano, el cual se seca a vacío. Los compuestos de fórmula (1A) se purifican a partir de la fase de diclorometano secado por HPLC preparativo, como se describe con más detalle en el ejemplo 4.

15 Una técnica más preferida para aislar los compuestos de fórmula (1A) (en los que R⁹ es un resto que contiene nitrógeno básico) del caldo de cultivo implica añadir metil isobutil cetona (MIBK) al caldo de cultivo. Después de agitar durante 1-2 horas, el caldo de cultivo se centrifuga y el extracto de MIBK se separa. El extracto de MIBK se reparte usando una disolución acuosa ácida amortiguadora del pH a pH 3, la fase acuosa se ajusta a pH 10 usando hidróxido de amonio y a continuación se extrae usando dietil éter (DEE). La fase de DEE se seca a vacío y los compuestos de fórmula (1A) se separan y purifican por HPLC preparativa, como se describe con más detalle en el ejemplo 5.

20 Alternativamente, los sólidos del cultivo, que incluyen los constituyentes del medio y el micelio, pueden usarse sin extracción o separación, pero preferiblemente después de la separación del agua, como una fuente de los compuestos de fórmula (1A). Por ejemplo, después de la producción de los compuestos de fórmula (1A), todo el caldo de cultivo de la fermentación puede secarse por liofilización, en un tambor rotatorio, o por destilación azeotrópica y secado. El caldo de cultivo secado puede entonces secarse directamente, por ejemplo mezclándolo directamente en una premezcla de alimentación o en formulaciones para pulverizaciones y polvos.

Ejemplo 1

30 Método LC-UV para analizar el caldo de fermentación respecto a metabolitos tipo butenil-espinosinas que contengan O-demetil-ramnosa

Los siguientes métodos de HPLC son útiles para monitorizar una fermentación para la producción de compuestos de fórmula (1A) y otros componentes:

35 Se añade un volumen de etanol desnaturalizado igual al del caldo de fermentación. Se agita la mezcla durante 1 hora, a continuación se centrifuga para separar los restos celulares voluminosos. Se microcentrifuga una parte alícuota de 1 mL, a continuación se analiza el extracto clarificado mediante uno de los siguientes sistemas de HPLC:

Sistema de HPLC 1: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 4,6 mm, gel de sílice desactivado para bases, C8 5 µm (HypersilTM-C8-BDS). Fase móvil: gradiente lineal acetato de amonio 10 mM-metanol-acetonitrilo sumariado a continuación:

Tabla IVa

Tiempo (min)	Porcentaje de disolvente A	Porcentaje de disolvente A
0	100	0
20	0	100
25	0	100
30	100	0
35	100	0

40 En la que el disolvente A es acetato de amonio 10 mM y el disolvente B es metanol-acetonitrilo (1:1).

Caudal: 1 mL/min

Detección: UV a 244 nm

Los tiempos de retención se sumarizan en la tabla Va:

Tabla Va

Compuesto	Tiempo de retención (min)
(5)	23,5
(6)	23,6
(32)	23,5
(33)	22,4
(34)	21,1
(35)	22,6
(36)	23,8
(37)	23,1
(38)	21,6
(39)	21,4
(40)	20,4
(41)	21,3
(42)	22,4
(43)	22,4
(44)	23,6

- 5 Sistema de HPLC 2: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 4,6 mm, gel de sílice desactivado para bases, C8 5 μ m (HypersilTM-C8-BDS). Fase móvil: gradiente lineal acetato de amonio 10 mM-acetonitrilo sumariado a continuación:

Tabla IVb

Tiempo (min)	Porcentaje de disolvente A	Porcentaje de disolvente A
0	100	0
20	0	100
25	0	100
30	100	0
35	100	0

En la que el disolvente A es acetato de amonio 10 mM y el disolvente B es acetonitrilo.

Caudal: 1 mL/min

- 10 Detección: UV a 244 nm

Los tiempos de retención se sumarizan en la tabla Vb:

Tabla Vb

Compuesto	Tiempo de retención (min)
(165)	17,3
(166)	18,5
(10)	18,7
(11)	18,9

Sistema de HPLC 3: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 4,6 mm, gel de sílice desactivado para bases, C18 5 μm (HypersilTM-C18-BDS). Fase móvil: gradiente lineal acetato de amonio 10 mM-acetonitrilo sumariado a continuación:

Tabla IVc

Tiempo (min)	Porcentaje de disolvente A	Porcentaje de disolvente A
0	100	0
20	0	100
25	0	100
30	100	0
35	100	0

5 En la que el disolvente A es acetato de amonio 10 mM y el disolvente B es acetonitrilo.

Caudal: 1 mL/min

Detección: UV a 244 nm

Los tiempos de retención se sumarizan en la tabla Vc:

Tabla Vc

Compuesto	Tiempo de retención (min)
(76)	22,7
(163)	23,4

10 Ejemplo 2

Método LC-MS para analizar el caldo de fermentación respecto a metabolitos tipo butenil-espinosinas que contengan O-demetil-ramnosa

15 El método de LC descrito en el ejemplo 1, excepto con la adición de un espectrómetro de masas con electropulverización (ESI) unido para analizar el eluyente de HPLC, es útil para monitorizar una fermentación para la producción de compuestos de fórmula (1A) y otros componentes. Tal sistema también se usó para determinar pesos moleculares de los factores purificados, por deducción de los iones aductos generados en la electropulverización. Estos datos se sumarizan en la tabla VI.

20 Se añade un volumen de etanol desnaturalizado igual al del caldo de fermentación. Se agita la mezcla durante 1 hora, a continuación se centrifuga para separar los restos celulares voluminosos. Se microcentrifuga una parte alícuota de 1 mL, a continuación se analiza el extracto clarificado mediante uno de los siguientes sistemas de LC-MS:

Sistema de HPLC: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 4,6 mm, gel de sílice desactivado para bases, C8 5 μm (HypersilTM-C8-BDS). Fase móvil: gradiente lineal acetato de amonio 10 mM-metanol-acetonitrilo sumariado a continuación:

Tabla VI

Tiempo (min)	Porcentaje de disolvente A	Porcentaje de disolvente A
0	100	0
20	0	100
25	0	100
30	100	0
35	100	0

25 En la que el disolvente A es acetato de amonio 10 mM y el disolvente B es metanol-acetonitrilo (1:1).

Caudal: 1 mL/min; división después del detector UV tal que la relación MS:residuo sea aproximadamente 5:95.

Detección: ESI positiva adquirida en los modos de voltaje del cono bajo y alto.

Los iones característicos de espectrometría de masas se suman en la tabla VII:

Tabla VII

Compuesto	m/z para $[M+H]^+$ ^a	m/z del ion secundario ^b
5	744,3	142,0
6	744,6	142,1
32	744,5	142,1
33	716,4	142,1
34	760,3	142,0
35	730,5	128,1
36	758,6	142,1
37	730,2	142,0
38	603,4	$[M+\text{acetato}]^+ = 661,5$
39	603,4	$[M+\text{acetato}]^+ = 661,4$
40	746,4	142,1
41	760,4	142,1
42	746,2	142,1
43	716,3	142,0
44	744,4	142,1
137	730,5	128,0
141	760,5	142,0
143	742,5	142,0
148	730,4	142,0
161	744,4	142,0
163	729,9	NO ^c
165	760,5	NO ^c
166	760,5	NO ^c
Compuesto de fórmula (10)	571,5	NO ^c
Compuesto de fórmula (11)	571,5	NO ^c

^a m/z del ion padre observado en el modo ESI+, bajo voltaje del cono

5 ^b m/z del fragmento o aducto más abundante observado en el modo ESI+, alto voltaje del cono

^c NO = no observado en las condiciones experimentales usadas.

Ejemplo 3

Preparación por medio de fermentación de metabolitos tipo butenil-espinosinas que contienen O-demetil-ramnosa

10 Metabolitos de fórmula (1A) que contienen O-demetil-ramnosa son producidos cultivando la cepa deseada de *Saccharopolyspora* escogida de una de las siguientes cepas 30141.2, 30141.3, 30141.4, 30141.5, ó 30141.8 en un medio de fermentación como el descrito posteriormente. Se descongelaron 1,8 mL de cultivo vegetativo congelado, se inocularon en 100 mL de medio vegetativo en un matraz Erlenmeyer y se hicieron crecer a 30°C agitando a 150 rpm durante 48-72 horas.

Tabla VIII

Medio vegetativo (por litro de agua)	
Ingrediente	Cantidad (g)
Dextrosa	9,0
Caldo de cultivo de tripticasa de soja	30,0
Extracto de levadura	3,0
Sulfato de magnesio.7H ₂ O	2,0

A. Fermentación en matraces agitados

5 Para inocular 800 mL de medio de fermentación en un matraz de fermentación TunAir™ de 2 litros se usaron cincuenta mililitros de simiente de la primera etapa de maduración. La producción de los compuestos de fórmula (1A) puede monitorizarse en la fermentación en el matraz agitado mediante los métodos de HPLC descritos en los ejemplos 1 y 2.

Tabla IX

Medio de fermentación (por litro de agua)	
Ingrediente	Cantidad (g)
Dextrosa	80,0
Harina de semilla de algodón	32,0
Harina de soja	8,0
Licor de maceración de maíz en polvo	8,0
Carbonato de calcio	5,0
Extracto de levadura	2,0

La fermentación se mantuvo a 30°C, 200 rpm (carreras de 50 mm) durante 7-12 días.

B. Fermentación en reactor agitado

10 Para inocular un segundo cultivo vegetativo de 1 litro en un matraz de cultivo de 2 litros se usaron sesenta mililitros de cultivo vegetativo de la primera etapa de maduración. Este cultivo se incubó a 30°C durante 48 horas agitando a 195 rpm. Para inocular 70 L de medio de fermentación en un depósito agitado de fermentación se usó simiente de la primera etapa de maduración. La fermentación se mantuvo a 30°C, 400 rpm durante 7-14 días. La producción de los compuestos de fórmula (1A) puede monitorizarse en la fermentación en el depósito agitado mediante los métodos de HPLC descritos en los ejemplos 1 y 2.

15 Puede extraerse cerveza de fermentación madura con un disolvente adecuado y recuperarse los metabolitos mediante separación por formación de sales y/o separación cromatográfica, como se describe en los ejemplos 4 y 5.

Ejemplo 4

Aislamiento de metabolitos insecticidamente activos de caldo de cultivo usando un método neutro

20 El siguiente ejemplo muestra cómo se aislaron metabolitos cuando se purificó una mezcla de compuestos de fórmula (1A) (en la que R⁹ = H y/o un azúcar que contenía nitrógeno básico). El ejemplo da un procedimiento específico usado para aislar los compuestos 39 y 17, pero esto sería aplicable a cualquiera de tales mezclas cuando fuera tratada por un experto en la técnica.

25 El cultivo total de la cepa 30141.4, es decir las células más el caldo de cultivo, de la fermentación de 800 mL de medio inoculado tenía un volumen total de aproximadamente 600 mL después de que la fermentación terminara. La muestra se extrajo con un volumen igual de etanol desnaturalizado agitando vigorosamente y permitiendo a continuación que permaneciera a temperatura ambiente durante dos horas. Los restos celulares se separaron por centrifugación y los 1,2 litros de extracto acuoso de etanol al 50% se repartieron usando diclorometano (DCM; 2 x 600 mL). El extracto de DCM se concentró a vacío para dar 470 mg de residuo. El residuo se disolvió en metanol y se sometió a cromatografía mediante inyecciones repetidas en HPLC preparativa en las siguientes condiciones:

Sistema de HPLC: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 10 mm, gel de sílice desactivado para bases, C18 5 μm (HypersilTM-C18-BDS). Fase móvil: acetato de amonio 10 mM-metanol-acetonitrilo (25:37,5:37,5). Condiciones de flujo: elución isocrática a 5 mL/min. Detección: UV a 244 nm.

- 5 La mitad del extracto de DCM seco se separó preparativamente usando este método, recogiendo las regiones que eluyeron a aproximadamente 9 y 13,5 minutos. Éstas se secaron para dar el compuesto puro 39 (1,7 mg) y el compuesto puro 17 (0,8 mg), respectivamente.

Ejemplo 5

Aislamiento de metabolitos insecticidamente activos de caldo de cultivo usando un método de reextracción ácido

- 10 El siguiente ejemplo muestra cómo se aislaron metabolitos cuando los compuestos de interés eran una mezcla de compuestos de fórmula (1A) (en la que R⁹ = un azúcar que contenía nitrógeno básico). El ejemplo da un procedimiento específico usado para aislar los compuestos 6, 37, 42, 43 y 44, pero esto sería aplicable a cualquiera de tales mezclas cuando fuera tratada por un experto en la técnica.

- 15 El cultivo total de la cepa 30141.3, es decir las células más el caldo de cultivo, de la fermentación de 6 litros de medio inoculado tenía un volumen total de aproximadamente cinco litros después de que la fermentación terminara. La muestra se extrajo con metil isobutil cetona (MIBK; 2 x 2,5 litros) agitando continuamente durante una hora. Los restos celulares se separaron por centrifugación. El extracto de MIBK se repartió usando una disolución amortiguadora del pH de acetato de amonio/ácido fórmico (10 mM; pH 3; 2 x 1 litro). El pH del extracto acuoso se ajustó a 10 usando una disolución de hidróxido de amonio al 30% y la disolución se extrajo con dietil éter (DEE; 2 x 1 litro). El DEE pasó a través de un papel de filtro y a continuación se secó a vacío para dar 127 mg de residuo, denominado DEE-1. Este residuo se disolvió en metanol (500 μL) y se sometió a cromatografía mediante inyecciones repetidas en HPLC preparativa en las siguientes condiciones:

Sistema de HPLC: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 10 mm, gel de sílice desactivado para bases, C18 5 μm (HypersilTM-C18-BDS). Fase móvil: acetato de amonio 10 mM-metanol-acetonitrilo (20:40:40). Condiciones de flujo: elución isocrática a 5 mL/min. Detección: UV a 244 nm.

- 25 El extracto DEE-1 seco se separó preparativamente usando este método, recogiendo las regiones que eluyeron a aproximadamente 10,2, 10,8, 13,5 y 17,5 minutos. Éstas se secaron para dar los compuestos puros 42 (0,2 mg), 43 (1,9 mg), 37 (23,4 mg) y una mezcla de los compuestos 6 y 44 (3,1 mg), respectivamente.

- 30 La fase de MIBK que quedó de la extracción inicial con tampón ácido descrita anteriormente se concentró a sequedad a vacío. El residuo se disolvió en DEE (200 mL) y se repartió con agua (2 x 100 mL; ajustada a pH 3 usando HCl 1N). La fase acuosa se ajustó a pH 10 usando una disolución de hidróxido de amonio al 30% y la disolución se extrajo con DEE (2 x 100 mL). La fase de DEE se pasó a través de un papel de filtro y a continuación se secó a vacío, dando 106 mg de residuo, denominado DEE-2. Este residuo se disolvió en metanol (500 μL) y se sometió a cromatografía mediante inyecciones repetidas en HPLC preparativa en las siguientes condiciones:

- 35 Sistema de HPLC: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 10 mm, gel de sílice desactivado para bases, C18 5 μm (HypersilTM-C18-BDS). Fase móvil: acetato de amonio 10 mM-metanol-acetonitrilo (20:40:40). Condiciones de flujo: elución isocrática a 5 mL/min. Detección: UV a 244 nm.

El extracto DEE-2 se separó preparativamente usando este método, recogiendo las regiones que eluyeron a aproximadamente 13,5 y 17,5 minutos. Éstas se secaron para dar el compuesto puro 37 (22,6 mg), y una mezcla de los compuestos 6 y 44 (10,6 mg), respectivamente.

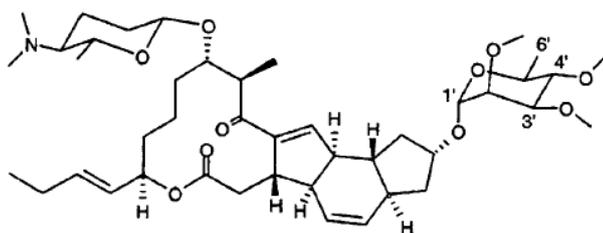
- 40 Las mezclas de compuestos obtenidas de la primera etapa de las separaciones cromatográficas de DEE-1 y DEE-2 se juntaron y secaron. La muestra seca se disolvió en metanol (500 μL) y se sometió a cromatografía mediante inyecciones repetidas en HPLC preparativa en las siguientes condiciones:

- 45 Sistema de HPLC: fase estacionaria de la columna: columna de 250 x 10 mm, gel de sílice desactivado para bases, C18 5 μm (HypersilTM-C18-BDS). Fase móvil: acetato de amonio 10 mM-acetonitrilo (30:70). Condiciones de flujo: elución isocrática a 5 mL/min. Detección: UV a 244 nm.

La mezcla de compuestos se separó preparativamente usando este método, recogiendo las regiones que eluyeron a aproximadamente 12 y 16 minutos. Éstas se secaron para dar el compuesto puro 44 (4,0 mg), y el compuesto puro 6 (8,4 mg), respectivamente.

Características espectroscópicas

Las estructuras químicas de los nuevos componentes se determinaron por métodos espectroscópicos, que incluían espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), espectrometría de masas (MS, que se sumó en la tabla VII), espectroscopía ultravioleta (UV) y por comparación con for-ram-I (1) y análogos relacionados. Los espectros de RMN de todos los compuestos se adquirieron usando técnicas de RMN comunes, y se compararon con los espectros derivados de estructuras relacionadas. Cualquier diferencia entre los compuestos y los espectros de RMN de (por ejemplo) el compuesto 1 fue investigada usando experimentos estándar de RMN 2D inversa tales como COSY, HSQC y HMBC. Con el fin de identificar los derivados del sustituyente azúcar en la posición C-9 el sistema de numeración usado es como sigue:



10

15

Las características espectroscópicas de RMN distintivas usadas para identificar los compuestos de fórmula (1A) fueron como sigue: los compuestos fueron fácilmente identificados comparando el espectro de ^1H con el del compuesto 1. El sitio de demetilación pudo determinarse fácilmente por comparación, y se confirmó mediante el uso apropiado de la tecnología RMN 2D. Cualquier otra característica (por ejemplo, los compuestos 36 y 40) también se identificó fácilmente por comparación con moléculas previamente reivindicadas (7 y 8). Los cambios relevantes en los espectros RMN se ejemplificaron comparando el desplazamiento químico del protón de los protones del azúcar en la posición C-9 entre los compuestos 5, 6, 32, 33 y 37, y los del compuesto 1. Se observaron desplazamientos hacia campo bajo en todos los casos en los que no estaba presente el grupo metilo.

Tabla X

Factor	Desplazamiento químico del protón (ppm)			
	2'	3'	4'	5'
(1) For-ram-I	3,50	3,46	3,11	3,55
(5) For-(2'-O-demetil-ram)-I	3,96	3,45	3,08	3,62
(6) For-(3'-O-demetil-ram)-I	3,42	3,83	2,98	3,56
(32) For-(4'-O-demetil-ram)-I	3,58	3,42	3,59	3,50
(37) For-(3',4'-di-O-demetil-ram)-I	3,42	3,72	3,38	3,53
(33) For-(2',3',4'-tri-O-demetil-ram)-I	3,89	3,78	3,46	3,58

20

Actividad insecticida y acaricida

Los compuestos de fórmula (1B) (es decir, los compuestos de fórmula (1A) en los que R^9 es un resto azúcar) son útiles para el control de insectos y ácaros. Por lo tanto, otro aspecto de la presente invención se dirige a métodos para inhibir a un insecto o a un ácaro el cual comprende aplicar al lugar de crecimiento del insecto o ácaro una cantidad del compuesto de fórmula (1B) que inhiba al insecto o al ácaro.

25

El "lugar de crecimiento" del insecto o ácaro se refiere al entorno en el cual vive el insecto o ácaro o donde sus huevos están presentes, incluyendo el aire que lo rodea, la comida que come, o los objetos con los que entra en contacto. Por ejemplo, los insectos o ácaros que ingieren plantas pueden controlarse aplicando el compuesto activo a partes de la planta que los insectos o ácaros comen o en las que habitan, particularmente al follaje.

30

Mediante la expresión "inhibir un insecto o un ácaro" se quiere decir que hay una disminución en el número de insectos o ácaros vivos o una disminución en el número de huevos. La extensión de reducción conseguida por un compuesto depende, desde luego, de la tasa de aplicación del compuesto, el compuesto particular usado, y la especie diana de insecto o ácaro. Al menos debe usarse una cantidad desactivante de insectos o de ácaros. Por "cantidad desactivante"

se quiere decir que se usa una cantidad de compuesto para provocar una reducción medible en la población de insectos o de ácaros tratada. Típicamente, se usa de aproximadamente 1 a aproximadamente 1.000 ppm (ó 0,0247 a 2,47 kg/hectárea).

5 Los compuestos muestran actividad contra varios insectos y ácaros. Más específicamente, los compuestos muestran actividad contra miembros del orden de insectos *Lepidoptera*, tales como el gusano de la remolacha, gusano de la yema del tabaco, gusano de la manzana, gusano medidor de la col. Otros miembros típicos de este orden incluyen el gusano soldado del sur, los gusanos cortadores, las polillas de la ropa, polilla india de la harina, rodillos de la hoja, gusano del maíz, gusano del algodón, barrenador europeo del maíz, gusano importado de la col, gusano rosado, gusanos del saco, orugas de tienda orientales, orugas del césped y gusanos soldados de otoño.

10 Los compuestos también muestran actividad contra miembros del orden *Coleoptera* (los escarabajos y los gorgojos tales como el escarabajo de la patata de Colorado, los escarabajos moteados y rayados del pepino, el escarabajo japonés y el picudo) y *Diptera* (las moscas verdaderas tales como la mosca doméstica, los mosquitos, las moscas de las frutas, las moscas de los establos y de los cuernos, y los minadores de las hojas).

15 Los compuestos también muestran actividad contra miembros del orden *Hemiptera* (chinchas tales como los chinchas de las plantas, los chinchas apestosos y los chinchas del pasto), *Homoptera* (tales como los áfidos, salta hojas, salta plantas, moscas blancas, escamas y cochinitas), *Thysanoptera* (arañuelas), *Orthoptera* (tales como cucarachas, saltamontes y grillos), *Siphonaptera* (pulgas), *Isoptera* (termitas), y miembros de orden *Hymenoptera* familia *Formicidae* (hormigas).

20 Los compuestos también muestran actividad contra la araña roja, la cual es un miembro del orden de los Arácnidos familia *Acarina*. Otros miembros típicos de este orden incluyen parásitos de las plantas tales como el ácaro rojo de los cítricos, el ácaro rojo europeo y el ácaro plano de los cítricos, y parásitos de los animales tales como el ácaro de la sarna desplumante, el ácaro de la sarna, el ácaro de sarna ovina, el ácaro del pollo, el ácaro de la sarna de las patas, el ácaro desplumante y el ácaro del folículo del perro.

25 Plagas de artrópodos específicas representativas las cuales pueden controlarse mediante los presentes compuestos, incluyendo las siguientes: *Amblyomma americanum* (garrapata de la estrella solitaria), *Amblyomma maculatum* (garrapata de la costa del Golfo), *Argas persicus* (garrapata de las aves), *Boophilus microplus* (garrapata del ganado), *Chorioptes* spp. (ácaro de la sarna), *Demodex bovis* (ácaro del folículo del ganado), *Demodex canis* (ácaro del folículo del perro), *Dermacentor andersoni* (garrapata de la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas), *Dermacentor variabilis* (garrapata del perro americano), *Dermanyssus gallinae* (ácaro del pollo), *Ixodes ricinus* (garrapata común de la oveja), *Knemidokoptes gallinae* (ácaro de la sarna desplumante), *Knemidokoptes mutans* (ácaro de la sarna de las patas), *Otobius megnini* (garrapata del oído), *Psoroptes equi* (ácaro de la sarna soróptica equina), *Psoroptes ovis* (ácaro de la sarna soróptica ovina), *Rhipicephalus sanguineus* (garrapata marrón del perro), *Sarcoptes scabiei* (ácaro de la sarna), *Aedes* (mosquitos), *Anopheles* (mosquitos), *Culex* (mosquitos), *Culiseta*, *Bovicola bovis* (piojo mordedor del ganado), *Callitroga homnivorax* (moscardón), *Chrysops* spp. (tábano), *Cimex lectularius* (chinche de las camas), *Cochliomyia* spp. (gusano barrenador), *Ctenocephalides canis* (pulga del perro), *Ctenocephalides felis* (pulga del gato), *Culicoides* spp. (mosquitos mordedores, jejenes, punkies), *Damalinia ovis* (piojo mordedor de las ovejas), *Dermatobia* spp. (tábano), *Gasterophilus haemorrhoidalis* (larva de las fosas nasales), *Gasterophilus intestinalis* (larva común del caballo), *Gasterophilus nasalis* (mosca del mentón), *Glossina* spp. (mosca tsé-tsé), *Haematobia irritans* (mosca de los cuernos, mosca de los búfalos), *Haematopinus asini* (piojo chupador del caballo), *Haematopinus eurysternus* (piojo de nariz corta del ganado), *Haematopinus ovillus* (piojo corporal), *Haematopinus suis* (piojo del cerdo), *Hydrotaea irritans* (mosca de la cabeza), *Hypoderma bovis* (mosca bombardera), *Hypoderma lineatum* (mosca del talón), *Linognathus ovillus* (piojo corporal), *Linognathus pedalis* (piojo del pie), *Linognathus vituli* (piojo de nariz larga del ganado), *Lucilia* spp. (mosca del gusano), *Melophagus ovinus* (garrapata de ovinos), *Musca* spp. (mosca doméstica, mosca de la cara), *Oestrus ovis* (larva de la nariz), *Pediculus* spp. (piojos), *Phlebotomus* spp. (jejene), *Phormia regina* (moscardón), *Psorophora* spp. (mosquito), *Pthirus* spp. (piojos), *Reduvius* spp. (chinche asesino), *Simulium* spp. (mosca negra), *Solenopotes capillatus* (piojo pequeño azul del ganado), *Stomoxys calcitrans* (mosca de los establos), *Tabanus* spp. (mosca de los caballos), *Tenebrio* spp. (gusanos de la harina), *Triatoma* spp. (chinchas besuconas).

50 En una realización preferida, la presente invención se dirige a un método para inhibir un insecto susceptible del orden *Lepidoptera* que comprende aplicar a una planta una cantidad efectiva desactivante de insectos de un compuesto de fórmula (1B) según la presente invención. Otra realización preferida de la invención se dirige a un método para inhibir a las moscas mordedoras del orden *Diptera* en animales, el cual comprende administrar oral, parenteral o tópicamente al animal una cantidad efectiva desactivante de plagas de un compuesto de fórmula (1B). Otra realización preferida de la invención se dirige a un método para inhibir ácaros del orden *Acarina* el cual comprende aplicar al lugar de crecimiento del ácaro una cantidad desactivante de ácaros de un compuesto de fórmula (1B).

Las sales de adición de ácidos de los compuestos descritos en la presente memoria, cuando sea posible, también son útiles para producir productos agrícolas. Estas sales son útiles, por ejemplo, para separar y purificar los compuestos de fórmula (1A). Además, algunas de estas sales pueden haber aumentado la solubilidad en agua. Las sales de adición de ácidos pueden prepararse a partir de los compuestos descritos en la fórmula (1A) en la que R⁴ es una molécula de azúcar que contiene átomos de nitrógeno básicos, tal como forosamina. Las sales de los compuestos se preparan usando tecnología estándar para preparar sales que son bien conocidas por los expertos en la técnica. Las sales de adición de ácidos que son particularmente preferidas incluyen, pero no se limitan a, sales formadas mediante reacciones estándar tanto con ácidos orgánicos como inorgánicos tales como los ácidos sulfúrico, clorhídrico, fosfórico, acético, succínico, cítrico, láctico, maleico, fumárico, cólico, pamoico, mícico, glutámico, canfórico, glutárico, glicólico, ftálico, tartárico, fórmico, láurico, esteárico, salicílico, metanosulfónico, bencenosulfónico, sórbico, pícrico, benzoico, cinámico y similares.

Mosquiteras

Bioensayo de alimentación de gusano de la yema del tabaco (*Heliothis virescens*) y gusano soldado de la remolacha (*Spodoptera littoralis*)

Para comparar las actividades insecticidas de los compuestos de ensayo contra *Heliothis virescens* o *Spodoptera littoralis* en las etapas de larva o huevo se añadieron 50 µL de una disolución de acetona:agua 1:1 a cada muestra y a continuación se solubilizaron durante una hora usando un agitador orbital. Cada una de las disoluciones de muestra resultantes (50, 120 ó 250 ppm) se aplicó a continuación a un pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos, conteniendo cada pocillo una dieta artificial para lepidópteros basada en agar (dieta Shorey modificada, Southland Products, Lake Village, AR). Cada muestra se realizó por triplicado. Se dejó que las placas se secaran durante aproximadamente 4 horas, se cubrieron y se mantuvieron para infestarlas al día siguiente. Cada pocillo de la placa tratada se infestó con 3-5 huevos (0-2 días de edad) de *H. virescens* o *S. littoralis*. A continuación, las placas se cubrieron con guata de algodón y se sellaron con una tapa de microplacas. Las placas tratadas se mantuvieron invertidas en una incubadora (HR +80%) durante seis a siete días. Tras el período de incubación, las placas se clasificaron según el porcentaje de mortalidad usando un microscopio binocular. Los datos de cada muestra se dieron como la mortalidad media en porcentaje de los tres replicados. Los resultados para los compuestos seleccionados se dan en la tabla XI.

Tabla XI

	Gusano soldado de la remolacha		Gusano de la yema del tabaco	
	Dieta (6 días)		Dieta (6 días)	
Compuesto	Tasa (ppm)	Mortalidad (%)	Tasa (ppm)	Mortalidad (%)
1	50	100	50	100
5	50	100	50	100
6	50	100	50	100
32	50	100	50	100
33	50	100	50	100
34	50	100	50	100
37	50	100	50	100
40	50	93	50	100
41	50	100	50	100
43	50	80	50	33
44	50	100	50	100
137	120	100	120	100
141	120	67	120	100
163	120	100	120	100

Composiciones insecticidas

Los compuestos de fórmula (1B) se aplican en la forma de composiciones, las cuales también son una parte de esta invención. Estas composiciones comprenden una cantidad desactivante de insectos o ácaros de un compuesto de fórmula (1B) en un vehículo inerte fitológicamente aceptable. El componente activo, el compuesto de fórmula (1B), pueden estar presentes como un compuesto único de fórmula (1B), una mezcla de dos o más compuestos de fórmula (1B) o una mezcla de cualquiera de los compuestos de fórmula (1B) junto con la porción secada del medio de fermentación en el cual se produce.

Las composiciones se preparan según los procedimientos y fórmulas que son convencionales en la técnica agrícola o de control de plagas, pero que son nuevas e importantes debido a la presencia de uno o más de los compuestos de esta invención. Las composiciones pueden ser formulaciones concentradas, las cuales están dispersadas en agua o pueden estar en la forma de un polvo, cebo o formulación usada sin más tratamiento.

Las dispersiones en las que los compuestos o el material seco bruto se aplican son típicamente suspensiones o emulsiones acuosas preparadas a partir de formulaciones concentradas de los compuestos o del material bruto. Las formulaciones solubles en agua o suspendibles o emulsionables en agua son sólidos, polvos humectables, o líquidos, conocidos como concentrados emulsionables o suspensiones acuosas. Los polvos humectables pueden aglomerarse o compactarse para formar gránulos dispersables en agua. Estos gránulos comprenden mezclas de compuesto o de material seco bruto, vehículos inertes y tensioactivos. La concentración del compuesto o del material seco bruto está típicamente entre aproximadamente 0,1% y aproximadamente 90% en peso. El vehículo inerte es típicamente arcillas de atapulgita, arcillas de montmorillonita y las tierras de diatomeas o silicatos purificados.

Los tensioactivos comprenden típicamente aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% del polvo humectable, donde los tensioactivos son típicamente ligninas sulfonadas, naftalén-sulfonatos condensados, los naftalén-sulfonatos, alquil-bencenosulfonatos, alquilsulfonatos o tensioactivos no iónicos tales como aductos de óxido de etileno de alquilfenoles o mezclas de los mismos.

Los concentrados emulsionables de los compuestos reivindicados típicamente varían de aproximadamente 50 a aproximadamente 500 gramos de compuesto por litro de líquido, equivalente a aproximadamente 10% a aproximadamente 50%, disuelto en un disolvente inerte el cual es una mezcla de un disolvente inmisible con agua y emulsionantes. Los disolventes orgánicos incluyen compuestos orgánicos tales como xilenos y fracciones del petróleo tales como porciones naftalénicas y olefínicas del petróleo de alto punto de ebullición que incluyen nafta pesada y aromática. También pueden usarse otros compuestos orgánicos tales como disolventes terpénicos – derivados de rosina, cetonas alifáticas tales como ciclohexanona y alcoholes complejos. Los emulsionantes para concentrados emulsionables son típicamente tensioactivos iónicos y/o no iónicos mixtos tales como los mencionados en la presente memoria o sus equivalentes.

Pueden prepararse suspensiones acuosas que contengan compuestos insolubles en agua de esta invención, en las que los compuestos están dispersados en un vehículo acuoso a una concentración típicamente en el intervalo de entre aproximadamente 5% y aproximadamente 50% en peso. Las suspensiones se preparan moliendo finamente el compuesto y mezclándolo vigorosamente en un vehículo de agua, tensioactivos y dispersantes como se trata en la presente memoria. También pueden emplearse ingredientes inertes tales como sales inorgánicas y gomas sintéticas o naturales para aumentar la densidad y/o la viscosidad del vehículo acuoso cuando se desee.

Pueden prepararse formulaciones fluidas precipitadas disolviendo la molécula activa en un disolvente miscible con agua y tensioactivos o polímeros tensioactivos. Cuando estas formulaciones se mezclan con agua, el compuesto activo precipita con el tensioactivo que controla el tamaño del precipitado microcristalino resultante. El tamaño del cristal puede controlarse por medio de la selección de mezclas específicas de polímero y tensioactivo.

Los compuestos también pueden aplicarse como una composición granular que se aplica al suelo. La composición granular contiene típicamente de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% en peso del compuesto de fórmula (1B). El compuesto se dispersa en un vehículo inerte el cual es típicamente una arcilla o una sustancia equivalente. En general, las composiciones granulares se preparan disolviendo el compuesto en un disolvente adecuado y aplicándolo a un vehículo granular que ha sido preformado en el tamaño de partícula deseable. El tamaño de partícula está típicamente entre aproximadamente 0,5 mm y 0,3 mm. Las composiciones granulares también pueden prepararse formando una masa o pasta del vehículo y del compuesto, secando la mezcla combinada y aplastando la masa o pasta hasta el tamaño de partícula deseado.

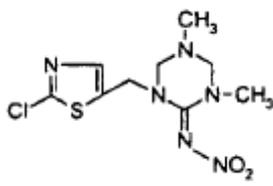
Los compuestos también pueden combinarse con un disolvente orgánico apropiado. El disolvente orgánico es típicamente un aceite de petróleo templado que se usa ampliamente en la industria agrícola. Estas combinaciones se usan típicamente como una pulverización. Más típicamente, los compuestos se aplican como una dispersión en un vehículo líquido, en la que el vehículo líquido es agua. Los compuestos también pueden aplicarse en forma de una

composición en aerosol. El compuesto se disuelve en un vehículo inerte, el cual es una mezcla propulsante que genera presión. La composición en aerosol se envasa en un recipiente, en el que la mezcla se dispersa por medio de una válvula de atomización. Las mezclas propulsantes contienen halocarbonos de bajo punto de ebullición, los cuales pueden mezclarse con disolventes orgánicos o suspensiones acuosas presurizadas con gases inertes o hidrocarburos gaseosos.

La cantidad de compuesto aplicada a los lugares de crecimiento de los insectos y ácaros no es crítica y puede ser determinada fácilmente por los expertos en la técnica. En general, concentraciones desde aproximadamente 10 ppm a aproximadamente 5.000 ppm de compuestos de fórmula (1B) proporcionan el control deseado. Para cultivos tales como habas de soja y algodón, la tasa de aplicación es aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 kg/ha, en la que el compuesto se aplica en una formulación para pulverizar de 46,8 a 468 L/hectárea. Los compuestos pueden aplicarse a cualquier lugar de crecimiento habitado por un insecto o un ácaro. Tal lugar de crecimiento típicamente es algodón, habas de soja y cultivos vegetales, frutas y nogales, vides, plantas domésticas y ornamentales.

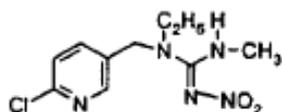
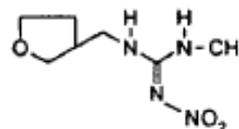
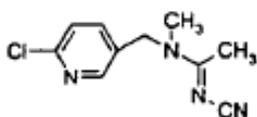
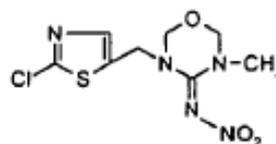
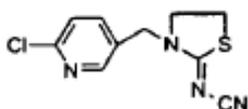
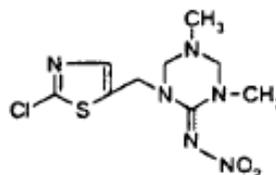
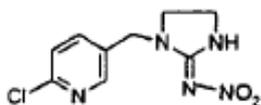
La acción de las composiciones según la invención puede ampliarse considerablemente añadiendo otros ingredientes, por ejemplo insecticida, acaricida y/o nematocidamente activos. Por ejemplo, uno o más de los siguientes compuestos pueden convenientemente combinarse con los compuestos de la invención: **compuestos organofosforados** tales como acefato, azinfosmetilo, cadusafós, cloretoxifós, clorpirifós, coumafós, demetón, demetón-S-metilo, diazinón, diclorvós, dimetoato, EPN, ertoato, etoprofós, etrimfós, fenamifós, fenitrotión, fensulfotión, fentión, fonofós, formotión, fostioazato, heptenofós, malatión, metamidofós, metil paratión, mevinfós, monocrotofós, paratión, forato, fosalona, fosmet, fosamidón, fosfocarb, foxim, profenofós, propafós, propetamfós, protiofós, pirimifós-metilo, pirimifós-etilo, quinalfós, sulprofós; tebupirifós, temefós, terbufós, tetraclorvinfós, tioafenox, tiometón, triazofós, y triclorfón, **carbamatos** tales como aldicarb, bendiocarb, benfuracarb, bensultap, BPMC, butoxicarbocim, carbarilo, carbofurano, carbosulfano, cloetocarb, etiofencarb, fenobucarb, furatiocarb, metiocarb, isoprocarb, metomilo, oxamilo, pirimicarb, promecarb, propoxur, tiodicarb, y tiofurox, **piretroides** tales como acrinatrina, aletrina, beta-ciflutrina, bifentrina, biorresmetrina, ciflutrina, cihalotrina, lambda-cihalotrina; gamma-cihalotrina, cipermetrina; alfa-cipermetrina; zeta-cipermetrina; deltametrina, esfenvalerato, fenvalerato, fenflutrina, fenpropatrina, flucitrinato, flumetrina, fluvalinato, tau-fluvalinato, halfenprox, permetrina, protrifenbute, resmetrina, silafluofeno, teflutrina, tetrametrina, tralometrina, piretroides seguros para los peces, por ejemplo etofenprox, piretrina natural, tetrametrina, s-bioaletrina, fenflutrina y praletrina, **acilureas**, **otros tipos de agentes reguladores del crecimiento de los insectos y análogos de las hormonas de los insectos** tales como buprofezina, cromfenozida, clorfluazurón, diflubenzurón, fenoxicarb, flufenoxurón, halofenozida, hexaflumurón, hidropreno, leufenurón, metopreno, metoxifenoazida, novalurón, piriproxifeno, teflubenzurón y tebufenozida, N-[3,5-dicloro-2-fluoro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxi)fenil]-N'-(2,6-difluorobenzoi)urea, **neonicotinoides y otros nicotínicos** tales como acetamiprid, AKD-1022, cartap, TI-435, clotioamidina, MTI-446, dinotefurano, imidacloprid, nicotina, nitenpiram, tioametoxam, tioacloprid, macrólidos tales como avermectinas, milbemicinas, o espinosinas tales como, por ejemplo, abamectina, ivermectina, milbemicina, emamectina benzoato y spinosad, y **otros compuestos insecticidas, acaricidas, moluscidas y menatocidas o compuestos activos** tales como aldrin, amitraz, azadiractina, azociclotina, bifenazato, bromopropilato, clordimeform, clorfenapir, clofentezina, clorobenzilato, clordano, cihexatina, ciromazina, DDT, dicofol, dieldrina, DNOC, endosulfano, etoxazol, fenazaquina, fenbutatin óxido, fenproximato, beta-fenproximato, fipronilo, flubenzimina, hexitioazox, IKI-220, indoxacarb, lindano, metiocarb, metaldehído, metoxiclor, aceites de neem, de petróleo y vegetales, piridabeno, pimetrozina, pirimidifeno, rotenona, S-1812, S-9539, espiroclifeno, azufre, tebufenpirad, tetradifón, triazamato, un extracto de una planta activo contra los insectos; una preparación que contenga nemátodos activos contra los insectos, una preparación obtenible de *Bacillus subtilis*, *Bacillus turingiensis*, un virus de polihedrosis nuclear, u otro organismo similar genéticamente modificado o natural, así como compuestos que actúan sinérgicamente tales como piperonil butóxido, sesamax, safroxano y dodecil imidazol, y fagoestimulantes tales como cucurbitacina, azúcares y Coax.

El documento WO 00/56156 sobre "Synergistic Insecticide Mixtures" describe el uso de ciertos compuestos tipo espinosinas previamente conocidos en combinación con agonistas y antagonistas de receptores nicotínicos de la acetilcolina para controlar plagas de animales. Ejemplos particularmente preferidos de tales compuestos son imidacloprid, acetamiprid, tiametoxam, nitenpiram, clotiamidina, dinotefurano, tiacloprid, y el compuesto



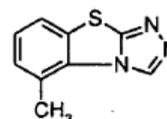
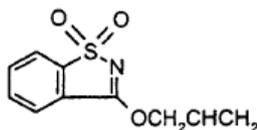
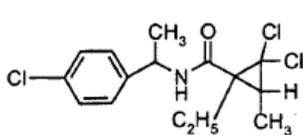
Mezclas de los agonistas y antagonistas de los receptores nicotínicos de la acetilcolina precedentes con los compuestos tipo butenil-espinosinas son similarmente útiles para controlar las plagas de animales.

- 5 El documento WO 00/35282 sobre "Combination of Active Ingredients" describe el uso de espinosad en combinación con A) un compuesto fungicidamente activo de la serie que consiste en benomilo, tiofanato-metilo, acibenzolar, flutolanilo, furametpir, fumoxadona, mealaxilo, mefluoaxam, azoxiestrobina, metominoestrobina, capropamida, diciclocimet, triciclazol y orizemato, y B) un compuesto insecticidamente activo de la serie que consiste en



Para controlar insectos y hongos. Mezclas análogas en las cuales espinosad es sustituido por un compuesto tipo butenil-espinosina son similarmente útiles para controlar insectos y hongos.

- 10 El documento WO 00/35286 sobre "Combinations of Active Ingredients" describe el uso de una combinación de espinosad con A) un compuesto seleccionado del grupo que consiste en



- 15 y B) 1-[(6-cloro-3-piridinil)-metil]-N-nitro-2-imidazolidinimina para controlar plagas y hongos en animales. Mezclas análogas en las cuales espinosad es sustituido por un compuesto tipo butenil-espinosina son similarmente útiles para controlar plagas y hongos en animales.

El documento WO 99/60856 sobre "Use of Spinosynes as Soil Insecticides" describe el uso de ciertas espinosinas previamente conocidas para tratar semillas y para aplicar a plantas vía el suelo o por irrigación para controlar insectos.

Los compuestos tipo butenil-espinosinas pueden similarmente usarse para tratar semillas para aplicar a las plantas vía el suelo o por irrigación para controlar insectos.

5 El documento WO 99/33343 sobre "Use of Macrolides in Pest Control" describe el uso de espinosinas para controlar plagas en cultivos transgénicos, el uso de espinosinas para proteger al material de propagación de las plantas y a los órganos de las plantas formados posteriormente al ataque por las plagas y el uso de espinosinas para controlar plagas y moluscos de la madera. Los compuestos tipo butenil-espinosinas de la presente invención también pueden usarse para estos fines.

Utilidad para la salud de los animales

10 Los compuestos de la presente invención también son útiles para el tratamiento de animales para controlar artrópodos, es decir, insectos y arácnidos, los cuales son plagas de los animales. Estas plagas de artrópodos atacan típicamente a sus anfitriones sobre la superficie externa ("eco"); a los agentes que controlan tales plagas se les denomina "ectoparasitoides". Todos los animales están sometidos al ataque de tales plagas, aunque los problemas son más graves entre los anfitriones vertebrados. Los seres humanos son anfitriones potenciales de muchos parásitos, y en áreas tropicales y en áreas con higiene mínima las infecciones debidas a parásitos son un problema regular en la práctica médica. También muy sometidos al ataque de los parásitos son los numerosos animales de la cabaña de ganado, tales como el ganado vacuno, ovejas, cerdos, cabras, búfalos, búfalo de agua, ciervos, conejos, pollos, pavos, patos, gansos, avestruces y similares. Los caballos y otros animales de recreo están sometidos al ataque de los parásitos, como lo son los visones y otros animales que se crían por su piel, y las ratas, ratones y otros animales usados en laboratorios e instalaciones de investigación. Los animales de compañía, tales como los perros y gatos, están muy sujetos al ataque de los parásitos y, debido a su estrecha relación con los seres humanos, tal parasitismo plantea problemas a los seres humanos con quienes están asociados. Los peces, crustáceos y otras especies acuáticas también están sometidos al ataque de los parásitos. Brevemente, el parasitismo implica como anfitriones a esencialmente la gama completa de animales.

25 El peaje económico de las infestaciones ectoparasitoides es grande. En el ámbito ganadero, los animales padecen de una menor eficiencia alimentaria y de menores tasas de crecimiento. La producción de leche y de lana se resiente y hay daño al vellón, a las pieles y a los pellejos. Los animales se vuelven susceptibles a infecciones microbiológicas secundarias y a ataques posteriores de los parásitos. Los ectoparasitoides también provocan considerable malestar incluso cuando no son gravemente perjudiciales para la salud y la producción.

30 Aunque están en uso varios parasitoides, adolecen de una variedad de problemas, que incluyen un espectro de actividad limitada, toxicidad medioambiental, necesidad de tratamiento repetido y, en muchos casos, resistencia a los ectoparasitoides. Por lo tanto, hay una necesidad continua de nuevos ectoparasitoides.

35 Los compuestos de fórmula (1B) proporcionan una nueva herramienta al arsenal para controlar los parásitos. En esta realización, la presente invención se dirige a un método para inhibir o matar una plaga causada por artrópodos en un animal anfitrión, el cual comprende poner en contacto a la plaga con una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención.

Los compuestos de fórmula (1B) pueden usarse para controlar una amplia variedad de plagas causadas por artrópodos que incluyen varias moscas y larvas de moscas, pulgas, piojos, ácaros y garrapatas. La actividad ectoparasitoides de los compuestos se logra cuando los compuestos entran en contacto con las plagas. El contacto puede ser con los huevos, larvas, adultos o con otras etapas de vida. "Entrar en contacto" incluye la ingestión del compuesto por la plaga.

40 Las técnicas para administrar ectoparasitoides son bien conocidas por los expertos en la técnica. En general, se aplica un compuesto presente a la superficie exterior de un animal, mediante lo cual entra en contacto con las plagas ya presentes sobre el anfitrión así como con las que llegan al cuerpo del anfitrión dentro del período de eficiencia del compuesto. Típicamente, el compuesto se formula en una formulación líquida la cual se pulveriza o se vierte sobre la superficie del animal. Otro tratamiento convencional es una "inmersión", mediante la cual el ganado vacuno se trata sumergiéndolo sustancialmente en una disolución diluida de un ectoparasitoides. Para algunos anfitriones y plagas, la formulación puede ser un polvo, el cual se rocía sobre el anfitrión, o un champú o crema que se emplean en el baño del animal. También se emplean collares en perros y gatos como una forma de administrar un ectoparasitoides directamente a la superficie del animal.

50 En otra realización, los compuestos de la invención pueden administrarse a animales usando etiquetas en las orejas, un método de administración descrito en el documento 4.265.876.

En otra técnica, se aplica un ectoparasitoides a localizaciones frecuentadas por animales, de modo que las plagas sean de este modo puestas en contacto con el compuesto incluso en la aplicación directa al anfitrión. La aplicación al lecho del animal es bien conocida, como es la aplicación a las alfombras. Para el ganado vacuno, son bien conocidas las

bolsas de polvo. Éstas están posicionadas en una puerta donde el ganado vacuno se frota inevitablemente contra la bolsa y las plagas entran en contacto con el presente compuesto.

5 En aún otra realización, los presentes compuestos pueden usarse para controlar insectos y arácnidos que son plagas en las heces del ganado vacuno y de otros animales. En esta realización, los compuestos se administran oralmente y los compuestos viajan a través del tracto intestinal y emergen en las heces. El control de plagas en las heces protege indirectamente a los animales de las plagas.

10 Los compuestos se formulan para uso como ectoparasiticidas de las maneras conocidas por los expertos en la técnica. En general, una formulación incluirá un compuesto de la presente invención y uno o más compuestos auxiliares fisiológicamente aceptables. Las formulaciones incluyen versiones concentradas en las cuales el presente agente activo está presente en una concentración de 0,001 a 98,0 por ciento, siendo el contenido restante vehículos fisiológicamente aceptables. Tales formulaciones, especialmente aquéllas con menos que 50 por ciento del presente compuesto, pueden usarse algunas veces directamente, pero estas formulaciones también pueden diluirse con otros vehículos fisiológicamente aceptables para formar más formulaciones de tratamiento diluidas. Estas últimas formulaciones pueden incluir el agente activo en menores concentraciones desde 0,001 a 0,1 por ciento.

15 **Utilidad farmacéutica para los seres humanos**

Los compuestos de la presente invención también son útiles como compuestos farmacéuticos para seres humanos para controlar parásitos, por ejemplo, piojos. Los compuestos pueden, por ejemplo, usarse en las formulaciones para controlar piojos que se describen en el documento WO 00/01347.

20 El orden Anoplura, o piojos chupadores, son parásitos encontrados en casi todos los grupos de mamíferos. De las 15 familias reconocidas de Anoplura, dos familias, *Pediculidae* y *Pthiridae*, tienen especies encontradas en seres humanos. *Pediculus humanus* es la única especie de la familia *Pediculidae* que infesta seres humanos. Incluye el piojo de la cabeza, *Pediculus humanus capitis*; y el piojo corporal o de la ropa, *Pediculus humanus humanus*, algunas veces llamado *Pediculus corporis*. El piojo cangrejo, *Pthirus pubis*, es una especie distinta y es el único miembro de la familia *Pthiridae* que infesta a seres humanos. Cuando se usa en la presente memoria, la expresión "piojo o piojos de ser humano" incluye un miembro de *Pediculus humanus* o *Pthirus pubis*.

30 Por consiguiente, en uno de sus aspectos, la invención proporciona formulaciones pediculicidas/ovicidas (anti-piojos) para controlar una infestación de piojos en un ser humano, que comprenden como un ingrediente activo una espinosina, o uno de sus derivados o sales fisiológicamente aceptables, y un vehículo fisiológicamente aceptable. Formulaciones especialmente útiles de esta invención son las formulaciones para el cuidado del cabello. Formulaciones para el cuidado del cabello especialmente útiles son los champúes. La invención también proporciona métodos para usar estas formulaciones para controlar especies de piojos en seres humanos. Estas formulaciones y métodos controlan piojos de una manera más segura y más efectiva que las formulaciones y métodos anti-piojos previamente conocidos.

Las formulaciones anti-piojos de esta invención pueden formularse de varias formas. Formulaciones particularmente útiles son champúes, acondicionadores y lociones del tipo descrito en el documento WO 00/01347.

35 Cuando se usa en una formulación para champúes, una formulación para el acondicionamiento del cabello, o una loción, el componente tipo espinosina está presente en una concentración de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 30%, preferiblemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 10%.

Las realizaciones específicas contempladas incluyen:

40 A. Una formulación para controlar la infestación de piojos en un ser humano que comprende como un ingrediente activo un compuesto de fórmula 1 ó 2 en las que R⁵ es un grupo que tiene una de las fórmulas 4a a 4i; o uno de sus derivados o sales fisiológicamente aceptables, y un vehículo fisiológicamente aceptable.

B. Una formulación de la realización A que es una formulación para el cuidado del cabello.

C. Un champú pediculicida que comprende:

45 (a) de aproximadamente 0,1% a aproximadamente 30% de un compuesto de fórmula 1 ó 2 en las que R⁵ es un grupo que tiene una de las fórmulas 4a a 4i; o uno de sus derivados o sales fisiológicamente aceptables;

(b) de aproximadamente 5% a aproximadamente 30% de un tensioactivo sintético;

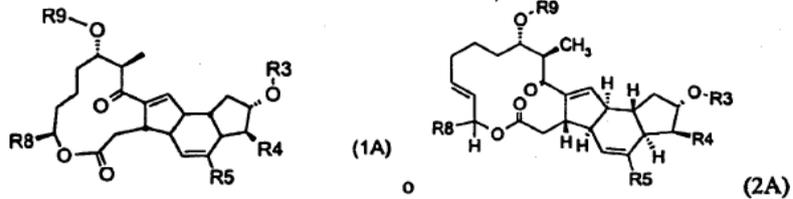
(c) de aproximadamente 1% a aproximadamente 7% de una amida; y

(d) agua.

- D. Un champú según la realización C, en el que el tensioactivo sintético es aniónico, anfótero, catiónico, zwitteriónico, no iónico, o una de sus mezclas.
- E. Un champú según la realización D, en el que la amida es monoetanolamida de coco, dietanolamida de coco, y una mezcla de las mismas.
- 5 F. Un champú según la realización D, que adicionalmente comprende de aproximadamente 1% a aproximadamente 10% de un material de silicona no volátil.
- G. Un champú según la realización F, en el que la silicona no volátil es un polialquil siloxano, polialquilaril siloxano, copolímero poliéter siloxano, o una mezcla de los mismos, cuya viscosidad es de aproximadamente 100 centipoises a aproximadamente 150.000.000 centipoises a 25°C.
- 10 H. Un champú según la realización G, que adicionalmente comprende de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 5% de un agente de suspensión seleccionado del grupo que consiste en materiales anfífilos cristalinos que tienen estructuras semejantes a agujas o plaquetas, materiales poliméricos, arcillas, óxidos metálicos de pirólisis, y mezclas de los mismos.
- I. Un champú según la realización H, en el que el agente de suspensión es un material anfífilo cristalino seleccionado del grupo que consiste en derivados acilo de C₁₆-C₂₂, alcohol de C₁₆-C₂₂-amidas de ácidos grasos, y mezclas de los mismos.
- 15 J. Un champú según la realización I, en el que el agente de suspensión es un diéster de etilenglicol.
- K. Un champú según la realización D, en el que la cantidad de espinosina, o de derivado o sal de la misma, está en una concentración de aproximadamente 0,25% a aproximadamente 1,5%.
- 20 L. Un método para controlar una infestación de piojos en un ser humano, que comprende administrar tópicamente una formulación de la realización A a un ser humano.
- M. El método según la realización L, en el que la infestación de piojos es *Pediculus humanus capitis*.
- N. El método según la realización L, en el que la infestación de piojos es *Pediculus humanus*.
- O. El método según la realización L, en el que la infestación de piojos es *Pthirus pubis*.
- 25 P. Un método para tratar el cabello humano para matar y facilitar la separación de piojos y sus huevos, que comprende las etapas de:
- (a) aplicar al cabello húmedo de aproximadamente 10 g a aproximadamente 30 g de una formulación que comprende un compuesto de fórmula 1 ó 2, en las que R⁵ es un grupo que tiene una de las fórmulas 4a a 4i; o uno de sus derivados o sales fisiológicamente aceptables, y un vehículo fisiológicamente aceptable;
- 30 (b) extender la formulación a través del cabello y del cuero cabelludo;
- (c) dejar la formulación sobre el cabello y el cuero cabelludo durante aproximadamente 6-10 minutos;
- (d) separar la formulación del cabello enjuagando con agua.
- 35 Q. El uso de un compuesto de fórmula 1 ó 2, en las que R⁵ es un grupo que tiene una de las fórmulas 4a a 4i; o de uno de sus derivados o sales fisiológicamente aceptables, o de una formulación que contenga ambas cosas, para la fabricación de un medicamento para controlar piojos en un ser humano.

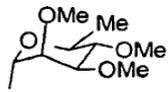
REVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1A) o (2A)

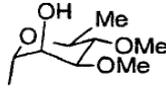


en las que:

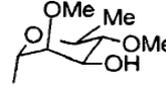
5 R³ es un grupo seleccionado de



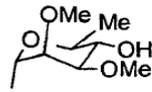
(3a)



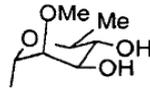
(3b)



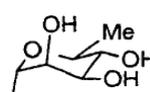
(3c)



(3d)



(3e)



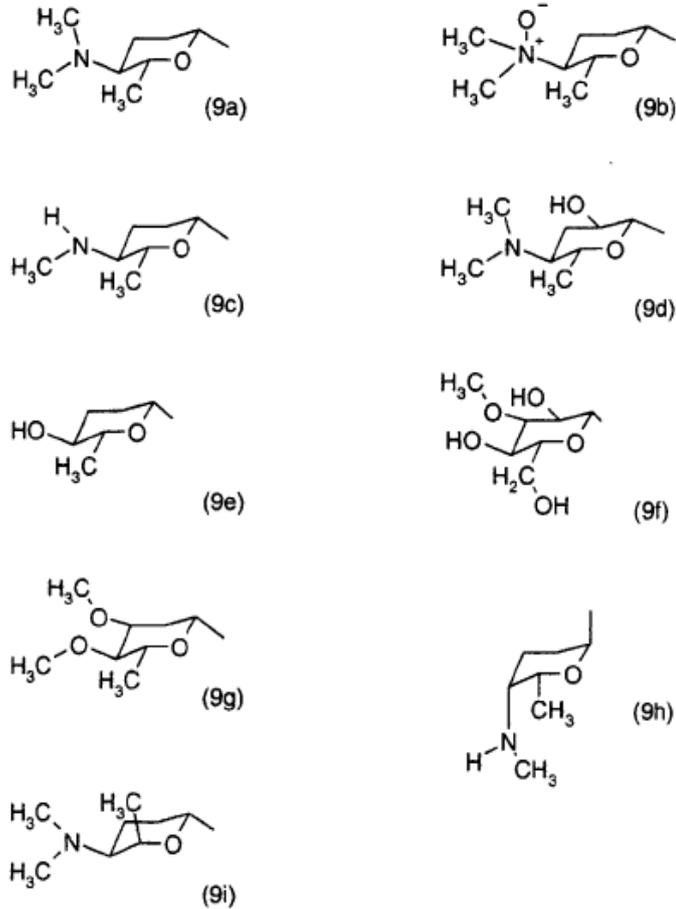
(3f)

R⁴ es un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxilo,

R⁵ es un átomo de hidrógeno o un grupo metilo,

R⁸ es 1-butenilo, 1,3-butadienilo, n-butilo, 3-hidroxi-1-butenilo, butan-3-ona, 1,2-epoxi-butilo o 1-propenilo,

10 R⁹ es un átomo de hidrógeno o un grupo seleccionado de



siempre que:

a) Si R^3 es un grupo de fórmula (3b) o (3c), R^4 y R^5 son H, y R^8 es 1-butenilo, entonces R^9 no es ni H ni un grupo de fórmula (9a); y

5 b) Si R^3 es un grupo de fórmula (3a), entonces R^4 y R^5 son H, R^8 es 1-propenilo, y R^9 es H.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R^8 es 1-butenilo, 1,3-butadienilo, n-butilo, 3-hidroxi-1-butenilo, butan-3-ona ó 1-propenilo.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R^3 , R^4 , R^5 , R^8 y R^9 están presentes en una de las siguientes combinaciones:

Compuesto nº	Fórmula	R^3	R^4	R^5	R^8	R^9
32	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9a)
33	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9a)
34	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	(9a)
35	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9c)
36	(1A)	(3d)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
37	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9a)
38	(1A)	(3a)	H	H	1-propenil	H

ES 2 496 940 T3

Compuesto n°	Fórmula	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
39	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	H
40	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	(9a)
41	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9a)
42	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9b)
43	(1A)	(3e)	H	H	1-propenil	(9a)
44	(1A)	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
45	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9c)
46	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9d)
47	(1A)	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
48	(1A)	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
49	(1A)	(3d)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
50	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9e)
51	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9f)
52	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	(9e)
53	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	(9g)
54	(1A)	(3d)	H	H	1-propenil	(9a)
55	(1A)	(3d)	H	CH ₃	1-butenil	H
56	(1A)	(3d)	OH	H	1-butenil	H
57	(1A)	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
58	(1A)	(3d)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
59	(1A)	(3d)	H	H	1,3-butadienil	H
60	(1A)	(3d)	H	H	n-butil	H
61	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9h)
62	(1A)	(3d)	H	H	1-butenil	(9i)
63	(1A)	(3d)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
64	(1A)	(3d)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
65	(1A)	(3d)	OH	H	1-propenil	(9a)
66	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9c)
67	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9d)
68	(1A)	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
69	(1A)	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
70	(1A)	(3e)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
71	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9e)
72	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9f)
73	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	(9e)
74	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	(9g)

ES 2 496 940 T3

Compuesto n°	Fórmula	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
75	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	H
76	(1A)	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	H
77	(1A)	(3e)	OH	H	1-butenil	H
78	(1A)	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
79	(1A)	(3e)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
80	(1A)	(3e)	H	H	1,3-butadienil	H
81	(1A)	(3e)	H	H	n-butil	H
82	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9h)
83	(1A)	(3e)	H	H	1-butenil	(9i)
84	(1A)	(3e)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
85	(1A)	(3e)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
86	(1A)	(3e)	OH	H	1-propenil	(9a)
87	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9b)
88	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9c)
89	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9d)
90	(1A)	(3f)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
91	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	(9a)
92	(1A)	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
93	(1A)	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
94	(1A)	(3f)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
95	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9e)
96	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9f)
97	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	(9e)
98	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	(9g)
99	(1A)	(3f)	H	H	1-propenil	(9a)
100	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	H
101	(1A)	(3f)	H	CH ₃	1-butenil	H
102	(1A)	(3f)	OH	H	1-butenil	H
103	(1A)	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
104	(1A)	(3f)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
105	(1A)	(3f)	H	H	1,3-butadienil	H
106	(1A)	(3f)	H	H	n-butil	H
107	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9h)
108	(1A)	(3f)	H	H	1-butenil	(9i)
109	(1A)	(3f)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
110	(1A)	(3f)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)

ES 2 496 940 T3

Compuesto n°	Fórmula	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
111	(1A)	(3f)	OH	H	1-propenil	(9a)
112	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9b)
113	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9c)
114	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9d)
115	(1A)	(3b)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
116	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	(9a)
117	(1A)	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
118	(1A)	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
119	(1A)	(3b)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
120	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9e)
121	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9f)
122	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	(9e)
123	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	(9g)
124	(1A)	(3b)	H	H	1-propenil	(9a)
125	(1A)	(3b)	H	CH ₃	1-butenil	H
126	(1A)	(3b)	OH	H	1-butenil	H
127	(1A)	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
128	(1A)	(3b)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
129	(1A)	(3b)	H	H	1,3-butadienil	H
130	(1A)	(3b)	H	H	n-butil	H
131	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9h)
132	(1A)	(3b)	H	H	1-butenil	(9i)
133	(1A)	(3b)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
134	(1A)	(3b)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
135	(1A)	(3b)	OH	H	1-propenil	(9a)
136	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9b)
137	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9c)
138	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9d)
139	(1A)	(3c)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
140	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9a)
141	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
142	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
143	(1A)	(3c)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
144	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9e)
145	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9f)
146	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9e)

ES 2 496 940 T3

Compuesto n°	Fórmula	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
147	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	(9g)
148	(1A)	(3c)	H	H	1-propenil	(9a)
149	(1A)	(3c)	H	CH ₃	1-butenil	H
150	(1A)	(3c)	OH	H	1-butenil	H
151	(1A)	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
152	(1A)	(3c)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
153	(1A)	(3c)	H	H	1,3-butadienil	H
154	(1A)	(3c)	H	H	n-butil	H
155	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9h)
156	(1A)	(3c)	H	H	1-butenil	(9i)
157	(1A)	(3c)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
158	(1A)	(3c)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
159	(1A)	(3c)	OH	H	1-propenil	(9a)
165	(1A)	(3c)	H	H	butan-3-ona	(9a)
166	(1A)	(3c)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
167	(1A)	(3d)	H	H	butan-3-ona	(9a)
168	(1A)	(3d)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
169	(1A)	(3e)	H	H	butan-3-ona	(9a)
170	(1A)	(3e)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
171	(1A)	(3e)	H	H	butan-3-ona	(9a)
172	(1A)	(3e)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
173	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9a)
174	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
175	(1A)	(3a)	H	H	butan-3-ona	(9a)
176	(1A)	(3a)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
177	(1A)	(3a)	OH	H	butan-3-ona	(9a)
178	(1A)	(3a)	OH	H	1,2-epoxi-butil	(9a)
179	(1A)	(3a)	H	CH ₃	butan-3-ona	(9a)
180	(1A)	(3a)	H	CH ₃	1,2-epoxi-butil	(9a)
181	(1A)	(3a)	OH	CH ₃	butan-3-ona	(9a)
182	(1A)	(3a)	OH	CH ₃	1,2-epoxi-butil	(9a)
183	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9b)
184	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9c)
185	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9d)
186	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9e)
187	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9f)

Compuesto nº	Fórmula	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
188	(1A)	(3b)	OH	H	butan-3-ona	(9e)
189	(1A)	(3b)	OH	H	butan-3-ona	(9g)
190	(1A)	(3b)	H	CH ₃	butan-3-ona	H
191	(1A)	(3b)	OH	H	butan-3-ona	H
192	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9h)
193	(1A)	(3b)	H	H	butan-3-ona	(9i)
194	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9b)
195	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9c)
196	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9d)
197	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9e)
199	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9f)
200	(1A)	(3b)	OH	H	1,2-epoxi-butil	(9e)
201	(1A)	(3b)	OH	H	1,2-epoxi-butil	(9g)
202	(1A)	(3b)	H	CH ₃	1,2-epoxi-butil	H
203	(1A)	(3b)	OH	H	1,2-epoxi-butil	H
204	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9h)
205	(1A)	(3b)	H	H	1,2-epoxi-butil	(9i)

4. Un compuesto según la reivindicación 1, de fórmula (1A).

5. Un compuesto según la reivindicación 4, en el que R³, R⁴, R⁵, R⁸ y R⁹ están presentes en una de las siguientes combinaciones:

Compuesto nº	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
32	(3d)	H	H	1-butenil	(9a)
33	(3f)	H	H	1-butenil	(9a)
34	(3d)	OH	H	1-butenil	(9a)
35	(3d)	H	H	1-butenil	(9c)
36	(3d)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
37	(3e)	H	H	1-butenil	(9a)
38	(3a)	H	H	1-propenil	H
39	(3d)	H	H	1-butenil	H
40	(3e)	OH	H	1-butenil	(9a)
41	(3c)	OH	H	1-butenil	(9a)
42	(3e)	H	H	1-butenil	(9b)
43	(3e)	H	H	1-propenil	(9a)
44	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
45	(3d)	H	H	1-butenil	(9c)
46	(3d)	H	H	1-butenil	(9d)

ES 2 496 940 T3

Compuesto nº	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
47	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
48	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
49	(3d)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
50	(3d)	H	H	1-butenil	(9e)
51	(3d)	H	H	1-butenil	(9f)
52	(3d)	OH	H	1-butenil	(9e)
53	(3d)	OH	H	1-butenil	(9g)
54	(3d)	H	H	1-propenil	(9a)
55	(3d)	H	CH ₃	1-butenil	H
56	(3d)	OH	H	1-butenil	H
57	(3d)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
58	(3d)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
59	(3d)	H	H	1,3-butadienil	H
60	(3d)	H	H	n-butil	H
61	(3d)	H	H	1-butenil	(9h)
62	(3d)	H	H	1-butenil	(9i)
63	(3d)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
64	(3d)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
65	(3d)	OH	H	1-propenil	(9a)
66	(3e)	H	H	1-butenil	(9c)
67	(3e)	H	H	1-butenil	(9d)
68	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
69	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
70	(3e)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
71	(3e)	H	H	1-butenil	(9e)
72	(3e)	H	H	1-butenil	(9f)
73	(3e)	OH	H	1-butenil	(9e)
74	(3e)	OH	H	1-butenil	(9g)
75	(3e)	H	H	1-butenil	H
76	(3e)	H	CH ₃	1-butenil	H
77	(3e)	OH	H	1-butenil	H
78	(3e)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
79	(3e)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
80	(3e)	H	H	1,3-butadienil	H
81	(3e)	H	H	n-butil	H
82	(3e)	H	H	1-butenil	(9h)

ES 2 496 940 T3

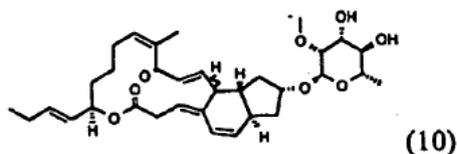
Compuesto nº	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
83	(3e)	H	H	1-butenil	(9i)
84	(3e)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
85	(3e)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
86	(3e)	OH	H	1-propenil	(9a)
87	(3f)	H	H	1-butenil	(9b)
88	(3f)	H	H	1-butenil	(9c)
89	(3f)	H	H	1-butenil	(9d)
90	(3f)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
91	(3f)	OH	H	1-butenil	(9a)
92	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
93	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
94	(3f)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
95	(3f)	H	H	1-butenil	(9e)
96	(3f)	H	H	1-butenil	(9f)
97	(3f)	OH	H	1-butenil	(9e)
98	(3f)	OH	H	1-butenil	(9g)
99	(3f)	H	H	1-propenil	(9a)
100	(3f)	H	H	1-butenil	H
101	(3f)	H	CH ₃	1-butenil	H
102	(3f)	OH	H	1-butenil	H
103	(3f)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
104	(3f)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
105	(3f)	H	H	1,3-butadienil	H
106	(3f)	H	H	n-butil	H
107	(3f)	H	H	1-butenil	(9h)
108	(3f)	H	H	1-butenil	(9i)
109	(3f)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
110	(3f)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
111	(3f)	OH	H	1-propenil	(9a)
112	(3b)	H	H	1-butenil	(9b)
113	(3b)	H	H	1-butenil	(9c)
114	(3b)	H	H	1-butenil	(9d)
115	(3b)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
116	(3b)	OH	H	1-butenil	(9a)
117	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
118	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)

ES 2 496 940 T3

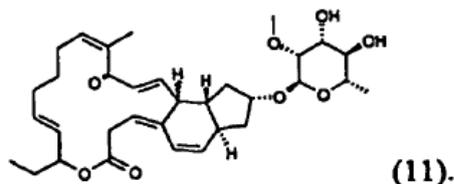
Compuesto nº	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
119	(3b)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
120	(3b)	H	H	1-butenil	(9e)
121	(3b)	H	H	1-butenil	(9f)
122	(3b)	OH	H	1-butenil	(9e)
123	(3b)	OH	H	1-butenil	(9g)
124	(3b)	H	H	1-propenil	(9a)
125	(3b)	H	CH ₃	1-butenil	H
126	(3b)	OH	H	1-butenil	H
127	(3b)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
128	(3b)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
129	(3b)	H	H	1,3-butadienil	H
130	(3b)	H	H	n-butil	H
131	(3b)	H	H	1-butenil	(9h)
132	(3b)	H	H	1-butenil	(9i)
133	(3b)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
134	(3b)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
135	(3b)	OH	H	1-propenil	(9a)
136	(3c)	H	H	1-butenil	(9b)
137	(3c)	H	H	1-butenil	(9c)
138	(3c)	H	H	1-butenil	(9d)
139	(3c)	H	CH ₃	1-butenil	(9a)
140	(3c)	OH	H	1-butenil	(9a)
141	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9a)
142	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	(9c)
143	(3c)	H	H	1,3-butadienil	(9a)
144	(3c)	H	H	1-butenil	(9e)
145	(3c)	H	H	1-butenil	(9f)
146	(3c)	OH	H	1-butenil	(9e)
147	(3c)	OH	H	1-butenil	(9g)
148	(3c)	H	H	1-propenil	(9a)
149	(3c)	H	CH ₃	1-butenil	H
150	(3c)	OH	H	1-butenil	H
151	(3c)	H	H	3-hidroxi-1-butenil	H
152	(3c)	OH	H	3-hidroxi-1-butenil	H
153	(3c)	H	H	1,3-butadienil	H
154	(3c)	H	H	n-butil	H

Compuesto nº	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁸	R ⁹
155	(3c)	H	H	1-butenil	(9h)
156	(3c)	H	H	1-butenil	(9i)
157	(3c)	OH	H	1,3-butadienil	(9a)
158	(3c)	OH	CH ₃	1-butenil	(9a)
159	(3c)	OH	H	1-propenil	(9a)

6. Un compuesto de la fórmula (10):



7. Un compuesto de la fórmula (11):



- 5 8. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁹ es diferente de H.
9. Un compuesto según la reivindicación 3, en el que R⁹ es diferente de H.
10. Una composición insecticida o acaricida, la cual comprende una cantidad desactivante de insectos, ácaros o garrapatas de un compuesto según la reivindicación 8 en combinación con un vehículo fitológica o fisiológicamente aceptable.
- 10 11. Un compuesto según la reivindicación 8, para usar como un insecticida o un acaricida.
12. Un compuesto según la reivindicación 8, para usar en proteger un lugar de crecimiento de una infestación de insectos, ácaros o garrapatas.
13. Un compuesto según la reivindicación 8, para usar en el control de una población de parásitos que infestan a un animal anfitrión.
- 15 14. Una formulación para usar en el control de una infestación de piojos en un ser humano, que comprende como un ingrediente activo un compuesto según la reivindicación 8, o uno de sus derivados o sales fisiológicamente aceptables, y un vehículo fisiológicamente aceptable.
15. Un compuesto según la reivindicación 8, para usar en el control de una infestación de piojos en un ser humano.
- 20 16. Un procedimiento para preparar un compuesto según la reivindicación 1, el cual comprende cultivar una cepa seleccionada de

NRRL 30424,

NRRL 30423,

NRRL 30422,

NRRL 30438,

NRRL 30421, y

NRRL 30437,

5 o una cepa derivada de las mismas que produce un compuesto según la reivindicación 1, en un medio de cultivo adecuado en condiciones de fermentación aerobia sumergida hasta que se produce una cantidad recuperable de un compuesto según la reivindicación 1, y recuperar un compuesto según la reivindicación 1 del medio de cultivo.

17. Un cultivo biológicamente puro de NRRL 30424, o una cepa derivada de la misma que produce un compuesto según la reivindicación 1.

18. Un cultivo biológicamente puro de NRRL 30423, o una cepa derivada de la misma que produce un compuesto según la reivindicación 1.

10 19. Un cultivo biológicamente puro de NRRL 30422, o una cepa derivada de la misma que produce un compuesto según la reivindicación 1.

20. Un cultivo biológicamente puro de NRRL 30438, o una cepa derivada de la misma que produce un compuesto según la reivindicación 1.

15 21. Un cultivo biológicamente puro de NRRL 30421, o una cepa derivada de la misma que produce un compuesto según la reivindicación 1.

22. Un cultivo biológicamente puro de NRRL 30437, o una cepa derivada de la misma que produce un compuesto según la reivindicación 1.