



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: 2 585 219

(51) Int. CI.:

A01N 65/08 (2009.01) A01N 65/20 (2009.01) A01N 65/30 (2009.01) A01N 35/06 (2006.01) A01N 65/00 (2009.01) A01N 65/42 (2009.01)

(12)

# TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

**T3** 

Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 04.10.2010 E 10822491 (6)
 Fecha y número de publicación de la concesión europea: 11.05.2016 EP 2496078

(54) Título: Antraquinona que contiene derivados como productos agrícolas bioquímicos

(30) Prioridad:

05.10.2009 US 248878 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **04.10.2016** 

(73) Titular/es:

MARRONE BIO INNOVATIONS, INC. (100.0%) 2121 Second Street Suite 107b Davis, CA 95618, US

(72) Inventor/es:

HUANG, HUAZHANG Y CAMPBELL, BRIAN

(74) Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

### **DESCRIPCIÓN**

Antraquinona que contiene derivados como productos agrícolas bioquímicos

Campo técnico

5

Se divulgan aquí composiciones y métodos para formular preparaciones que contienen derivados de antraquinona (por ejemplo, parietina, emodina, crisofanol, y ventiloquinona así sucesivamente) como biopesticidas.

### Antecedentes de la invención

10

15

Con la rápida propagación de la resistencia de poblaciones de patógenos de plantas a fungicidas sintéticos y una mayor conciencia de los humanos sobre la polución del medio ambiente, es muy necesario un medio alternativo de control de enfermedades de plantas. Los medios más efectivos son aumentar los mecanismos de defensa las plantas por resistencia de planta inducida [L. C. van Loon, P. A. H. M. Bakker, and C. M. J. Pieterse, Systemic resistance induced by Rhizosphere bacteria, Annu. Rev. Phytopathol. 1998. 36:453-83] y/o resistencia adquirida sistémica [W.E. Durrant and X. Dong, Systemic acquired resistance, Annu. Rev. Phytopathol., 2004, 42:185-209]. Por lo tanto, reduciendo y/o retrasando la formación de resistencia patógena y medioambientes protectores.

La resistencia inducida es un estado de capacidad defensiva de mejora desarrollada por una planta cuando es estimulada propiamente [Kuc, J., Development and future direction of induced systemic resistance in plants, Crop Protection, 2000, 19, 859-861]. La resistencia de planta inducida puede ser provocada por sustancias químicas, no patógenos, formas avirulentas de patógenos. Cuando la resistencia inducida es sistémica, es indicada comúnmente como resistencia requerida sistémica [L. C. van Loon, P. A. H. M. Bakker, and C. M. J. Pieterse, Systemic resistance induced by Rhizosphere bacteria, Annu. Rev. Phytopathol. 1998. 36:453-83].

25

30

35

40

45

Los derivados de antraquinona tales como reina, emodina, aloe emodina, parietina, parietina, emodina-glucósido, fision glucósido, crisofanol y crisofanol-glucósido también pertenecen a una familia de sustancias guímicas que inducen resistencia de plantas a patógenos. Se estudió bien la resistencia inducida de esta clase de sustancias químicas por uso de Milsana®, el nombre comercial dado al extracto de centidonia gigante [B. Fofana, D. J. McNally, C. Labbe, R. Boulanger, N. Benhamou, A. Seguin, R.R. Belanger, la resistencia inducida Milsana® en plantas de pepino infectadas con moho polvoriento se correlaciona con la inducción de sintasa chalcona y chalcona isomerasa, Physiol. Molec. Plant Patliol. 2002, 61, 121-132]. La parietina y emodina son los mayores derivados de antraquinona bioactiva en Milsana® que es verificada en el laboratorio por fraccionamiento guiado por bioensayo. Los derivados de glucósido de parietina y emodina son los menores para la actividad. Numerosos estudios en el campo agrícola han mostrado que muchos derivados de antraquinona muestran bioactividades fuertes tales como antifúngicos, antialimentaria, antimicrobiano, actividad molusquicida [S. K. Agarwal, S. S. Singh, S. Verma, S. Kumar, Antifungal activity of antraquinona derivatives from Rheum emodi, J. Ethnopharmacol. 72 (2000) 43-46S; J. D. D. Tamokoua, M. F. Tala, H. K.Wabo, J. R. Kuiatea, P. Tane, Antimicrobial activities of methanol extract and compounds from stem bark of Vismia rubescens, J. Etlnopharmacol, 2009, en prensa; G.N. Krishnakumari, B. Bhuvaneswari, I. R. Swapna, Antifeedant activity of quinones from Ventilago madaraspatana, Fitoterapia, 72 (2001) 671-675; Y. Liu, F. Sporer, M. Wink, J. Jourdane, R.Henning, Y. L. Li y A. Ruppel, Antraquinonas in Rheum palmatum and Rumex dentatus (Polygonaceae), and phorbol esters in Jatropha curcas (Euphorbiaceae) with molluscicidal activity against the schistosome vector snails Oncomelania, Biomphalaria and Bulinus, Tropical Medicine and International Health, 1997, 2(2), 179-188]. El sinergismo también existe en la interacción de estos compuestos tales como la interacción entre parietina y crisofanol [X-J., Yang, L-J., Yang, S-N., Wang, D-Z., Yu, H-W., Ni, Synergistic interaction of phiscion and chrisophanol on plant powdery mildew, Pest Manag Sci 63:511-515 (2007)].

Para proteger el medio ambiente, Milsana®, un producto derivado de Reynontria sachalinensis, se formuló como un concentrado de suspensión base en agua (SC), registrado como un pesticida bioquímico (documento US 4,863,734

Process for combating fungi; documento US 5,989,429, Processes for forming stabilized biochemical agricultural products). Milsana® es un producto muy efectivo para el control del moho. Sin embargo, dos de los mayores problemas que le impiden ser un producto de pesticida comercial son la reproductibilidad industrial y la inestabilidad de la formulación. Es pobre en la industria la reproductibilidad de hacer una formulación de este tipo, porque muchas sustancias químicas en los extractos tales como derivados de clorofila y antraquinona son compuestos hidrófobos, estos compuestos se pueden agregar para formar partículas más grandes a medida que el tiempo pasa. Múltiples dificultades están asociadas con tales partículas grandes. Éstas son difíciles de disolver en agua. Adicionalmente, disminuye la concentración efectiva de ingredientes activos en la solución de aplicación, que resulta en peor eficacia; las partículares también pueden adherirse a contenedores de atomización y son difíciles de lavar con agua. Las partículas grandes pueden incluso bloquear las boquillas.

60

65

Breve resumen de la divulgación

Se divulgan aquí formulaciones de derivados de antraquinona como productos agrícolas bioquímicos para uso contra plagas de plantas, particularmente fitopatógenos de plantas tales como bacterias patogénicas de plantas, hongos, insectos, nemátodos y/o como un molusquicida, así como el uso de herbicidas antes y después de la

emergencia contra malezas. En una realización particular, los derivados de antraquinona usados en composiciones y métodos divulgados aquí son los principales ingredientes activos o uno de los principales ingredientes activos.

La presente invención se relaciona con una formulación que comprende (a) una preparación que comprende un extracto derivado de una especie de planta Reynoutria, en el que dicho extracto comprende parietina y opcionalmente emodina; (b) uno o más alcoholes C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>, o glicoles o lactonas; (c) uno o más surfactante seleccionados de 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato y están presentes lauril sulfato de sodio y surfactantes en una cantidad efectiva para estabilizar dicha reparación y al menos uno de (d) un anticongelante, (e) un vehículo y (f) un agente antimicrobiano en la que un agente antimicrobiano es seleccionado del grupo consiste en un pesticida químico, biopesticida o productos naturales o de aceite que tienen actividad fúngica y/o insecticida.

En una realización particular, la formulación comprende una preparación que comprende uno o más derivados de antraquinona, que tienen actividad contra plagas de plantas, disueltos en hexanol y etanol, y comprende adicionalmente lauril sulfato de sodio y propionato de calcio. El derivado de antraquinona puede estar presente en una cantidad desde aproximadamente 0.001% a 45%, hexanol puede estar presente en una cantidad desde aproximadamente 0.1% a 10%, etanol puede estar presente en una cantidad desde aproximadamente 0.01% a 20%, lauril sulfato de sodio puede estar presente en una cantidad desde aproximadamente 0.01% a 15%, y propionato de calcio puede estar presente en una cantidad desde aproximadamente 0.001% to 10%.

15

20

25

30

45

60

65

En aún otra realización particular, la formulación comprende (a) una preparación que comprende uno o más derivados de antraquinona que tienen actividad contra plagas de plantas; (b) hexanol; (c) lauril sulfato de sodio ; (d) 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato; (e) propionato de calcio; (f) propilen glicol y (g) agua y está opcionalmente en la forma de una microemulsión. La antraquinona puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0.001% a 45%, hexanol está presente en la cantidad de aproximadamente 0.1-10%, 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato está presente en la cantidad de 0.1-35%, propilen glicol está presente en la cantidad de aproximadamente 1% a 8%, lauril sulfato de sodio está presente en la cantidad de aproximadamente 0.001% a 10%. La invención proporciona adicionalmente una formulación acuosa que comprende (a) una preparación que comprende uno o más derivados de antraquinona que tienen actividad contra plagas de plantas; (b) una o más bases; (c) uno o más cosolventes miscibles de agua. La preparación de (a) puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0.01-45% en peso; la base está presente en una cantidad de aproximadamente 0.1-10%; el cosolvente está presente en la cantidad de 0.1% to 30%.

En una realización particular, la formulación comprende dicho derivado, un glicol (por ejemplo, propilen glicol), un ácido orgánico (por ejemplo, ácido fórmico), una base (por ejemplo, hidróxido de sodio o carbonato de sodio). La preparación puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 45% en peso; la base está presente en una cantidad de aproximadamente 0.1% a 5%; propilen glicol está presente en la cantidad de aproximadamente 0.1% a 8% y el ácido orgánico está presente en la cantidad de aproximadamente 0.1% a 5%.

En una realización particular, las formulaciones incluyen pero no están limitadas a formulaciones basadas en agua tales como concentración de suspensión (SC), microemulsión (ME), nanoemulsión (NE), liquidó soluble (SL), listo para usar (RTU), emulsión en agua (EW), formulaciones microencapsuladas o nanoencapsuladas. También incluye formulaciones basadas en aceite tales como concentrado emulsificable (EC), y formulaciones en polvo tales como polvos solubles en agua (WSP), gránulos dispersables en agua (WDG) o tabletas dispersables en agua (WGT).

En aún otra realización particular, la formulación comprende adicionalmente un agente que puede ser un pesticida químico y/o biopesticida.

También se proporciona un método para modular infecciones fitopatogénicas, fúngicas y/o bacterianas y/o infestaciones de plagas de plantas en una planta que comprende la aplicación a la planta y/o semillas de la misma y/o al sustrato usado para el cultivo de dicha planta una cantidad de la formulación de las reivindicaciones 1-8 efectiva para modular dicho infecciones fitopatogénicas, fúngicas y bacterianas y/o infestaciones de plagas de plantas.

La presente invención también se relaciona con el uso de (a) una preparación que comprende un extracto derivado de una especie de planta Reynoutria, la que dicho extracto comprende parietina y opcionalmente emodina que tienen actividad contra plagas de plantas; (b) uno o más alcoholes C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> o glicoles o lactonas y (c) uno o más surfactante seleccionados del grupo que consiste en un sulfato para la preparación de una formulación para uso contra plagas de plantas.

La presente invención se relaciona con una formulación que comprende (a) una preparación que comprende un extracto derivado de una especie de planta Reynoutria, en la que dicho extracto comprende parietina y opcionalmente emodina; (b) uno o más alcoholes  $C_2$ - $C_7$ , o glicoles o lactonas; (c) uno o más surfactante seleccionados de 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato y lauril sulfato de sodio y surfactantes están presentes en cantidades efectivas para estabilizar dicha separación y al menos uno de (d)

un anticongelante, (e) un vehículo y (f) un agente antimicrobiano y en la que un agente antimicrobiano es seleccionado del grupo que consiste en un pesticida químico, producto biopesticida o natural o de aceite que tienen actividad fungicida y/o insecticida.

- También se proporciona un método para modular infecciones fitopatogénicas, fúngicas y bacterianas y/o infestaciones de plagas de plantas en una planta que comprende aplicación a la planta y/o semillas de la misma y/o al sustrato usado para cultivar dicha planta una cantidad de la formulación de las reivindicaciones 1-8 efectiva para modular dicho infecciones fitopatogénicas, fúngicas y bacterianas y/o infestaciones de plagas de plantas.
- La presente invención también se relaciona con el uso de (a) una reparación que comprende un extracto derivado de una especie de planta Reynoutria, en la que dicho extracto comprende parietina y opcionalmente emodina que tienen actividad contra plagas de plantas;(b) uno o más alcoholes C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> o glicoles o lactonas y (c) uno o más surfactante seleccionados del grupo que consiste en un sulfato para la preparación de una formulación para el uso contra plagas de plantas.
- 15 En una realización particular, se proporcionan métodos para uso de las formulaciones establecidas aquí anteriormente para modular infestaciones de plagas de plantas en suelo por aplicación al suelo en una cantidad de las formulaciones establecidas aquí anteriormente efectiva para modular dicha infestación de plagas de plantas.
- Las formulaciones establecidas anteriormente y divulgadas aquí pueden ser usadas simultáneamente con agente antimicrobiano tal como un biopesticida o pesticida químico en la mezcla de tanque o en un programa (aplicación secuencial llamada rotación) con orden predeterminado e intervalo de aplicación durante la temporada de crecimiento. Así, también se proporciona una combinación que comprende la formulación establecida anteriormente y el agente antimicrobiano.
- Alternativamente, las formulaciones establecidas anteriormente pueden comprender adicionalmente un agente antimicrobiano. En una realización particular, el agente antimicrobiano está presente en la cantidad de aproximadamente 0.001% a aproximadamente 10% en peso.
- Las formulaciones y combinaciones que comprenden los ingredientes establecidos anteriormente, así como agentes antimicrobianos, también pueden ser usados para modular infestación de plagas de plantas en plantas y/o suelo y modular infección fitopatogénica, fúngica y bacteriana.

Descripción detallada de invención

5

- Cuando se provee un rango de valores, se entiende que cada valor que interviene, hasta el décimo de la unidad del límite inferior a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior del rango y cualquier otro valor establecido o que interviene en aquel rango establecido, están abarcados de la invención. Los límites superiores e inferiores de estos pequeños rangos pueden ser incluidos independientemente en los pequeños rangos y también están abarcados de la invención, sometidos a cualquier límite excluido específicamente en el rango establecido. Donde el rango establecido incluye uno o ambos límites, los rangos que excluyen cualquiera de los límites incluidos también están incluidos en la invención.
- A menos que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado como se entiende comúnmente por un experto ordinario en la técnica a la cual la invención pertenece.

  45 Aunque cualquier método y material similar equivalente a aquellos descritos aquí también puede ser usado en la práctica o prueba de la presente invención, se describen ahora los métodos preferidos y materiales.
- Se debe notar, como es usado aquí y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/una," "y" y "la/el" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, "un hongo" también abarca "hongos".
  - Como es definido aquí, el término "modular" se usa para indicar una alteración de la cantidad de infección fitopatogénica, bacteriana o fúngica, infestación de plagas de plantas o la rata de esparcimiento de la infección fitopatogénica, bacteriana o fúngica o infestación de plagas de plantas.

Derivados de antraquinona.

55

Los derivados de antraquinona incluyen no están limitados a parietina, emodina, crisofanol, ventiloquinona, emodia glucosilada, crisofanol glucósido, parietina glucosilada, 3, 4-dihidroxi-1-metoxi antraquinona-2-corboxaldehido, damnacantal. Estos derivados comparten una estructura similar como la siguiente:

$$R_7$$

$$R_6$$

$$R_5$$

$$R_6$$

$$R_6$$

$$R_6$$

$$R_6$$

$$R_8$$

Donde R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> y R<sub>8</sub> son hidrógeno, hidroxilo, hidroxiloalquilo, halógeno, carboxilo, alquilo, alquiloxilo, alquinilo, alquiniloxilo, heterociclilo, aromático, o un grupo arilo, azucares tales como glucosa;

En una realización particular, la invención está dirigida a derivados de antraquinona que están contenidos en extractos derivados de familias de plantas que incluyen pero no están limitadas a Polygonaceae, Rhamnaceae, Fabaceae, Asphodelaceae, y Rubiaceae. Éstos compuestos también pueden ser aislados u obtenidos de cualquier parte de las plantas tales como hoja, tallo, corteza, raíces y frutos. Los materiales de plantas pueden ser húmedos o secos. Para conocer los productos, solventes y procesos agrícolas bioquímicos que son usados en la extracción y purificación se deben cumplir con los requisitos del National Organic Program (NOP) [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citados el 20 de julio de 2009].

En una realización más particular, el extracto de planta es derivado de un miembro de la familia Polygonaceae. Como se define aquí, "derivado de" indica aislado directamente u obtenido de una fuente particular o alternativa que tienen características de identificación de una sustancia u organismo aislado u obtenido de una fuente particular. En una realización particular, el extracto en dicha combinación contiene al menos un derivado de antraquinona tal como parietina y emodina opcionalmente. Los miembros de la familia Polygonaceae incluyen pero no están limitados a Acetosella, Antigonon, Aristocapsa, Bilderdykia, Brunnichia, Centrostegia, Chorizanthe, Coccoloba, Coccolobis, Coccolobo, Corculum, Dedeckera, Delopyrum, Dentoceras, Dodecahema, Emex, Eriogonum, Fafopyrum, Fagopyrum, Fallopia, Gilmania, Goodmania, Harfordia, Hollisteria, Koenigia, Lastarriaea, Mucronea, Muehlenbeckia, Nemacaulis, Oxyria, Oxytheca, Perscarioa, Persicaria, Plenropterus, Podopterus, Polygonella, Polygonum, Pterostegia, Rheum, Rumex, Ruprechtia, Stenogonum, Systenotheca, Thysanella, Tovara, Tracanlon, Triplaris y en una realización aún más particular, el extracto puede ser derivado de una especie de Reynoutria (indicada alternativamente como Fallopia) sp o Rheum. En una realización la más particular, el extracto derivado de Revnontria sachalinensis.

En todavía una realización más particular, el porcentaje de concentración de derivados de antraquinona en esas formulaciones sigue un rango de entre 0.001 a 99.99%. En una realización específica, el rango de concentración está entre aproximadamente 0.01 a 95%. La concentración esta preferiblemente entre aproximadamente 0.01% a aproximadamente 45%.

Los derivados de antraquinona existen naturalmente en algunas plantas, hongos, líquenes, e insectos. Como se notó anteriormente, en plantas, están presentes las diferentes familias tales como Polygonaceae, Rhamnaceae, Fabaceae, Asphodelaceae, Rubiaceae y otras [Subash C. Verma, Narendra P. Singh, Arun K. Sinha, Determination and locational variations in the quantity of hydroxyantraquinonas and their glycosides in rhizomes of Rheum emodi using high-performance liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 1097 (2005) 59-65]. Los derivados de antraquinona distribuyen ampliamente tejidos de plantas diferentes tales como hoja, tallo, corteza, raíces y frutos. La parietina, como un ejemplo, existen muchas hierbas tales como grosella china (o fruta Kiwi, Actinidia chinensis Planch), hierba Abrus (Abrus Cantoniensis Hance), shan ma gen (Boehmeria tricuspis Hance), semillas de Café Senna (Cassia occidentalis L.), semillas de Casia (o semilla de senna hoz de Cassia obtnsifolia L.), hoja de Senna (Cassia angnstifolia Vahl.), hoja de Tiña Senna (Cassia alata L.), Dysosmatis Común Rizoma y Raíz (Dysosma versipellis Hance), bai ba jiao lian (Dysosma majorensis Gagnep.), hierba del árbol de Licopodio (Lycopodium obscnrum L.), Morera medicinal (Morinda officinalis How), raíz de la Paja Screwpine (Pandanus tectorius Soland), he shou wu (Polygonum multiflorum Thunb), ji xue qi (Polygonum amplexicaule), xue san qi (Rheum likiangense San.), xi zang suan mo (Rnmex patientia L.), mao mai suan mo (Rumex gmelini Turcz.), niu she cao (Rumex dentatus L.), suan mo (Rumex acetosa L.), hu zhang (Polygonum Cuspidatium), tu da huang (Rumex obtusifolius L.), ta huang (Rheum nodile Hook.), yang ti (Rnmex japonicus Houtt.), raíz de Espino Amarillo oriental (Rhamnus crenata Sieb.), qian cao (Rubia cordifolia L.), da feng yao (Rhammus napelensis Wall.), tallo de la Vid Gloria Sargent (Sargentodoxa cuneata Oliv.), hierba del Loto de la Nieve (Sanssurea laniceps Hand.) y así sucesivamente [Base de datos de hierbas Chinas http://www.temlib.com/citado el 20 de julio de 2009].

Los derivados de antraquinona pueden ser extraídos de materiales de planta por cualquier solvente inorgánico u orgánico que está permitido usar por el National Organic Programs [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009]. Por ejemplo, estos materiales pueden ser molidos y luego extraídos con una solución base, después acidificados por una solución de ácido y finalmente extraídos por solventes orgánicos tales como acetato de etilo, butanol; o los materiales molidos pueden ser extraídos directamente con solventes orgánicos tales como etanol, o etil acetato; o cualquier otro método y su combinación para extraer derivados de antraquinona de materias de plantas. La solución de extracción es entonces concentrada o secada al vacío con una temperatura apropiada tal como 20-100 °C, preferiblemente de 30-70 °C.

60

55

5

10

15

20

25

30

35

40

45

### **Formulaciones**

Dependiendo de los métodos de extracción, los extractos que contienen derivados de antraquinona pueden incluir desde compuestos muy solubles en agua (por ejemplo, azúcares libres, glucósidos, ácidos, aminoácidos y otros) 5 hasta compuestos muy hidrófobos (por ejemplo, clorofila, ácidos grasos de cadena larga, derivados de antraquinona y otros). Las propiedades físicas de estos extractos pueden conducir a problemas para formulaciones tradicionales basadas en aceite porque los compuestos hidrofílicos no se pueden disolver en aceite, pero sí en agua, y los compuestos hidrófobos no pueden disolverse en agua, pero sí en aceite. Únicamente los extractos obtenidos con solventes hidrófobos tales como etil acetato o butanol son adecuados para formulaciones basadas en aceite tales 10 como concentrado emulsificable (EC). Por lo tanto, son la mejor opción las formulaciones de polvo y basadas en agua para cualquier extracto. Las formulaciones basadas en agua incluyen concentración de suspensión (SC), microemulsión (ME), nanoemulsión (NE), liquidó soluble (SL), emulsión en agua (EW), listo para usar (RTU) y formulación microencapsulada o nanoencapsulada. Las formulaciones de polvo incluyen pero no están limitadas a polvos solubles en agua (WSP), gránulos dispersables en agua (WDG) y tabletas dispersables en agua (WGT). Para 15 comparar fácilmente con SC de Milsana®, se usan polvos secos de extracto de etanol de la centidonia gigante Polygonum sachalinense en todos los siguientes ejemplos de formulaciones.

### Concentrado de suspensión

- 20 El concentrado de suspensión (también denominado como "SC") es definido como una suspensión estable de ingredientes activos en partículas sólidas en un líquido destinado para dilución con agua antes de usarse. La formulación puede contener ingrediente activo, anticongelante, espesante, estabilizador, agua y otros tales como ingredientes antimicrobianos, antiespumantes.
- La parietina y emodina son los mayores ingredientes activos técnicos en polvos secos de extracto de etanol de centidonia gigante de Polygonum sachalinense. Sus puntos de fundido están sobre 200 °C y son muy estables en agua. Por lo tanto, basados en ingredientes activos, el extracto de etanol de centidonia es adecuado para la formulación de SC.
- Los solventes orgánicos miscibles en agua pueden ayudar a disolver parte los compuestos hidrófobos y resolver problemas acerca de la agregación o partículas grandes. Básicamente, todos los solventes miscibles en agua de las listas de sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009], son posibles a menos que se muestre fitotoxicidad a la rata de aplicación recomendada más alta. Tales solventes incluyen pero no están limitados a alcoholes, que pueden incluir pero están limitados a alcoholes alifáticos C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> (por ejemplo, etanol, isopropanol, glicoles (por ejemplo, propilen glicoles), ácidos (por ejemplo, ácido acético, ácido propanoico) y lactonas (por ejemplo, gamma-butirolactona). El contenido porcentual máximo del solvente orgánico miscible en agua en SC debe permitir compuestos hidrófobos máximos para disolver, pero no para producir fitotoxicidad a la rata de aplicación recomendada más alta. El ingrediente activo en tal formulación permite un rango desde 0.001% hasta 90%, preferiblemente 0.01% hasta 45%.

La preparación puede ser optimizada por ajuste de la cantidad etanol. Se investigó el peso porcentual del etanol a 1, 2, 4, 6, 8 y 10% en la formulación final. Basada en propiedades físicas de formulaciones finales tales como tamaño de partícula suspendida y precipitación, la formulación con 10% (W/W) de etanol fue la labor formulación.

### 45 Microemulsiones

40

50

55

60

65

Una microemulsión (también indicada como "ME") es una emulsión estable termodinámica que es clara porque las gotas individuales de la fase dispersa tienen menos de 100 nanómetros en diámetro. La composición de ME consiste en, anticongelante, cosolvente, surfactantes, agua y otros, tales como agentes antimicrobianos. Los ingredientes activos para tal formulación están dentro de un rango de 0.1-50%, preferiblemente 1-30%.

Los agentes antimicrobianos pueden prevenir a los microorganismos de crecer en la ME durante el almacenamiento. Cualquier sustancia química listada en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] es adecuada para tal propósito. Por ejemplo, sales de bicarbonato, sales de carbonato, sal de propionato, sal de sorbato, benzoato, etc. La cantidad de los agentes microbianos siguen un rango de 0.1 a 15%, preferiblemente 2-10%. El agente antimicrobiano puede ser un pesticida químico y en particular puede ser un fungicida químico no inorgánico de sitio múltiple, seleccionado del grupo que consiste en cloronitrilo, quinoxalina, sulfamida, fosfonato, fosfito, ditiocarbamato, cloralquitios, fenilpiridin-amina, oxima ciano-acetamida. Alternativamente, el pesticida químico puede ser un agente insecticida o antibacteriano que incluye pero está limitado a carbamatos, organofosfatos, ciclodienos organoclorados, fenilpirazolas, piretroidas, neonicotinoidas, piretrinas, nitroguanadinas, nicotina, espinosina, glucósidos, análogos de la hormona juvenil y otros reguladores del crecimiento de insectos, azometina piridina, piridina carboxamida, tetrazina, tiazolidinona, derivados de 2,4-difeniloxzolina, orgánicos de estaño, pirrol, buprofezina, hidrametilnona, derivados de naftoquinona, piridazinona, fenoxipirazol, ácido tetrónico, carbazato, rotenona, organoclorado-difenilalifaticos. El agente antimicrobiano puede ser un biopesticida derivado de un microorganismo tal como Streptomyces, Burkholderia, Trichoderma, Gliocladium

o puede ser un aceite natural o producto de aceite que tienen actividad fungicida y/o insecticida (por ejemplo, aceite de parafina, aceite de árbol de té, aceite de hierba limón).

- Los anticongelantes generalmente son alcoholes (por ejemplo, isopropanol, butanol, glicerina o glicoles tales como propilen glicol), y azúcares (por ejemplo, glucosa), que están listados en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009]. Los anticongelantes pueden comprender adicionalmente cualquier sustancia química con baja toxicidad; son especialmente sustancias químicas naturales adecuadas para este propósito. El contenido porcentual de anticongelantes en ME depende de las propiedades químicas, generalmente en un rango de 0.1-15%, preferiblemente en un rango de 2-8%.
- Los cosolventes ayudan a disolver los ingredientes activos. Éstos son generalmente alcoholes que incluyen pero no están limitados a alcoholes alifáticos C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> (por ejemplo, etanol, isopropanol, butanol, hexanol), cetonas y ésteres (por ejemplo, gliceril triacetato, gammabutirolactona), que están listados en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009]. Sin embargo, los cosolventes no están limitados a estas sustancias químicas. Cualquier sustancia química con baja toxicidad, especialmente las sustancias químicas naturales, son adecuadas para este propósito. El contenido porcentual de cosolventes en ME depende de propiedades químicas, generalmente 0.1-20%, preferido de 1-15%.
- Una combinación de surfactante puede ayudar a estabilizar la microemulsión. Generalmente, la combinación incluye un surfactante no iónico y un surfactante aniónico o surfactante catiónico. Generalmente, el balance hidrófilo-lipófilo (HLB) de cualquier combinación de surfactante listada en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] cae dentro de 13 a 40 que es adecuado para este propósito. Estos surfactantes, por ejemplo, incluyen pero no están limitados a sal de sulfato, sal de fosfato, alcoholes etoxilados, ésteres de ácido graso etoxilados, fenoles etoxilados, ácidos grasos etoxilados, etc. En una realización particular, el surfactante es por lo menos uno de 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato o lauril sulfato de sodio. La cantidad de los surfactantes combinados sigue un rango de 0.1-50%, preferiblemente 10-40%.

Líquido soluble o concentrado soluble

- El liquidó soluble (también indicado como "SL") (o concentrado soluble, también indicado como "SC") es una formulación líquida uniforme. Los ingredientes activos son disueltos en un solvente líquido (especialmente en agua) con/sin la ayuda de cosolventes y surfactantes. El concentrado es entonces diluido en agua cuando se aplica. La mayoría de los derivados de antraquinona (por ejemplo, parietina, emodina, crisofanol, ventiloquinona) usados en la composición de la presente invención poseen uno o múltiples grupos hidroxilo en los anillos aromáticos, lo que hace la desprotonación fácil bajo una condición básica. Después de formar sales, estos derivados de antraquinona tendrán solubilidad en agua alta. Los derivados de antraquinona desprotonizados tales como emodina y parietina aún son muy activos y son estables en condiciones básicas. El contenido de ingredientes activos sigue un rango de aproximadamente 0.001-80%, preferiblemente 0.01-45 %, de manera más preferible aproximadamente 0.02-25 %.
- Las bases incluyen pero no están limitadas a sales de carbonato (por ejemplo, carbonato de sodio, carbonato de potasio, etc.), sales de hidróxido (por ejemplo, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, etc.). Cualquier sustancia química básica permitida, permitida para ser usada por NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] que puede desprotonar el grupo hidroxilo del fenol o formar una sal con este, satisfará este propósito. El contenido de la base sigue un rango de aproximadamente 0.1-10%, de manera preferible aproximadamente 0.2-5%.
  - Los cosolventes para una formulación tal son solventes miscibles en agua tales como alcoholes (por ejemplo, etanol, isopropanol), ácidos (por ejemplo, ácido acético, ácido propanoico) y lactonas (por ejemplo, gamma-lactona). En una realización particular, es un alcohol C2-C7 o glicol. Cualquier solvente miscible en agua listado en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] es adecuado para este propósito. El contenido del cosolvente sigue un rango de aproximadamente 0.1-20%, de manera preferible aproximadamente 0.1-15%.
- El surfactante puede ser cualquier dispersante permitido para ser usado por NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009]. El dispersante incluye pero no está limitado a ácido húmico, Vanisperse CB, etc. los surfactantes para una formulación tal pueden ser aquellos con altos valores de HLB, generalmente sobre 12, generalmente sobre 13. Cualquier surfactante permitido para ser usado por NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] es adecuado para dicho propósito. Estos surfactantes, por ejemplo, incluyen pero no están limitados a sal de sulfato, sal de fosfato, alcoholes etoxilados, ésteres de ácidos grasos etoxilados, fenoles etoxilados, ácidos grasos etoxilados, etc. La cantidad de surfactantes sigue un rango de 0.5-35%, preferiblemente 3-8%.

Lista para usar (RTU)

50

Lista para usar (también indicada como "RTU") es una formulación que es muy baja en concentración, usada sin dilución o mezcla. Puede ser un sólido (por ejemplo, cebo) o alternativamente un líquido, frecuentemente aplicado a través de una botella de atomización de gatillo. El líquido RTU usualmente usa aqua como un vehículo. La RTU

puede ser cualquiera de las formulaciones tales como ME, SL, SC y etc. La composición de una formulación tal es similar a ME, SL o SC como se describió anteriormente.

- Los agentes antimicrobianos pueden prevenir a microorganismos de crecer en la RTU durante el almacenamiento. Cualquier sustancia química listada en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] es adecuada para este propósito. Por ejemplo, sales de bicarbonato, sales de carbonato, sal de propionato, sal de sorbato, benzoato, etc. La cantidad de agentes antimicrobianos sigue un rango desde 0.001 a 2 %, preferiblemente 0.01-0.5%.
- Los estabilizadores puede ser cualquier sustancia química listada en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] que pueden estabilizar los derivados de antraquinona en agua. Esto incluye pero no está limitado a solventes miscibles en agua tales como etanol, o sal inorgánica tal como EDTA o cualquier surfactante listado en las sustancias permitidas en NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009]. La cantidad del estabilizador sigue un rango de aproximadamente 0.001 a 2 %, de manera preferible aproximadamente 0.01-0.1%.

Los surfactantes para una formulación tal pueden ser dispersantes o cualquier surfactante con valores altos de HLB, generalmente sobre 12, preferiblemente sobre 13. Cualquier dispersante o surfactante permitido para ser usado por NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009] es adecuado para dicho propósito. Estos surfactantes, por ejemplo, incluyen pero no están limitados a sal de sulfato, sal de fosfato, alcoholes etoxilados, ésteres de ácidos grasos etoxilados, fenoles etoxilados, ácidos grasos etoxilados y etc. La cantidad de surfactante sigue un rango desde 0.001-1%, preferiblemente 0.01-0.5%.

Polvo soluble en agua (WSP)

20

35

45

50

- El WSP es un concentrado en polvo que puede disolverse directamente en agua y resulta en una solución de atomización. Los extractos de plantas que contienen derivados de antraquinona pueden ser formulados de manera similar como con solidó doble (SL). Los vehículos sólidos son solubles en agua tales como bicarbonato, carbonato y dextrinas.
- Gránulos dispersables en agua (WDG) y tabletas dispersables en agua (WGT)

Estas son formulaciones que usan vehículos (por ejemplo, caolina, calcio ligero, negro de carbón blanco, sílice de algas de suelo) para absorber o pegar los ingredientes activos, y usar dispersantes y otros adyuvantes para ayudar a la dispersión en agua, que resulta en solución de atomización.

Concentrado emulsificable (EC)

Este es una forma de concentrado líquido de pesticida que es mezclado con agua para crear una solución de atomización. Cuando los derivados de antraquinona de plantas son extraídos con solventes hidrófobos listados en las sustancias permitidas por NOP [http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop, citado el 20 de julio de 2009], los extractos pueden ser formulados como EC. Los solventes hidrófobos incluyen pero no están limitados a butanol, hexanol y etil acetato también.

### **Ejemplos**

Los ejemplos abajo son presentados para describir realizaciones preferidas y utilidades de la invención y no pretenden limitar la invención a no ser que se indique lo contrario en las reivindicaciones adjuntas a la misma.

Ejemplo de referencia 1: concentrado soluble

Preparación de 5% de producto de SC de Reynoutria sachalinensis (indicado de aquí en adelante como "producto SC de MBI del 5%":

- A) 50 gramos de extracto de centidonia seca (Reynontria sachalinensis) en etanol son homogenizados en 100 gramos de etanol desnaturalizado a 600 rpm por al menos 5 min; B) 378 gramos de nitrato de calcio son homogenizados en 463 gramos de agua por al menos 5 min a 600 rpm; C) A y B son combinados y luego la mezcla es homogenizada a 2500 rpm por al menos 5 min. Al final, la temperatura de la formulación final fue aproximadamente 44-50°C.
- 60 La evaluación de propiedades físicas de SC de Reynoutria sachalinensis del 5%: se evaluó la dispersión y estabilidad de la nueva SC de 5% SC diluido 200 veces con agua dura (nota: diluido 200 veces es la rata de aplicación recomendada). Hubo precipitado insoluble despreciable (<1% del total del sólido seco). La prueba de almacenamiento a 4°C y 54°C por 2 semanas mostro que hubo una pequeña capa de precipitados bajo la botella, pero esta capa fue suspendida nuevamente por agitación ligera de la botella. Sin embargo, a diferencia de la SC de Reynontria sachalinensis del 5%, preparado usando procedimientos descritos en el documento US No. 5,989,429 y

comercializados como Milsana® de KHH no hubo agregación y partículas grandes observadas. No hubo obstrucción de la botella cuando se aplicó con producto SC de MBI del 5%.

Bioensayo de pepino con moho pulverulento: las plantas de pepino tenían dos años de edad cuando se trataron. La primera verdadera hoja abierta estaba creciendo activamente en todas las plantas. Milsana® de KHH diluido 200 veces, fue usada para control positivo. Cinco diferentes lotes de muestras de SC de Regalia® del 5% se evaluaron en diluidos de 200 veces. Los tratamientos se prepararon en agua que contenía 0.02% (v/v) Nu-Film P. Los tratamientos se aplicaron usando un atomizador de niebla de 2 oz. Cada planta se trató con 3.5-4 ml (2.5-3 ml para el lado superior y 1ml para el lado inferior). Tres horas después del tratamiento, todas las plantas fueron inoculadas con una suspensión fresca de conidios de aproximadamente 8.4 X105 de conidio por ml suspendido en agua. El número de lesiones de moho pulverulento fue determinado 7 días después del tratamiento/inoculación.

Comparación de resultados de bioensayo: los resultados (Tabla 1) indicaron que la eficacia promedio del producto SC de MBI del 5% fue mucho más alta que la de SC de Milsana® del 5%. Adicionalmente, la eficacia del producto SC de MBI fue reproducible a través de bache a bache.

Tabla 1: Comparación de eficacia entre SC de Milsana® del 5% y SC de Regalia® del 5% hacia moho pulvurulento de pepino Sphaerotheca fuliginea

Tratamiento	Colonia/hoja*	Control (%)
Control no tratado	196.0 <u>+</u> 47.2	0
Milsana® SC	33.0 <u>+</u> 11.7	83.2
Muestra del producto de SC de MBI 1	7.3 <u>+</u> 4.3	96.3
Muestra del producto de SC de MBI 2	7.3 <u>+</u> 1.1	96.3
Muestra del producto de SC de MBI 3	5.5 <u>+</u> 2.9	97.2
Muestra del producto de SC de MBI 4	4.0 <u>+</u> 2.1	98.0
Muestra del producto de SC de MBI 5	1.0 <u>+</u> 0.7	99.5

Ejemplo 1: Microemulsión (de quien adelante indicada como es "ME")

5

10

15

20

25

30

35

Preparación de la ME de Reynoutria sachalinensis del 5% (indicada de aquí en adelante como producto de ME de MBI del 5%): 1) 5 gramos de extractos de centidonia seca (Reynoutria sachalinensis) en etanol son mezclados con 2 gramos de propilen glicol a 900 rpm por 5 minutos; 2) 22 gramos de 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi) etoxi]etilhexadecanoato y 3 gramos de sulfato lauril de sodio son añadidos a la mezcla y mezclados a 900 rpm por 5 minutos; 3) 3 gramos de propionato de calcio son mezclados con 63 gramos de agua; 4) la mezcla del paso 3 es añadida a la mezcla del paso 2 por agitación a 900 rpm por 10 minutos para formar una formulación clara. Esta formulación satisface la prueba de dispersión y estabilidad, y también pasó la prueba de estabilidad de almacenamiento de 2 semanas tanto a 4 como a 54°C.

Preparación de la ME de Reynoutria sachalinensis del 20% (indicada aquí en adelante como producto de ME de MBI del 20%): 1) 20 gramos de extractos de centidonia seca (Reynoutria sachalinensis) en etanol son mezclados con 7 gramos de hexanol y 4 gramos de propilen glicol a 900 rpm por 5 minutos; 2) 30 gramos de 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi) etoxi]etil hexadecanoato y 6 gramos de sulfato lauril de sodio son añadidos a la mezcla y todos los ingredientes son mezclados a 900 rpm por 5 minutos; 3) 6 gramos of sorbato de potasio son mezclados con 27 gramos de agua; 4) la mezcla del paso 3 es añadida a la mezcla del paso 2 por agitación a 900 rpm por 10 minutos para formar una formulación clara. Esta formulación satisface la prueba de dispersión y estabilidad, y también pasó la prueba de estabilidad de almacenamiento de 2 semanas tanto a 4 como a 54°C.

- [0060] Bioensayo de pepino con moho pulverulento: El bioensayo fue ejecutado como se describió anteriormente excepto que las plantas fueron inoculadas con una suspensión de conidios de 2.4 x 105 de conidio por ml. Dos lotes del producto de ME de MBI del 5% fue diluido a 200, 800 y 3200 veces. Un lote del producto de ME de MBI del 20% fue probado en una dilución de 2000 veces.
- Comparación de resultados de bioensayo: Los resultados (Tabla 2) indicaron que la eficacia promedio del producto de ME de MBI del 5% en una dilución de 800 veces fue igual o mejor que SC Milsana® del 5% diluido 200 veces. Similarmente, la eficacia promedio del producto de ME de MBI del 20% en dilución de 2000 veces (Tabla 3) fue igual a o mejor que SC Milsana® del 5 en dilución de 2000 veces.
- Tabla 2: Comparación de eficacia entre SC de Milsana® del 5%, producto ME de MBI del 5% hacia moho pulvurulento de pepino Sphaerotheca fuliginea

Tratamiento	dilución	lesiones	% de control
Control		381.7	0
SC de Milsana® del 5%	200	98.3	74.2
Producto (I) de ME de MBI del 5%	200	14.0	95.8
Producto (I) de ME de MBI del 5%	800	56.7	83.5
Producto (I) de ME de MBI del 5%	3200	280.0	32.7
Producto (II) de ME de MBI del 5%	200	7.7	97.9
Producto (II) de ME de MBI del 5%	800	83.3	78.4
Producto (II) de ME de MBI del 5%	3200	210.0	43.9

Tabla 3: Comparación de eficacia entre SC de Milsana® del 5%, producto ME de MBI del 20% hacia moho pulvurulento de pepino Sphaerotheca fuliginea

Tratamiento	dilución	lesiones	% de control
Control		388.0	0
SC de Milsana® del 5%	200	12.0	96.6
Producto de ME de MBI del 20%	2000	8.3	97.4

Ejemplo de referencia 2: Líquido soluble (SL)

Preparación del producto de SL de MBI del 20%: 1) 2 gramos de hidróxido de sodio (o 5 gramos de carbonato de sodio) son disueltos en 50 gramos de agua con 4 gramos of propilen glicol; 2) 5 gramos de ácidos fórmicos líquidos son añadidos para disolver; 3) 20 gramos de extractos de centidonia seca (Reynontria sachalinensis) en etanol son añadidos lentamente con agitación a 900 rpm hasta que se obtiene una solución uniforme. Esta formulación satisface la prueba de dispersión y estabilidad, y también pasó la prueba de estabilidad de almacenamiento de 2 semanas tanto a 4 como a 54°C. El valor de pH de una tal formulación está alrededor de 8-8.5.

Bioensayo de pepino con moho pulverulento: El bioensayo se ejecutó como se describió anteriormente excepto que las plantas fueron inoculadas con una suspensión de conidios de 5 x 105 conidios por ml. Cuatro lotes del producto de SL de MBI del 20% fueron diluidos 2000 veces.

20 Comparación de resultados de bioensayo: Los resultados (Tabla 4) indicaron que la eficacia promedio del producto de SL de MBI del 20% en una dilución de 2000 veces fue igual a o mejor que SC de Milsana® del 5% en una diluido 200 veces.

Tabla 4: Comparación de eficacia entre SC de Milsana® del 5%, producto ME de MBI del 20% hacia moho pulvurulento de pepino Sphaerotheca fuliginea

Tratamiento	Dilución	Lesiones promedio	% de control
Control		388.0	0
SC de Milsana® del 5%	200	12.0	96.6
Producto (I) de SL de MBI del 20%	2000	0.3	99.9
Producto (II) de SL de MBI del 20%	2000	0.7	99.8
Producto (III) de SL de MBI del 20%	2000	1.0	99.7
Producto (VI) de SL de MBI del 20%	2000	2.0	99.4

Ejemplo 2: Lista para uso (RTU)

Preparación de producto RTU-01 de MB1 del 0.025%: 1) 0.25 gramos de centidonia seca (Reynontria sachalinensis) en etanol son disueltos en 0.2 gramos de hexanol y 100 gramos de etanol; 2) 0.3 gramos de sulfato lauril de sodio son añadidos a la mezcla, y mezclados en; 3) 899.25 gramos de agua son añadidos a la mezcla; la mezcla es agitada a 900 rpm hasta que se obtiene una solución uniforme. Esta formulación pasó la prueba de estabilidad de almacenamiento de 2 semanas tanto a 4 como a 54°C. Del mismo modo no mostró fitotoxicidad en muchas flores.

Preparación de producto RTU-02 de MB1 del 0.025%: 1) 0.25 gramos de centidonia seca (Reynontria sachalinensis) en etanol son disueltos en 0.2 gramos de hexanol y 0.2 gramos de etanol; 2) 0.09 gramos de sulfato lauril de sodio son añadidos a la mezcla, y mezclados en; 3) 998.96 gramos de agua son añadidos a la mezcla y también mezclados; y 4) 0.3 gramos de propionato de calcio son añadidos y mezclados también por agitación a 900 rpm hasta que se obtiene una solución informe. Esta formulación pasó la prueba de estabilidad de almacenamiento de 2 semanas tanto a 4 como a 54°C. Del mismo modo no mostró fitotoxicidad en muchas flores.

- Bioensayo de pepino con moho pulverulento: El bioensayo se ejecutó como se describió anteriormente excepto que las plantas fueron inoculadas con una suspensión de conidios de 5 x 105 conidios por ml. Se atomizo el mismo volumen del producto de RTU de MBI del 0.025% para cada maceta de plantas de pepino como una diluido 200 veces del producto de ME de MBI del 5%.
- Comparación de resultados de bioensayo: Los resultados (Tabla 5) indicaron que la eficacia promedio del producto de RTU de MBI del 0.025% fue igual a aquella de SC de Milsana® del 5% en una diluido 200 veces.

Tabla 5: Comparación de eficacia entre ME de Regalia® del 5% y RTU de Regalia® del 0.025% hacia moho pulvurulento de pepino Sphaerotheca fuliginea

Tratamiento	Dilución	Lesiones promedio	% de control
Control		92.5 <u>+</u> 2.9	0
Producto de ME de MBI del 5%	200	0.5 <u>+</u> 0.6	99.5
Producto (I) de RTU de MBI del 0.025%	1	0.0 <u>+</u> 0.0	100
Producto (II) de RTU de MBI del	1	2.5 <u>+</u> 2.9	97.3

25

### Reivindicaciones

5

10

25

- 1. Una formulación que comprende (a) una preparación que comprende un extracto derivado de una especie de planta de Reynoutria, en la que dicho extracto comprende parietina y opcionalmente emodina; (b) uno o más alcoholes C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>, o glicoles o lactonas; (c) uno o más surfactante seleccionados de 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato y lauril sulfato de sodio , y surfactantes están presentes en cantidades efectivas para estabilizar dicha reparación y al menos uno de (d) un anticongelante, (e) un vehículo y (f) un agente antimicrobiano y en la que el agente antimicrobiano es seleccionado del grupo que consiste en un pesticida químico, biopesticida o productos naturales o de aceite que tienen actividad fungicida y/o insecticida.
- 2. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el extracto comprende adicionalmente un derivado de antraquinona seleccionado del grupo que consiste en emodina, crisofanol, emodina glucosilada, crisofanol glucosilada, y parietina glucosilada.
- 3. La formulación de acuerdo con las reivindicaciones 1-2, en la que dicho extracto está presente en una cantidad desde 0.01% a 45% en peso, y/o dicho alcohol o glicol o lactona está presente en una cantidad desde 0.001% a 20% en peso y/o dicho surfactante está presente en una cantidad de entre 0.001% to 35% en peso y/o dicho agente antimicrobiano está presente en una cantidad desde 0.001% hasta 10% en peso y/o dicho anticongelante está presente en la cantidad de 2% a 8% en peso.
  - 4. La formulación de acuerdo con las reivindicaciones 1-3, en la que el anticongelante es un glicol.
  - 5. La formulación de acuerdo con las reivindicaciones 1-4, en la que la formulación es una formulación líquida que comprenden una preparación que comprende el extracto que tienen actividad contra plagas de plantas disueltas en hexanol y etanol y comprende adicionalmente lauril sulfato de sodio y propionato de calcio.
  - 6. La formulación de acuerdo con la reivindicación 5, en la que dicha reparación que comprende el extracto que tienen actividad contra plagas de plantas está presente en una cantidad desde 0.001% a 45%, said hexanol está presente en la cantidad desde 0.1% a 20%, dicho etanol está presente en la cantidad desde 1% a 12%, lauril sulfato de sodio está presente en la cantidad de 0.01% a 15% y propionato de calcio está presente en la cantidad de 0.001% to 10%.
- 7. La formulación de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la formulación es una microemulsión que comprende (a) una preparación que comprende el extracto que tienen actividad contra plagas de plantas; (b) hexanol; (c) lauril sulfato de sodio; (d) 2-[2-[3,4-bis(2-metoxietoxi)oxolan-2-il]-2-(2-metoxietoxi)etoxi]etil hexadecanoato; (e) propionato de calcio; (f) propilen glicol y (g) agua.
- 8. La formulación de acuerdo con la reivindicación 7, en la que dicha reparación que comprende el extracto que tienen actividad contra plagas de plantas está presente en una cantidad desde 0.001% a 45%, dicho hexanol está presente en la cantidad desde 0.1% a 10%, dicho propilen glicol está presente en la cantidad desde 1% a 8%, lauril sulfato de sodio está presente en la cantidad desde 0.01% a 15% y propionato de calcio está presente en la cantidad desde 0.01 % a 10%.
- 9. Un método para formular infecciones fitopatogénicas, fúngicas y/o bacterianas y/o infestación de plagas de plantas en una planta que comprende aplicación a la planta y/o semillas de la misma y/o el sustrato usado para el cultivo de dicha planta en una cantidad efectiva de la formulación de las reivindicaciones 1-8 para modular dichas infecciones fitopatogénicas, fúngicas y/o bacterianas y/o infestación de plagas de plantas.
- 10. Uso de (a) una preparación que comprende un extracto derivado de una especie de planta de Reynoutria, en la que dicho extracto comprende parietina y opcionalmente emodina que tiene actividad contra plagas de plantas; (b) uno o más alcoholes C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> o glicoles o lactonas y (c) uno o más surfactante seleccionados del grupo que consiste en un sulfato para la preparación de una formulación para el uso contra plagas de plantas.