

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 754 503**

51 Int. Cl.:

**C07D 413/04** (2006.01)

**A01N 43/82** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2010 E 15163878 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019 EP 2944636**

54 Título: **Composiciones y procedimientos de lucha contra nematodos**

30 Prioridad:

**10.02.2009 US 151482 P**

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

**17.04.2020**

73 Titular/es:

**MONSANTO TECHNOLOGY LLC (100.0%)  
800 North Lindbergh Blvd.  
St. Louis, MO 63167 , US**

72 Inventor/es:

**SLOMCZYNSKA, URSZULA;  
DIMMIC, MATT W.;  
HAAKENSEN, WILLIAM P., JR. y  
WIDEMAN, AL**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 754 503 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

Composiciones y procedimientos de lucha contra nematodos

**Antecedentes**

5 Los nematodos (derivados de la palabra griega para hilo) son organismos activos, flexibles, alargados, que viven sobre superficies húmedas o en entornos líquidos, incluyendo películas de agua en el interior del suelo y tejidos húmedos en el interior otros organismos. Si bien solo se han identificado 20.000 especies de nematodos, se estima que en realidad existen entre 40.000 y 10 millones. Muchas especies de nematodos han evolucionado hasta convertirse en parásitos muy exitosos de plantas y animales y son responsables de pérdidas económicas significativas en la agricultura y la ganadería y de la morbilidad y la mortalidad en seres humanos (Whitehead (1998) *Plant Nematode Control*. CAB International, Nueva York).

15 Los parásitos nematodos de plantas pueden infestar todas las partes de las plantas, incluyendo las raíces, los capullos de flores en desarrollo, las hojas y los tallos. Los parásitos de plantas se clasifican basándose en sus hábitos de alimentación en las categorías amplias de ectoparásitos migratorios, endoparásitos migratorios y endoparásitos sedentarios. Los endoparásitos sedentarios, que incluyen los nematodos de los nudos de la raíz (*Meloidogyne*) y los nematodos de quiste (*Globodera* y *Heterodera*) inducen sitios de alimentación y establecen infecciones a largo plazo dentro de las raíces que con frecuencia son muy dañinas para los cultivos (Whitehead, citado anteriormente). Se estima que los nematodos parasitarios cuestan a las industrias de horticultura y agricultura más de 78.000 millones de dólares al año en todo el mundo, basado en un promedio estimado de unas pérdidas anuales del 12 % distribuidas en todos los cultivos principales. Por ejemplo, se estima que los nematodos provocan pérdidas de soja de aproximadamente 3.200 millones de dólares anuales en todo el mundo (Barker y col. (1994) *Plant and Soil Nematodes: Societal Impact and Focus for the Future*. Comité sobre necesidades y prioridades nacionales en nematología. Servicio de investigación cooperativo estatal, Departamento de agricultura de los Estados Unidos y Sociedad de nematólogos). Varios factores hacen que la necesidad de procedimientos de lucha contra nematodos seguros y eficaces sea urgente. El crecimiento continuo de la población, las hambrunas y la degradación ambiental han aumentado la preocupación por la sostenibilidad de la agricultura y las nuevas regulaciones gubernamentales pueden prevenir o restringir gravemente el uso de muchos agentes antihelmínticos agrícolas disponibles.

25 Existe un conjunto muy pequeño de productos químicos disponibles para luchar eficazmente contra nematodos (Becker (1999) *Agricultural Research Magazine* 47(3):22-24; Patente de los EE.UU. N.º 6.048.714). En general, los nematicidas químicos son compuestos altamente tóxicos que se sabe que provocan daños ambientales considerables y están cada vez más restringidos en cuanto a las cantidades y ubicaciones en las que pueden usarse. Por ejemplo, el fumigante del suelo bromuro de metilo, que se ha usado eficazmente para reducir las infestaciones por nematodos en una diversidad de cultivos especializados, está regulado por el Protocolo de Montreal de las NN.UU. como sustancia que agota la capa de ozono y se está retirando paulatinamente en los EE.UU. y en todo el mundo (Carter (2001) *California Agriculture*, 55(3):2). Se espera que las industrias de la fresa y de otros cultivos de productos básicos se vean significativamente afectadas si no se encuentra un reemplazo adecuado para el bromuro de metilo. De forma similar, nematicidas de amplio espectro tales como Telone (diversas formulaciones de 1,3-dicloropropeno) tienen restricciones significativas en su uso debido a problemas toxicológicos (Carter (2001) *California Agriculture*, 55(3): 12-18). Los pesticidas de organofosfato y carbamato son otra clase importante de nematicidas sometidos a revisión regulatoria y varios de estos compuestos se están retirando paulatinamente en la actualidad (por ejemplo, fenamifos, terbufos, cadusafos).

35 Hasta la fecha, se ha conseguido poco éxito en la búsqueda de reemplazos seguros y eficaces para los nematicidas convencionales tóxicos pero eficaces. Un ejemplo reciente de la poca eficacia de muchos reemplazos potenciales más nuevos para los organofosfatos y carbamatos es el estudio de alternativas a los fenamifos para el tratamiento de nematodos parasitarios de plantas en grama común. En estos ensayos, ninguno de los tratamientos experimentales redujo las densidades de población de los nematodos parasitarios de plantas ni promovió uniformemente el rendimiento visual del césped o la producción de raíces del césped (Crow (2005) *Journal of Nematology*, 37(4):477-482). En consecuencia, sigue existiendo una necesidad urgente de desarrollar procedimientos de lucha contra nematodos parasitarios de plantas seguros para el medio ambiente y eficaces.

45 Se sabe que algunas especies de plantas son altamente resistentes a los nematodos. De entre estas las mejor documentadas incluyen caléndulas (*Tagetes* spp.), crotalarias (*Crotalaria spectabilis*), crisantemos (*Chrysanthemum* spp.), semilla de ricino (*Ricinus communis*), margosa (*Azadiracta indica*) y muchos miembros de la familia *Asteraceae* (familia *Compositae*) (Hackney y Dickerson. (1975) *J Nematol* 7(1):84-90). En el caso de las *Asteraceae*, se ha demostrado que el compuesto fotodinámico alfatenilo explica la fuerte actividad nematicida de las raíces. Las habas de ricino se aran como un abono verde antes de establecer un cultivo de semilla. Sin embargo, un inconveniente importante de la planta de ricino es que la semilla contiene compuestos tóxicos (tales como la ricina) que pueden matar a los seres humanos, las mascotas y el ganado, y también es altamente alérgica. Sin embargo, en la mayoría de los casos, el uno o más principios activos para la actividad nematicida de la planta no se han descubierto y sigue siendo difícil obtener productos nematicidas comercialmente satisfactorios a partir de estas plantas resistentes o transferir la resistencia a cultivos de importancia agronómica tales como la soja y el algodón.

- La resistencia genética a determinados nematodos está disponible en algunos cultivares comerciales (por ejemplo, la soja), pero estos están restringidos en número y la disponibilidad de cultivares con características agronómicas y resistencia deseables es limitada. Además, la producción de variedades comerciales resistentes a nematodos mediante el fitomejoramiento convencional basado en recombinación genética a través de cruces sexuales es un procedimiento lento y, con frecuencia, se ve obstaculizado adicionalmente por la falta de germoplasma apropiado.
- Los medios químicos de lucha contra nematodos parasitarios de plantas siguen siendo esenciales para muchos cultivos que carecen de una resistencia natural adecuada o una fuente de resistencia transgénica. En los mercados especializados, las dificultades económicas resultantes de la infestación por nematodos son particularmente altas en las fresas, los plátanos y otras verduras y frutas de alto valor. En los mercados de cultivos de alta superficie, el daño por nematodos es mayor en la soja y el algodón. Existen, sin embargo, docenas de cultivos adicionales que sufren una infestación por nematodos significativa incluyendo la patata, el pimiento, la cebolla, los cítricos, el café, la caña de azúcar, las plantas ornamentales de invernadero y el césped para campos de golf.
- Para ser útiles en la agricultura moderna, los nematicidas deben tener una alta potencia, un amplio espectro de actividad contra diferentes cepas de nematodos y no deben ser tóxicos para organismos que no sean el objetivo.
- Los parásitos nematodos de vertebrados (por ejemplo, seres humanos, ganado y animales de compañía) incluyen lombrices intestinales, anquilostomas, gusanos alfiler, tricúridos y filarias. Se pueden transmitir de una diversidad de formas, incluyendo la contaminación del agua, la penetración por la piel, las picaduras de insectos o la ingesta de alimentos contaminados.
- En animales domesticados, la lucha contra nematodos o "desparasitación" es esencial para la viabilidad económica de los ganaderos y es una parte necesaria del cuidado veterinario de los animales de compañía. Los nematodos parasitarios provocan mortalidad en animales (por ejemplo, parásitos del corazón en perros y gatos) y morbilidad como resultado de la inhibición por los parásitos de la capacidad del animal infectado para absorber nutrientes. La deficiencia de nutrientes inducida por parásitos conduce a enfermedades y retraso en el crecimiento del ganado y animales de compañía. Por ejemplo, en los rebaños de ganado vacuno y lechero, una única infección no tratada con el gusano de estómago marrón puede restringir permanentemente la capacidad de un animal para convertir el alimento en masa muscular o leche.
- Dos factores contribuyen a la necesidad de antihelmínticos y vacunas novedosos para luchar contra nematodos parasitarios de animales. En primer lugar, algunas de las especies más prevalentes de nematodos parasitarios de ganado están generando resistencia a los fármacos antihelmínticos disponibles en la actualidad, lo que significa que estos productos están perdiendo su eficacia. Estos desarrollos no son sorprendentes porque hay pocos fármacos antihelmínticos eficaces disponibles y la mayoría se han utilizado de forma continua. Algunas especies parasitarias han desarrollado resistencia a la mayoría de los antihelmínticos (Geents y col. (1997) *Parasitology Today* 13:149-151; Prichard (1994) *Veterinary Parasitology* 54:259-268). El hecho de que muchos de los fármacos antihelmínticos tengan modos de acción similares complica las cosas, ya que la pérdida de sensibilidad del parásito a un fármaco suele ir acompañada de resistencia lateral, es decir, resistencia a otros fármacos de la misma clase (Sangster y Gill (1999) *Parasitology Today* 15(4): 141-146). En segundo lugar, existen algunos problemas de toxicidad para los principales compuestos disponibles actualmente.
- Las infecciones por gusanos nematodos parasitarios también producen una mortalidad y morbilidad considerables en seres humanos, especialmente en las regiones tropicales de África, Asia y América. La Organización Mundial de la Salud estima que 2.900 millones de personas están infectadas y, en algunas áreas, el 85 % de la población es portadora de gusanos. Si bien la mortalidad es rara en proporción a las infecciones, la morbilidad es considerable y rivaliza con la diabetes y el cáncer de pulmón en mediciones de año de vida ajustado por discapacidad (AVAD) en todo el mundo.
- Los ejemplos de nematodos parasitarios humanos incluyen anquilostomas, filarias y oxiuros. Los anquilostomas (1.300 millones de infecciones) son la principal causa de anemia en millones de niños, dando como resultado un retraso en el crecimiento y desarrollo cognitivo alterado. Las filarias invaden el sistema linfático, dando como resultado hinchazón y deformación permanente de las extremidades (elefantiasis) y los ojos, provocando la ceguera de los ríos africanos. El gusano redondo del intestino grande *Ascaris lumbricoides* infecta a más de mil millones de personas en todo el mundo y provoca malnutrición y enfermedad intestinal obstructiva. En los países desarrollados, los oxiuros son comunes y, con frecuencia, se transmiten a través de los niños en las guarderías.
- Incluso en las infecciones parasitarias asintomáticas, los nematodos pueden privar al hospedador de nutrientes valiosos y aumentar la capacidad de otros organismos para establecer infecciones secundarias. En algunos casos, las infecciones pueden provocar enfermedades debilitantes y pueden dar como resultado anemia, diarrea, deshidratación, pérdida de apetito o muerte.
- A pesar de algunos avances en la disponibilidad de fármacos y en la infraestructura de salud pública y de la casi eliminación de un nematodo tropical (el gusano de Guinea transmitido por el agua), la mayoría de las enfermedades por nematodos siguen siendo problemas intratables. El tratamiento de las enfermedades por anquilostomas con fármacos antihelmínticos, por ejemplo, no ha proporcionado un control adecuado en las regiones de alta incidencia

porque se produce una reinfección rápida después del tratamiento. De hecho, durante los últimos 50 años, mientras que las tasas de infección por nematodos han disminuido en los Estados Unidos, Europa y Japón, el número total de infecciones en todo el mundo ha mantenido el ritmo de la creciente población mundial. Las iniciativas a gran escala de gobiernos regionales, la Organización Mundial de la Salud, fundaciones y compañías farmacéuticas están ahora en proceso de intentar luchar contra infecciones por nematodos con las herramientas disponibles actualmente, incluyendo tres programas para la lucha contra la oncocercosis (ceguera de los ríos) en África y América usando ivermectina y control de vectores; la Alianza Global para Eliminar la Filariasis Linfática usando DEC, albendazol e ivermectina; y el exitoso Programa de Erradicación del Gusano de Guinea. Hasta que se descubran vacunas seguras y eficaces para prevenir las infecciones por nematodos parasitarios, se seguirán usando fármacos antihelmínticos para tratar y luchar contra las infecciones parasitarias por nematodos en seres humanos y animales domésticos.

Se han desvelado en la técnica determinados oxazoles (documento US 4.791.124 y WO87/06429) y tiazoles (documento US 4.908.357) insecticidas y pirazoles nematocidas (documento US 6.310.049) y 5-aril-isoxazoles para el control de plagas de invertebrados (WO 2007/075459). La presente invención desvela otros oxazoles con actividad nematocida sorprendentemente potente que muestran una actividad comparable a la de los tratamientos de referencia comerciales. La potencia nematocida a nivel comercial no se ha demostrado anteriormente con oxazoles, oxadiazoles y tiadiazoles. Cabe destacar que estos compuestos son ampliamente activos contra nematodos, pero son seguros para los organismos no objetivo.

El documento US 4.791.124 desveló ciertos oxazoles y tiazoles con actividad nematocida contra *Meloidogyne incognita* (nematodo de los nudos de la raíz) para 10 partes por millón. Sin embargo, los compuestos no fueron titulados para dosis más bajas y no se mostró que tuvieran una potencia comparable a los estándares comerciales.

El documento US 6.310.049 desveló ciertos pirazoles nematocidas con actividad contra el nematodo de los nudos de la raíz. Se muestra que varios compuestos de tipo pirazol tienen actividad a 100 ppm en un ensayo in vitro, con un pequeño subgrupo de los compuestos que tienen actividad a 50 ppm en un invernadero basado en el suelo. Se divulga que un compuesto presenta actividad de invernadero a 20 ppm y un único compuesto presenta actividad de invernadero a 5 ppm. No queda claro si alguno de estos compuestos presenta una potencia comparable a los estándares comerciales.

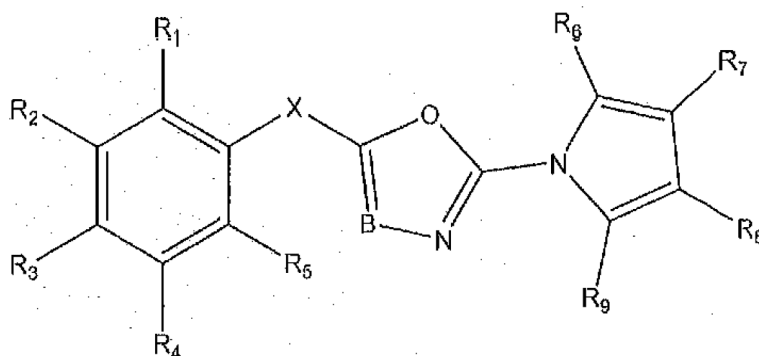
Se divulga que algunos compuestos de tipo oxadiazol que tienen anillos de furano o tiofeno sustituidos pero que no tienen anillos de furano o tiofeno no sustituidos son inductores de la apoptosis y útiles como agentes quimioterapéuticos contra ciertos tipos de cáncer (Zhang y col. 2005 *J Med Chem.* 48(16):5215-23). A pesar de algunas similitudes químicas superficiales, los análogos nematocidas de esta invención no inducen apoptosis en células de mamífero y presentan la misma potencia contra nematodos *C. elegans* de origen natural y los mutantes de *C. elegans* ced-3 o ced-4 deficientes en apoptosis. Por consiguiente, estos análogos son distintos estructural y funcionalmente de los oxadiazoles inductores de apoptosis desvelados por Cai y col. en el documento US 7.041.685.

### Sumario

En el presente documento se describen composiciones y procesos para la lucha contra nematodos, por ejemplo, nematodos que infestan plantas o el sitio de plantas. También se puede luchar contra nematodos que parasitan animales usando los procedimientos y composiciones que se describen en el presente documento.

En el presente documento se describen composiciones nematocidas que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto o una mezcla de compuestos que tengan cualquiera de las fórmulas que se describen en el presente documento, por ejemplo, los compuestos que se muestran a continuación.

En particular, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula Ia o una sal del mismo,



Fórmula Ia

en la que,

R<sub>1</sub> y R<sub>5</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, F, Cl, Br, CF<sub>3</sub> y OCF<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, F, Cl, Br y CF<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, OCF<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, CN y C(H)O;

5 R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, alquilo, cicloalquilo, heterociclilo y halógeno:

B es C(H) o C(CH<sub>3</sub>); y

X es un enlace.

En algunos casos, el halógeno en la definición de R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> es Cl o F.

10 La presente invención proporciona además una composición nematicida que comprende un compuesto de Fórmula la tal como se ha definido anteriormente en el presente documento con una concentración suficiente para reducir la viabilidad de un nematodo parasitario.

15 La presente invención también proporciona un procedimiento para la lucha contra nematodos no deseados, comprendiendo el procedimiento la administración a plantas, semillas o suelo de una composición que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula la tal como se ha definido anteriormente en el presente documento.

En algunos casos, el procedimiento mencionado anteriormente implica la lucha contra nematodos parasitarios de plantas y comprende la administración a plantas sometidas a ataques de dichos nematodos, las semillas de dichas plantas o el suelo en el que se cultivan o se han de plantar dichas plantas.

20 Finalmente, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula la o una sal del mismo tal como se ha definido anteriormente en el presente documento como un recubrimiento de semillas.

25 En algunos casos, la composición nematicida mencionada anteriormente incluye adicionalmente un tensioactivo acuoso. Los ejemplos de tensioactivos que pueden usarse incluyen Span 20, Span 40, Span 80, Span 85, Tween 20, Tween 40, Tween 80, Triton X 100, Makon 10, Igepal CO 630, Brij 35, Brij 97, Tergitol TMN 6, Dowfax 3B2, Physan y Toximul TA 15. En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente un potenciador de la permeación (por ejemplo, ciclodextrina). En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente un cosolvente. Los ejemplos de cosolventes que pueden usarse incluyen lactato de etilo, mezclas cosolventes de sojato de metilo/lactato de etilo (por ejemplo, Steposol), isopropanol, acetona, 1,2-propanodiol, n-alquilpirrolidonas (por ejemplo, la serie Agsolex), un aceite a base de petróleo (por ejemplo, aromático 200) o un aceite mineral (por ejemplo, aceite de parafina)). En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente otro pesticida (por ejemplo, nematicida, insecticida o fungicida) tal como una avermectina (por ejemplo, ivermectina), milbemicina, imidacloprid, aldicarbo, oxamilo, fenamifos, fostiazato, metam sódico, etridiazol, pentacloro-nitrobenzoceno (PCNB), flutolanilo, metalaxilo, mefonoxam y fosetil-al. Los fungicidas útiles incluyen, pero sin limitación, siltiofam, fludioxonilo, miclobutanilo, azoxistrobina, clorotalonilo, propiconazol, tebuconazol y piraclostrobina. La composición también puede comprender herbicidas (por ejemplo, trifloxisulfurón, glifosato, halosulfurón) y otros productos químicos para el control de enfermedades (por ejemplo, quitosano).

En algunos casos, la composición nematicida comprende 5-(4-clorofenil)-2-(1H-pirrol-1-il)oxazol.

40 En diversas realizaciones, la composición comprende adicionalmente un tensioactivo acuoso. Los ejemplos de tensioactivos que pueden usarse incluyen, Span 20, Span 40, Span 80, Span 85, Tween 20, Tween 40, Tween 80, Tween 85, Triton X 100, Makon 10, Igepal CO 630, Brij 35, Brij 97, Tergitol TMN 6, Dowfax 3B2, Physan y Toximul TA 15. En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente un potenciador de la permeación (por ejemplo, ciclodextrina). En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente un cosolvente. Los ejemplos de cosolventes que pueden usarse incluyen lactato de etilo, mezclas cosolventes de sojato de metilo/lactato de etilo (por ejemplo, Steposol), isopropanol, acetona, 1,2-propanodiol, n-alquilpirrolidonas (por ejemplo, la serie Agsolex), un aceite a base de petróleo (por ejemplo, aromático 200) o un aceite mineral (por ejemplo, aceite de parafina)). En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente otro pesticida (por ejemplo, nematicida, insecticida o fungicida) tal como una avermectina (por ejemplo, ivermectina), milbemicina, imidacloprid, aldicarbo, oxamilo, fenamifos, fostiazato, metam sódico, etridiazol, pentacloro-nitrobenzoceno (PCNB), flutolanilo, metalaxilo, mefonoxam y fosetil-al. Los fungicidas útiles incluyen, siltiofam, fludioxonilo, miclobutanilo, azoxistrobina, clorotalonilo, propiconazol, tebuconazol y piraclostrobina. La composición también puede comprender herbicidas (por ejemplo, trifloxisulfurón, glifosato, halosulfurón) y otros productos químicos para el control de enfermedades (por ejemplo, quitosano).

55 El procedimiento mencionado anteriormente para la lucha contra nematodos parasitarios no deseados (por ejemplo, nematodos distintos de *C. elegans*) incluye la administración a plantas, semillas o suelo de una composición nematicida que incluye un compuesto de cualquiera de las fórmulas que se describen en el presente documento en cualquiera de las composiciones nematicidas que se describen en el presente documento.

5 En algunos ejemplos, el nematodo infecta las plantas y la composición nematicida se aplica al suelo o a las plantas. En algunos ejemplos, la composición nematicida se aplica al suelo antes de la siembra. En algunos ejemplos, la composición nematicida se aplica al suelo después de la siembra. En algunos ejemplos, la composición nematicida se aplica al suelo usando un sistema de goteo. En algunos ejemplos, la composición nematicida se aplica al suelo usando un sistema de tratamiento vermífugo. En algunos ejemplos, la composición nematicida se aplica a las raíces de las plantas o al follaje de las plantas (por ejemplo, hojas, tallos...). En algunos casos, la composición de nematicida se introduce en el suelo o se aplica en surcos. En algunos ejemplos, la composición nematicida se aplica a las semillas. En algunos ejemplos, el parásito nematodo infecta un vertebrado.

10 El procedimiento mencionado anteriormente es un procedimiento para tratar un trastorno (por ejemplo, una infección) provocado por un nematodo parasitario (por ejemplo, *M. incognita*, *H. glycines*, *B. longicaudatus*, *H. contortus*, *A. suum*, *B. malayi*) en una planta hospedadora. El procedimiento incluye la administración a la planta hospedadora de una cantidad eficaz de un compuesto que tiene la Fórmula Ia. El compuesto se puede suministrar mediante varios medios incluyendo antes de la siembra y después de la siembra.

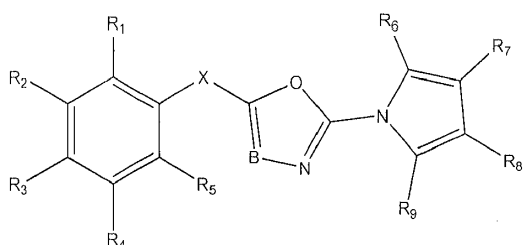
15 El nematodo parasitario (por ejemplo, *M. incognita*, *H. glycines*, *B. longicaudatus*, *H. contortus*, *A. suum*, *B. malayi*) se puede inhibir poniendo en contacto el nematodo (en cualquier etapa de crecimiento) con un compuesto que tenga la Fórmula Ia.

La reducción de la viabilidad o fecundidad o la disminución del crecimiento o desarrollo o la inhibición de la infectividad de un nematodo se puede conseguir utilizando un compuesto nematicida que tenga la Fórmula Ia. Esto se puede conseguir poniendo en contacto el nematodo con un compuesto que tenga la Fórmula Ia.

20 La reducción de la viabilidad, crecimiento o fecundidad de un parásito nematodo se puede conseguir exponiendo el nematodo a un compuesto que tenga la Fórmula Ia.

En algunos casos, el procedimiento mencionado anteriormente para proteger una planta de una infección por nematodos comprende aplicar a la planta, al suelo o a las semillas de la planta un compuesto que tenga la Fórmula Ia.

25 El procedimiento mencionado anteriormente de lucha contra parásitos nematodos incluye la administración de un compuesto descrito en el presente documento. El procedimiento incluye la administración a plantas, semillas o suelo de una composición nematicida que comprende una cantidad eficaz de un compuesto o una mezcla de compuestos con la siguiente Fórmula Ia:



30 Fórmula: Ia

en la que,

R<sub>1</sub> y R<sub>5</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, F, Cl, Br, CF<sub>3</sub> y OCF<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, F, Cl, Br y CF<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, OCF<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, CN y C(H)O;

35 R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, alquilo, cicloalquilo, heterociclilo y halógeno;

B es C(H) o C(CH<sub>3</sub>); y

X es un enlace.

40 Las composiciones también pueden incluir un tensioactivo acuoso. Los ejemplos de tensioactivos que pueden usarse incluyen Span 20, Span 40, Span 80, Span 85, Tween 20, Tween 40, Tween 80, Tween 85, Triton X 100, Makon 10, Igepal CO 630, Brij 35, Brij 97, Tergitol TMN 6, Dowfax 3B2, Physan y Toximul TA 15. En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente un potenciador de la permeación (por ejemplo, ciclodextrina). En algunos casos, la composición nematicida incluye adicionalmente un cosolvente. Los ejemplos de cosolventes que pueden usarse incluyen lactato de etilo, mezclas cosolventes de sojato de metilo/lactato de etilo (por ejemplo, Steposol), isopropanol, acetona, 1,2-propanodiol, n-alquilpirrolidonas (por ejemplo, la serie Agsolex), un aceite a

base de petróleo (por ejemplo, aromático 200) o un aceite mineral (por ejemplo, aceite de parafina)). En algunos casos, la composición nematocida incluye adicionalmente otro pesticida (por ejemplo, nematocida, insecticida o fungicida) tal como una avermectina (por ejemplo, ivermectina), milbemicina, imidacloprid, aldicarbo, oxamilo, fenamifos, fostiazato, metam sódico, etridiazol, penta-cloro-nitrobenzoceno (PCNB), flutolanilo, metalaxilo, mefonoxam y fosetil-al. Los fungicidas útiles incluyen siltiofam, fludioxonilo, miclobutanilo, azoxistrobina, clorotalonilo, propiconazol, tebuconazol y piraclostrobina. La composición también puede comprender herbicidas (por ejemplo, trifloxisulfurón, glifosato, halosulfurón) y otros productos químicos para el control de enfermedades (por ejemplo, quitosano).

En algunos casos, el procedimiento mencionado anteriormente para la lucha contra nematodos no deseados comprende la administración a plantas, semillas o suelo de una composición nematocida que comprende una cantidad eficaz de 5-(4-clorofenil)-2-(1H-pirrol-1-il)oxazol.

En determinadas realizaciones del procedimiento, la composición comprende adicionalmente un tensioactivo acuoso. Los ejemplos de tensioactivos que pueden usarse incluyen, Span 20, Span 40, Span 80, Span 85, Tween 20, Tween 40, Tween 80, Tween 85, Triton X 100, Makon 10, Igepal CO 630, Brij 35, Brij 97, Tergitol TMN 6, Dowfax 3B2, Physan y Toximul TA 15. En algunos casos, la composición nematocida incluye adicionalmente un potenciador de la permeación (por ejemplo, ciclodextrina). En algunos casos, la composición nematocida incluye adicionalmente un cosolvente. Los ejemplos de cosolventes que pueden usarse incluyen lactato de etilo, mezclas cosolventes de sojato de metilo/lactato de etilo (por ejemplo, Stepasol), isopropanol, acetona, 1,2-propanodiol, n-alquilpirrolidonas (por ejemplo, la serie Agsolex), un aceite a base de petróleo (por ejemplo, aromático 200) o un aceite mineral (por ejemplo, aceite de parafina). En algunos casos, la composición nematocida incluye adicionalmente otro pesticida (por ejemplo, nematocida, insecticida o fungicida) tal como una avermectina (por ejemplo, ivermectina), milbemicina, imidacloprid, aldicarbo, oxamilo, fenamifos, fostiazato, metam sódico, etridiazol, pentacloro-nitrobenzoceno (PCNB), flutolanilo, metalaxilo, mefonoxam y fosetil-al. Los fungicidas útiles incluyen siltiofam, fludioxonilo, miclobutanilo, azoxistrobina, clorotalonilo, propiconazol, tebuconazol y piraclostrobina. La composición también puede comprender herbicidas (por ejemplo, trifloxisulfurón, glifosato, halosulfurón) y otros productos químicos para el control de enfermedades (por ejemplo, quitosano); el nematodo infecta las plantas y la composición nematocida se aplica al suelo o a las plantas; la composición nematocida se aplica al suelo antes de la siembra; la composición nematocida se aplica al suelo después de la siembra; la composición nematocida se aplica al suelo usando un sistema de goteo; la composición nematocida se aplica al suelo usando un sistema de tratamiento vermífugo; la composición nematocida se aplica a las raíces de las plantas; la composición pesticida se aplica a las semillas y la composición nematocida se aplica al follaje de las plantas.

El procedimiento que se describe en el presente documento es particularmente valioso para la lucha contra nematodos que atacan las raíces de las plantas de cultivo, las plantas ornamentales y los pastos de césped deseados. Las plantas de cultivo deseadas pueden ser, por ejemplo, soja, algodón, maíz, tabaco, trigo, fresas, tomates, plátano, caña de azúcar, remolacha azucarera, patatas o cítricos.

Como se usa en el presente documento, un agente con "actividad antihelmíntica o anti-helmíntica" es un agente que, cuando se somete a ensayo, tiene una actividad de eliminación de nematodos medible o da como resultado una fertilidad reducida o esterilidad en los nematodos de manera que haya menos o ninguna descendencia viable, o compromete la capacidad del nematodo para infectar o reproducirse en su hospedador, o interfiere con el crecimiento o desarrollo de un nematodo. El agente también puede mostrar propiedades repelentes de nematodos. En el ensayo, el agente se combina con nematodos, por ejemplo, en un pocillo de placa de microtitulación, en medios líquidos o sólidos o en el suelo que contiene el agente. Los nematodos de estadios determinados se colocan sobre los medios. Se mide el tiempo de supervivencia, la viabilidad de la descendencia y/o el movimiento de los nematodos. Un agente con "actividad antihelmíntica o anti-helmíntica" puede, por ejemplo, reducir el tiempo de supervivencia de nematodos adultos con respecto a adultos no expuestos en estadios similares, por ejemplo, en aproximadamente un 20 %, un 40 %, un 60 %, un 80 % o más. Como alternativa, un agente con "actividad antihelmíntica o anti-helmíntica" también puede provocar que los nematodos dejen de replicarse, regenerarse y/o producir progenie viable, por ejemplo, en aproximadamente un 20 %, un 40 %, un 60 %, un 80 % o más. El efecto puede ser evidente inmediatamente o en generaciones sucesivas.

El término "halo" o "halógeno" se refiere a cualquier radical de flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "alquilo" como se emplea en el presente documento por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena tanto lineal como ramificada de hasta diez carbonos. Los grupos alquilo C1-10 típicos incluyen los grupos metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, 3-pentilo, hexilo y octilo.

El término "alquenilo" como se emplea en el presente documento por sí mismo o como parte de otro grupo significa un radical de cadena lineal o ramificada de 2-10 átomos de carbono, a menos que la longitud de la cadena se limite a ello, incluyendo al menos un doble enlace entre dos de los átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquenilo típicos incluyen etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-metil-1-propenilo, 1-butenilo y 2-butenilo.

El término "alquinilo" se usa en el presente documento para referirse a un radical de cadena lineal o ramificada de 2-10 átomos de carbono, a menos que la longitud de la cadena se limite a lo mismo, en el que hay al menos un triple

enlace entre dos de los átomos de carbono en la cadena. Los grupos alquilino típicos incluyen etinilo, 1-propinilo, 1-metil-2-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo y 2-butinilo.

Los grupos alcoxi contienen oxígeno sustituido con uno de los grupos alquilo C1-10 mencionados anteriormente.

Los grupos alquiltio contienen azufre sustituido con uno de los grupos alquilo C1-10 mencionados anteriormente.

- 5 Los grupos amino incluyen  $-NH_2$ ,  $-NHR_{15}$  y  $-NR_{15}R_{16}$ , en los que  $R_{15}$  y  $R_{16}$  son grupos alquilo C1-10 o cicloalquilo, o  $R_{15}$  y  $R_{16}$  se combinan con el N para formar una estructura de anillo, tal como una piperidina, o  $R_{15}$  y  $R_{16}$  se combinan con el N y otro grupo para formar un anillo, tal como una piperazina.

El término "arilo" como se emplea en el presente documento por sí mismo o como parte de otro grupo se refiere a grupos aromáticos monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos que contienen de 6 a 14 carbonos en el anillo.

- 10 Los grupos arilo comunes incluyen arilo C6-14, preferentemente arilo C6-10. Los grupos arilo C6-14 típicos incluyen los grupos fenilo, naftilo, fenantrenilo, antraceno, indenilo, azuleno, bifenilo, bifenileno y fluorenilo.

Son grupos cicloalquilo el cicloalquilo C3-8. Los grupos cicloalquilo típicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

- 15 El término "arilalquilo" se usa en el presente documento para referirse a cualquiera de los grupos alquilo C1-10 mencionados anteriormente sustituido con cualquiera de los grupos arilo C6-14 mencionados anteriormente. Preferentemente, el grupo arilalquilo es bencilo, fenetilo o naftilmetilo. Son grupos arilalquilo preferidos el aril-alquilo C1 y el aril-alquilo C2.

El término "arilalqueno" se usa en el presente documento para referirse a cualquiera de los grupos alqueno C2-10 mencionados anteriormente sustituido con cualquiera de los grupos arilo C6-14 mencionados anteriormente.

- 20 El término "arilalquinilo" se usa en el presente documento para referirse a cualquiera de los grupos alquinilo C2-10 mencionados anteriormente sustituido con cualquiera de los grupos arilo C6-14 mencionados anteriormente.

El término "ariloxi" se usa en el presente documento para referirse a un oxígeno sustituido con uno de los grupos arilo C6-14 mencionados anteriormente. Los grupos ariloxi comunes incluyen fenoxi y 4-metilfenoxi.

- 25 El término "arilalcoxi" se usa en el presente documento para referirse a cualquiera de los grupos alcoxi C1-10 mencionados anteriormente sustituido con cualquiera de los grupos arilo mencionados anteriormente. Los ejemplos de grupos arilalcoxi incluyen benciloxi y fenetilo.

Los ejemplos de grupos haloalquilo incluyen grupos alquilo C1-10 sustituidos con uno o más átomos de flúor, cloro, bromo o yodo, por ejemplo, los grupos fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo, 1,1-difluoroetilo, clorometilo, clorofluorometilo y triclorometilo.

- 30 Los grupos acilamino (acilamido) incluyen cualquier acilo C1-6 (alcanoílo) unido a un nitrógeno de amino, por ejemplo, acetamido, cloroacetamido, propionamido, butanoílamido, pentanoílamido y hexanoílamido, así como grupos acilamino C1-6 sustituidos con arilo, por ejemplo, benzoílamido y pentafluorobenzoílamido.

Son grupos aciloxi comunes cualquier acilo C1-6 (alcanoílo) unido a un grupo oxo (-O-), por ejemplo, formiloxi, acetoxi, propioniloxi, butanoiloxi, pentanoiloxi y hexanoiloxi.

- 35 El término heterociclo se usa en el presente documento para referirse a un sistema de anillo bicíclico de 3-7 miembros o de 7-10 miembros, saturado o parcialmente saturado, que consiste en átomos de carbono y de uno a cuatro heteroátomos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en O, N y S, en el que los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, el nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, y que incluye cualquier grupo bicíclico en el que cualquiera de los anillos heterocíclicos definidos anteriormente se condensa con un anillo de benceno, y en el que el anillo heterocíclico puede estar sustituido en un carbono o en un átomo de nitrógeno si el compuesto resultante es estable.

Los grupos heterocíclicos saturados o parcialmente saturados comunes incluyen grupos tetrahidrofurano, pirano, piperidino, piperazino, pirrolidino, imidazolidino, imidazolinilo, indolino, isoindolino, quinolidino, morfolino, isocromanilo, cromano, pirazolidino, pirazolinilo, tetrahydro y tetrahydro.

- 45 Un potenciador de la permeación es generalmente un agente que facilita los compuestos activos de la invención.

Un cosolvente (es decir, un disolvente latente o un disolvente indirecto) es un agente que se convierte en un disolvente eficaz en presencia de un disolvente activo y puede mejorar las propiedades del disolvente primario (activo).

- 50 La composición puede producirse en forma concentrada que incluye poco o nada de agua. La composición puede diluirse con agua o algún otro disolvente antes de usarse para tratar plantas, semillas, suelo o vertebrados.



Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen en los dibujos adjuntos y en la descripción a continuación. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y los dibujos, y a partir de las reivindicaciones.

### **Descripción detallada**

5 En el presente documento se describen determinados compuestos, que son análogos de oxazol con una potente actividad nematocida de amplio espectro.

Los compuestos nematocidas pueden suministrarse a las plantas de forma exógena, por ejemplo, a través de pulverizaciones. Estos compuestos también pueden aplicarse en forma de un revestimiento de semilla. Los compuestos pueden aplicarse a plantas o al entorno de plantas que necesiten el control de nematodos, o a animales o los alimentos de animales que necesitan el control de parásitos nematodos. Las composiciones pueden aplicarse, por ejemplo, mediante técnicas de tratamiento vermífugo o goteo. Con aplicaciones de goteo, los compuestos pueden aplicarse directamente a la base de las plantas o al suelo inmediatamente adyacente a las plantas. La composición puede aplicarse a través de sistemas de riego por goteo existentes. Este procedimiento es aplicable en particular para algodón, fresas, tomates, patatas, verduras y plantas ornamentales. Como alternativa, puede usarse una aplicación de tratamiento vermífugo en el que se aplica una cantidad suficiente de composición nematocida de manera que drene al área radicular de las plantas. La técnica de tratamiento vermífugo puede usarse para una diversidad de cultivos y pastos de césped. La técnica de tratamiento vermífugo también puede usarse para animales. Preferentemente, las composiciones nematocidas se la administrarían por vía oral para promover la actividad contra nematodos parasitarios internos. Las composiciones nematocidas también pueden administrarse, en algunos casos, mediante inyección del animal hospedador o mediante aplicaciones tópicas.

La concentración de la composición nematocida debe ser suficiente para luchar contra el parásito sin provocar una fitotoxicidad significativa a la planta deseada o una toxicidad indebida al animal hospedador. Los compuestos que se desvelan en la presente invención tienen una buena ventana terapéutica.

25 Sorprendentemente, los inventores han descubierto que determinados análogos de oxazol (por ejemplo, 5-(4-clorofenil)-2-(1-H-pirrol-1-il)oxazol) tienen potencias nematocidas comparables con los tratamientos de referencia de organofosfato y carbamato, pero muestran una selectividad excelente para los nematodos en plantas y animales. De este modo, estos análogos proporcionarán compuestos útiles para la lucha contra parásitos nematodos.

Los agentes nematocidas que se describen en el presente documento pueden aplicarse junto con otros agentes pesticidas. El segundo agente puede, por ejemplo, aplicarse simultáneamente o secuencialmente. Dichos agentes pesticidas pueden incluir, por ejemplo, avermectinas para aplicaciones en animales.

Las composiciones nematocidas mencionadas anteriormente pueden usarse para tratar enfermedades o infestaciones provocadas por nematodos de los siguientes géneros de ejemplo no limitantes: *Anguina*, *Ditylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Pratylenchus*, *Radopholus*, *Hirschmanniella*, *Nacobbus*, *Hoplolaimus*, *Scutellonema*, *Rotylenchus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus*, *Belonolaimus*, *Heterodera*, otros nematodos de quiste, *Meloidogyne*, *Criconemoides*, *Hemicycliophora*, *Paratylenchus*, *Tylenchulus*, *Aphelenchoides*, *Bursaphelenchus*, *Rhadinaphelenchus*, *Longidorus*, *Xiphinema*, *Trichodorus* y *Paratrachodorus*, *Dirofilaria*, *Onchocerca*, *Brugia*, *Acanthocheilonema*, *Aelurostrongylus*, *Anchlostoma*, *Angiostrongylus*, *Ascaris*, *Bunostomum*, *Capillaria*, *Chabertia*, *Cooperia*, *Crenosoma*, *Dictyocaulus*, *Diectophyme*, *Dipetalonema*, *Dracunculus*, *Enterobius*, *Filaroides*, *Haemonchus*, *Lagochilascaris*, *Loa*, *Manseonella*, *Muellerius*, *Necator*, *Nematodirus*, *Oesophagostomum*, *Ostertagia*, *Parafilaria*, *Parascaris*, *Physaloptera*, *Protostrongylus*, *Setaria*, *Spirocerca*, *Stephanogilaria*, *Strongyloides*, *Strongylus*, *Thelazia*, *Toxascaris*, *Toxocara*, *Trichinella*, *Trichostrongylus*, *Trichuris*, *Uncinaria* y *Wuchereria*. Se prefieren en particular los nematodos que incluyen *Dirofilaria*, *Onchocerca*, *Brugia*, *Acanthocheilonema*, *Dipetalonema*, *Loa*, *Mansonella*, *Parafilaria*, *Setaria*, *Stephanofilaria* y *Wuchereria*, *Pratylenchus*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Paratylenchus*. Las especies que se prefieren en particular son: *Ancylostoma caninum*, *Haemonchus contortus*, *Trichinella spiralis*, *Trichuris muris*, *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria tenuis*, *Dirofilaria repens*, *Dirofilaria ursi*, *Ascaris suum*, *Toxocara canis*, *Toxocara cati*, *Strongyloides ratti*, *Parastrongyloides trichosuri*, *Heterodera glycines*, *Globodera pallida*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita* y *Meloidogyne arenaria*, *Radopholus similis*, *Longidorus elongatus*, *Meloidogyne hapla* y *Pratylenchus penetrans*.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención.

### 50 **Ejemplos**

**Ejemplo 1:** Ensayo en *M. incognita* de varios compuestos nematocidas en un ensayo en invernadero miniaturizado.

#### Visión general:

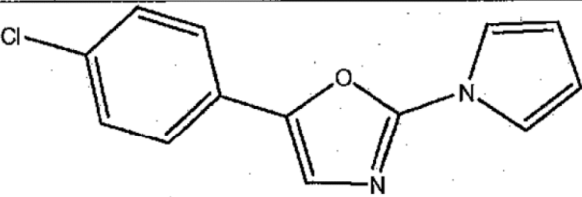
El compuesto de ensayo se disolvió en una solución de acetona y se añadió al agua. Se colocó una plántula de pepino brotada en un vial con arena seca y se añadió inmediatamente la solución química en agua. Veinticuatro horas después, se añadieron huevos de *Meloidogyne incognita* a los viales y de 10 a 12 días más tarde se evaluaron las raíces para determinar el agallamiento debido al nematodo.

Procedimiento:

Se hicieron germinar semillas de pepino durante 3 d en toallas de papel húmedas. Los brotes aceptables debían tener una longitud de 3 a 4 cm, con varias raíces laterales empezando a emerger. Se prepararon soluciones madre de productos químicos en una mezcla de acetona y Triton X100 (412 mg en 500 ml) a una concentración final de 5 mg/ml. La solución madre de producto químico se añadió después a 10 ml de agua desionizada más Triton X100 al 0,015 % y se mezclaron bien. Esto fue suficiente para someter a ensayo cada condición por triplicado. Se añadieron diez ml de arena seca a cada vial. En este momento, la solubilidad del producto químico se determinó visualmente y se registró como ppt (precipitados grandes) o turbio (precipitados finos).

Las plántulas se plantaron inclinando el vial y colocando las plántulas en la orientación correcta de manera que los cotiledones estuvieran justo por encima de la arena y después se inclinaron hacia atrás para cubrir las radículas con arena. Se añadieron 3,3 ml de mezcla de agua/producto químico a cada vial y los viales se colocaron en estantes con bancos de luz fluorescente. Los viales se inocularon dos días después de la siembra mediante la adición de 500 huevos de *M. incognita* vermiformes a cada vial en 50 ul de agua desionizada o agua mineral. Después, los viales se mantuvieron bajo las lámparas fluorescentes a temperatura ambiente y se regaron según fue necesario con 1 ml de agua desionizada, generalmente dos veces durante la duración del ensayo. La cosecha de las plantas de pepino se realizó de 10 a 12 días después de la inoculación retirando mediante lavado la arena de las raíces. Se asignó una clasificación de agallas de raíz y una calificación de fitotoxicidad visual usando las siguientes escalas: Escala de clasificación de agallas (Agalla: % de la masa de raíz agallada): 0 = 0-5 %; 1 = 6-20 %; 2 = 21-50 %; y 3 = 51-100 %. Después, se calculó el promedio de la clasificación de agallas por triplicado: verde = 0,00-0,33 (sin agallas); amarillo = 0,67-1,33 (agallas leves); naranja = 1,67-2,33 (agallas moderadas); rojo = 2,67-3,00 (agallas graves). También se asignó una escala de fitotoxicidad visual (Tox vis.; reducción visual en la masa de la raíz en comparación con el control): rs1 = raquitismo leve; rs2 = raquitismo moderado; rs3 = raquitismo grave.

**Tabla 1:** Análogo de oxazola pirrol nematocida potente que muestra un ejemplo de una alta actividad nematocida

Nombre	Análogo	Clasificaciones de * agallas de 1 ppm
10		1.33
Oxamilo		1.33
Fenamifos		0

El análogo de tipo fenil-N-pirrol tiene una potencia nematocida equivalente a la del nematocida de tipo carbamato comercial oxamilo y similar a la del nematocida fenamifos. El oxamilo y el fenamifos son compuestos altamente tóxicos clasificados como agentes químicos con toxicidad de Clase I por la Agencia de Protección Medioambiental de los EE. UU.

**Ejemplo 2:** Protocolos generales de ensayos en invernaderos30 Siembra y cultivo de soja:

Se sembraron semillas de soja en arena 100 % en recipientes de plástico de 5,08 centímetros cuadrados. El tratamiento químico se realizó cuando las semillas de soja mostraron que el primer trifoliado comenzó a aparecer aproximadamente de 10 a 12 d después de la siembra. Al menos cuatro horas después de la aplicación del producto químico se aplicaron huevos de nematodos del nematodo de quiste de la soja (SCN, del inglés *soybean cyst nematode*) y 28 días después de la inoculación de los huevos se cosechó el ensayo.

Siembra y crecimiento de pepino

Se sembraron semillas de pepino en una mezcla de suelo arenoso en recipientes de plástico de 5,08 centímetros cuadrados. Cuando los cotiledones estuvieron completamente abiertos y justo cuando comenzó a emerger la primera hoja, por lo general 7 d después de la siembra, se aplicó el producto químico para el tratamiento de 7 días. Una semana después se aplicó el producto químico para el tratamiento de 0 días. Se usaron plantas separadas para cada aplicación. Las plantas estaban en ese momento generalmente en la etapa de 1-2 hojas. Al menos cuatro horas después de la aplicación del producto químico los recipientes se inocularon con huevos de nematodos de los nudos de la raíz (RKN, del inglés *root knot nematode*). Las plantas se clasificaron por sus agallas 14 d después de la inoculación de los huevos.

Formulación y aplicación del producto químico

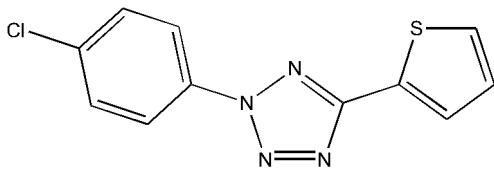
Un miligramo de producto químico por cada cuatro recipientes es igual a un kilogramo por hectárea de producto químico. Un ensayo convencional usa cuatro duplicados. Para tasas superiores a 2 kg/ha, la cantidad deseada de producto químico se pesó en un vial de 30 ml (ejemplo: tasa de 8 kg/ha = 8 mg de producto químico en un vial de 30 ml). El producto químico se disolvió en 2 ml de disolvente apropiado, generalmente acetona. Para tasas inferiores a 2 kg/ha, se pesaron 2 miligramos de producto químico en el vial y se disolvieron en 2 ml de disolvente. Después se pipeteó la cantidad apropiada de concentrado de producto químico en un vial de 30 ml separado y se añadió disolvente para llevar el volumen a 2 ml (ejemplo 0,5 kg/ha = 0,5 ml de concentrado + 1,5 ml de disolvente). Cada concentrado disuelto se llevó después a un total de 20 mililitros usando una solución de tensioactivo Triton X 100 al 0,05 %.

Producto químico y aplicación a nematodos

Los recipientes que se iban a tratar estaban húmedos pero no saturados. A cada uno de los cuatro recipientes, se les pipetearon cinco mililitros de la solución química apropiada en la superficie del medio, asegurándose de evitar el contacto con la base de la planta. Inmediatamente después de la aplicación del producto químico, usando una boquilla de niebla, la superficie del recipiente se humedeció lo suficiente para saturar el riego de recipiente en el producto químico. La aplicación del producto químico se realizó por la mañana.

Se añadieron huevos de nematodos, ya sea SCN o RKN, al agua destilada para crear una concentración de 1000 huevos vermiformes por litro de agua. Al menos cuatro horas después del tratamiento químico, los huevos se aplicaron a los recipientes tratados más plantas de control sin tratar. Se perforó un pequeño agujero de aproximadamente 1 cm de profundidad en la superficie del recipiente. Se pipeteó un mililitro de la suspensión de huevos de nematodos en el agujero. Inmediatamente después, se cubrió el agujero suavemente. Después, el riego de las plantas de ensayo se restringió a agua solamente según fuera necesario para evitar el marchitamiento durante un período de 24 horas. Después del riego restringido de 24 horas, se realizó un riego de sub-irrigación normal durante la duración del ensayo.

**Tabla 2:** Ensayo de suelo de invernadero de RKN en plantas de pepino

Nombre	Análogo	tasa de 1 kg/ha en 0 días*
10		100 %
Fenamifos		100 %

\*Los datos muestran el porcentaje de control (es decir, reducción de quistes) con respecto al blanco de tratamiento de control. Los datos se tomaron del mismo ensayo.

Determinados oxazoles son nematicidas altamente eficaces en suelos bioactivos con potencias comparables a fenamifos y oxamilo.

**Ejemplo 3:** Protocolos de ensayo de *Belonolaimus longicaudatus* (nematodo de aguijón)

Se mantuvieron poblaciones de nematodos de aguijón (*Belonolaimus longicaudatus*) en césped de San Agustín en suelo en recipientes de 15 cm. Al inicio del ensayo, el césped se retiró de los recipientes y el suelo que contenía huevos, larvas y adultos se subdividió en recipientes que contenían cada uno un volumen de 125 cm<sup>3</sup>. Los compuestos que se iban a someter a ensayo se disolvieron en 3 ml de acetona usando 3, 6 o 15 mg para conseguir tasas de aplicación de área superficial equivalentes de 2, 4 o 10 kg/ha, respectivamente. Los 3 ml de solución madre de acetona se añadieron a 30 ml de agua y se usaron 5 ml de esa solución para el tratamiento vermífugo de cada uno de los 6 recipientes de ensayo duplicados preparados como se ha descrito anteriormente. Los recipientes tratados que contenían nematodos se incubaron en el laboratorio a una temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C. Después de 3 d, el suelo de cada recipiente se lavó en un aparato Baermann modificado que comprendía un tamiz que soportaba una capa de papel de filtro sobre la que se colocó la muestra de suelo, y se ubicó en un plato de agua. Después, las muestras se incubaron a 25 °C durante 24 h para permitir que los nematodos vivos migrasen a través del papel y el tamiz y dentro de un reservorio de agua para recogerlos y contarlos con un microscopio óptico. Los nematodos que habían muerto o estaban inmovilizados debido a los compuestos de ensayo no podían migrar al reservorio.

**Ejemplo 4:** Protocolos de ensayo de *C. elegans*

Se sometieron a ensayo diversos compuestos para determinar la actividad nematicida contra *C. elegans* usando ensayos de contacto en pocillos. Los ensayos se realizaron como se describe a continuación. Los compuestos de

ensayo se solubilizaron en DMSO a 10 mg/ml para crear soluciones madre 100X. Se creó una serie de dilución mediante la dilución de la solución madre con DMSO. Para cada ensayo en pocillo, se añadieron 4 ul de la dilución apropiada a un pocillo de una placa de ensayo.

5 Se añadió una alícuota de 400 ul de solución madre bacteriana (en tampón M9 con ampicilina y nistatina) a cada pocillo de la placa de ensayo. Se añadieron gusanos y la placa de ensayo se colocó en un agitador rotatorio y se mantuvo a 20 °C. Los gusanos se examinaron y se puntuaron a las 4 h, 24 h, 48 h y 72 h. En el ensayo, se utilizaron gusanos L1 y gusanos L4. Los gusanos L1 se prepararon sembrando huevos en una placa sin una capa de alimentación bacteriana. Los huevos eclosionaron y se detuvieron en la etapa L1. Esta población en etapa L1 se usó después para crear una solución madre para los experimentos. Para crear una solución madre de la etapa L4, se toma un número pequeño de gusanos de una placa de gusanos grandes y privados de alimentación, y se añade a una placa con una capa de alimento bacteriano. Se añade una alícuota de 25 µl de gusanos a cada pocillo en el ensayo.

15 Para demostrar que estos compuestos no afectan a los nematodos mediante la inducción de apoptosis, se evaluaron mutantes de *Caenorhabditis elegans* de vía apoptótica defectuosa, los mutantes ced-3(n717) y ced-4(N1162) (Ellis HM, Horvitz HR. Genetic control of programmed cell death in the nematode *C. elegans*. 1986 Cell 44:817-829), para determinar su susceptibilidad a 10 µg/ml de DC5823 en placas de agar NGM. No se observó ninguna diferencia fenotípica detectable en la susceptibilidad entre la cepa de *C. elegans* de origen natural (N2 Bristol) y los mutantes ced-3 y ced-4, incluido el tiempo hasta la mortalidad.

20 Estos datos indican que las estructuras reivindicadas no afectan a la apoptosis en células de mamífero ni en nematodos.

#### **Ejemplo 5:** Evaluación de la toxicidad aguda en ratón

25 Se llevó a cabo una evaluación de la toxicidad oral aguda en ratones de acuerdo con el método de prueba P203.UDP, que se administró según Eurofins/Product Safety Laboratories (Dayton, Nueva Jersey). Se obtuvieron ratones albinos derivados de CD-1/Swiss y se alojaron por grupos en jaulas de fondos sólidos suspendidas. Los ratones se alimentaron con comida para roedores y se les suministró agua del grifo filtrada *ad libitum*. Tras su aclimatación al entorno de laboratorio, un grupo de animales se sometió a ayunas durante toda la noche retirando la comida de las jaulas. Después del periodo de ayunas, se seleccionaron tres ratones hembra basándose en la vitalidad y los pesos corporales iniciales. Las dosis de los compuestos individuales se calcularon a partir de estos pesos corporales.

30 La sustancia de prueba se preparó como una mezcla al 1% (50 mg/kg) o 5% (500 mg/kg) en peso respecto al peso (p/p) en una solución al 0,5% p/p de carboximetilcelulosa (CMC) en agua destilada. Se utilizó un homogeneizador de tejidos para crear una mezcla homogénea. Se administró una dosis de 50 o 500 mg/kg a tres ratones sanos por nivel de dosis mediante intubación oral utilizando una aguja con sonda de bola inclinada unida a una jeringa. Tras la administración, los animales volvieron a sus jaulas y se repuso la comida inmediatamente después de la dosis.

35 Los animales fueron sometidos a observación para determinar la mortalidad, signos de toxicidad elevada y cambios de comportamiento durante las primeras horas después de la dosis y al menos una vez al día durante un máximo de 14 d. Se registraron los pesos corporales antes del inicio y en los Días 7 y 14 o tan pronto como fuera posible después del fallecimiento.

#### **Ejemplo 6:** Protocolos avanzados de ensayos en invernaderos

##### 40 Ensayo incorporado antes de la planta (PPI, del inglés *Pre-plant incorporated test*)

45 El ensayo PPI examina el efecto de la incorporación previa de compuestos en el suelo y el envejecimiento más prolongado para simular procedimientos de aplicación de nematicidas en surcos en el campo. El ensayo PPI expone los compuestos a un mayor volumen de suelo y secado, lo que puede dar como resultado una unión más fuerte al suelo. Los compuestos también se envejecen durante periodos más prolongados, lo que puede conducir a una degradación biótica y abiótica más extensa que limite adicionalmente la actividad.

50 El suelo tratado químicamente (mezcla de suelo arenoso) para todos los tratamientos de cualesquier días de tratamiento (por ejemplo, 7 días, 14 días, 21 días) se colocó en sus recipientes apropiados. El mismo día se sembraron los recipientes de tratamiento de 7 días. Una semana después, se aplicaron huevos y 14 días después de la aplicación de los huevos, se cosechó el ensayo. Los tratamientos de 14 días se sembraron 7 días después de la primera siembra. La siembra de 14 días y la inoculación de 7 días se produjeron el mismo día. Una semana después se inocularon los tratamientos de 14 días con huevos. Estos se cosecharon 14 días después de la inoculación. Los tratamientos de 21 días se sembraron 14 días después de la primera siembra. La inoculación de 14 días y la siembra de 21 días se realizaron el mismo día. Una semana después, las plantas de 21 días se inocularon con huevos. El tratamiento de 7 días se cosechó el mismo día que la inoculación de 21 días. Catorce días después de la inoculación se cosecharon las plantas de 21 días.

Tratamiento Siembra Inoculación Cosecha

7 días	día 0	día 7	día 21
14 días	día 7	día 14	día 28
21 días	día 14	día 21	día 35

- Para cada compuesto, se preparó una solución madre usando 4 mg de material en 4 ml de acetona. El suelo se mezcló colocando 80 ml de suelo de campo y 320 ml de arena en una bolsa de plástico y mezclando bien. La formulación para el tratamiento se realizó mediante la adición de 2,13 ml (8 kg/ha), 1,06 ml (4 kg/ha) o 0,53 ml (2 kg/ha) a un vial y elevándolo con 10 ml en X100 al 0,05 %. Después se trató la tierra mediante la adición de los 10 ml completos a los 400 ml de mezcla en la bolsa. La tierra tratada se mezcló bien inmediatamente en la bolsa sellada para distribuir el compuesto de manera uniforme. Se usaron aproximadamente 95 ml para llenar cada recipiente de 5,1 centímetros cuadrados hasta la parte superior con un poco de compresión y aplanamiento del suelo. Para cada compuesto y para los tratamientos de control se llenaron 4 recipientes. Todos los recipientes se regaron hasta que estuvieron húmedos pero sin escurrir por el fondo.
- El ensayo PPI simuló tasas de 8, 4 y 2 kg/ha incorporadas a 15 cm de profundidad en el campo y fue equivalente a las tasas de aplicación de tratamiento vermífugo de 2, 1 y 0,5 kg/ha en el ensayo convencional en invernadero de pepino en recipiente de 5,1 centímetros.

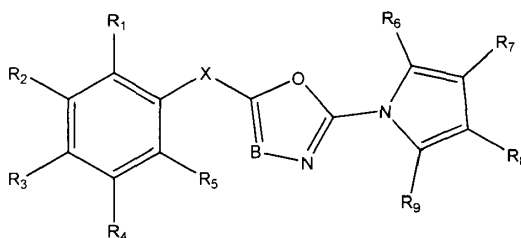
**Ejemplo 9:** Ensayo de tratamiento de semillas de nematodo de nudos de la raíz en plantas de pepino y nematodo de quiste de la soja en plantas de soja

- Para una concentración dada, el producto químico se disolvió en 500 ul de acetona y se añadió un gramo de semilla de pepino (ensayo RKN) o semilla de soja (ensayo SCN) (por ejemplo, 20 mg de principio activo en 500 ul de acetona más 1 gramo de semilla). Las soluciones de semillas se agitaron hasta que todas las semillas se cubrieron completamente con la solución química. La acetona después se dejó evaporar por secado al aire de las semillas. Las semillas se sembraron en recipientes de 5,1 centímetros que contenían tierra arenosa y después los recipientes se inocularon con 1000 huevos de *Meloidogyne incognita* (RKN) o 1000 huevos de *Heterodera glycines* (SCN) por recipiente tres días después de la siembra. Las plantas se clasificaron por su agallamiento 14 días después de la inoculación de los huevos para RKN o 28 días después de la inoculación de los huevos para SCN.

**Ejemplo 10:** Descripción de la síntesis de los compuestos de la Fórmula la.

- Los compuestos de la presente invención de la Fórmula la pueden prepararse usando procedimientos conocidos por los expertos en la materia. Específicamente, los compuestos de la presente invención con Fórmula la pueden prepararse como se ilustra mediante la reacción de ejemplo en el Esquema 1.

Esquema 1: Esquema sintético para compuestos de Fórmula la



- La alfa-aminocetona **1** se hace reaccionar con disulfuro de carbono en presencia de carbonato de sodio en etanol para proporcionar el oxazol-2-tiol **2** correspondiente con buen rendimiento, con una pureza aceptable para el siguiente paso. La conversión del tiol del compuesto **2** en cloro se consigue con cloruro fosforoso (POCl<sub>3</sub>) en presencia de trietilamina a una temperatura más elevada. A continuación, el compuesto **3** se hace reaccionar con el derivado de pirrol adecuado (después del tratamiento con hidruro de sodio) a una temperatura más elevada para proporcionar el análogo de oxazol con sustitución 2-pirrol-5 deseado **5**.

**Ejemplo de Fórmula la: 5-(4-clorofenil)-2-(1H-pirrol-1-il)oxazol**

- El clorhidrato de 2-amino-1-(4-clorofenil)etanona de partida se preparó de acuerdo con el siguiente procedimiento. La 1-(4-clorofenil)etanona (1,0 eq.) se disolvió en ácido acético glacial (1 ml por mmol). Se añadió a esto una suspensión de tribromuro de piridinio (1,03 eq.) en ácido acético (1 ml por mmol). La mezcla heterogénea se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Después de aproximadamente 30 min, la mezcla se volvió homogénea. Después de verterla sobre agua-hielo, se separó un precipitado amarillo por filtración y se lavó con agua (2 x 1 ml por mmol de cetona de partida). El secado del precipitado proporcionó 2-bromo-1-(4-clorofenil)etanona con un rendimiento de aprox. 90%.

Una mezcla de 2-bromo-1-(4-clorofenil)etanona (1,0 eq.) y NaN(CHO)<sub>2</sub> (1,1 eq.) en acetonitrilo (1,5 ml por mmol) se

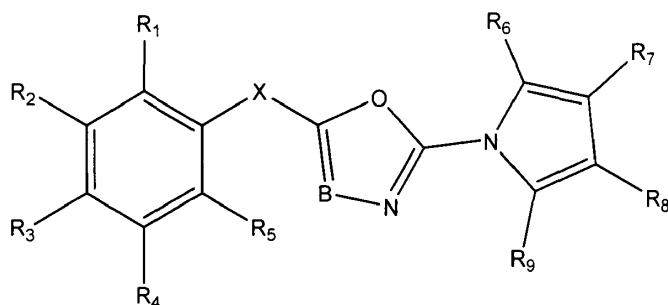
5 calentó a reflujo durante 4 h con una temperatura ext. de 105 °C. El bromuro de sodio formado se eliminó mediante filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en etanol (2,5 ml por mmol) y se añadió ácido clorhídrico ac. conc. (0,9 ml por mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 72 h a temperatura ambiente, los sólidos se separaron por filtración y se lavaron con etanol (1 x 0,5 ml por mmol). El secado de los sólidos proporcionó el clorhidrato de 2-amino-1-(4-clorofenil)etanona con un rendimiento de aprox. 50%, que se utilizó en el siguiente paso sin purificación.

10 Se suspendió el clorhidrato de 2-amino-1-(4-clorofenil)etanona (0,80 g, 3,88 mmol) y disulfuro de carbono (0,47 ml, 0,59 g, 7,76 mmol) en etanol (10 ml). Se añadió lentamente a esto una solución de carbonato de sodio (0,44 g, 4,08 mmol) en agua (4 ml) a temperatura ambiente. Después de calentar a una temp. ext. de 80 °C durante 18 h, se filtró la mezcla fría. El filtrado se diluyó con ácido acético (40 ml) y se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. La evaporación de los disolventes al vacío proporcionó 1,42 g de un 5-(4-clorofenil)oxazol-2-tiol crudo, el cual tenía una pureza de aprox. 61% (HPLC-MS) y se utilizó como tal en el siguiente paso. El compuesto de tipo oxazol-2-tiol crudo (1,42 g, máx. 3,88 mmol) se suspendió en oxicloruro de fósforo (5 ml). Se añadió a esto gota a gota trietilamina (1,15 ml, 0,84 mg, 8,27 mmol) y la mezcla se calentó hasta una temperatura ext. de 105 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se vertió sobre agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 40 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con bicarbonato sat. ac. (100 ml) y agua (50 ml). El secado (sulfato de sodio) y la concentración al vacío proporcionaron un producto crudo (615 mg), el cual se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, 5-40% de acetato de etilo en heptanos) para obtener 2-cloro-5-(4-clorofenil)oxazol puro (105 mg, 0,49 mmol, 13%, pureza de 96% según HPLC-MS).

20 En el siguiente paso, se trató pirrol (2 ml) con hidruro de sodio (10 mg, 0,22 mmol, al 55% humedecido con aceite mineral), a continuación se añadió 75-(4-clorofenil)-2-(1H-pirrol-1-il)oxazol (45 mg, 0,21 mmol). La mezcla se calentó hasta una temperatura ext. de 60 °C durante 1 h, 85 °C durante 6 h y 100 °C durante 6 h. Se añadió más hidruro de sodio (10 mg, 0,22 mmol, al 55% humedecido con aceite mineral) y la mezcla de reacción se calentó hasta una temperatura externa de 120 °C durante 6 h. El análisis (HPLC-MS) indicó que el material de partida se había consumido. La mezcla se evaporó a sequedad al vacío y se repartió entre cloruro de amonio sat. ac. y acetato de etilo. La extracción de la fase acuosa con acetato de etilo (3 x 50 ml) y la evaporación de las fases orgánicas combinadas al vacío proporcionaron un producto crudo (80 mg), el cual se purificó mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, 0-20% de acetato de etilo en heptanos) para proporcionar 5-(4-clorofenil)-2-(1H-pirrol-1-il)oxazol puro (18 mg, 72,4 µmol, 35% de rendimiento, 98,6% de pureza (HPLC-MS). LC-MS [M+H]<sup>+</sup> 245 (C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>CIN<sub>2</sub>O+H, requiere 245,04). El espectro de <sup>1</sup>H-RMN concuerda con la estructura química.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula Ia o una sal del mismo,



Formula Ia

5 en la que,

R<sub>1</sub> y R<sub>5</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, F, Cl, Br, CF<sub>3</sub> y OCF<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> y R<sub>4</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, F, Cl, Br, CH<sub>3</sub> y CF<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona entre hidrógeno, CH<sub>3</sub>, CF<sub>3</sub>, F, Cl, Br, OCF<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>, CN y C(H)O;

R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, heterocicliilo y halógeno;

10 B es C(H) o C(CH<sub>3</sub>); y

X es un enlace.

2. El compuesto de la reivindicación 1 donde R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> y R<sub>9</sub> se seleccionan independientemente entre hidrógeno, CH<sub>3</sub> y halógeno.

3. El compuesto de la reivindicación 1 donde el compuesto es 5-(4-clorofenil)-2-(1H-pirrol-1-il)oxazol.

15 4. Una composición que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 con una concentración suficiente para reducir la viabilidad de un nematodo parasitario.

5. La composición de la reivindicación 4 donde la composición comprende un tensioactivo.

6. La composición de la reivindicación 4 o 5 donde la composición comprende uno o más de: un fungicida, un herbicida y otro pesticida.

20 7. La composición de la reivindicación 6 donde la composición comprende un pesticida seleccionado entre avermectina, ivermectina, milbemicina, imidacloprid, aldicarbo, oxamilo, fenamifos, fostiazato, metam sódico, etridiazol, pentacloro-nitrobeneno (PCNB), flutolanilo, metalaxilo, mefenoxam y fosetil-al; y/o un fungicida seleccionado entre siltiofam, fludioxonilo, miclobutanilo, azoxistrobina, clorotalonilo, propiconazol, tebuconazol y piraclostrobina; y/o un herbicida seleccionado entre trifloxisulfurón, glifosato y halosulfurón.

25 8. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7 donde la composición comprende un codisolvente.

9. Un procedimiento de lucha contra nematodos no deseados, comprendiendo el procedimiento la administración a una planta, una semilla o suelo de una cantidad eficaz de una composición de cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8.

30 10. El procedimiento de la reivindicación 9 donde el nematodo se selecciona del grupo que consiste en *M. incognita*, *H. glycines*, *B. longicaudatus*, *H. contortus*, *A. suum* y *B. malayi*, o donde el nematodo es un nematodo de uno de los siguientes géneros: *Pratylenchus*, *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Rotylenchulus*, *Hoplolaimus*, *Belonolaimus*, *Longidorus*, *Paratrichodorus*, *Ditylenchus*, *Xiphinema*, *Helicotylenchus*, *Radopholus*, *Hirschmanniella*, *Tylenchorhynchus* y *Trichodorus*.

11. El procedimiento de la reivindicación 9 o 10 donde la composición se administra a una semilla.

35 12. El procedimiento de la reivindicación 9 o 10 donde la composición se administra a una planta.

13. El procedimiento de la reivindicación 9 o 10 donde la composición se administra al suelo.

14. Una semilla que tiene un recubrimiento nematicida que comprende un compuesto de Fórmula Ia o una sal del mismo tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.