

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la
Propiedad Intelectual
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional
10 de marzo de 2016 (10.03.2016) **WIPO | PCT**

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2016/034751 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:

A01N 63/04 (2006.01) C07D 317/34 (2006.01)
A01N 43/28 (2006.01) C12P 17/04 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2015/070641

(22) Fecha de presentación internacional:

1 de septiembre de 2015 (01.09.2015)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P201431276

1 de septiembre de 2014 (01.09.2014)

ES

(71) Solicitantes: **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES]; C/ Serrano, 117, 28006 Madrid (ES). **UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA** [ES/ES]; Edificio Central Universidad, C/ Delgado Barreto, s/n, 38200 Santa Cruz Tenerife (ES).

(72) Inventores: **GONZÁLEZ COLOMA, Azucena**; Instituto De Ciencias Agrarias (ICA), C/ Serrano, 115, 28006 Madrid (ES). **DÍAZ HERNÁNDEZ, Carmen Elisa**; Instituto De Productos Naturales Y Agrobiología (IPNA), Avda. Astrofísico Francisco Sánchez, 3, 38205 San Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife (ES). **ANDRÉS YEVES, M^a Fe**; Instituto De Ciencias Agrarias (ICA), C/ Serrano, 115, 28006 Madrid (ES). **FRAGA GONZÁLEZ, Braulio M.**; Instituto De Productos Naturales Y Agrobiología (IPNA), Avda. Astrofísico Francisco Sánchez, 3, E-38205 San Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife (ES). **BOLAÑOS GONZÁLEZ, Patricia**; Instituto De Productos Naturales Y Agrobiología (IPNA), Avda. Astrofísico Francisco Sánchez, 3, E-38205 San Cristóbal de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife (ES). **CABRERA PÉREZ, Raimundo**;

Universidad De La Laguna, Edificio Central Universidad, C/ Delgado Barreto, s/n, 38200 Santa Cruz Tenerife (ES). **GIMÉNEZ MARÍÑO, Cristina**; Universidad De La Laguna, Edificio Central Universidad, C/ Delgado Barreto, s/n, 38200 Santa Cruz Tenerife (ES).

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Ángel**; Glorieta de Rubén Dario, 4, 28010 Madrid (ES).

(81) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (*a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))

(54) Title: BIOCIDAL PRODUCTS AND USE THEREOF FOR CONTROLLING PHYTOPATHOGENS AND PEST ORGANISMS THAT HARM PLANTS

(54) Título : PRODUCTOS BIOCIDAS, AISLADOS A PARTIR DEL PRODUCTO DE FERMENTACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS DEL GÉNERO GUIGNARDIA SP. Y SU USO PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS Y ORGANISMOS PLAGA QUE AFECTAN A PLANTAS.

(57) Abstract: Diseases and pests pose a serious problem in the field of agriculture. The present invention proposes a new compound of formula (I) having biocidal activity, isolated from the fermentation product of endophyte fungi of the *Guignardia* sp. genus. The invention also relates to: the method for obtaining the compound of formula (I); a fermentation product comprising said compound together with other known compounds that have the same structure and biocidal activity as the compound of formula (I); and the use of said compounds as biocides, and particularly as nematocides, either directly or using a composition, thereby providing an effective method for controlling phytopathogens and pest organisms that harm plants.

(57) Resumen: Las enfermedades y plagas constituyen un importante problema en el campo de la agricultura. La presente invención propone un nuevo compuesto de fórmula (I) con actividad biocida, aislado a partir del producto de fermentación de hongos endófitos del género *Guignardia* sp. La invención también se refiere al método de obtención del compuesto de fórmula (I), a un producto de fermentación que lo comprende junto a otros compuestos conocidos que comparten estructura y actividad biocida con el compuesto de fórmula (I) y al uso de dichos compuestos como biocidas, y especialmente como nematocidas, bien directamente o a través de una composición, constituyendo de este modo un efectivo método de control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas.



WO 2016/034751 A1

Productos biocidas, aislados a partir del producto de fermentación de hongos endófitos del género *Guignardia* sp. y su uso para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas.

DESCRIPCIÓN

5

SECTOR DE LA INVENCION

La invención se sitúa dentro del campo de la agricultura, y más concretamente, en el sector de los biocidas que comprenden sustancias producidas o extraídas de microorganismos. Se propone un nuevo compuesto de fórmula (I) con actividad biocida aislado a partir de un producto de fermentación de hongos endófitos del género *Guignardia* sp. La invención también se refiere a un método de obtención de dicho compuesto que utiliza hongos endófitos del género *Guignardia* sp. y a un producto de fermentación que lo comprende junto a otros compuestos conocidos de fórmula general (II) que comparten estructura y actividad biocida con el compuesto de fórmula (I). Los compuestos que se incluyen en el ámbito de la presente invención se relacionan por primera vez con actividad biocida, y especialmente con actividad nematocida, por lo que la invención también tiene que ver con el uso de dichos compuestos como biocidas, tanto de forma aislada como a través de una composición biocida que los comprenda. En último lugar, la invención también se refiere a un método de control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas y que utiliza a la composición biocida, al producto de fermentación, o a los compuestos incluidos en la invención.

25 **ESTADO DE LA TECNICA**

Los hongos endófitos representan una fuente alternativa de productos naturales interesantes desde el punto de vista biológico. Estos hongos son microorganismos que colonizan los espacios intersticiales de las plantas sin llegar a ser patógenos para ellas y que establecen una interacción endófito-planta que mejora la adaptación ecológica de la planta al ecosistema en el que habita, aumentando su tolerancia al estrés, a cambios de temperatura y salinidad, y su resistencia frente a enfermedades, herbívoros, insectos, nematodos, bacterias y hongos (Aly et al. 2010. *Fungal Divers* 41, 1–16).

35

El género *Guignardia* (Ascomycetes) y su género anamorfo *Phyllosticta* es un grupo de hongos microscópicos que comprenden importantes fitopatógenos que afectan a un amplio rango de especies vegetales. Algunas especies de este género provocan manchas negras en las hojas y enfermedades de cultivos y plantas ornamentales con gran importancia económica, como cítricos, plátanos, manzanas, uvas, arándanos y orquídeas (Wikee et al. 2011. *Fungal Divers* 51, 43–61). Especies del género *Phyllosticta* son también fuente de nuevos metabolitos bioactivos como fillostina y fillostoxina, que se han considerado agentes potenciales para el control de plagas por su actividad fitotóxica (Evidente et al. 2008. *J. Agric. Food Chem.* 56, 884–888). En el cultivo del hongo *G. bidwelli* se han identificado nuevos compuestos fitotóxicos como el ácido penguignárdico y otros siete metabolitos secundarios: ácido alaguignárdico y las guignardianonas A-E (Molitor et al. 2012. *J. Nat. Prod.* 75, 1265–1269; Buckel et al. 2013. *Phytochemistry* 89, 96–103), estructuralmente relacionados con el ácido guignárdico (Rodrigues-Heerklotz et al. 2001. *Helv. Chim. Acta.* 84, 3766–3772).

Se ha descrito una reducida capacidad biocida contra hongos, insectos y parásitos de algunos extractos de *Guignardia manguiferae* aislados de distintos huéspedes (Giménez, C. 2006. Productos bioactivos de plantas canarias y sus hongos endófitos: detección de actividad y utilización en el control de plagas y enfermedades agrícolas Universidad de la Laguna. Tesis de doctorado.); y también un moderado nivel de actividad fungicida contra la enfermedad *Sclerotinia* del garbanzo de un extracto de etilacetato obtenido a partir del hongo endófito *Guignardia cammillae* aislado de *J. curcus* (Susheel et al. 2013. *Plos One* 8 (2), e56202).

Por su parte y dentro de la literatura patente, el documento W02002/017937 A1 se refiere, a extractos acuosos u orgánicos obtenidos a partir de la fermentación de hongos de *Guignardia* sp. aislados de las hojas del árbol *Spondias mombin*; a fracciones con actividad biológica obtenidas a partir del extracto; y al ácido guignárdico identificado en dicho extracto y que son efectivos contra bacterias, levaduras y hongos.

La *G. manguiferae* se ha aislado como endófito de especies como *Ilex cornuta*. En su fermentación en medio líquido se han obtenido los compuestos meroterpénicos guignardonas A-C (Yuan et al. 2010. *Eur. J. Org. Chem.* 6348–6353). En el cultivo de *G. manguiferae* aislado de *Garcinia hombroniana* se han identificado las

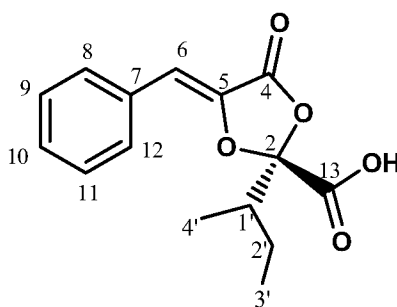
guignareronas A-D (Sommart et al. 2012. *Phytochemistry Letters* 5,139–143). Además, del extracto del endófito *G. manguiferae* aislado de *Smilax glabra* se han identificado los compuestos: 15-hidroxitricicloalaternareno, guignardiaenos D y C, guignardonas A y B, ácido 3-(4-metilfenoxi)-propanoico, nonano-2, 4-diol, ergosterol, tirosol y p-hidroxibenzaldehído (Liang et al. 2012. *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 43, 856-860).

Tradicionalmente el método habitual para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas ha sido la aplicación de productos químicos de síntesis, que además de su alto precio económico implica un grave coste ambiental. Sin embargo, el nuevo entorno regulatorio, véase por ejemplo tanto a nivel nacional como europeo el Reglamento (CE) N° 1107/2009, ha limitado drásticamente el número de materias activas y la disponibilidad de los productos fitosanitarios destinados al control de las enfermedades causadas por estos patógenos. Por todo ello actualmente existe una necesidad clara de búsqueda y desarrollo de nuevas compuestos activos alternativos eficaces y menos tóxicos entre los que los productos naturales procedentes del metabolismo secundario de microorganismos pueden presentar un gran potencial.

EXPLICACION DE LA INVENCION

Breve descripción

La presente invención se relaciona en un primer aspecto con un compuesto con actividad biocida aislado a partir de un producto de fermentación de hongos endófitos del género *Guignardia*, de fórmula (I):



4

(I)

o un isómero, una sal o un solvato del mismo.

- 5 En un segundo aspecto, la invención se relaciona con un procedimiento de obtención del compuesto de fórmula (I) que comprende las siguientes etapas:

a) cultivar micelio de un hongo del género *Guignardia* sp. en un medio de cultivo hasta conseguir un producto fermentado y

10

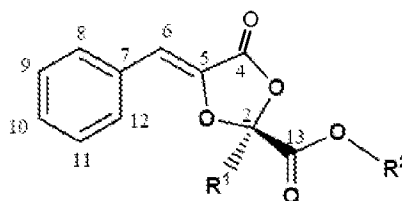
b) aislar al compuesto de fórmula (I) a partir del producto fermentado de la etapa anterior.

- Preferentemente el hongo del género *Guignardia* sp. es un hongo de la especie *G. manguiferae*, y más preferentemente, la cepa YCC4 aislada de hojas de *Persea indica* depositado en la CECT con número de acceso 20914 en fecha 2 julio de 2014.

- En un tercer aspecto, la invención se relaciona con el producto fermentado que se obtiene tras la etapa (a) del procedimiento obtención y que comprende al compuesto de fórmula (I) y actividad biocida.

20

Adicionalmente, el producto fermentado comprende un compuesto de fórmula general (II):



25

(II)

donde R1 se selecciona entre metiletil y metilfenil y R2 se selecciona de entre CH₃, etilfenil y H,

o un isómero, una sal o un solvato del mismo.

En un cuarto aspecto, la invención se relaciona con el uso para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y preferentemente para el control de nematodos, del compuesto de fórmula (I) o del compuesto de fórmula general (II), ya sea de forma aislada o en combinación, o del producto fermentado.

En un quinto aspecto, la invención se relaciona con una composición biocida que comprende al compuesto de fórmula (I) o al compuesto de fórmula general (II), ya sea de forma aislada o en combinación, o al producto fermentado.

En un sexto aspecto, la invención se relaciona con el uso de la composición biocida para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y preferentemente para el control de nematodos.

En un último aspecto, la invención se relaciona con un método de control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y preferentemente de nematodos, que comprende administrar una dosis eficaz del compuesto de fórmula (I) o del compuesto de fórmula general (II), ya sea de forma aislada o en combinación, o del producto fermentado, o de la composición biocida.

Descripción detallada de la invención

El problema técnico que resuelve la presente invención es la búsqueda de nuevos principios activos naturales, que tienen su origen en extractos obtenidos de la fermentación con hongos endófitos, y que por su actividad biocida puedan ser utilizados en el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y especialmente de nematodos, de una forma efectiva y respetuosa con el medio ambiente.

Se ha descubierto que un compuesto de fórmula (I) obtenido a partir de un producto de fermentación de una cepa de hongo *Guignardia manguiiferae* aislada de las hojas de *Persea indica* (ver ejemplos 1 a 4), presenta actividad biocida (ver ejemplos 5 y 6), y que ésta, es especialmente considerable contra nematodos (ver ejemplo 7).

Las principales ventajas técnicas de los compuestos que se incluyen dentro del ámbito de la invención, de su procedimiento de obtención, así como de su uso para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas se enumeran a continuación:

5

-se obtienen de fuentes naturales, por procedimientos sencillos y económicos,

-se pueden obtener a gran escala por fermentación del microorganismo en biorreactores y las condiciones de fermentación se pueden manipular para aumentar la
10 producción de componentes activos,

-son efectivos simultáneamente contra varios patógenos,

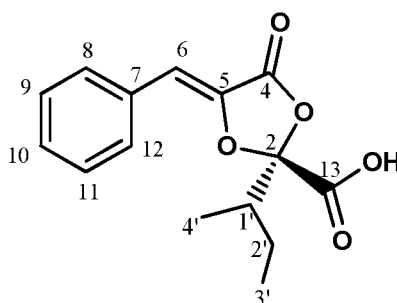
-son singularmente efectivos contra nematodos, alcanzando en este caso una
15 efectividad superior al 99%, muy por encima, por ejemplo, del producto Abamectina (AVICTA®) que presenta un valor de en torno al 35 % en condiciones experimentales similares.

Los inventores de la presente invención han identificado, por primera vez, un
20 compuesto bioactivo con actividad biocida obtenido a partir de una fermentación con hongos endófitos del género *Guignardia sp.*, gracias a su caracterización en base a datos físicos y espectroscópicos, y por comparación de los mismos con los publicados en la bibliografía.

25 Adicionalmente al compuesto de fórmula (I) se han identificado otros compuestos conocidos como son el ácido guignárdico (Rodrigues-Heerklotz et al. 2001. *Helv. Chim. Acta* 84, 3766-3772), el metil ester del ácido penguignardico (Andernach et al. 2013. *European Journal of Organic Chemistry* 26, 5946-5951), las guignardonas A y B (Yuan et al. 2010. *Eur. J. Org. Chem.* 6348-6353), las guignarenonas B y C (Sommart
30 et al. 2012. *Phytochemistry Lett.* 5, 139-143), las guignardianonas A, C (1) y D (2) y E (Buckel et al. 2013. *Phytochemistry* 89, 96-103) y el ácido 3,4 dihidroxibenzoico.

En un aspecto, la invención se relaciona con un compuesto con actividad biocida que se aísla a partir de un producto de fermentación con hongos endófitos del género
35 *Guignardia sp.* y de fórmula (I), en adelante compuesto de la invención,

7



(I)

o un isómero, una sal o un solvato del mismo.

5

En el ámbito de la invención se utilizan indistintamente los términos compuesto de fórmula (I) o ácido metguignárdico.

De forma general, todos los compuestos que se incluyen en el ámbito de la invención pueden incluir isómeros, dependiendo de la presencia de enlaces múltiples, incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención, es decir, el término isómero también se refiere a cualquier mezcla de isómeros, como diastereómeros, racémicos, etc., incluso a sus isómeros ópticamente activos o las mezclas en distintas proporciones de los mismos. Los enantiómeros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran las sales y solvatos aceptables de todos los compuestos que se incluyen en el ámbito de la invención o de cualquier otro compuesto que, cuando se aplica a un fitopatógeno o a un organismo plaga que afecta a plantas, es capaz de proporcionar (directamente o indirectamente) un compuesto según se describe en el presente documento.

Los compuestos que se incluyen en el ámbito de la invención pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos. Los métodos de solvatación se conocen generalmente dentro de la técnica.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un procedimiento de obtención del compuesto de la invención, en adelante procedimiento de obtención de la invención, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) cultivar micelio de un hongo del género *Guignardia* sp. con capacidad para producir el compuesto de fórmula (I) en un medio de cultivo hasta conseguir un producto fermentado y
- 10 b) aislar el compuesto de fórmula (I) a partir del producto fermentado de la etapa anterior.

No todos los hongos del género *Guignardia* sp. presentan la capacidad de producir el compuesto de la invención. Es la interacción endófito-planta hospedadora la que confiere al hongo unas características determinadas que posibilitan la producción de
15 determinados compuestos. Por este motivo, en la presente invención por hongo del género *Guignardia* sp. con capacidad para producir el compuesto de la invención se entiende cualquier cepa de un hongo del género *Guignardia* sp. que debido a su interacción con la planta hospedadora ha desarrollado las características necesarias para producir los compuestos de la invención. Preferentemente la cepa del hongo del
20 género *Guignardia* sp. pertenece a la especie *G. manguiferae*. Más preferentemente, la cepa del hongo de la especie *Guignardia manguiferae* es la cepa YCC4 de *G. manguiferae* aislada de hojas de *Persea indica* depositada en fecha 2 julio de 2014 en la Colección Española de Cultivos Tipo con CECT 20914, siguiendo el Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a
25 los fines del Procedimiento en materia de Patentes.

Ejemplos de medios de cultivo que permiten la fermentación de los hongos del género *Guignardia* sp. son PDB (*potato dextrose broth*); los medios citados en las referencias Molitor et al (2012. *J. Nat. Prod.* 75, 1265–1269) y Buckel et al (2013. *Phytochemistry*
30 89, 96–103); los que se citan en el documento W02002017937 A1 o cualquier otro medio de cultivo comercial para hongos fitopatógenos.

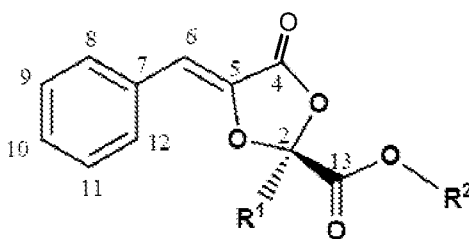
En una realización particular, la cepa YCC4 de *G. manguiferae* aislada de hojas de *Persea indica* depositada en la Colección Española de Cultivos Tipo con CECT 20914 en fecha 2 julio de 2014 se cultiva utilizando un medio líquido Czapek-Dox modificado.

- 5 Por “producto fermentado” se entiende un producto que es el resultado de la acción del hongo endófito sobre el medio de cultivo y que comprende al compuesto de la invención. El producto fermentado puede ser un extracto seco obtenido por extracción con solvente orgánico previa filtración, o un liofilizado.
- 10 Ejemplos de solventes orgánicos que se utilizan en el ámbito de la invención son diclorometano, eter etílico y, preferentemente, acetato de etilo.

En el ámbito de la presente invención, también se incluye el producto fermentado que se obtiene tras la etapa (a) del procedimiento de la invención que cuenta con actividad biocida y que comprende al compuesto de la invención, en adelante producto fermentado de la invención.

15

Adicionalmente, el producto fermentado de la invención comprende a un compuesto de fórmula general (II),



20

(II)

donde R1 se selecciona de entre metiletil y metilfenil y R2 se selecciona de entre CH₃, etilfenil y H,

25 o un isómero, una sal o un solvato del mismo.

En una realización particular, en el compuesto de fórmula general (II) R1 es metiletil y R2 es CH₃ y es la Guignardianona C.

En otra realización particular, en el compuesto de fórmula general (II) R1 es metilfenil y R2 es etilfenil y es la Guignardianona D.

En otra realización particular, en el compuesto de fórmula general (II) R1 es metilfenil y
5 R2 es CH₃ y es el metil éster del ácido penguignárdico.

En otra realización particular, en el compuesto de fórmula general (II) R1 es metiletil y R2 es H y es el ácido guignárdico.

10 Los compuestos de fórmula general (II) que se incluyen en el ámbito de esta invención comparten estructura y actividad biocida con el compuesto de la invención y además tienen el mismo origen.

El aislamiento de los compuestos que se incluyen en el ámbito de la invención
15 partiendo del producto fermentado se realiza por técnicas de fraccionamiento.

Técnicas de fraccionamiento conocidas por cualquier experto en el estado de la técnica, y que permiten obtener a los compuestos incluidos en el ámbito de la invención, son por ejemplo y sin limitarse, cromatografía líquida de vacío (VLC-1),
20 cromatografía en columna (CC), cromatografía en columna (CC) empleando diferentes fases sólidas (Gel de Sílice, Sephadex LH-20) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), eluyéndose con distintos gradientes de polaridad mediante diferentes combinaciones de disolventes orgánicos.

25 El producto fermentado de la invención es el producto crudo que se obtiene tras la etapa (a) del procedimiento de la invención, pero también cualquier fracción o subfracción sucesiva obtenida a partir de dicho producto y que se obtiene por las técnicas de fraccionamiento que se recogen en la descripción.

30 Por "actividad biocida" se entiende la capacidad de controlar al menos un fitopatógeno u organismo plaga que afecte a plantas a través de diferentes mecanismos de acción. Dicho control comprende la prevención de la acción o la destrucción directa de dichos organismos perjudiciales para la salud pública y también para la agricultura durante la producción, pero también se extiende al almacenamiento, transporte, distribución y
35 elaboración de productos agrícolas y sus derivados. Ejemplos de fitopatógenos y

organismos plaga que afectan a plantas y que se incluyen en la presente invención son aunque sin limitarse, nematodos, hongos e insectos plaga.

5 En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y preferentemente para el control de nematodos, del compuesto de la invención, o del compuesto de fórmula general (II), ya sea de forma aislada o en combinación, o del producto fermentado de la invención.

10 La actividad contra insectos plaga se puede determinar mediante diferentes tipos de bioensayos que incluyen actividad antialimentaria (inhibición de la alimentación y/o asentamiento en el caso de áfidos), repelente o tóxica, entre otras (ver ejemplo 5).

15 Los insectos contra los que es efectivo el compuesto de la invención, el producto fermentado de la invención y el compuesto de fórmula general (II) son principalmente insectos-plaga herbívoros con diferentes adaptaciones tróficas, ya sean masticadores o chupadores, y que pueden presentar una alta incidencia sobre cultivos hortícolas provocando graves pérdidas económicas, desarrollar resistencias a insecticidas de síntesis y presentar capacidad de transmisión de virus. Ejemplos, a título ilustrativo y no limitativo, de órdenes y especies de insectos-plaga herbívoros con diferentes adaptaciones tróficas, masticadores o chupadores son Lepidoptera, Homoptera y 20 *Spodoptera littoralis*, *Myzus persicae*, *Rhopalosiphum padi*, respectivamente.

En una realización particular, el compuesto de la invención y el producto fermentado de la invención comprenden una actividad bioinsecticida contra los insectos 25 *Spodoptera littoralis* y *Myzus persicae*, superior al 80%.

En otra realización particular, la guignardianona C y el ácido guignárdico comprenden una actividad bioinsecticida contra al menos un insecto seleccionado de entre *Spodoptera littoralis* y *Myzus persicae*, superior al 80%.

30

La actividad contra hongos se determina mediante ensayos de inhibición del crecimiento del micelio en placa. Ejemplos de hongos contra los que es efectivo el producto fermentado de la invención son *Fusarium* y *Botrytis*.

La actividad contra nematodos se relaciona con la toxicidad, es decir, capacidad para interrumpir una fase concreta del ciclo de vida del nematodo impidiendo su desarrollo. En el ámbito de la invención, la actividad nematicida se determina por ejemplo a través de la determinación del porcentaje de juveniles infectivos (J2) muertos tras 24, 48 y 72 horas posteriores a la aplicación del extracto (ver ejemplo 7), así como a través de la determinación de los efectos del tratamiento sobre la eclosión de los huevos tras 5 días de tratamiento de las masas de huevos y por la determinación de los efectos de concentraciones subletales sobre la capacidad de infección de los juveniles en las raíces de plántulas de tomate.

Los nematodos contra los que son efectivos el compuesto de la invención, el producto fermentado de la invención y el compuesto de fórmula general (II), preferentemente son nematodos formadores de nódulos de las raíces (*Meloidogyne* sp). Un ejemplo de nematodo formador de nódulos es la especie *Meloidogine javanica*, polífaga, con capacidad de parasitar más de 3.000 especies de plantas de cultivo, que incluyen cultivos extensivos, hortícolas y frutales, afectando gravemente la producción (Agrios. 2005. *Plant Pathology*, Fifth edition, Elsevier/Academic, Amsterdam), y causando pérdidas económicas anuales de miles de millones de euros (Singh et al. 2013. *OEPP/EPPO Bulletin* 43 (2), 334–374).

En otra realización particular, el compuesto de la invención o el producto fermentado de la invención comprenden una actividad nematicida preferentemente de hasta el 85%, más preferentemente de hasta el 95% y todavía más preferentemente de hasta el 100% cuando se utilizan en una concentración de 0.5 mg/ml y 1 mg/ml respectivamente a 24, 48 y 72 horas de tratamiento.

En otra realización particular, el producto fermentado de la invención comprende una actividad nematicida manifestada por la inhibición, preferentemente de un 98% de la eclosión de huevos después de 72 horas de tratamiento cuando se utiliza a la concentración de 1 mg/ml y la supresión preferentemente de un 60% de la capacidad infectiva cuando se utiliza a una concentración del 0,5 mg/ml.

En otra realización particular, la guignardianona D y el metil éster del ácido penguignárdico comprenden una actividad nematicida preferentemente de hasta el

90%, más preferentemente de hasta el 95% y todavía más preferentemente de hasta el 100% cuando se utiliza en una concentración de 0,5 mg/ml.

En otro aspecto, la invención se relaciona con una composición biocida que comprende al compuesto de fórmula (I), o al compuesto de fórmula general (II), ya sea de forma aislada o en combinación, o al producto fermentado, en adelante composición biocida de la invención.

La composición biocida de la invención adicionalmente puede comprender diversos vehículos y agentes que faciliten su conservación, manejo y aplicación.

Como el experto en el estado de la técnica conocerá en la aplicación de fitosanitarios, habitualmente se utilizan vehículos sólidos, vehículos líquidos, vehículos gaseosos, etc., y, si es necesario, agentes tensioactivos y agentes auxiliares para la formulación de composiciones fitosanitarias como, por ejemplo, un aditivo para formular formas tales como concentrados emulsionables, polvos humectables, líquidos fluibles, (v.g., suspensión en agua, emulsión en agua, etc.), polvos, aerosoles, ULV y similares.

Ejemplos de vehículo sólido que se incluyen en el ámbito del uso de la invención son polvos finos o gránulos de arcillas (v.g. arcilla de caolín, tierra de diatomeas, óxido de silicio hidratado sintético, bentonita, arcilla Fubasami, arcilla ácida, etc.), talcos, cerámicas y otros minerales inorgánicos (v.g., sericita, cuarzo, azufre, carbono activo, carbonato cálcico, sílice hidratada, etc.), fertilizantes comerciales (v.g., sulfato amónico, fosfato amónico, nitrato amónico, urea, cloruro amónico, etc.) y similares.

Ejemplos de vehículo líquido que se incluyen en el ámbito del uso de la invención son agua, alcoholes (v.g., metanol, etanol, etc.), cetonas (v.g., acetona, metil etil cetona, etc.), hidrocarburos aromáticos (v.g., benceno, tolueno, xileno, etilbenceno, metilnaftaleno, etc.), hidrocarburos alifáticos (v.g. hexano, ciclohexano, kerosina, gas oil, etc), ésteres (v.g., acetato de etilo, acetato de butilo, etc.), nitrilos (v.g. acetonitrilo, isobutironitrilo, etc.), éteres (v.g., éter diisopropílico, dioxano etc.), amidas de ácido (v.g. N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, etc.), hidrocarburos halogenados (v.g., dicloroetano, tricloroetano, tetracloruro de carbono, etc.), sulfóxido de dimetilo, aceites vegetales (v. g., aceite de soja, aceite de semilla de algodón, etc.) y similares.

Ejemplos de vehículo gaseoso que se incluyen en el ámbito del uso de la invención son agente de pulverizado, incluyendo gas flon, gas butano, LPG (gas de petróleo licuado), éter dimetílico, gas de dióxido de carbono y similares.

- 5 Ejemplos de agente tensioactivo que se incluyen en el ámbito del uso de la invención son sulfatos de alquilo, sales de sulfonato de alquilo, alquil aril sulfonatos, ésteres alquil arílicos, compuestos de polioxietileno de los mismos, ésteres polietilen glicólicos, ésteres de alcohol polihidroxílico, derivados de alcohol de azúcar y similares.
- 10 Ejemplos de agente auxiliar para la formulación como agente de fijación y agente de dispersión que se incluyen en el uso de la invención son caseína, gelatina, polisacáridos (v.g., polvo de almidón, goma arábica, derivado de celulosa, ácido algínico, etc.), derivados de lignina, bentonita, azúcares, polímeros hidrosolubles sintéticos (v.g., polialcohol vinílico, polipirrolidona de vinilo, poliácidos acrílicos, etc.) y
- 15 similares.

- Ejemplos de estabilizantes que se incluyen en el ámbito del uso de la invención son PAP (fosfato de ácido isopropílico), BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol), BHA (mezcla de 2-terc-butil-4-metoxifenol y 3-terc-butil-4-metoxifenol), aceites vegetales, aceites
- 20 minerales, agentes tensioactivos, ácidos grasos o ésteres de los mismos y similares.

- El compuesto de la invención, el compuesto de fórmula general (II), el producto fermentado de la invención y la composición biocida de la invención se pueden utilizar conjuntamente con al menos otro ingrediente activo adicional. Ejemplos de ingrediente
- 25 activo adicional son nematicidas, insecticidas, acaricidas, fungicidas, herbicidas, reguladores del crecimiento de la planta, sinérgicos, fertilizantes, acondicionadores del suelo y cebos para animales.

- En otro aspecto, la invención se relaciona con el uso de la composición biocida de la
- 30 invención para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y preferentemente para el control de nematodos.

- En otro aspecto, la invención se relaciona con un método de control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, y preferentemente para el control de
- 35 nematodos, que comprende administrar una dosis eficaz del compuesto de la

invención, o del compuesto de fórmula general (II), ya sea de forma aislada o en combinación, o del producto fermentado de la invención o de la composición biocida de la invención.

- 5 La aplicación puede ser directamente por rociado sobre el organismo plaga, o sobre el sustrato en el que se encuentren los fitopatógenos.

La “dosis eficaz” puede aumentar o disminuir opcionalmente según si se utiliza el compuesto de la invención, el compuesto de fórmula general (II), el producto
10 fermentado de la invención, o la composición biocida de la invención, del tipo de formulación, del tiempo, del lugar y del método de aplicación, del tipo de fitopatógeno u organismo plaga que afecta a la planta y del grado de daño.

A lo largo de la descripción y de las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus
15 variantes no pretenden excluir otras características técnicas. Para el experto en la materia, otros aspectos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Las siguientes figuras y ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

20

MODOS DE REALIZACION DE LA INVENCION

A) OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD BIOCIDA

25

Ejemplo 1. Aislamiento e identificación del hongo YCC4

El hongo endófito *G. manguiferae* fue aislado de hojas del árbol *Persea indica*, recolectadas en el Parque Rural de Anaga (Las Mercedes, Tenerife). Dicho hongo fue
30 depositado en la CECT en fecha 2 de julio de 2014 y con el número de acceso 20914 siguiendo el Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los fines del Procedimiento en materia de Patentes. El material vegetal fresco se esterilizó superficialmente con hipoclorito de sodio (65%), etanol (75%) y agua destilada estéril. Pequeñas muestras de explantos (hojas) se colocaron
35 en placas Petri con medio PDA y se incubaron a 27°C. El cultivo puro se obtuvo

aislando individualmente una colonia crecida en este medio y se replicó periódicamente para su mantenimiento. El hongo se identificó a nivel molecular en base a la amplificación (PCR) y secuenciación de la región ITS ribosomal del ADNr extraído de una muestra del micelio (Arenal et al. 2000. *Mycological Research* 104, 2000, 301–303). El hongo se identificó como *G. manguiferae* por comparación de la secuencia ITS1-5.8S-ITS2 del ADNr con las depositadas en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) (número de acceso GenBank gi255068992).

10 Ejemplo 2. Fermentación con el hongo YCC4

YCC4 se cultivó en medio PDA en placas Petri durante 15 días a una temperatura de 27° C. Se le añadió 10 ml de agua destilada estéril y la superficie del micelio se raspó suavemente con una espátula. Esta suspensión del micelio se vertió en un erlenmeyer (250ml) con 100 ml medio líquido Czapek-Dox-Levadura [Cz-L: NaNO₃ (2 g/l), KH₂PO₄ (5 g/l), MgSO₄ (0.5 g/l), FeSO₄ (0.01 g/l), ZnSO₄ (0.003 g/l), extracto de levadura (1 g/l) y glucosa (60 g/l)] y se cultivó a una temperatura de 25°C en continua agitación (120 r.p.m.) durante 4 días. Transcurrido este tiempo, 5 ml del cultivo se inocularon en cada uno de los 100 erlenmeyers (250ml) con 100 ml de medio fresco. Después de 20 días de fermentación en las mismas condiciones, el medio de cultivo se separó del micelio por filtración en un büchner y se extrajo con un volumen igual de acetato de etilo obteniendo el extracto crudo de la invención. Posteriormente, el disolvente se secó sobre SO₄Na₂ y se llevó a sequedad a vacío a presión reducida, obteniendo 10.5 g de extracto crudo seco. El micelio se congeló con nitrógeno líquido y se liofilizó para su conservación.

Ejemplo 3. Aislamiento de los compuestos con actividad biocida

El extracto crudo seco (10.5 g) obtenido según el ejemplo 2 se fraccionó mediante una cromatografía líquida de vacío (VLC) utilizando como eluyente mezclas crecientes en polaridad de n-hexano/acetato de etilo y acetato de etilo/metanol dando lugar a 9 fracciones. La fracción 1 (n-hexano/acetato de etilo 25%) fue cromatografiada en una columna flash de media presión empleando como sistema de elución n-hexano/acetato de etilo en orden de polaridad creciente. De las fracciones menos polares (n-hex/acet, 10%) se aislaron la guignardianona A (Buckel et al. 2013. *Phytochemistry* 89, 96–103)

(23.0 mg) y la guignardianona C (96.1 mg), empleando una cromatografía líquida de alta presión (HPLC) (n-hex/ AcOEt 3%). La fracción posterior obtenida con n-hex/AcOEt 15% fue cromatografiada en columna de media de presión de gel de sílice y, posteriormente, mediante HPLC (n-hex/ AcOEt 3%), y se obtuvo la guignardianona D (89 mg) y el metil éster del ácido penguignárdico (36.5 mg). De la fracción eluida en n-hex/acet 20%, después de una cromatografía en HPLC (n-hex/ AcOEt 15%) se obtuvo la guignardona A (Yuan et al. 2010. *Eur. J. Org. Chem.* 6348–6353) (78.3 mg). En la fracción más polar (n-hex/ AcOEt 50%) de la cromatografía de esta fracción 1 se aisló el ácido metguignárdico (204 mg).

10

La fracción 2 del extracto fue cromatografiada en una columna de media presión con gel de sílice con mezclas de polaridad creciente de n-hex/ AcOEt y AcOEt / MeOH y se aislaron de nuevo la guignardianona A (430 mg), la guignardona A (80 mg), que se habían obtenido anteriormente en la fracción 1 del extracto. En las fracciones eluidas con AcOEt 100% se aisló la guignardona B (Yuan et al. 2010. *Eur. J. Org. Chem.* 6348–6353) (13.6 mg) y de las más polares obtenidas con MeOH 100%, se obtuvieron los ácidos metguignárdico (30 mg) y guignárdico (117.8 mg), empleando una cromatografía en HPLC con n-Hex/ AcOEt /MeOH 30/64/6.

20 En la fracción 3 obtenida con n-hex/ AcOEt 50% después de sucesivas cromatografías en columna a media presión y/o HPLC se aislaron en orden de polaridad la guignardianona C (49 mg), el metil éster del ácido penguignárdico (2.4 mg), la guignardianona E (Buckel et al. 2013. *Phytochemistry* 89, 96–103) (1.5 mg), la guignarenona C (Sommart et al. 2012. *Phytochemistry Lett.* 5, 139-143) (8.8 mg) y la guignardona B (13.6 mg).

25

Del fraccionamiento cromatográfico de las fracciones más polares del extracto, 4, 5 y 6, se aislaron nuevamente la guignarenona C (5.8 mg), la guignardona B (5.6 mg), la guignarenona B (Sommart et al. 2012. *Phytochemistry Lett.* 5, 139-143) (2.2 mg) y el ácido 3,4 dihidroxibenzoico (34.3 mg).

30

Ejemplo 4. Caracterización de los compuestos con actividad biocida

Técnicas experimentales

35

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de los compuestos con actividad biocida se realizaron en espectrómetros Bruker Advance y AMX-500, a 400 y 500 MHz para el ^1H y a 100 y 125 MHz para el ^{13}C , respectivamente. Los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón y las constantes de acoplamiento (J) en Hertzios (Hz).

5 Como patrón interno de referencia se empleó el tetrametilsilano (TMS) y como disolvente se usó el deuterocloroformo (CDCl_3). Los experimentos de 2D con correlación homo y heteronuclear, COSY, HSQC, HMBC y NOESY, fueron realizados con programas de la firma Bruker. Los espectros de masas de alta y de baja resolución se registraron en un espectrómetro Micromass Autospec®, con introducción
10 directa de las muestras mediante una sonda de sólidos. La técnica empleada fue el impacto electrónico (IE) con un potencial de ionización de 70 eV y una temperatura de la fuente de 230 °C. Las señales se describen en unidades de relación masa/carga (m/z) y entre paréntesis se indica la intensidad relativa (int. rel.) de cada señal respecto al pico base (100%). Para cada compuesto se indican solamente los picos
15 estructuralmente más significativos y/o de mayor intensidad relativa. Las cromatografías se realizaron sobre gel de sílice (0.015-0.040 mm Ø, Merck) mediante una cromatografía líquida de vacío (VLC) o en columnas cromatográficas acopladas a una bomba de media presión (Fluid Metering Inc). La elución se realizó en gradientes de polaridad creciente, empleando como disolventes mezclas de n-hexano/acetato de
20 etilo (AcOEt) o diclorometano (CH_2Cl_2)/metanol (MeOH). Posteriores purificaciones de los compuestos se llevaron a cabo en un equipo de cromatografía líquida de alta presión (Beckman 125P®) acoplado a un detector fotodiodo, controlado por la aplicación informática Beckman 32-Karat. Las separaciones se llevaron a cabo en columnas de fase normal con un tamaño de partícula de 5 μ , sílica Inertsil de 20.0 x
25 250 mm (preparativa) o sílica Ultrasphere de 10.0 x 250 mm (semipreparativa), dependiendo del peso de la muestra a cromatografiar. El desarrollo de las cromatografías en columna se siguió por cromatografía en capa fina, visualizando las placas a la luz UV (254 y 360 nm) y calentando a 100-130 °C las placas pulverizadas con *oleum* (disolución de H_2SO_4 (4%) y ácido acético (80%) en agua destilada).

30

Guignardianona C

$[\alpha]_D^{25}$: -10.2 ° (c 0.25, CHCl_3). ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.68 (2 H, d, J= 7.1 Hz, H-8 y H-12), 7.41 (2 H, m, H-9 y H-11), 7.35 (1 H, m, H-10), 6.50 (1 H, s, H-6), 3.85 (3 H,

s, -OCH₃), 2.69 (1 H, sept, J= 6.9 Hz, H-1'), 1.07 (6 H, d, J= 6.9 Hz, H-2' y H-3'); EM a m/z : 276 [M⁺] (5), 118 (100), 90 (39), 71 (13); EMAR [M⁺] a m/z : 276.0999 calculado para C₁₅H₁₆O₅, 276.0998.

5 Guignardianona D

[α]_D: +40.3 ° (c 0.25, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.63 (2 H, d, J= 7.2 Hz, H-8 y H-12), 7.41 (2 H, m, H-9 y H-11), 7.35 (1 H, m, H-10); 7.24 (5 H, s ancho, H-3', H-4', H-5', H-6' y H-7'), 7.21 (1 H, m, H-6''), 7.19 (2 H, m, H-5'' y H-7''), 7.15 (2 H, m, H-4'' y H-8''), 6.30 (1 H, s, H-6), 4.45 (2 H, m, H-1''), 3.52 y 3.46 (1 H cada uno, d, J= 14.6 Hz, H-1'), 2.96 (2 H, t, J= 6.6 Hz, H-2''); EIMS a m/z : 414 [M⁺] (4), 265 (11), 118 (100), 105 (27), 91 (84); EMAR [M⁺] a m/z : 414.1465 calculado para C₂₆H₂₂O₅, 414.1467.

Metil éster del ácido penguignárdico

15

[α]_D: + 47.6 ° (c 0.14, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.63 (2 H, d, J= 7.2 Hz, H-8 y H-12), 7.40 (2 H, m, H-9 y H-11), 7.36 (1 H, m, H-10), 7.28 (2 H, m, H-3' y H-7'), 7.24 (3 H, m, H-4', H-5' y H-6'), 6.30 (1 H, s, H-6), 3.85 (3 H, s, -OCH₃), 3.58 (1 H, d, J= 14.8 Hz, H-1'b), 3.52 (1 H, d, J= 14.8 Hz, H-1'a); EIMS a m/z : 324 [M⁺] (2), 264 (2), 118 (100), 91 (29), 90 (17), 65 (3); EMAR [M⁺] a m/z : 324.0987 calculado para C₁₉H₁₆O₅, 324.0998.

Ácido metguignárdico

25 [α]_D: -54.7 ° (c 0.3, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.67 (2 H, dd, J= 7.1 y 1.5 Hz, H-8 y H-12), 7.40 (2 H, m, H-9 y H-11), 7.35 (1 H, m, H-10), 6.52 (1 H, s, H-6), 2.43 (1 H, dcd, J= 10.2, 6.9 y 3.3 Hz, H-1'), 1.66 y 1.29 (1 H cada uno, m, H-2'), 1.07 (3 H, d, J= 6.9 Hz, H-3'), 0.99 (3 H, t, J= 7.4 Hz, H-4'); EIMS a m/z : 276 [M⁺] (6), 118 (100), 90 (54), 85 (7), 63 (5), 57 (25); EMAR [M⁺] a m/z : 276.1001, calculado para C₁₅H₁₆O₅, 276.0998.

30

Acido guignárdico

- [α]_D: -26.7 ° (c 0.25, CHCl₃). ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.66 (2 H, d, J= 7.1 Hz, H-8 y H-12), 7.40 (2 H, m, H-9 y H-11), 7.35 (1 H, m, H-10), 6.53 (1 H, s, H-6), 2.68 (1 H, sept. J= 6.9 Hz, H-1'), 1.09 y 1.08 (3 H cada uno, d, J = 6.9, H-2' y H-3'); EIMS a *m/z*: 262 [M⁺] (5), 118 (100), 90 (38), 71 (9); EMAR [M⁺] a *m/z*: 262.0853 calculado para C₁₄H₁₄O₅, 262.0841.

Tabla 1. RMN de ¹³C de los compuestos con actividad biocida

	Guignardianona C	Guignardianona D	Metil éster del ácido penguignárdi co	Ácido metguignárdico	Acido guignárdico
2	108.5	105.2	105.2	108.3	109.6
4	162.8	162.3	162.3	162.7	163.4
5	135.8	135.2	135.2	135.3	135.9
6	109.6	109.5	109.6	110.1	109.4
7	132.3	132.2	132.2	132.1	132.2
8/12	129.9	129.8	129.8	129.9	129.8
9/11	128.8	128.8	128.7	128.8	128.7
10	129.1	129.0	129.0	129.2	129.0
13	166.0	165.1	165.8	169.5	169.4
1'	33.0	40.6	40.8	39.3	33.0
2'	14.5	130.6	130.5	11.0	14.4
3'	15.2	131.0	131.0	22.4	15.2
4'		128.5	128.4	11.5	
5'		127.8	127.8		
6'		128.5	128.4		
7'		131.0	131.0		
1''		67.3			
2''		34.7			
3''		136.8			
4''/8''		128.7			
5''/7''		128.4			
6''		126.7			
-(CO)OCH ₃	53.3		53.6		

B) ACTIVIDAD BIOCIDA

Ejemplo 5. Actividad antialimentaria contra insectos-plaga

- La cría y mantenimiento de los insectos se llevó a cabo en una cámara de temperatura controlada a 24±1°C, 60-70% de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 horas (luz:oscuridad). Las larvas de *S. littoralis* se mantuvieron con una dieta semisintética (Poitut y Bues . 1970. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* 2, 79-91) y los áfidos sobre sus plantas huésped, pimiento (*Capsicum annum* L.) para *M. persicae*.
- Los ensayos de actividad alimentaria se realizaron con larvas recién emergidas de sexto estadio de *S. littoralis* y pulgones adultos ápteros. La superficie superior de discos de hoja (1,0 cm²) de pimiento (*Capsicum annum* L.), fueron tratados con 10 µl de la muestra. Cada ensayo consistió en 5 placas *Petri* con dos larvas por placa (*S. littoralis*) o veinte cajas (2x2 cm) con diez áfidos de *M. persicae* incubados en una cámara de crecimiento en las mismas condiciones descritas para la cría de los insectos. Una vez consumido el 75% de la superficie de los discos control (*S. littoralis*) o después de 24 h (áfidos) se calculó el índice de consumo (%FI) o de asentamiento (% de SI), respectivamente. % FI = [1 - (T / C) x 100], donde T y C son el consumo de discos de hojas tratadas y control; % de SI = [1 - (% T / C %)], donde % C y % T son el porcentaje de áfidos asentados en los discos de hojas control y tratadas (Burgueño et al. 2008. *J. Chem. Ecol.* 34, 766-771). Los compuestos con un FI / SI > 70 % se ensayaron en un experimento de dosis - respuesta para calcular su potencia relativa (EC₅₀, es la dosis efectiva para una reducción de un 50 % de la alimentación).
- Tabla 2. Actividad antialimentaria de los compuestos con actividad biocida y del extracto crudo seco contra insectos-plaga, aplicados en una concentración de 50 µg/cm²

	mg/l cultivo	µg/cm ²	<i>S.littoralis</i> %FI ^a ± SE (n=6)	<i>M. persicae</i> %SI ^b ± SE (n=20)
Extracto	1g/l	100	81.79 ± 5.06	78.15 ± 6.45
		50		70.14 ± 8.69
		20	50.52 ± 15.05	41.17±6.99
		4	41.35 ± 5.46	33.41±7.17

		EC ₅₀	9.77 (4.13-23.16)	17.2 (0.85-26.5)
Guignardianona C	15.5	50	50.32 ± 17.92	82.87 ± 3.69
		10		62.22 ± 6.14
		2		54.48 ± 8.63
		0.4		30.76 ± 7.80
		EC ₅₀		1.74 (0.88-3.42)
Guignardianona D	9.8	50	28.26 ± 14.11	50.70 ± 7.68
Metil éster del ácido penguignárdico	4.3	50	20.03 ± 8.82	64.47 ± 7.87
Ácido metguignárdico	23.1	50	94.48 ± 1.94	86.59 ± 3.52
		25		57.78 ± 9.81
		10	84.53 ± 6.70	34.33 ± 7.58
		5	31.0 ± 8.8	
		2	10.59 ± 6.71	29.70 ± 7.59
		EC ₅₀	7.53 (5.43-10.44)	11.45 (8.29-15.83)
Acido guignárdico	11.8	50	84.42 ± 4.93	82.02 ± 5.06
		25	62.55 ± 7.69	73.05 ± 6.76
		12.5	51.72 ± 9.49	62.06 ± 8.75
		2	26.96 ± 12.74	46.89 ± 9.29
		EC ₅₀	9.65 (5.31-17.53)	2.87 (1.02-7.87)

^a %FI Porcentaje de inhibición de la alimentación

^b % SI Porcentaje de inhibición de asentamiento

EC₅₀, dosis efectiva para producir un 50% de inhibición de la alimentación/asentamiento

5

Ejemplo 6. Actividad antifúngica

Los hongos fitopatógenos *Fusarium moniliforme* (Sheldon) [CECT2152], *F. oxysporum* *fs.lycopersici* (Escalda) [CECT2715] y *F. solani* (Mart) [CECT2199] proceden de la Colección Española de Cultivos Tipo (CET). La cepa de *Botrytis cinerea* Pers.:Fr.

10

(B05.10) es una donación del Departamento de Bioquímica de la Universidad de La Laguna (ULL). Para su mantenimiento las cepas se cultivaron en medio sólido comercial PDA a 25°C (*Fusarium*) o temperatura ambiente (*Botrytis*), y posterior conservación a -30°C en viales con glicerol al 18%.

5

Para determinar la actividad antifúngica se empleó el método de dilución en agar (Murabayashi et al. 1991. *J. Pesticide Sci.* 16, 419-427). Muestras del extracto crudo seco obtenido según el ejemplo 2 se incorporaron en el medio de cultivo (5 ml) a 5 concentraciones diferentes (1, 0,5, 0,1, 0,05 y 0,01 mg/ml). De forma paralela, se prepararon controles con etanol a una concentración del 2 %. La siembra de los organismos diana se realizó por picadura (*Fusarium*) o con discos de 5 mm de diámetro (*B. cinerea*). Las colonias cultivadas en placas de Petri e incubadas durante 48 h fueron digitalizadas y se midieron empleando el programa ImageJ 1.43.

10

El porcentaje de inhibición (% I) se calculó como: $\% I = (C-T/C) \times 100$, donde C es el diámetro de las colonias del control y T de las colonias de las muestras ensayadas. La dosis efectiva de inhibición de crecimiento (EC₅₀) se determinó por análisis de regresión lineal (% de inhibición del log de la dosis).

20 Tabla 3. Actividad fungicida del extracto crudo seco

	<i>F.oxysporum</i>	<i>F.moniliforme</i>	<i>F.solani</i>	<i>B. cinerea</i>
1 mg/ml	65.14 ± 2.86	56.37 ± 5.44	74.01 ± 7.92	51.58 ± 2.76
EC ₅₀ mg/ml	0.67 (0.37 - 0.97)	0.79 (0.47 - 1.11)	0.63 (0.32 - 0.94)	0.86 (0.18 - 1.52)

El extracto crudo seco obtenido según el ejemplo 2 mostró tener una moderada actividad antifúngica frente a *F.solani* y *F. oxysporum* y *B. cinerea*.

25

Ejemplo 7. Actividad nematocida

7 A. In vitro

La población de nematodos (*Meloidogyne javanica*) se mantuvo en cámaras de crecimiento sobre plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* (var. Marmande) a 25 °C y una humedad relativa del 70%. Los ensayos se realizaron según la metodología descrita para *M. javanica* (Andres et al. 2012. *Phytochem. Rev.* 11, 371-390) utilizando la fase biológica de juveniles infectivos (J2). La actividad del extracto crudo seco obtenido según el ejemplo 2 y de los compuestos con actividad biocida se cuantificó a una concentración final por pocillo de 1.0/ 0.5 mg/ml, respectivamente. Cada tratamiento se repitió cuatro veces y la actividad nematocida se determinó a partir del porcentaje de juveniles infectivos muertos después de 72h. En los casos en los que se determinó una tasa de mortalidad > 99% se realizaron experimentos de dosis-respuesta para determinar LC₅₀ y LC₉₀ (Tabla 4).

Tabla 4. Actividad nematocida de los compuestos con actividad biocida y del extracto crudo seco

	Mortalidad de juveniles infectivos de <i>M. javanica</i> (%)				
	24 h	48 h	72 h	LC ₅₀ mg/mL ^b (95% CL ^c)	LC ₉₀ mg/mL ^b (95% CL ^c)
Extracto	95.96 ± 2.15	97.54 ± 0.54	100.0 ± 0.0	0,440 (0,415-0,467)	0,953 (0,901-1,013)
Guignardianona D	94.23 ± 3.59	100 ± 0.00	100.0 ± 0.0	0,112 (0,107-0,116))	0,194 (0,185-0,204)
Metil éster del ácido penguignárdico	40.98 ± 2.54	97.13 ± 0.51	100.0 ± 0.0	0,230 (0,220-0,241)	0,432 (0,412-0,455)
Ácido metguignárdico	86.68 ± 0.95	88.30 ± 2.51	100.0 ± 0.0	0,240 (0,229-0,251)	0,406 (0,389-0,426)
Acido guignárdico			60.98±3.42		

La actividad del extracto crudo seco obtenido según el ejemplo 2 sobre la eclosión de los huevos se cuantificó a una concentración final por pocillo de 1.0mg/ml. El

tratamiento se repitió cuatro veces y la actividad de supresión de la eclosión se determinó a partir del porcentaje de juveniles eclosionados de las masas de huevos en dos tiempos: inmediatamente después de 5 días de tratamiento y a los 28 días posteriores en inmersión en agua (Tabla 5). La actividad del extracto crudo seco
 5 obtenido según el ejemplo 2 sobre la capacidad de infección de los juveniles se cuantificó a una concentración final por pocillo de 0,5 mg/ml y la actividad de inhibición de la capacidad infectiva se determinó a partir del porcentaje de juveniles tratados durante 72 h que han penetrado en las raíces de plántulas de tomate (Tabla 5).

- 10 Tabla 5. Actividad extracto crudo seco sobre la eclosión de huevos de *M. javanica* después de 5 días de tratamiento y sobre la capacidad infectiva de juveniles (J2) de *M. javanica* en raíces de plántulas de tomate

15

Concentración	<i>M. javanica</i>	
	Inhibición de la eclosión de huevos (%)	Supresión de la capacidad infectiva de J2 (%)
1 mg/ml	98	60
0.5 µm/µl		

20

7 B. *In vivo*

- La actividad del extracto crudo seco obtenido según el ejemplo 2 sobre el inóculo (Pi)
 25 de *M. javanica* se determinó en un ensayo experimental *in vivo* en macetas con plantas de tomate en cámaras de crecimiento vegetal (temperatura: 25°C y fotoperiodo D : N 16:8). El extracto crudo seco se cuantificó a una concentración final de 0,42 mg/ml que constituyó el tratamiento aplicado al sustrato arcillo-arenoso de 10 macetas de 1Kg de capacidad previamente inoculadas con una población inicial (Pi) de 2000
 30 huevos J2 de *M. javanica* y a las que se transplantaron plántulas de tomate var. Marmande de un mes de edad. Como control se consideraron otras 10 macetas, de iguales características a las descritas, pero tratadas con agua destilada. La efectividad del tratamiento se analizó al cabo de dos meses mediante la cuantificación y comparación de una serie de parámetros poblacionales del nematodo: nº de masas de

huevos y nº de huevos (Población final, Pf) recuperados de los sistemas radicales de las plantas, así como a partir de la variación significativa de la tasa de reproducción (Pf/Pi) de la población de *M. javanica* en las macetas con el tratamiento respecto a las del control.

5

Tabla 6. Actividad del extracto crudo seco en macetas con plantas de tomate, sobre una población inicial (Pi) de 2000 huevos/ J2 de *M. javanica*. Valores en la misma columna seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes de acuerdo al

10 Test LSD de Fisher ($P < 0,05$)

	Número de masas de huevos/planta	Pf (Número de huevos/planta) x 1000	Pf/Pi
Control	216.6 ± 30.1 ^a	83.2 ± 5.5 ^a	41.2 ^a
0.42 mg/ml	142.2 ± 22.5 ^b	33.5 ± 5.7 ^b	16.6 ^b

Se observa que la aplicación del tratamiento produce una reducción significativa de las masas de huevos así como del número de huevos obtenidos al final del ciclo vital del nematodo y que tiene como consecuencia una reducción significativa de la tasa de reproducción de la población de *M. javanica*.

15

Ejemplo 8. Actividad fitotóxica

La actividad fitotóxica del extracto crudo seco obtenido según el ejemplo 2 fue evaluado frente a semillas de *Lactuca sativa* Teresa (Fito, España), *Lolium perenne* y *Lycopersicon esculentum*. Los experimentos se realizaron en placas de 12 pocillos (Falcon), aplicando 20 µl (10 µg/µl) sobre discos de papel de 2,5 cm de diámetro colocados en el fondo de cada pocillo. Se le añadió 500 µl de agua destilada, 10/5 semillas, y las placas se incubaron en una cámara de crecimiento a 25 °C, 70% humedad relativa y un fotoperiodo 16:08 L: O. La germinación de las semillas se contabilizó durante seis días y la elongación de las raíces al final del experimento. Los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA). Como control positivo de la inhibición de la germinación se empleó la juglona (5 µg/µl).

30

No se observaron efectos significativos en la germinación de *L. perenne*, *L. sativa* y *L. esculentum*, aunque presenta una ligera inhibición de la germinación de la monocotiledónea *L. perenne* y reduce su crecimiento sin afectar a las dicotiledóneas *L. sativa* y *L. esculentum* (Tabla 7).

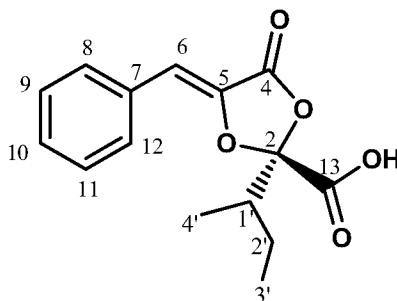
5

Tabla 7. Actividad fitotóxica del extracto crudo seco

<i>Lolium perenne</i>			<i>Latua sativa</i>		<i>Lycopersicon esculentum</i>	
Germinación	Hoja	Raíz	Germinación	Raíz	Germinación	Raíz
85.7±21.4	65.8±7.8	74.4±7.1	100.0±0.0	155.6±22.9	96.7±11.8	107.7± 13.1

REIVINDICACIONES

1.- Compuesto de fórmula (I):



(I)

o un isómero, o una sal o un solvato del mismo.

2.- Procedimiento de obtención del compuesto según la reivindicación 1, caracterizado por que comprende las siguientes etapas:

a) cultivar micelio de un hongo del género *Guignardia* sp. en un medio de cultivo hasta conseguir un producto fermentado y

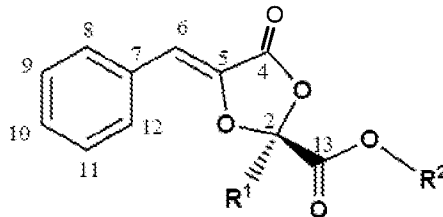
b) aislar al compuesto de fórmula (I) a partir del producto fermentado de la etapa anterior.

3.- Procedimiento según la reivindicación 2, caracterizado por que el hongo que se utiliza en la etapa (a) es un hongo de la especie *G. mangiferae*.

4.- Procedimiento según la reivindicación 3, caracterizado por que el hongo de la especie *G. mangiferae* es la cepa YCC4, aislada de hojas de *Persea indica* y depositada en la CECT con número de acceso 20914 en fecha 2 de julio de 2014.

5.- Producto fermentado que se obtiene tras la etapa (a) del procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, caracterizado por que comprende al compuesto según la reivindicación 1.

6.- Producto fermentado según la reivindicación 5, caracterizado por que adicionalmente comprende a un compuesto de fórmula general (II):



5 (II)

donde R1 se selecciona de entre metiletil y metilfenil y R2 se selecciona de entre CH₃, etilfenil y H, o un isómero, una sal o un solvato del mismo.

10

7.- Producto fermentado según una cualquiera de las reivindicaciones 5 y 6, caracterizado por que comprende actividad biocida.

15

8.- Producto fermentado según la reivindicación 7, caracterizado por que la actividad biocida es actividad nematocida.

20

9.- Uso del compuesto según la reivindicación 1, o de un compuesto de fórmula general (II) según se describe en la reivindicación 6, ya sea de forma aislada o en combinación, o del producto fermentado según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas.

10.- Uso según la reivindicación 9 para el control de nematodos.

25

11.- Composición biocida que comprende al compuesto según la reivindicación 1, o a un compuesto de fórmula general (II) según se define en la reivindicación 6, ya sea de forma aislada o en combinación, o al producto fermentado según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8.

12.- Uso de la composición biocida según la reivindicación 11 para el control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas.

13.- Uso según la reivindicación 12 para el control de nematodos.

5

14.- Método de control de fitopatógenos y organismos plaga que afectan a plantas, que comprende administrar una dosis eficaz del compuesto según la reivindicación 1, o de un compuesto de fórmula general (II) tal y como se describe en la reivindicación 6, ya sea de forma aislada o en combinación, o del producto fermentado según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, o de la composición biocida según la reivindicación 10.

10

15.- Método de control según la reivindicación 14 para el control de nematodos.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2015/070641

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01N, C07D, C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, NPL, XPESP, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 0217937 A1 (FUNDACAO OSWALDO CRUZ) 07/03/2002. The whole document.	1-15
A	ANDERNACH, LARS and col. Assignment of Configuration in a Series of Dioxolanone-Type Secondary Metabolites from <i>Guignardia bidwellii</i> - A Comparison of VCD and ECD Spectroscopy. European Journal of Organic Chemistry, 2013, Vol. 26, pages 5946-5951, ISSN: 1099-0690, DOI: 10.1002/ejoc.201300530. The whole document.	1-15
A	BUCKEL IRIS et al. Phytotoxic dioxolanone-type secondary metabolites from <i>Guignardia bidwellii</i> . Phytochemistry (Amsterdam) May 2013. Vol. 89, pages 96-103, ISSN 0031-9422. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.01.004. The whole document.	1-15

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28/12/2015

Date of mailing of the international search report
(29/12/2015)

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer
E. Albarrán Gómez

Telephone No. 91 3493038

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2015/070641

C (continuation).		DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
Category *	Citation of documents, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GUIMARAES DENISE O et al. Meroterpenes isolated from the endophytic fungus <i>Guignardia mangiferae</i>. <i>Phytochemistry Letters</i>, Sep 2012. Vol. 5, N° 3, pages 519-523, ISSN 1874-3900. DOI: 10.1016/j.phytol.2012.05.004. Page 520, figure 1.	1-15
A	KUMAR SUSHEEL et al. Endophytic Fungi Isolated from Oil-Seed Crop <i>Jatropha curcas</i> Produces Oil and Exhibit Antifungal Activity. <i>PLoS One</i>. Feb 8 2013, Vol. 8, N° 2, pages 1-8, Article N°. e56202, ISSN 1932-6203. DOI: 10.1371/journal.pone.0056202. Page 2, table 1; page 3, column 2, primer paragraph.	1-15
A	WANG F –W. Bioactive metabolites from <i>Guignardia</i> sp., an endophytic fungus residing in <i>Undaria pinnatifida</i>. <i>Chinese Journal of Natural Medicines</i> 2012. Vol. 10, N° 1, pages 72 – 76, ISSN 1875-5364 (electronic) DOI: 10.1016/S1875-5364(12)60016-8 . Page 75, figure 1; page 74, tables 1 and 2.	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2015/070641

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO0217937 A1	07.03.2002	US2002048589 A1	25.04.2002
		US6544524 B2	08.04.2003
		US2003165532 A1	04.09.2003
		ITMI20011837 A1	01.03.2002
		BR0003972 A	16.04.2002
		BR0003971 A	16.04.2002
		AU8161301 A	13.03.2002
		AT290875T T	15.04.2005
		EP1318824 A1	18.06.2003
		EP1318824 B1	16.03.2005
-----	-----	-----	-----

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2015/070641

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01N63/04 (2006.01)

A01N43/28 (2006.01)

C07D317/34 (2006.01)

C12P17/04 (2006.01)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº
PCT/ES2015/070641

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD Ver Hoja Adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
A01N, C07D, C12P

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, NPL, XPESP, REGISTRY, HCAPLUS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº
A	WO 0217937 A1 (FUNDACAO OSWALDO CRUZ) 07/03/2002, Todo el documento.	1-15
A	ANDERNACH, LARS y col. Assignment of Configuration in a Series of Dioxolanone-Type Secondary Metabolites from <i>Guignardia bidwellii</i> - A Comparison of VCD and ECD Spectroscopy. European Journal of Organic Chemistry, 2013, Vol. 26, páginas 5946-5951, ISSN: 1099-0690. DOI: 10.1002/ejoc.201300530. Todo el documento.	1-15
A	BUCKEL IRIS et al. Phytotoxic dioxolanone-type secondary metabolites from <i>Guignardia bidwellii</i> . Phytochemistry (Amsterdam) MAY 2013, Vol. 89, páginas 96-103, ISSN 0031-9422. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.01.004. Todo el documento.	1-15

☒ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
28/12/2015

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
29 de diciembre de 2015 (29/12/2015)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
E. Albarrán Gómez
Nº de teléfono 91 3493038

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/ES2015/070641

C (Continuación).		DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES
Categoría *	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
A	GUIMARAES DENISE O et al. Meroterpenes isolated from the endophytic fungus <i>Guignardia mangiferae</i>. Phytochemistry Letters. Sep 2012, Vol. 5, N° 3, páginas 519-523, ISSN 1874-3900. DOI: 10.1016/j.phytol.2012.05.004. Página 520, figura 1.	1-15
A	KUMAR SUSHEEL et al. Endophytic Fungi Isolated from Oil-Seed Crop <i>Jatropha curcas</i> Produces Oil and Exhibit Antifungal Activity. PLoS One. Feb 8 2013 Vol. 8 N° 2, páginas: 1-8, Article N°: e56202, ISSN 1932-6203 DOI: 10.1371/journal.pone.0056202. Página 2, tabla 1; página 3, columna 2, primer párrafo.	1-15
A	WANG F –W. Bioactive metabolites from <i>Guignardia</i> sp., an endophytic fungus residing in <i>Undaria pinnatifida</i>. Chinese Journal of Natural Medicines 2012. Vol. 10, N°1, páginas 72 – 76, ISSN 1875-5364 (electronic). DOI: 10.1016/S1875-5364(12)60016-8 . Página 75, figura 1; página 74, tablas 1 y 2.	1-15

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional nº

PCT/ES2015/070641

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO0217937 A1	07.03.2002	US2002048589 A1	25.04.2002
		US6544524 B2	08.04.2003
		US2003165532 A1	04.09.2003
		ITMI20011837 A1	01.03.2002
		BR0003972 A	16.04.2002
		BR0003971 A	16.04.2002
		AU8161301 A	13.03.2002
		AT290875T T	15.04.2005
		EP1318824 A1	18.06.2003
		EP1318824 B1	16.03.2005
-----	-----	-----	-----

CLASIFICACIONES DE INVENCION

A01N63/04 (2006.01)

A01N43/28 (2006.01)

C07D317/34 (2006.01)

C12P17/04 (2006.01)