



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 289 951**

⑫ Número de solicitud: 200602033

⑬ Int. Cl.:
C07D 265/36 (2006.01)
A01N 43/84 (2006.01)

⑭

PATENTE DE INVENCION

B1

⑮ Fecha de presentación: **28.07.2006**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **01.02.2008**

Fecha de la concesión: **26.09.2008**

⑰ Fecha de anuncio de la concesión: **16.12.2008**

⑱ Fecha de publicación del folleto de la patente:
16.12.2008

⑲ Titular/es: **Universidad de Cádiz**
OTRI-Universidad de Cádiz
c/ Ancha, 16
11001 Cadiz, ES

⑳ Inventor/es:
Macías Domínguez, Francisco Antonio;
González Molinillo, José María;
Marín Mateos, David;
Varela Montolla, Rosa María;
Chinchilla Salcedo, Nuria y
Siqueira, Joao Máximo de

㉑ Agente: **No consta**

㉒ Título: **Derivados halogenados de benzoxacinonas, con actividad fitotóxica.**

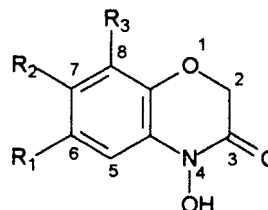
㉓ Resumen:

Derivados halogenados de benzoxacinonas, con actividad fitotóxica.

La invención tiene como propósito proporcionar nuevos productos fitosanitarios adecuados para el control de malas hierbas en agricultura, basados en sustancias químicas naturales.

La invención comprende nueve compuestos químicos con altos niveles de actividad fitotóxica, con sus métodos de preparación. Estas sustancias derivan de los productos naturales con esqueleto de 1,4-benzoxacin-3-ona, implicado diversas interacciones de defensa química en plantas.

Los compuestos objeto de la invención poseen niveles de actividad fitotóxica adecuados para su empleo en el control de malas hierbas y como modelos estables de desarrollo de nuevos productos fitosanitarios basados en el esqueleto de 1,4-benzoxacin-3-ona.



ES 2 289 951 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Derivados halogenados de benzoxacinonas, con actividad fitotóxica.

5 Dominio de la técnica

La invención pertenece al campo de los compuestos químicos aplicables al control de plagas en agricultura.

Estado anterior de la técnica

10

La existencia de una gran variedad de plagas en agricultura (malas hierbas, plantas parásitas, insectos, hongos, bacterias) afecta al rendimiento y a la calidad de los cultivos agrícolas.

15

Actualmente se dispone de una gran cantidad y variedad de plaguicidas químicos cuya utilización plantea problemas relacionados con la falta de selectividad sobre las distintas plagas, la aparición de variedades de plagas resistentes y la contaminación medioambiental.

20

Los agentes aleloquímicos y sus análogos sintéticos constituyen una interesante alternativa a los plaguicidas químicos tradicionales, ya que presentan nuevos modos de acción, poseen una interacción más específica con las plagas y causan un menor daño al medio ambiente. Desde este punto de vista, los agentes aleloquímicos y sus análogos con actividad fitotóxica reúnen las cualidades necesarias para adaptarse a los nuevos requerimientos sobre el control de plagas, relacionados con el desarrollo de modelos de agricultura sostenible (ver, por ejemplo: Duke, S. O.; Romagni, J. G.; Dayan, F. E. *Crop Protection* **2000**, 19, 583-589).

25

Es por ello que la obtención de nuevas sustancias químicas destinadas al control racional de plagas en agricultura presenta un gran interés.

30

No existen precedentes en lo referente a la síntesis o a la evaluación de la actividad biológica de los compuestos 6-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (I), 8-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (II), 7,8-difluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (III) y 6-trifluorometil-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (IV) (Figura 2). El compuesto 7-Fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (V) (Figura 2) ha sido previamente sintetizado (ver, por ejemplo, Geng, X.; Li, K.; Xu, F. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2004**, 64, 493-496) y su actividad antimicrobiana (*C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus*) y antialgal (*C. Xantella*) evaluada (ver Bravo, H. R.; Lazo, W. J. *Agric. Food Chem.* **1996**, 44, 1569-1571 y Bravo, H. R.; Lazo, W. *Phytochemistry* **1993**, 33, 569-71). Los valores de actividad obtenidos para estos compuestos fueron moderados o bajos dependiendo del organismo ensayado.

40

El compuesto 6-cloro-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VI) a llegado a ser obtenido sintéticamente, sin que se describiera ninguna de sus actividades biológicas (ver Hashimoto, Y.; Ishizaki, T.; Shudo, K.; Okamoto, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1983** 31, 3891-3896). Su isómero 8-cloro-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VII) ha sido previamente obtenido de manera sintética, y evaluado mediante bioensayos de actividad antifúngica para uso farmacéutico (Patente N° JP63185970) y antimicrobiana (ver, por ejemplo Ozden, S.; Ozturk, A. M.; Goker, H.; Altanlar, N. *II Farmaco* **2000**, 55, 715-718). El derivado 6,8-dicloro-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VIII) ha sido sintetizado en estudios previos sobre la química de reguladores de plantas (ver Cavill, G. W. K.; Ford, D. L. *J. Chem. Soc. Abstracts* **1954**, 565-568) y ha sido descrito como fungicida (ver patente N° DE1161080). El compuesto IX figura en una patente como intermedio de síntesis de compuestos de interés farmacológico, activos como inhibidores PI3K (ver patente N° WO2004052373), no formando parte de ninguna de las reivindicaciones de la misma. Ninguno de estos compuestos ha sido propuesto como candidato para el desarrollo de nuevas moléculas aplicables al control de malas hierbas en agricultura.

50 Explicación de la invención

55

La invención comprende los compuestos de fórmula general I (Figura 1) cuya estructura molecular se define como un esqueleto base de 4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona, en el que R₁ sea un átomo de flúor o un grupo trifluorometilo, si R₂ y R₃ son átomos de hidrógeno; R₁ sea un átomo de cloro, si son R₂ un átomo de hidrógeno y R₃ un átomo de hidrógeno o cloro; R₁ sea un átomo de bromo, si R₂ y R₃ son átomos de hidrógeno; R₂ sea un átomo de flúor, si R₁ es un átomo de hidrógeno y R₃ es un átomo de hidrógeno o flúor; o R₃ sea un átomo de flúor o cloro si R₁ y R₂ son átomos de hidrógeno. Los compuestos químicos objeto de la invención son los que satisfacen la fórmula general I en los términos en los que se describe: 6-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (II), 8-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (HI), 7,8-difluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (IV), 6-trifluorometil-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (V), 7-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VI), 6-cloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VII), 8-cloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VIII), 6,8-dicloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (IX) y 6-bromo-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (X) (Figura 2).

65

Estos compuestos constituyen modelos de desarrollo de nuevos fitosanitarios basados en el esqueleto de 1,4-benzoxazin-3-ona, implicado en diversas interacciones ecológicas de defensa química en plantas (ver, por ejemplo: Niemeier, H.; *Phytochemistry* **1988**, 11, 3349-3358) y que presentan como característica fundamental la presencia de uno o varios átomos de flúor o cloro en el anillo aromático o en sus sustituyentes, la ausencia de grupos funcionales oxigenados en la posición C-2, y la presencia de un grupo hidroxilo unido al átomo de nitrógeno de la posición 4 (Figura 1).

Breve descripción de las figuras

Al texto de la presente memoria se acompañan varias figuras que describen los compuestos a los que se hace referencia y las transformaciones químicas en las que están implicados.

Figura 1: Fórmula general de los compuestos que se reivindican.

Figura 2.- Fórmulas específicas de los compuestos que se reivindican.

II.- 6-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

III.- 8-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

IV.- 7,8-difluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

V.- 6-trifluorometil-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

VI.- 7-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

VII.- 6-cloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

VIII.- 8-cloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

IX.- 6,8-dicloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

X.- 6-bromo-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona

Figura 3.- Esquema del método de síntesis para los compuestos II a X. a) THE, KOH/EtOH, BrCH₂COOEt, 25°C, 12 h. b) H₂O/dioxano 1:1, NaBH₄, Pd/C.

Figura 4.- Actividad fitotóxica de los compuestos II y VII. Los datos de actividad biológica aportados se presentan en forma de gráfico de barras, en los que el valor cero representa el control, valores positivos estimulación y valores negativos inhibición de los parámetros medidos correspondientes. A dicho gráfico se acompaña una tabla que recoge los valores de IC₅₀ y sus correspondientes coeficientes de determinación obtenidos mediante un ajuste de los datos de actividad aun modelo de relaciones dosis-respuesta sigmoideal de pendiente constante. Estos datos representan la concentración de los compuestos que causa un 50% del efecto fitotóxico observado, constituyendo un parámetro de uso común en la discusión de las actividades biológicas de los productos químicos en general.

Modo de realización de la invención. Ejemplos de preparación y actividad

Método general de preparación de los compuestos objeto de la invención: Los compuestos objeto de la invención se preparan en dos etapas (Figura 3). La primera de ellas consta de una reacción de sustitución nucleofílica sobre un 2-nitrofenol con el patrón de sustitución adecuado en el anillo aromático (A) con bromoacetato de etilo en medio básico, que da lugar a un compuesto precursor de cadena abierta (B). Este compuesto se transforma en el producto objeto de la invención correspondiente (Fórmula general I, Figura 1) mediante una reacción de ciclación reductiva con borohidruro de sodio en presencia de paladio soportado sobre carbón activo al 10%, en una disolución de 1,4-dioxano en agua al 50%.

Los protocolos genéricos de cada una de las etapas son los siguientes:

Método general para la preparación de compuestos con estructura tipo B (Figura 3): El compuesto con estructura de tipo A se disuelve en tetrahidrofurano seco (50 mg/mL) en atmósfera inerte. A continuación se añade un equivalente de hidróxido potásico 0.1 N en etanol absoluto. Tras 30 minutos de reacción y por destilación a presión reducida se obtiene el alcóxido potásico correspondiente, al que se añade N,N-dimetilformamida seca hasta su completa disolución. Posteriormente se añaden 1,2 equivalentes de bromoacetato de etilo en atmósfera inerte. Tras 16 horas de reacción, se añade un volumen equivalente de acetato de etilo a la disolución, y se retira la N,N-dimetilformamida por extracción con 5 porciones de agua destilada del mismo volumen que el acetato de etilo añadido. La fase orgánica resultante se trata con sulfato sódico anhidro, se filtra y se destila a presión reducida para obtener el compuesto de tipo estructural B.

Preparación de compuestos de fórmula general I (Figura 3): Se preparan un volumen 12 mL. de una disolución de 1,4-dioxano en agua al 50%, a la que se añade paladio sobre carbono al 10% (2.5 mg/mL) y borohidruro sódico (25 mg/mL) con agitación. A continuación se añade gradualmente a la disolución el compuesto de tipo estructural B (20.25 mg/mL), a partir de una disolución preparada con la mínima cantidad necesaria de 1,4-dioxano puro. Tras dos horas de reacción, se retira el catalizador por filtración a vacío y al filtrado se añade una disolución de ácido clorhídrico 0.1 N hasta alcanzar un valor de pH=4. La disolución así obtenida se lleva a un embudo de decantación y se extrae con 3 porciones de un volumen equivalente de acetato de etilo. Las fases orgánicas resultantes se combinan y se tratan con sulfato sódico anhidro. Tras filtración y evaporación a presión reducida, el crudo de reacción resultante se purifica por

ES 2 289 951 B1

cromatografía en columna de gel de sílice con elución con una disolución de hexano y acetato de etilo al 40% para dar el compuesto de tipo estructural I.

Ejemplo 1

Obtención del compuesto II (Figura 3)

• Preparación del compuesto correspondiente de tipo estructural B (Figura 3)

500 mg. del compuesto de tipo estructural A correspondiente al compuesto II (4- fluoro-2-nitrofenol) se disuelven en 10 mL. de tetrahidrofurano seco en atmósfera inerte. A continuación se añaden 31.8 mL. de una disolución de hidróxido potásico 0,1 N en etanol absoluto. Tras 30 minutos de reacción y por destilación a presión reducida se obtiene el alcóxido potásico correspondiente, que se disuelve en 100 mL. de N,N-dimetilformamida seca. A la disolución se añaden 422 μ L de bromoacetato de etilo en atmósfera inerte. Tras 16 horas de reacción, se añaden 100 mL. de acetato de etilo a la disolución, y se retira la N,N-dimetilformamida por extracción con 5 porciones de 100 mL. de agua destilada. La fase orgánica resultante se trata con sulfato sódico anhidro, se filtra y se destila a presión reducida para obtener el compuesto de tipo estructural B correspondiente al compuesto II (4- fluoro-2-nitrofenoxiacetato de etilo).

• Preparación del compuesto II

Se preparan 12 mL. de una disolución de 1,4-dioxano en agua al 50%, a la que se añaden 30 mg de paladio sobre carbono al 10% y 74 mg de borohidruro sódico con agitación. A continuación se disuelven 243 mg. del compuesto obtenido en la etapa anterior en 1,4-dioxano (5 mL.) y se añaden gradualmente a la suspensión antes preparada. Tras dos horas de reacción, se retira el catalizador por filtración a vacío y al filtrado se añade una disolución de ácido clorhídrico 0,1 N hasta alcanzar un valor de pH=4. La disolución así obtenida se lleva a un embudo de decantación y se extrae con 3 porciones de 50 mL. de acetato de etilo. Las fases orgánicas resultantes se combinan y se tratan con sulfato sódico anhidro. Tras filtración y evaporación a presión reducida, el crudo de reacción resultante se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice con elución con una disolución de hexano y acetato de etilo al 40% para dar el compuesto II.

Los datos espectroscópicos obtenidos para los compuestos objeto de la invención, todos preparados de manera análoga a como se describe arriba, son los siguientes:

6-Fluoro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (II): ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 4.73 (2H, s, CH₂-2), 6.80 (1H, dd, 2 y 8 Hz, H-5); 6.98 (2H, m, H-7, H-8). ^{13}C RMN (DMSO- d_6 , 75 MHz): 67.9 (C-2); 100.6 (C-5); 109.4 (C-7); 117.1 (C-8); 139.8 (C-10); 156.1 (C-9); 159.2 (C-6); 160.7 (C-3). El-MS m/z (%): 199.1 (80%) [M] $^+$.

8-Fluoro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (III): ^1H RMN (MeOH- d_4 , 400 MHz): δ 4.80 (2H, s, CH₂-2), 6.88 (1H, ddd, 10, 8, y 2 Hz, H-7); 7.02 (1H, ddd, 5, 8, y 9 Hz, H-6); 7.11 (1H, ddd, 2, 3 y 9 Hz). ^{13}C RMN (MeOH- d_4 , 75 MHz): 69.3 (C-2); 109.8 (C-5); 112.4 (C-7); 123.5 (C-6); 133.4 (C-9); 139.0 (C-10); 151.0 (C-9); 152.0 (C-8), 162.1 (C-3). El-MS m/z (%): 199.1 (80%) [M] $^+$.

7,8-Difluoro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (IV): ^1H RMN (MeOH- d_4 , 400 MHz): δ 4.84 (2H, s, CH₂-2), 6.96 (1H, ddd, 7.6, 9.2 y 10.0 Hz, H-6); δ 7.08 (1H, ddd, 2.0, 4.8 y 9.2 Hz, H-5). ^{13}C RMN (MeOH- d_4 , 75 MHz): 69.6 (C-2); 108.5 (C-5); 110.5 (br d, 19.0 Hz, C-6); 128.5 (C-4a); 135.3 (C-8a); 141.2 (dd, 246 y 16.0 Hz, C-8), 149.05 (dd, 241.0 y 10 Hz, C-7); 161.8 (C-3). El-MS m/z (%): 201.1 [M] $^+$.

6-Trifluorometil-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (V): ^1H RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 4.82 (2H, s, CH₂-2), 8 7.03 (1H, dd, 8.4 y 0.4 Hz, H-8); 8 7.32 (1H, br t, 8.4 y 2.0 Hz, H-7), δ 7.64 (1H, br d, 2.0 Hz, H-5). ^{13}C RMN (CDCl₃, 75 MHz): 67.6 (C-2); 111.3 (d, 3.75 Hz, C-8); 116.7 (d, 4.28 Hz, C-5), 122.6 (d, 3.8 Hz, C-7); 125.2 (q, 33 Hz, C-6); 123.7 (q, 270 Hz, CF₃); 127.9 (C-4a); 146.1 (C-8a); 160.1 (C-3). El-MS m/z (%): 233.2 [M] $^+$ (75%).

7-Fluoro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (VI): ^1H RMN (MeOH- d_4 , 400 MHz): δ 4.74 (2H, s, CH₂-2), 6.76 (2H, m, H-5, H-8); 7.29 (1H, dd, 5 y 8 Hz, H-6). ^{13}C RMN (MeOH- d_4 , 75 MHz): 69.3 (C-2); 105.0 (C-8); 109.8 (C-6); 115.2 (C-10); 127.1 (C-10); 146.4 (C-9); 159.6 (C-3); 161.9 (C-7). El-MS m/z (%): 199.1 (80%) [M] $^+$.

6-Cloro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (VII): ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 4.77 (2H, s, CH₂-2), 7.00 (1H, br d, 8.8 Hz, H-8); 7.03 (1H, br dd, 8.8 y 2.4 Hz, H-7) y 7.17 (1H, br d, 2.4 Hz, H-5). ^{13}C RMN (DMSO- d_6 , 75 MHz): 67.8 (C-2); 112.6 (C-8); 117.6 (C-5); 123.2 (C-7); 126.4 (C-6); 131.0 (C-4a); 142.6 (C-8a); 160.3 (C-3). El-MS m/z (%): 199.1 (80%) [M] $^+$.

8-Cloro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (VIII): ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 4.87 (2H, s, CH₂-2), δ 7.04 (1H, br t, 8.4 Hz, H-6); 8 7.12 (1H, br dd, 8.0 y 1.2 Hz, H-5) y 8 7.18 (1H, dd, 8.0 y 1.2 Hz, H-7). ^{13}C RMN (DMSO- d_6 , 75 MHz): 8 68.1 (C-2); 8 112.0 (C-5); 8 120.1 (C-8); 8 123.1 (C-6); 8 124.2 (C-7); 8 131.0 (C-4a); 8 139.7 (C-8a); 8 160.0 (C-3). El-MS m/z (%): 199.0 [M] $^+$ (45%).

6,8-Dicloro-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (IX): ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz): δ 4.91 (2H, s, CH₂-2), δ 7.15 (1H, d, 1.8 Hz); 8 7.27 (1H, d, 1.8 Hz). ^{13}C RMN ($\text{DMSO}-d_6$, 75 MHz): 68.0 (C-2); 111.6 (C-5); 120.9 (C-8); 123.1 (C-7); 126.3 (C-6); 131.8 (C-4a); 138.7 (C-8a); 160.0 (C-3). El-MS m/z (%): 217.0 [M^+] (80%).

- 5 6-Bromo-(2H)-1,4-benzoxacin-3(4H)-ona (X): RMN ($\text{MeOH}-d_4$, 400 MHz): δ 4.55 (2H, s, CH₂-2), 6.67 (1H, d, 8 Hz, H-8); 6.96 (1H, dd, 8 y 2 Hz, H-7); 7.31 (1H, d, 2 Hz, H-5). ^{13}C RMN ($\text{MeOH}-d_4$, 75 MHz): 67.7 (C-2); 114.6 (C-6); 116.1 (C-8); 117.4 (C-5); 127.7 (C-7); 129.9 (C-10), 142.8 (C-9), 160.6 (C-3). El-MS m/z (%): 243 [$\text{M}^{(79}\text{Br})^+$] (98%), 245 [$\text{M}^{(81}\text{Br})^+$] (100%).

10 Ejemplo 2

Actividades biológicas de los compuestos II y VII (Figura 3)

- 15 Los bioensayos de fitotoxicidad para los compuestos objeto de la invención se realizan mediante el protocolo de bioensayos de fitotoxicidad en Placa Petri desarrollado por el Grupo de Alelopatía de Cádiz (ver, por ejemplo: Macías, F.A.; Castellano, D.; Molinillo, J.M.G.; *J. Agric. Food Chem.* **2000**, 48, 6, 2512-2521.).

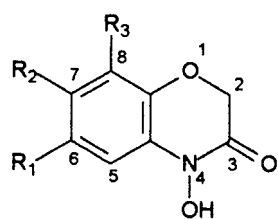
- Este ensayo trata de imitar las condiciones naturales de actuación de los productos a ensayar sobre las semillas de especies de plantas seleccionadas, por lo que los productos se suministran en forma de disolución acuosa en una Placa Petri en la que se introduce un determinado número de semillas de cada especie receptora. El rango de concentraciones utilizado permite observar la relación entre la actividad fitotóxica del producto y su concentración. Las diluciones ensayadas fueron 10^{-3} M, $5 \cdot 10^{-4}$ M, 10^{-4} M, $5 \cdot 10^{-5}$ M, 10^{-5} M, $5 \cdot 10^{-6}$ M, 10^{-6} M, $5 \cdot 10^{-7}$, 10^{-7} y $5 \cdot 10^{-8}$. Estas disoluciones están tamponadas a pH=6 empleando para ello una solución de ácido 2-[N-morfolino]-etanosulfónico (MES) 10 mM cuyo pH se ajusta al valor deseado mediante la adición de una disolución de NaOH 1M. El blanco de este experimento es agua destilada y desionizada tamponada también con MES pero en la que no hay disuelto ningún producto. La selección de las especies vegetales receptoras para el bioensayo se realizó en base a un amplio estudio llevado a cabo por nuestro grupo, que se detalla en la publicación anteriormente mencionada, resultando las especies escogidas las monocotiledóneas *Allium cepa* L. (cebolla), *Triticum aestivum* L. (trigo) y las dicotiledóneas *Lepidium sativum* L. (berro), *Lycopersicon esculentum* Will. (tomate), y *Lactuca sativa* L. (lechuga). Para completar el perfil de fitotoxicidad se añaden al ensayo de bioactividad las especies de malas hierbas monocotiledóneas *Avena fatua* L. (avena loca), *Echinochloa crus galli* L. P/Beauv. y *Lolium rigidum* L. (vallico) con dos biotipos: el común y el biotipo multiresistente a herbicidas SLR31. Todas las semillas están en la oscuridad durante el periodo en que se realiza el bioensayo y a 25°C de temperatura. El tiempo de incubación y el número de semillas y réplicas a ensayar para cada dilución han sido optimizados teniendo en cuenta las características de cada semilla.

- La adquisición de datos y el tratamiento estadístico de los resultados se realizan empleando el soporte informático FITOMED® (Sistema automatizado para la adquisición simultánea y gestión informatizada de medidas de longitud variable), patentado por la Universidad de Cádiz (P9901565). Este sistema se compone de una tabla digitalizadora y un lápiz óptico (para adquirir las longitudes de radículas e hipocótilos) controlados por un ordenador personal dotado de un software que recopila los datos reduciendo el tiempo de adquisición de medidas y realiza el tratamiento estadístico de los mismos y su representación gráfica.

- Todos los compuestos objeto de la invención presentaron potentes actividades inhibitoras sobre la germinación y el desarrollo de especies modelo y malas hierbas. Los valores de IC₅₀ para la longitud de radícula, según modelos dosis-respuesta de tipo sigmoidal, acompañados de los correspondientes valores de coeficiente de determinación (R^2) para los ajustes se muestran en la Tabla 1. Los efectos de los compuestos ensayados son extraordinariamente potentes, alcanzándose valores de IC₅₀ del orden de 58 nM (compuesto VII, *L. sativum*). Son especialmente destacables los resultados sobre las especies de malas hierbas, en las que los compuestos fueron significativamente activos a concentraciones inferiores a un micromol por litro. De las especies de malas hierbas ensayadas, la más afectadas fueron *A. fatua* y *E. crus galli*. Respecto a los biotipos ensayados de *L. rigidum*, para el caso del compuesto II, el biotipo multiresistente resultó más afectado, mientras que la tendencia contraria se observa para el compuesto VII. Los efectos de ambos compuestos sobre todas las malas hierbas fueron mayores que frente a *Triticum aestivum* L., lo cual ofrece un gran interés desde el punto de vista de la selectividad de los compuestos ensayados y las consecuencias que este hecho tiene sobre su aplicabilidad.

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de fórmula general I (Figura 1) cuya estructura molecular se define como un esqueleto base de 4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona, en el que R₁ es un átomo de flúor o un grupo trifluorometilo, si R₂ y R₃ son átomos de hidrógeno; R₁ es un átomo de cloro, si son R₂ un átomo de hidrógeno y R₃ un átomo de hidrógeno o cloro; R₁ es un átomo de bromo, si R₂ y R₃ son átomos de hidrógeno; R₂ es un átomo de flúor, si R₁ es un átomo de hidrógeno y R₃ es un átomo de hidrógeno o flúor; o R₃ es un átomo de flúor o cloro si R₁ y R₂ son átomos de hidrógeno.
2. El compuesto 6-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona de fórmula general I, según reivindicación 1, donde R₁ es un átomo de flúor, y R₂ y R₃ son átomos de hidrógeno (II, Figura 2).
3. El compuesto 8-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona de fórmula general I, según reivindicación 1, donde R₁ y R₂ son átomos de hidrógeno y R₃ es un átomo de flúor (III, Figura 2).
4. El compuesto 7,8-difluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona de fórmula general I, según reivindicación 1, donde R₁ es un átomo de hidrógeno, y R₂ y R₃ son átomos de flúor (IV, Figura 2).
5. El compuesto 6-trifluorometil-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona de fórmula general I, según reivindicación 1, donde R₁ es un grupo trifluorometil, y R₂ y R₃ son átomos de hidrógeno (V, Figura 2).
6. Un método de preparación para el compuesto 6-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (II) de fórmula general I, según reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado** por una reacción de sustitución nucleofílica a partir de 4-fluoro-2-nitrofenol con bromoacetato de etilo en medio básico, y una reacción de ciclación reductiva del producto resultante con borohidruro sódico en presencia de paladio soportado sobre carbón activo en una disolución de agua y 1,4-dioxano al 50%.
7. Un método de preparación para el compuesto 8-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (III) de fórmula general I, según reivindicaciones 1 y 3, **caracterizado** por una reacción de sustitución nucleofílica a partir de 2-fluoro-5-nitrofenol con bromoacetato de etilo en medio básico, y una reacción de ciclación reductiva del producto resultante con borohidruro sódico en presencia de paladio soportado sobre carbón activo en una disolución de agua y 1,4-dioxano al 50%.
8. Un método de preparación para el compuesto 7,8-difluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (IV) de fórmula general I, según reivindicaciones 1 y 4, **caracterizado** por una reacción de sustitución nucleofílica a partir de 2,3-difluoro-6-nitrofenol con bromoacetato de etilo en medio básico, y una reacción de ciclación reductiva del producto resultante con borohidruro sódico en presencia de paladio soportado sobre carbón activo en una disolución de agua y 1,4-dioxano al 50%.
9. Un método de preparación para el compuesto 6-trifluorometil-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (V) de fórmula general I, según reivindicaciones 1 y 5, **caracterizado** por una reacción de sustitución nucleofílica a partir de 2-nitro-4-(trifluorometil)-fenol con bromoacetato de etilo en medio básico, y una reacción de ciclación reductiva del producto resultante con borohidruro sódico en presencia de paladio soportado sobre carbón activo en una disolución de agua y 1,4-dioxano al 50%.
10. Uso de los compuestos 6-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (II, Figura 2), 8-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (III, Figura 2), 7,8-difluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (IV, Figura 2), 6-trifluorometil-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (V, Figura 2), 7-fluoro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VI, Figura 2), 6-cloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VII, Figura 2), 8-cloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (VIII, Figura 2), 6,8-dicloro-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (IX, Figura 2) y 6-bromo-4-hidroxi-(2*H*)-1,4-benzoxacin-3(4*H*)-ona (X, Figura 2) como productos con niveles de actividad fitotóxica adecuados para su empleo en el control de malas hierbas y como modelos estables de desarrollo de nuevos productos fitosanitarios basados en el esqueleto de 1,4-benzoxacin-3-ona.



I

Figura 1

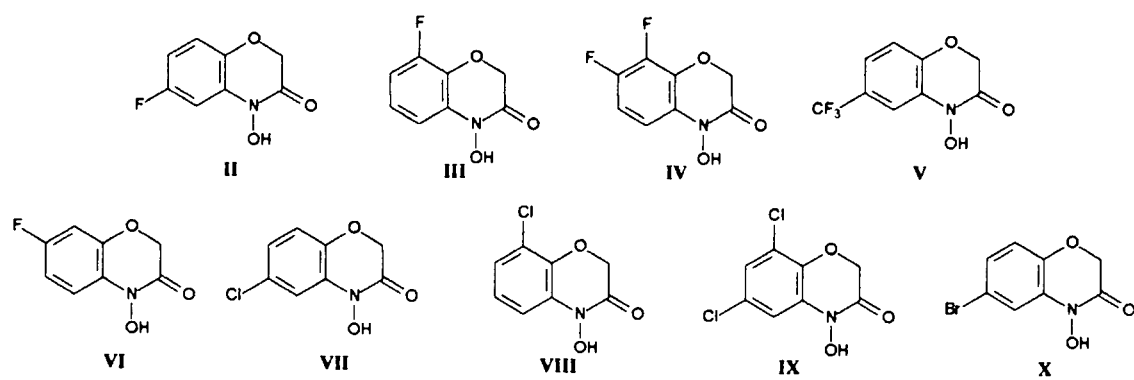


Figura 2

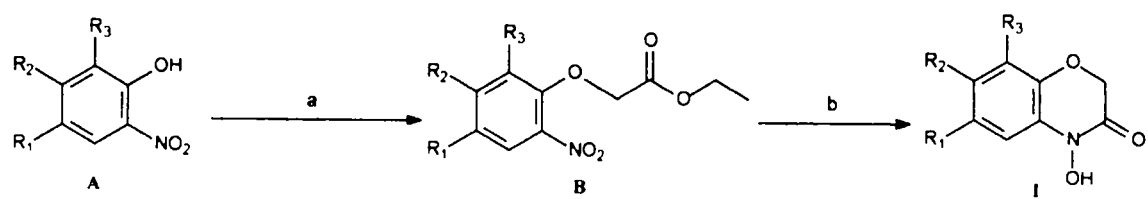
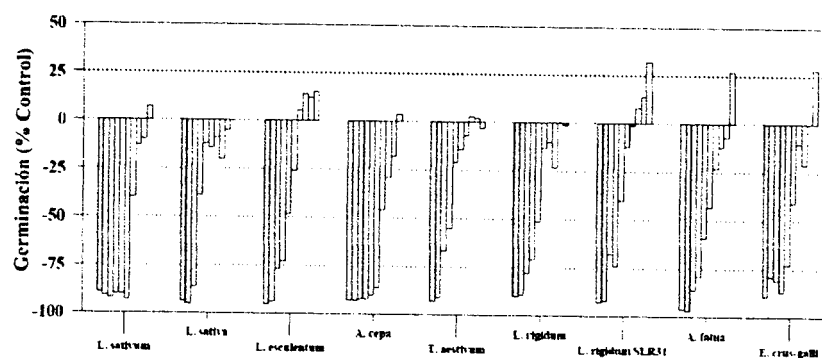
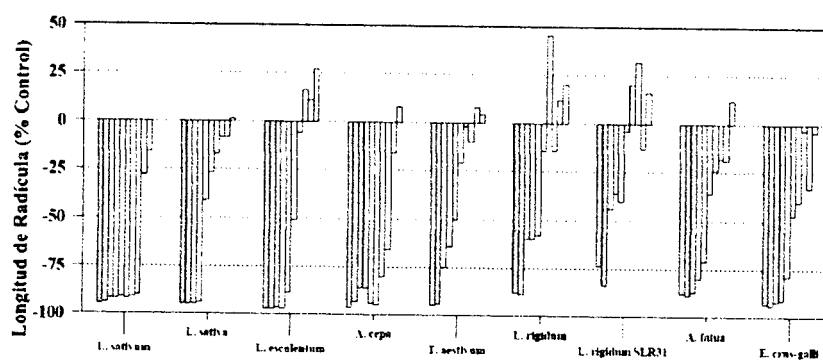


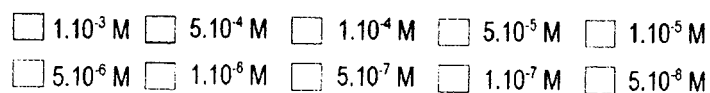
Figura 3



II



VI



I

	<i>L. sativum</i>	<i>L. sativa</i>	<i>L. esculentum</i>	<i>A. cepa</i>	<i>T. aestivum</i>	<i>L. rigidum</i>	<i>L. rigidum SLR31</i>	<i>A. fatua</i>	<i>E. crus-galli</i>
IC ₅₀	1.02·10 ⁻⁰⁶	5.90·10 ⁻⁰⁵	7.96·10 ⁻⁰⁶	8.98·10 ⁻⁰⁷	3.89·10 ⁻⁰⁵	1.82·10 ⁻⁰⁵	7.86·10 ⁻⁰⁶	4.26·10 ⁻⁰⁶	2.50·10 ⁻⁰⁶
R ²	0.9619	0.9426	0.9928	0.9815	0.9948	0.9381	0.9552	0.9462	0.9387

VI

	<i>L. sativum</i>	<i>L. sativa</i>	<i>L. esculentum</i>	<i>A. cepa</i>	<i>T. aestivum</i>	<i>L. rigidum</i>	<i>L. rigidum SLR31</i>	<i>A. fatua</i>	<i>E. crus-galli</i>
IC ₅₀	5.88·10 ⁻⁰⁸	1.24·10 ⁻⁰⁵	3.80·10 ⁻⁰⁶	3.80·10 ⁻⁰⁷	1.20·10 ⁻⁰⁵	8.27·10 ⁻⁰⁶	1.92·10 ⁻⁰⁵	4.79·10 ⁻⁰⁶	4.44·10 ⁻⁰⁶
R ²	0.9633	0.9782	0.9538	0.9213	0.9723	0.8478	0.8292	0.9395	0.9109

Figura 4



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 289 951

⑫ Nº de solicitud: 200602033

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: **28.07.2006**

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: **C07D 265/36** (2006.01)
A01N 43/84 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	GB 1013572 A (J. R. GEIGY) 15.12.1965, página 1, líneas 10-15; página 3, líneas 11-24,51-53; reivindicaciones 1,3,5,7.	1,10
X	ES 2084742 T3 (NIHON BAYER AGROCHEM) 16.05.1996, compuesto V; páginas 6,7,8; ejemplo 3.	1-10
X	H. R. BRAVO et al., "Antimicrobial activity of cereal hydroxamic acids and related compounds", Phytochemistry, 1993, vol. 33, nº 3, páginas 569-571, ver compuesto 9, esquema 2.	1-10
X	S. ÖZDEN et al., "Synthesis and antimicrobial activity of some new 4-hydroxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ones", Il Farmaco, 2000, vol. 55, páginas 715-718, ver compuesto 5, esquema 1.	1,10
X	Y. HASHIMOTO et al., Rearrangement of 4-acetoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one", Chem. Pharm. Bull., 1983, vol. 31, nº 11, páginas 3891-3896, ver página 3893, párrafo 1; página 3896, párrafo 7.	1

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

21.11.2007

Examinador

E. Dávila Muro

Página

1/1