

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 717**

51 Int. Cl.:  
**A01N 37/42** (2006.01)  
**C07C 59/205** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05737873 .9**  
96 Fecha de presentación: **22.04.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1740045**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.01.2007**

54 Título: **Composiciones agrícolas que contienen una sal de ácido jasmónico o dihidrojasmónico**

30 Prioridad:  
**23.04.2004 GB 0409011**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**30.07.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**30.07.2012**

73 Titular/es:  
**PLANT IMPACT PLC  
ST. JAMES'S COURT BROWN STREET  
MANCHESTER LANCASHIRE M2 2JF, GB**

72 Inventor/es:  
**MARKS, David**

74 Agente/Representante:  
**Zea Checa, Bernabé**

ES 2 385 717 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Composiciones agrícolas que contienen una sal de ácido jasmónico o dihidrojasmónico

5 **[0001]** La presente invención se refiere a nuevas composiciones químicas y a su uso, en particular, en formulaciones agrícolamente útiles.

**[0002]** Cuando una planta sufre estrés abiótico (éste puede ser luz intensa, un herbicida, ozono, calor, frío, congelación, sequía, salinidad, inundación y toxicidad por metales pesados), la planta aumenta la producción de especies reactivas al oxígeno (*reactive oxygen species*, ROS) creando un estrés oxidativo. Las ROS provocan un  
10 daño químico a los constituyentes celulares de la planta.

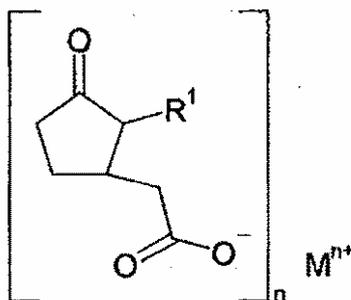
**[0003]** Si las ROS se crean hasta niveles superiores a los que puede soportar la planta, se produce la lisis de proteínas en las células, y puede crearse amoníaco tóxico. Esto también sucede cuando las plantas captan  
15 demasiado amonio del entorno exterior (habitualmente por la fertilización con fertilizantes que contienen urea o amonio), y es un importante factor limitante en el uso del fertilizante.

**[0004]** Se sabe que el ácido jasmónico y los compuestos similares tales como ácido jasmónico, jasmonato de metilo y dihidrojasmonato de metilo, estimulan un proceso denominado resistencia sistémica inducida (*Induced systemic Resistance*, ISR), que ayuda a la producción de estrés y a la tolerancia a la enfermedad.  
20

**[0005]** Sin embargo, el ácido jasmónico y sus derivados son generalmente aceites, que no son miscibles con el agua, dando lugar a problemas de formulación y aplicación.

25 **[0006]** El documento Chem Abs 2003: 816064 (RU 2 212 137 C2) describe sales de sodio y de amonio del ácido jasmónico. El documento Chem Abs 2003: 816062 (RU 2 212 135 C2) describe sales de morfolino y de piridino del ácido jasmónico. El documento WO 03/020028 describe composiciones agrícola que pueden contener una mezcla de ácido jasmónico y ácido salicílico. El documento DD 276025 describe sales de ácido jasmónico y de ácido  
30 salicílico. El documento DD 221059 describe composiciones agrícolas que incluyen ácido jasmónico, ácido dihidrojasmónico y ácido 2-isojasmónico, o sales y ésteres de los mismos, generalmente una sal de un metal alcalino o de amonio, y específicamente la sal de potasio. Los documentos DD215928 y DD263914 describen de forma general sales de ácido jasmónico y de ácido dihidrojasmónico, aunque sólo se prepara el propio ácido jasmónico o su sal de metilo.  
35

**[0007]** Según la presente invención se proporciona una composición agrícolamente aceptable que comprende: (i) un compuesto que comprende una sal soluble en agua de fórmula (IA)



(IA)

en la que R<sup>1</sup> es un grupo pentilo o un grupo pent-2-enilo, M es un catión metálico de valencia n, que es un metal  
40 alcalino que es potasio o sodio, o un metal alcalinotérreo que es magnesio; (ii) un reactivo que reduce el estrés de las plantas, que es un compuesto agrícolamente aceptable que contiene un grupo ácido benzoico o derivados del mismo, en el que el compuesto es ácido salicílico, ácido acetilsalicílico (o ácido 2-acetoxibenzoico), salicilato de metilo, ácido benzoico o acibenzolar-S-metilo, o una sal agrícolamente aceptable de los mismos; y (iii) un  
45 antioxidante, que es arginina o poliamina, de la cual la arginina es un precursor.

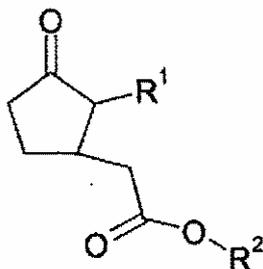
**[0008]** M es un catión metálico, es un metal alcalino que es potasio o sodio (cuando n es 1) o un metal alcalinotérreo, que es magnesio cuando n es 2. La sal formada con los mismos es soluble en agua. La sal puede estar en forma de un aceite miscible en agua (sales de potasio de sodio) o puede estar en forma de un sólido (sal de magnesio).  
50

**[0009]** M se elige preferiblemente de entre potasio o magnesio, muy preferiblemente magnesio.

**[0010]**  $R^1$  se elige de entre un grupo pentilo, haciendo al compuesto de fórmula (IA) una sal de dihidrojasmonato, o es un grupo pent-2-enilo, con lo que el compuesto de fórmula (IA) es una sal de jasmonato.

**[0011]** Adecuadamente, el compuesto de fórmula (IA) es una sal soluble en agua de un derivado de ácido dihidrojasmonico. Una sal particularmente preferida por lo tanto es el dihidrojasmonato magnésico. Esta sal tiene muy buenas propiedades de manipulación y de flujo, haciéndola particularmente útil en el contexto de las formulaciones agroquímicas.

**[0012]** El compuesto de fórmula (IA) puede prepararse mediante un método que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



(II)

en la que  $R^1$  es según se definió en relación con la fórmula (IA) y  $R^2$  se elige de entre hidrógeno o un grupo hidrocarbilo, con un compuesto de fórmula (III)

15  $M^{n+}(OR^3)_n$  (III)

en la que M y n son según se define en relación con la fórmula (IA), y  $R^3$  es hidrógeno o un grupo alquilo  $C_{1-3}$  tal como metilo. La reacción se efectúa adecuadamente en un disolvente, que puede ser agua o un disolvente orgánico tal como un alcohol, en particular, metanol o tolueno.

20 **[0013]** Dependiendo de la sal en particular que se esté preparando, la reacción puede efectuarse a temperaturas moderadas, por ejemplo de 0-50°C, convenientemente a temperatura ambiente, o puede realizarse a elevadas temperaturas, por ejemplo de 50°C-100°C, y convenientemente a la temperatura de reflujo del disolvente.

25 **[0014]** El producto se recupera adecuadamente bien como un sólido tras la evaporación del disolvente, o bien en forma de una solución acuosa, que se usa directamente en las formulaciones.

**[0015]** Según se usa en este documento, el término "hidrocarbilo" se refiere a fracciones orgánicas que comprenden carbono e hidrógeno, tales como grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o aralquilo tales como bencilo.

30 El término "alquilo" se refiere a cadenas lineales o ramificadas que adecuadamente contienen entre 1 y 20, y preferiblemente entre 1 y 10, átomos de carbono. De forma similar, los términos "alquenilo" y "alquinilo" se refieren a grupos hidrocarbilo insaturados, que adecuadamente contienen entre 2-20, y preferiblemente entre 2-10, átomos de carbono. El término "arilo" se refiere a grupos hidrocarbilo aromáticos tales como fenilo y naftilo, mientras que el término "aralquilo" se refiere a grupos alquilo que están sustituidos con grupos arilo tales como bencilo.

35 **[0016]** En una forma de realización en particular, en la que  $R^2$  es un grupo hidrocarbilo, se elige de entre un grupo alquilo  $C_{1-10}$ , y adecuadamente un grupo alquilo  $C_{1-6}$  tal como metilo.

40 **[0017]** Los compuestos de fórmula (III) son compuestos conocidos tales como hidróxido de potasio, que puede usarse directamente. Alternativamente, el compuesto de fórmula (III) puede generarse *in situ*. Esto puede ser particularmente aplicable cuando M es una sal de magnesio, y cuando  $R^3$  es un grupo alquilo  $C_{1-3}$  tal como metilo. Los solicitantes han averiguado que una buena forma de preparar este compuesto es hacer reaccionar magnesio con un alcohol  $C_{1-3}$  tal como metanol en presencia de un catalizador tal como yodo. La mezcla de reacción se calienta adecuadamente para formar el compuesto de fórmula (III) tras lo cual se añade una solución del compuesto de fórmula (II) en el mismo alcohol y se inicia la reacción.

**[0018]** Los compuestos de fórmula (II), o son compuestos conocidos o pueden prepararse usando métodos convencionales.

50 **[0019]** En los compuestos de fórmula (II),  $R^2$  es preferiblemente hidrógeno. Dichos compuestos pueden prepararse mediante la acidificación de un compuesto de fórmula (II) en la que  $R^2$  es un grupo hidrocarbilo.

**[0020]** Las condiciones de reacción adecuada serán apreciables por un químico experto, pero pueden incluir hacer

reaccionar el compuesto de fórmula (II) en la que R<sup>2</sup> es un grupo hidrocarbilo con una base tal como hidróxido sódico, y después con un ácido tal como ácido clorhídrico, según se ilustra a continuación en este documento.

5 **[0021]** Los compuestos de fórmula (IA) pueden incluir un centro quiral, y la invención incluye todas las formas, incluyendo las formas ópticamente activas, y la mezclas de las mismas en todas las proporciones, incluyendo mezclas racémicas.

10 **[0022]** Los compuestos de fórmula (IA) se usan adecuadamente en formulaciones agroquímicas en las que las propiedades de ISR puede ser tan deseables. La naturaleza hidrosoluble de los compuestos de la invención supera los problemas de formulación y las dificultades de disponibilidad, que estaban presentes cuando se habían empleado de este modo los jasmonatos convencionales.

15 **[0023]** Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención proporciona una composición agrícolamente aceptable que comprende una composición según se describió anteriormente y un portador agrícolamente aceptable.

20 **[0024]** La composición puede adoptar varias formas, según se sabe en la materia. Por ejemplo, pueden incluir gránulos, polvos para espolvorear, polvos o comprimidos solubles, gránulos hidrosolubles, gránulos hidrodispersables, polvos humectables, gránulos (de liberación lenta o rápida), concentrados solubles, líquidos de volumen ultrabajo, concentrados emulsionables, concentrados dispersables, emulsiones (tanto de aceite en agua como de agua en aceite), microemulsiones, concentrados en suspensión, aerosoles, suspensiones en cápsulas y formulaciones para el tratamiento de semillas. El tipo de composición elegida en cualquier caso dependerá del propósito en particular contemplado.

25 **[0025]** Los portadores agrícolamente aceptables usados en las formulaciones pueden ser sólidos o líquidos, dependiendo de la naturaleza de la formulación.

30 **[0026]** Por ejemplo, los diluyentes sólidos pueden incluir arcillas naturales, caolín, pirofilita, bentonita, alúmina, montmorillonitas, kieselguhr, tiza, tierra de diatomeas, fosfatos de calcio, piedra pómez, arcillas de atapulgita, tierra de fuller, mazorcas de maíz molidas, arenas, silicatos, carbonatos de sodio, de calcio o de magnesio, bicarbonato sódico, sulfato magnésico, lima, harinas, talco, polisacáridos y otros portadores sólidos orgánicos e inorgánicos.

35 **[0027]** Los diluyentes líquidos pueden incluir agua o disolventes orgánicos tales como una cetona, alcohol o éter glicólico. Estas disoluciones pueden contener un agente tensioactivo (por ejemplo, para mejorar la dilución en agua o evitar la cristalización en un tanque de pulverización).

**[0028]** Las composiciones pueden incluir, adicional o alternativamente, otros tipos de reactivos que son bien conocidos en la materia, en particular, agentes humectantes, agentes suspensores y/o agentes dispersantes.

40 **[0029]** Las composiciones de la presente invención pueden combinarse con otros compuestos agroquímicos, en la formulación o en mezclas con otros compuestos agroquímicos, tales como herbicidas, fungicidas o reguladores del crecimiento vegetal.

45 **[0030]** El compuesto que reduce el estrés en las plantas es ácido salicílico, ácido acetilsalicílico (o ácido 2-acetoxibenzoico), salicilato de metilo, ácido benzoico y acibenzolar-S-metilo, así como sales agrícolamente aceptables de los mismos. Las sales agrícolamente aceptables en particular incluyen sales de metales alcalinos tales como potasio o sodio, sales de metales alcalinotérreos tales como calcio y magnesio, y algunas sales de ácidos orgánicos tales como acetatos.

50 **[0031]** Estos compuestos han demostrado aumentar el estrés y la resistencia a la enfermedad en plantas mediante el aumento de la "resistencia sistémica adquirida" ('*Systemic Acquired Resistance*', SAR), estimulando la producción de fitoalexinas y reduciendo la síntesis de etileno (una hormona de estrés).

55 **[0032]** Sin embargo, estos compuestos tienen el efecto indeseable de aumentar las ROS, que provocan daños a las células y crean un estrés oxidativo. Esto limita el efecto del compuesto porque lo hace tóxico si se crea en la planta y finalmente se vuelve un factor limitante en su eficacia para moderar la tolerancia al estrés abiótico. Por ejemplo, se sabe que la eficacia del ácido acetilsalicílico para aportar tolerancia al estrés está limitada, ya que crea un estrés oxidativo cuando se usa, y limita el flujo de calcio en el citoplasma (lo que hace que la célula sea menos capaz de tolerar la formación de amonio debido bien a la lisis celular - aumentada por el estrés oxidativo - o bien al uso de fertilizantes).

60 **[0033]** De forma similar, aunque los compuestos de fórmula (IA) tales como los compuestos de jasmonato pueden desencadenar una ISR, su uso puede tener el inconveniente (si no se modera) de incrementar la formación de etileno que, en ciertas condiciones, debilita las paredes celulares al aumentar el flujo de calcio desde las paredes celulares hacia el citosol. El aumento del calcio citoplasmático ayuda a las plantas a neutralizar el amoníaco que crean durante un estrés abiótico prolongado, pero si no hay calcio disponible para recargar el calcio de la pared

celular (que se mantiene en los sitios de unión de la calmodulina), la pared celular pierde su integridad y la planta es más susceptible al estrés abiótico.

**[0034]** Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende adicionalmente un compuesto antioxidante.

**[0035]** El antioxidante es arginina, o una poliamina de la cual es precursora la arginina, tales como putrescina, espermina y espermidina. Estos compuestos tienen propiedades antioxidantes que pueden usarse para combatir la formación de ROS durante el estrés abiótico, y también están implicados en la tolerancia al estrés abiótico. Un antioxidante particularmente preferido es la arginina.

**[0036]** En una forma de realización particularmente preferida, el compuesto de fórmula (IA) es dihidrojasmonato magnésico, el compuesto de fórmula (V) es ácido acetilsalicílico y el antioxidante es arginina.

**[0037]** En esta composición, el compuesto de fórmula (IA) puede aumentar la formación de poliaminas (espermina, espermidina y putrescina), están hechas de arginina (también suministrada). La arginina aporta un alivio inmediato del estrés oxidativo, y asegura que hay suficiente arginina presente para producir poliaminas (que también, por ser antioxidantes, pueden realizar un papel similar al del calcio en el mantenimiento de la integridad de la pared celular, y por lo tanto tienen un papel en la protección de la pared celular y en el control de la toxicidad del  $\text{NH}_4$ ).

**[0038]** Adicionalmente, suministrando una combinación de un compuesto de fórmula (IA) con un compuesto que reduce el estrés en las plantas elegido de entre ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de metilo, ácido benzoico o acibenzolar-S-metilo o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, puede mejorarse la eficacia de los compuestos individuales, ya que se modera la formación de etileno.

**[0039]** La proporción de los componentes usados en la composición variará dependiendo de la naturaleza precisa de estos componentes. Por ejemplo, los componentes (i) y (ii) estarán presentes generalmente en una proporción de 1:1 a 1:2 p/p.

**[0040]** La cantidad de antioxidante usada también puede variar, dependiendo de su naturaleza. Los antioxidantes que tienen efectos hormonales tales como espermina, espermidina y putrescina pueden usarse adecuadamente con bastante moderación, por ejemplo, en una cantidad equivalente a la del componente (i). Por lo tanto, dichas composiciones pueden tener una composición que comprende los componentes (i):(ii):(iii) en una proporción de 1:1:1 a 1:2:1 p/p.

**[0041]** Sin embargo, los antioxidantes preferidos tales como la arginina, pueden estar presentes en cantidades mayores, de hasta por ejemplo 20 veces la del componente (i). Por lo tanto, una composición preferida en este caso puede tener los componentes (i): (ii):(iii) presentes en el intervalo de hasta 1:2:20 o 1:1:20, por ejemplo, de 1:1:10 a 1:2:10 p/p.

**[0042]** Los componentes de las composiciones pueden combinarse entre sí para formar un concentrado que después se mezcla con un portador agrícolamente aceptable tal como agua o un fertilizante antes de su uso. Dichos concentrados forman un aspecto adicional de la invención.

**[0043]** Las composiciones según se describió anteriormente pueden usarse para permitir que una planta mantenga su crecimiento y desarrollo durante condiciones de estrés abiótico. Haciendo esto, el producto mejora el rendimiento, la calidad y reduce la incidencia de enfermedades durante las condiciones estresantes. Realiza esto mejorando la capacidad de la planta para manejar las especies de oxígeno reactivas, y la lisis proteica que aumenta durante las condiciones de estrés abiótico, y manteniendo la integridad de la pared celular durante las condiciones de estrés abiótico.

**[0044]** Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención proporciona un método para mejorar el crecimiento y/o el rendimiento y/o la calidad de plantas superiores durante condiciones de estrés abiótico, método que comprende aplicar a la planta o al entorno de la misma, una composición según se describió anteriormente.

**[0045]** Las composiciones pueden aplicarse cuando se están produciendo las condiciones de estrés o cuando se esperan. Dichas condiciones incluyen luz intensa, herbicida, ozono, calor, frío, congelación, sequía, salinidad, inundación y toxicidad por metales pesados.

**[0046]** En particular, en algunos ensayos se ha encontrado que las composiciones de la invención reducen el estrés de las plantas que crecen en suelos ácidos, con un pH de menos de 7, por ejemplo, suelos ácidos arenosos.

**[0047]** Adicionalmente, las composiciones descritas anteriormente pueden proporcionar una mejora en el rendimiento de los fertilizantes de nitrógeno o de los fertilizantes que contienen nitrógeno, en los que el nitrógeno deriva de urea, de amina ( $\text{NH}_2$ ) o de amoníaco ( $\text{NH}_4$ ). Éstos incluyen tanto fertilizantes naturales como sintéticos.

5 **[0048]** Uno de los principales factores limitantes de las tasas de nitrógeno amoniacal y ureico que puede usarse es la toxicidad por amoníaco. Incluyendo la composición según se describió anteriormente en los fertilizantes a una tasa apropiada, se mejora la capacidad de la planta para enfrentarse a la toxicidad por amoníaco, lo que significa que se aumenta la tasa a la que pueden aplicarse estos fertilizantes.

10 **[0049]** Por lo tanto, en un aspecto adicional la invención se proporciona un método para mejorar el rendimiento de los fertilizantes de nitrógeno o de los fertilizantes que contienen nitrógeno, comprendiendo dicho método aplicar dichos fertilizantes a plantas o al entorno de las mismas en combinación con una composición según se describió anteriormente.

**[0050]** Las composiciones fertilizantes que incluyen una composición según se describió anteriormente forman un aspecto adicional de la invención.

15 **[0051]** Las composiciones descritas anteriormente también pueden ayudar a reducir las pérdidas en los cultivos provocadas por el estrés biótico, causadas por ejemplo por patógenos bacterianos, víricos y fúngicos.

20 **[0052]** Las plantas se hacen más susceptibles a la enfermedad cuando se deteriora la pared celular. La pared celular se deteriora durante unas condiciones de estrés abiótico prolongadas, cuando se mueve calcio desde la pared celular hacia el citoplasma. Las composiciones según se describió anteriormente mantendrán la pared celular fuerte durante las condiciones de estrés abiótico; esto disminuirá la probabilidad de infección.

25 **[0053]** Por lo tanto, en otro aspecto adicional, la invención proporciona un método para reducir las pérdidas en los cultivos provocadas por el estrés biótico, método que comprende la administración a los cultivos de una composición según se describió anteriormente.

30 **[0054]** Las composiciones según se describió anteriormente se aplican adecuadamente usando métodos convencionales. Por ejemplo, las composiciones se añaden a tanques de pulverización, antes de la pulverización, o se añaden a depósitos de riego por goteo. En particular, las composiciones de la invención pueden aplicarse adecuadamente a las raíces de las plantas, por ejemplo, como un empape de raíz.

35 **[0055]** La cantidad de composición aplicada variará dependiendo de factores tales como la naturaleza del problema que se va a tratar, el cultivo y las condiciones. Sin embargo, en general, el compuesto de fórmula (IA) se aplica al cultivo en una cantidad de entre 0,005 a 0,5 g por hectárea, por ejemplo, de 0,01 g a 0,1 g por hectárea y por aplicación.

40 **[0056]** Las composiciones descritas anteriormente pueden usarse en el tratamiento de un amplio abanico de cultivos, para reducir el estrés de los cultivos, y proporcionar así beneficios de crecimiento. Algunos ejemplos de cultivos incluyen cultivos de invernadero o protegidos, cultivos de árboles (tales como cultivos de granados y frutos con hueso), y cultivos de frutos tales, nueces, pistacho y aceitunas, vainas de coco, palmeras tales como palma de aceite y palmera datilera, cultivos foliares tales como té, así como por supuesto cultivos de campo tales como cereales, por ejemplo, trigo, tabaco, algodón, y vegetales tales como brasicáceas, por ejemplo, calabazas y lechugas, y cultivos de tubérculos tales como patatas, zanahorias y remolacha.

45 **[0057]** En particular, las composiciones descritas anteriormente pueden usarse para tratar cultivos que están sometidos a enfermedades relacionadas con el estrés. Algunos ejemplos particulares de dichos cultivos incluyen vainas de coco, que están sometidas a enfermedades tales como la podredumbre negra y el marchitamiento prematuro.

50 **[0058]** La invención se describirá ahora particularmente a modo de ejemplo con referencia a los dibujos de los diagramas anexos, en los que la Figura 1 es un gráfico que muestra los resultados de los efectos de una formulación de la invención sobre el crecimiento vegetal mediante su captación radicular en suelo ácido arenoso.

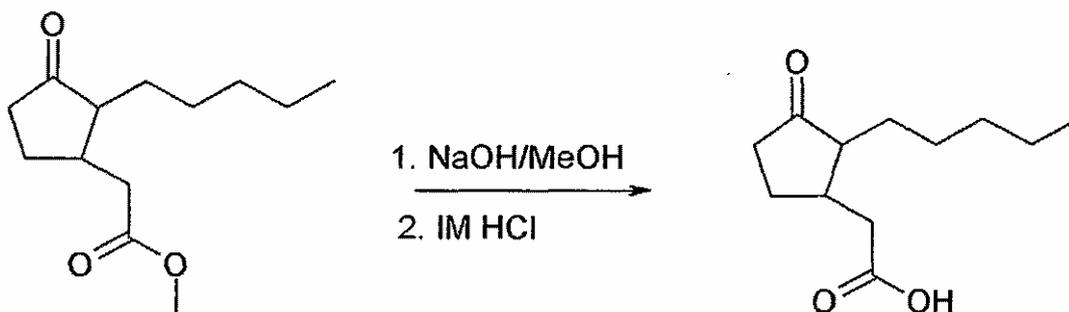
### Ejemplo 1

55 Preparación de una sal de dihidrojasmonato potásico

#### Etapa I

60 Formación de ácido dihidroasmónico a partir de dihidrojasmonato de metilo

[0059]



- 5 [0060] Se disolvieron pellas de hidróxido sódico (82,6 g) en metanol (425 ml) con agitación. Esta solución se añadió a una solución agitada de dihidrojasmonato de metilo (425 g) (obtenida en F.D. Copeland) en metanol (425 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Después de este tiempo el análisis mediante TLC (10:90 acetato de etilo (EtOAc):hexano) confirmó que se había consumido todo el material de partida. Se añadió una disolución acuosa de ácido clorhídrico 1 M lentamente hasta que el pH de la mezcla de reacción era de ~1. La solución acuosa/metanol se extrajo con acetato de etilo (4 x 150 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron ( $MgSO_4$ ) y se evaporaron a vacío para proporcionar el ácido dihidrojasmonico como un aceite amarillo pálido (397,0 g, >99%).

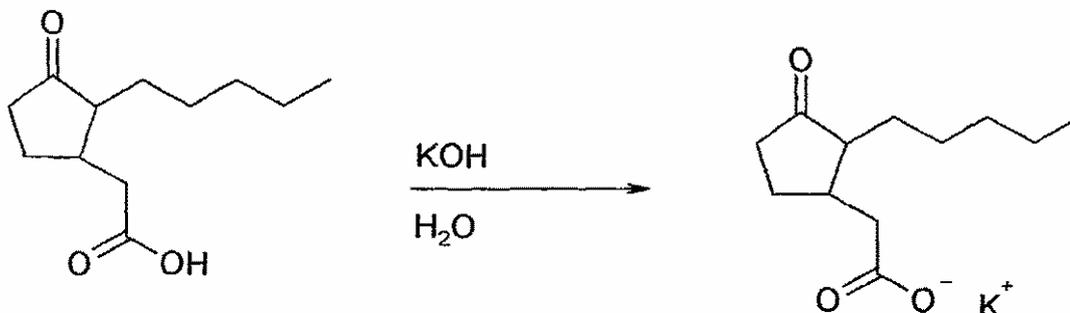
15 [0061] La estructura se confirmó usando RMN  $^1H$  y  $^{13}C$ .

Etapa 2

Preparación de una sal potásica de ácido dihidrojasmonico, al 10% en peso en disolución acuosa a partir de ácido dihidrojasmonico

20

[0062]



- 25 [0063] Se disolvió hidróxido potásico (5,29 g) en agua (225 ml) con agitación. Esto se añadió al ácido dihidrojasmonico (20 g) preparado según se describió en la etapa 1 para dar una solución acuosa al 10% en peso de la sal potásica dihidrojasmonica.

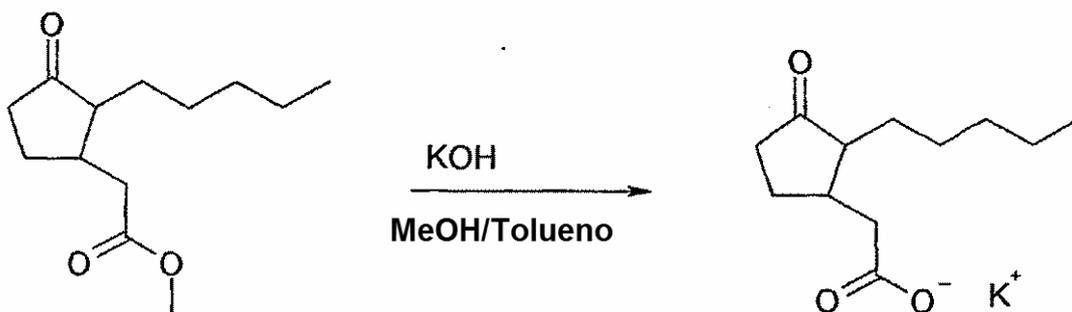
[0064] La estructura se confirmó usando RMN  $^1H$  y  $^{13}C$ .

Ejemplo 2

30

Preparación alternativa de la sal potásica del ácido dihidrojasmonico

[0065]



5 [0066] Se disolvió dihidrojasmonato de metilo (10 g) en tolueno (100 ml) con agitación. Se añadió una solución de KOH 2 M en metanol (22,1 ml) y la solución se llevó a reflujo. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 18 horas, tiempo tras el cual el análisis mediante TLC (10:90 EtOAc:hexano) indicó que ya no había más material de partida presente. Los disolventes se eliminaron a vacío para proporcionar la sal potásica del ácido dihidrojasmónico como un aceite amarillo.

10

[0067] Se añadió tolueno (3 x 100 ml) y se eliminó a vacío en un intento de azeotropar cualquier agua residual. Sin embargo, la sal potásica permaneció como un aceite amarillo.

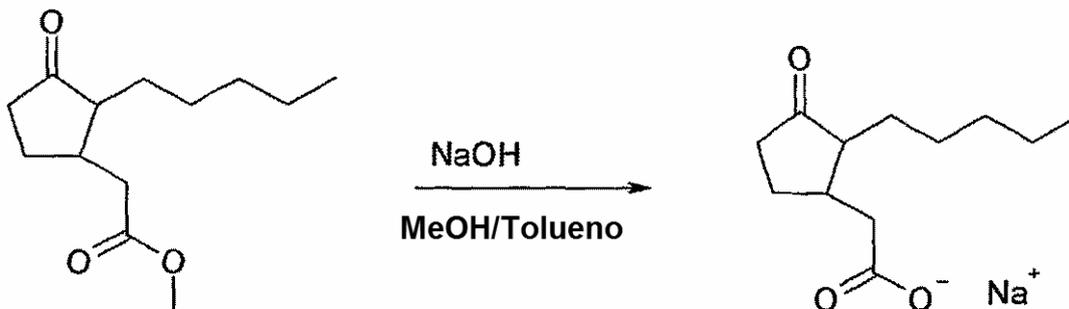
[0068] La estructura se confirmó usando RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ .

15

### Ejemplo 3

Formación de una sal sódica del ácido dihidrojasmónico a partir de dihidrojasmonato de metilo

20 [0069]



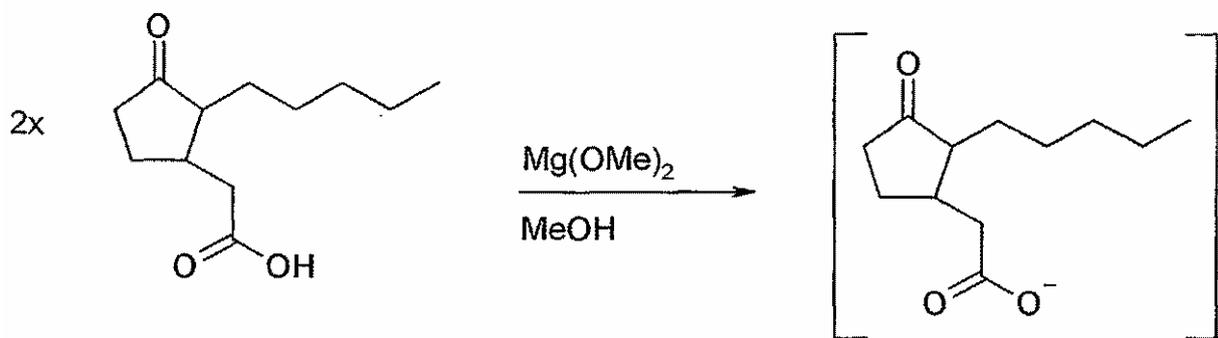
[0070] Se disolvieron pellas de hidróxido sódico (3,53 g) en metanol (20 ml) con agitación, antes de ser añadidas a una solución del dihidrojasmonato de metilo (20 g) en tolueno (20 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas, tiempo tras el cual el análisis mediante TLC (10:90 EtOAc:hexano) indicó que ya no había presente más material de partida. Los disolventes se eliminaron a vacío para proporcionar la sal sódica del ácido dihidrojasmónico como un aceite amarillo. Se añadió tolueno (3 x 100 ml) y se eliminó a vacío en un intento de azeotropar cualquier agua residual. Sin embargo, la sal sódica permaneció como un aceite amarillo.

### Ejemplo 4

30

Formación de una sal magnésica de ácido dihidrojasmónico a partir de ácido dihidrojasmónico

[0071]



5 [0072] Se cargó un matraz de dos cuellos de fondo redondo de 3 L con virutas de magnesio y metanol (700 ml) bajo nitrógeno. Se añadieron dos cristales de yodo. Una vez iniciada la reacción se comenzó la agitación, y la mezcla de reacción se llevó a reflujo. La inicialmente marrón oscuro mezcla de reacción se tornó gradualmente de color amarillo pálido y se empezó a formar un precipitado blanco. El calentamiento continuó hasta que había reaccionado todo el magnesio. En este punto la mezcla de reacción consistía en una disolución prácticamente  
 10 incolora que contenía un precipitado blanco. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente antes de añadir gota a gota una disolución de ácido dihidrojasmonico (350 g) en metanol (700 ml). Entonces la mezcla de reacción se llevó de nuevo a reflujo, se mantuvo a esta temperatura durante dos horas, y después se agitó a temperatura ambiente hasta el día siguiente. Esto dio una mezcla de reacción como una disolución amarilla pálida clara. El metanol se eliminó a vacío para dar el producto como un aceite amarillo pálido. Se añadió propan-2-ol (2 x  
 15 250 ml) y se eliminó a vacío para eliminar cualquier agua residual, y esto proporcionó la sal magnésica del ácido dihidrojasmonico (368 g, >99%) como un sólido amarillo claro.

[0073] La estructura se confirmó usando RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . La RMN  $^1\text{H}$  de la sal de magnesio mostró que el compuesto contenía agua. Un análisis de Karl Fisher confirmó esto, y demostró que la sal de magnesio contenía un  
 20 1,8% de agua y propan-2-ol residual.

### Ejemplo 5

#### Formulación agrícola

25

[0074] La siguiente combinación de componentes se formula adecuadamente conjuntamente para formar los siguientes concentrados:

#### Formulación 1

30

[0075]

dihidrojasmonato magnésico	100 g
ácido acetilsalicílico	100 g
arginina	1.000 g

35

#### Formulación 2

[0076]

40

dihidrojasmonato magnésico	100 g
benzoato sódico	100 g
arginina	100 g

#### Formulación 3

45

[0077]

50

dihidrojasmonato magnésico	100 g
salicilato sódico	200 g
espermina	100 g

Formulación 4

**[0078]**

5	dihidrojasmonato magnésico	100 g
	benzoato sódico	100 g
	L-Arginina	500 g

**[0079]** Estos componentes son todos polvos solubles en agua, y por tanto la formulación por llevarse a cabo mediante una mezcla directa. El concentrado puede entonces mezclarse con un portador tal como agua o un fertilizante y aplicarse a plantas tales como cultivos, o al entorno de las mismas.

**[0080]** La combinación de compuestos de esta formulación está diseñada para combatir el estrés oxidativo, mientras mantiene la integridad de la pared celular. Esto proporciona un aumento en la tolerancia a las condiciones de estrés abiótico, y tiene el beneficio añadido de expresar también ambas respuestas SAR e ISR.

**Ejemplo 6**

**[0081]** Se evaluaron los efectos del estrés sobre las plantas tratadas con la formulación 4 como un empape de suelo. Para la prueba se eligió la lechuga de cultivo *Lactuca sativa* variedad Arctic King. Las plantas de lechuga se hicieron crecer en macetas individuales en cuatro medios de crecimiento diferentes, un suelo arenoso ácido de pH bajo (pH 4,27), un suelo arcilloso de caliza de pH alto (pH 9,35), Lufa 2.2 (pH 5,8) y bloques de crecimiento de lana de roca (inerte).

**[0082]** Las plantas se estresaron con altas temperaturas (30 - 35°C) y bajos niveles de humedad, que provocaron un crecimiento raquítico y clorótico, especialmente en las plantas que crecían en suelo ácido arenoso. Fueron expuestas a una intensidad de luz de 3280 a 10320 Lux según se requería para el buen crecimiento de la planta, con un régimen de luz de 16 horas de luz/8 horas de oscuridad. Las plantas sanas se regaron según lo requerían para mantener la turgencia.

**[0083]** Se disolvió la anterior formulación 4 en agua para producir la formulación 5 como sigue:

Formulación 5

**[0084]**

35	Agua destilada	(99,93% p/p)
	L-Arginina	(00,05% p/p)
	Benzoato sódico	(00,01% p/p)
40	Dihidrojasmonato magnésico	(00,01% p/p)

**[0085]** La formulación 5 se probó sola a las siguientes tasas - 0 (control), tasa de 0,2x, tasa de 1x, tasa de 5x y tasa de 25x, siendo la tasa x de 500 ml de producto/ha. Asumiendo una densidad de plantas de 70.000 plantas de lechuga por hectárea (bibliografía) y a una tasa x de 500 mL de producto por Ha, cada planta recibiría entonces 7,14 mg/producto. Las diluciones del producto se realizaron de forma que cada planta recibía 7 mg (aprox.) en cada dosis diaria para la tasa x.

**[0086]** Todos los tratamientos se aplicaron a las plantas de prueba como disoluciones acuosas y a 10 replicados. Las disoluciones de empape aplicadas en lana de roca se realizaron a volumen con una disolución de Hoaglands debido a la ausencia de nutrientes en este medio. Las disoluciones de empape de los tres suelos se realizaron a volumen en agua desionizada. Cada día se aplicaron 10 mL de disolución a cada platillo de la planta.

**[0087]** En cada intervalo de valoración (antes de la aplicación y semanalmente después), se valoró la altura de las plantas (mm), la etapa de crecimiento (BBCH) y los efectos fitotóxicos. Al final del estudio, se pesaron las raíces y los brotes (frescos y secos).

**[0088]** Los resultados se muestran en las Tablas 1 a 5 y en la Figura 1.

**Tabla: 1 altura de la planta (plant height, P/H) en mm (media de 10 plantas)**

Tipo de suelo	Tasa x de Alethea									
	Control		0,2		1		5		25	
	P/H st <sup>+</sup>	P/H end	P/H st	P/H end						
Arenoso ácido	96	263	98	324	95	324	106	303	98	341 *
	P/H st <sup>+</sup>	P/H end	P/H st	P/H end	P/Hst	P/H end	P/Hst	P/H end	P/Hst	P/H end
Arcilloso de caliza	20	111	21	123	29	123	28	124	26	100
Lana de roca	70	133	81	121	78	148	75	125	103	119
Lufa 2.2	31	110	23	129	23	116	24	94	28	103

Nota: \* significativamente diferente del control basado en la prueba de dos colas ( $P \leq 0,05$ ) + st representa el inicio de la prueba y "end" representa el final de la prueba

**Tabla: 2 etapas de crecimiento de las plantas de prueba (growth stage, G/S) usando el código BBCH (media de 10 plantas)**

Tipo de suelo	Tasa x de Alethea									
	Control		0,2		1		5		25	
	G/S st	G/S end	G/S st	G/S end	G/S st	G/S end	G/S st	G/S end	G/S st	G/S end
Arenoso ácido	16	56,5	16	56,5	16	56,5	16	47	16	57
Arcilloso de caliza	12,5	25,5	12,5	26	12,5	27	12,5	27	12,5	26
Lana de roca	17	34,8	17	37,6	17	41,8	17	37,1	17	32,3
Lufa 2.2	13	26	13	26	13	26	13	26	13	26

5

**Tabla: 3 % de clorosis al final de la valoración**

Tratamiento	% de clorosis			
	Suelo ácido arenoso, 41 días	Arcilloso de caliza, 36 días	Lufa 2.2, 43 días	Lana de roca, 43 días
Control	58	52	21	49
0,2x	56	50	15	39
1x	55	38	18	49
5x	55	33	20	51
25x	54 *	36	19	49

Nota: \* significativamente diferente del control basado en la prueba de dos colas ( $P \leq 0,05$ )

**Tabla: 4 peso medio en seco de los brotes**

Tratamiento	Peso medio en seco de los brotes (g)			
	Suelo ácido arenoso	Suelo arcilloso de caliza	Lufa 2.2	Lana de roca
Control	5,74	2,89	3,16	6,13
0,2x	7,01	3,77	3,06	6,48
1x	6,68	3,13	3,05	3,67 *
5x	5,89	3,19	2,21	6,13
25x	6,14	4,15	2,77	5,18

Nota: \* significativamente diferente del control basado en la prueba de dos colas ( $P \leq 0,05$ )

10

**Tabla: 5 peso medio seco de los brotes**

Tratamiento	Peso medio en seco de los brotes (g)			
	Suelo ácido arenoso	Suelo arcilloso de caliza	Lufa 2.2	Lana de roca
Control	2,77	2,00	1,25	N/A
0,2x	2,61	2,43	1,07	N/A
1x	2,28	2,04	1,07	N/A *
5x	2,62	2,52	1,04	N/A
25x	2,61	2,97	1,26	N/A

Nota: \* significativamente diferente del control basado en la prueba de dos colas ( $P \leq 0,05$ )

**[0089]** Se usó Toxcalc V 05 para determinar cualquier diferencia estadísticamente significativa entre las plantas tratadas y las de control.

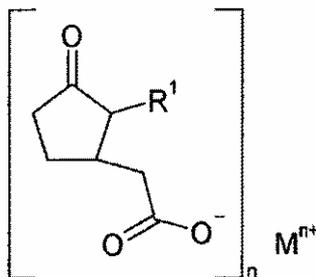
**[0090]** Se observó una mejora significativa en la salud de la planta con respecto a las no tratadas con el tratamiento de 25x (12,5 L/ha) en las plantas con suelo ácido arenoso 42 días después de la primera aplicación. Las mejoras fueron la altura de la planta (341 mm en comparación con los 263 mm en el control) (véase también la Figura 1) y una reducción en la fitotoxicidad (54% de clorosis en comparación con el 58% en el control). La formulación aplicada a todas las tasas como un empape a las plantas en suelo ácido arenoso mejoró la altura de la planta (en un 23%, 23% 15% y 30% a 100 mL/ha, 500 mL/ha, 2.500 mL/ha y 12.500 mL/ha, respectivamente), y aumentó el peso medio en seco de los brotes (en un 22%, 16%, 3% y 7% a 100 mL/ha, 500 mL/ha, 2.500 mL/ha y 12.500 mL/ha, respectivamente).

**[0091]** Se eligió el medio de crecimiento que se observó que más estresaba a las plantas, el suelo ácido arenoso, para su uso en la prueba de aplicación foliar. Las aplicaciones foliares se aplicaron con el uso de un pulverizador manual para asegurar una cobertura uniforme, y se pulverizaron sobre las hojas hasta una incipiente escorrentia. Sin embargo, las plantas tratadas no mostraron una mejora estadísticamente significativa en su salud o en el alivio del estrés o cuando se compararon con las plantas no tratadas en todas las tasas probadas.

**[0092]** En este ensayo, por lo tanto, la formulación 5 produjo una mejora en el crecimiento de la planta y se observó una reducción del estrés (clorosis) en las plantas que crecían en suelo ácido arenoso, cuando se aplicó mediante captación radicular.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición agrícolamente aceptable que comprende: (i) un compuesto que comprende una sal soluble en agua de fórmula (IA)



(IA)

5

en la que R<sup>1</sup> es un grupo n-pentilo o un grupo pent-2-enilo,

M es un catión metálico de valencia n, que es un metal alcalino que es potasio o sodio, o un metal alcalinotérreo que es magnesio; (ii) un reactivo que reduce el estrés de las plantas, que es un compuesto agrícolamente aceptable que  
10 contiene un grupo ácido benzoico o derivados del mismo, en el que el compuesto es ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de metilo, ácido benzoico o acibenzolar-S-metilo, o una sal agrícolamente aceptable de los mismos; y (iii) un antioxidante, que es arginina o putrescina, espermina or espermidina.

2. Una composición según la reivindicación 1 en la que M es potasio o magnesio.

15

3. Una composición según la reivindicación 2 en la que M es magnesio.

4. Una composición según la reivindicación 1 en la que R<sup>1</sup> es un grupo n-pentilo.

20 5. Una composición según la reivindicación 1 en la que el reactivo que reduce el estrés de las plantas es ácido acetilsalicílico.

6. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que comprende dihidrojasmonato magnésico, ácido acetilsalicílico y arginina.

25

7. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la que la proporción entre los componentes (i):(ii):(iii) está en el intervalo de 1:1:1 a 1:2:20 p/p.

30 8. Una composición agrícolamente aceptable que comprende una composición según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un portador agrícolamente aceptable.

9. Un método para mejorar el crecimiento y/o el rendimiento y/o la calidad de plantas superiores durante condiciones de estrés abiótico, método que comprende aplicar a la planta o al entorno de la misma una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

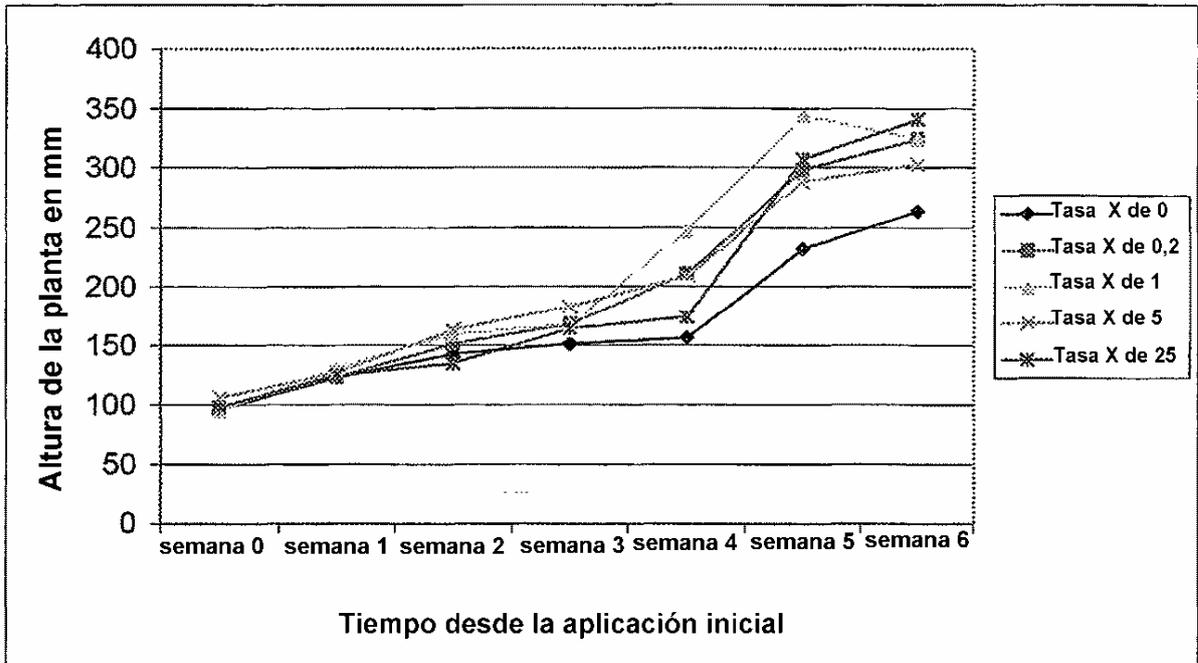
35

10. Un método para mejorar el rendimiento de los fertilizantes de nitrógeno o de los fertilizantes que contienen nitrógeno, comprendiendo dicho método aplicar dichos fertilizantes a plantas o al entorno de las mismas en combinación con una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

40 11. Un método para reducir las pérdidas de cultivos por estrés biótico, método que comprende administrar a una planta o al entorno de la misma una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

12. Una composición fertilizante que incluye una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

Figura 1



**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

*Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.*

**Documentos de patentes citados en la descripción**

- 10 • RU 2212137 C2 [0006] • DD 221059 [0006]  
• RU 2212135 C2 [0006] • DD 215928 [0006]  
• WO 03020028 A [0006] • DD 263914 [0006]  
• DD 276025 [0006]
- 15

**Literatura diferente de patentes citadas en la descripción**

- 20 • CHEMICAL ABSTRACTS, 2003:816064 [0006] • CHEMICAL ABSTRACTS, 2003:816062 [0006]