

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 617 655**

51 Int. Cl.:

A01N 37/02 (2006.01) **C07D 295/185** (2006.01)

A01N 37/06 (2006.01)

A01N 37/10 (2006.01)

A01N 37/18 (2006.01)

A01N 43/36 (2006.01)

A01N 43/40 (2006.01)

A01N 43/46 (2006.01)

C07C 233/05 (2006.01)

C07C 233/06 (2006.01)

C07C 233/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2010** **E 13193523 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016** **EP 2710892**

54 Título: **Uso de sarmentina y sus análogos para controlar malas hierbas**

30 Prioridad:

21.07.2009 US 227412 P

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

19.06.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HUANG, HUAZHANG y
ASOLKAR, RATNAKAR**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 617 655 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

Uso de sarmentina y sus análogos para controlar malas hierbas

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a composiciones y métodos para el control de las malas hierbas usando sarmentina o análogos de la misma como principio activo.

10 **Antecedentes de la invención**

La utilización de herbicidas sintéticos no solo previene la pérdida económica en la producción de alimentos, sino que también mejora la calidad de los productos vegetales (Gianessi, L. P.; Reigner, N. P. The value of herbicides in U.S. crop production, *Weed Technol.* 2007, 21, 559-566). Sin embargo, el uso de herbicidas sintéticos puede causar efectos secundarios sobre el medio ambiente y la salud humana (Solomon, G. M.; y Schettler, T. Environment and health: 6. Endocrine disruption and potential human health implications, *CMAJ*, 2000, 163, 1471-1476.; Stillerman, K. P.; Mattison, D. R.; Giudice, L. C.; Woodruff, T. J. Environmental exposures and adverse pregnancy outcomes: A review of the science. *Reproductive Sci.* 2008, 15, 631 - 650.) excepto que también conduce a un aumento de la resistencia entre muchas especies de malas hierbas (Whaley, C. M.; Wilson, H. P.; Westwood, J. H. A new mutation in plant ALS confers resistance to five classes of ALS-inhibiting herbicides, *Weed Sci.* 2007, 55, 83-90.). Por lo tanto, es muy necesario desarrollar medios alternativos para el control de malas hierbas que sean ecológicos, rentables y eficaces en términos biológicos (Duke, S. O.; Dayan, F. E.; Rimando, A. M.; Schrader, K. K.; Aliotta, G.; Oliva, A.; Romagni, J. G. Chemicals from nature for weed management. *Weed Sci.* 2002, 50, 138-151).

El uso de fitoquímicos naturales es uno de estos medios alternativos (Batish, D. R.; Setia, N.; Singh, H. P.; Kohli, R. K. Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide, *Crop Protection*, 2004, 23, 1209-1214). Debido a las propiedades alelopáticas, muchos de estos productos químicos son liberados al aire o al suelo para matar las malas hierbas vecinas o para inhibir su germinación y/o crecimiento. Estos productos químicos fitotóxicos incluyen compuestos fenólicos (por ejemplo, catequina, ácido elágico, sorgoleona, juglona, ceratiolina, ácido úsnico), terpenoides (por ejemplo, 1,8-cineol, geranial, neral, cinmetilina, solstitialida), cuasinoles (por ejemplo, ailantol, chaparrina, ailantol B), benzoxazinoides (por ejemplo, ácidos hidroxámicos), glucoinولات (por ejemplo, glucohirsutina, hirsutina, arabina), y algunos aminoácidos, tales como *meta*-tirosina (Macias, F. A.; Molinillo, J. M. G.; Varela, R. M.; Galindo, J. C. J. Allelopathy - a natural alternative for weed control. *Pest Manag Sci.*, 2007, 63, 327-348; Bertin, C.; Weston, L. A.; Huang, T.; Jander, G.; Owens, T.; Meinwald, J.; Schroeder, F. C. Grass roots chemistry: meta-Tyrosine, an herbicidal nonprotein amino acid. *PNAS*, 2007, 104, 16964-16969). Entre los herbicidas comercialmente disponibles se incluyen productos basados en aceite de clavo, aceite de citronela y d-limoneno.

40 **El género *Piper***

El género *Piper* en la familia Piperaceae contiene aproximadamente 2.000 especies que se encuentran principalmente en las regiones tropicales. Las plantas de este género son normalmente plantas trepadoras aromáticas finas con raíces leñosas perennes. Los frutos conocidos habitualmente como "*pippali* (pimienta larga)" en la India y "Bi Bo" en China se utilizan como especia y también como conservante en encurtidos. También se utilizan como alimento para el ganado.

En la práctica de la medicina tradicional, se ha defendido que los frutos de *P. longum* son beneficiosos en el tratamiento de enfermedades tales como la gonorrea, el dolor menstrual, la tuberculosis, problemas de sueño, infecciones de las vías respiratorias, dolores crónicos relacionados con los intestinos y afecciones artríticas (Krishnamurthi, A. 1969. The Wealth of India Raw Materials, vol. 8. CSIR, New Delhi, India, pág. 96; Ghoshal, S.; Prasad, B. N. K.; Lakshmi, V. Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against *Entamoeba histolytica* in vitro and in vivo, *J. Ethnopharmacol.* 1996, 50, 167-170; Choi, E.M.; Hwang, J. K. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrid*, *J. Ethnopharmacol.* 2003, 89, 171-175, Mata, R.; Morales, I.; Perez, O.; Rivero-Cruz, I.; Acevedo, L.; Enriquez-Mendoza, I.; Bye, R.; Franzblau, S.; Timmermann, B. Antimycobacterial compounds from *Piper sanctum*, *J. Nat. Prod.* 2004, 67, 1961-1968). Entre otros efectos beneficiosos notificados de *P. longum* se incluyen efectos analgésicos y diuréticos, relajación de la tensión muscular y alivio de la ansiedad (Vedhanayaki, G.; Shastri, G. V.; Kuruvilla, A. Analgesic activity of *Piper longum* Linn. Root, *Ind. J. Exp. Biol.* 2003, 41, 649-651; Das, Biswanath, D.; Kashinatham, A.; Srinivas, K. V. N. S. Alkaloids and other constituents of *Piper longum*, *Planta Med.* 1996, 62, 582). Además, se ha descubierto que la piperonalina de *P. longum* posee actividad larvívica de mosquitos (Yang, Y. C.; Lee, S. G.; Lee, H. K.; Kim, M. K.; Lee, S. H.; Lee, H. S. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae, *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50, 3765-3767).

Se ha aislado un alcaloide de *Piper nigrum* (pimienta), que es una amida de alquenilpiperidina que contiene un alquenileno de C18 con dos o más dobles enlaces. Se ha descubierto que este compuesto inhibe la biosíntesis de micotoxinas. (patente de Estados Unidos N.º 6825216).

Sarmentina

- Inicialmente se separó N-(2E, 4E-decadienoil)pirrolidina (también denominada sarmentina) del fruto de *Piper sarmentosum* en 1987 [Likhitwitayawuid, K., Ruangrunsi, N., Lange, G y Decicco, C., Structural Elucidation and Synthesis of New Components isolated from Piper Samentosum, Tetrahedron 1987 (43) 3689-3694] y también de *Piper nigrum* en 1988 [Kiuchi, F., Nakamura, N., Tsuda, Y., Kondo, K y Yoshimura, H. Studies on Crude Drugs Effective on Visceral Larva Migrans. IV. Isolation and Identification of Larvicidal Principles in Pepper Chemical and Pharmaceutical Bulletin 1988(36):2452], y se sintetizó por primera vez en 1995 [Bernabeu, M., Chinchilla, R. y Najera, C., (2E,4E)-5-Tosyl-2,4-pentadienamides: New Dienic Sulfones for the Stereoselective Synthesis of (2E,4E)-Dienamides, Tetrahedron Letter, 1995 (36)3901-3904]. Se ha descubierto que la sarmentina es un antioxidante **in vivo** de la piel que protege a la piel dañada por la luz [Cornacchione, S.; Sadick, N. S.; Neveu, M.; Talbourdet, S.; Lazou, K.; Viron, C.; Renimel, I.; de Quéral, D.; Kurfurst, R.; Schnebert, S.; Heusèle, C.; André, P.; Perrier E. In vivo skin antioxidant effect of a new combination based on a specific *Vitis vinifera* shoots extract and a biotechnological extract. *J. Drugs in Dermatol.* 2007, 6S, 8-13], muestra actividad de agregación antiplaquetaria [Li, C.Y.; Tsai, W.; Damu, A.G.; Lee, E. J.; Wu, T. S.; Dung, N. X.; Thang, T. D.; Thanh, L. Isolation and identification of antiplatelet aggregatory principles from the leaves of *Piper lolot*, *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 9436-9442], actividades antiplasmodiales y antimicobacteriana [Tuntiwachwuttikul, P.; Phansa, P.; Pootaeng-on, Y.; Taylor, W. C. Chemical constituents of the roots of *Piper Sarmentosum*, *Chem. Pharm. Bull.* 2006, 54, 149-151] y actividad antituberculosis [Rukachaisirikul, T.; Siriwattanakit, P.; Sukcharoenphol, K.; Wongvein, C.; Ruttanaweang, P.; Wongwattanavuch, P.; Suksamrarn, A. Chemical constituents and bioactivity of *Piper sarmentosum*, *J. Ethnopharmacol.*, 2004, 93, 173-176]. La sarmentina se utiliza como solubilizante de compuestos hidrófobos en cosméticos y productos farmacéuticos (Stephen, T.; Andrew, H. Compositions comprising macromolecular assemblies of lipid surfactant, publicación PCT N.º WO/2008/065451).
- La técnica anterior adicional se refiere a Miyakado, Mazakazu et al. (Resúmenes químicos, 12 de mayo de 1984), que describe la síntesis de pelitorina mediante una reacción de acoplamiento cruzado de alqueni-alqueniilo y actividades insecticidas de sus análogos de amida. El documento GB 2247621 describe composiciones herbicidas que comprenden un ácido carboxílico alifático, una sal del mismo y un alcohol, en el que el ácido y las sales comprenden una mezcla de ácidos decanoico y nonanoico. Toshiake Matsuzaki et al (*Agricultural and Biological Chemistry*, 52, 8:1899, 1988) describen la inhibición de la germinación y del crecimiento de acilnornicotinas de la sección repandae del género *Nicotiana* y acilnornicotinas sintéticas.

Breve resumen de la invención

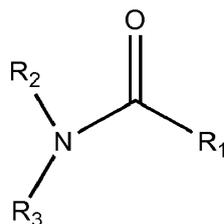
- La invención se refiere a un método para controlar una mala hierba monocotiledónea, ciperácea, o dicotiledóneas que comprende aplicar a la mala hierba una cantidad de una sarmentina o un análogo de sarmentina eficaz para el control de la mala hierba, en el que dicho análogo de sarmentina se selecciona de N-(decanoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, N-(*trans*-cinamoil)pirrolidina, N-(*trans*-cinamoil)piperidina, (2E, 4Z-decadienoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)hexametenimina, N-(decanoil)hexametenimina y N-(decanoil)hexametenimina, en el que la sarmentina o el análogo sarmentina se aplica mediante aplicación foliar.

- La invención se refiere además a una composición herbicida que comprende (a) sarmentina o un análogo de sarmentina eficaz para el control de la mala hierba, en el que dicho análogo de sarmentina se selecciona de N-(decanoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, N-(*trans*-cinamoil)pirrolidina, N-(*trans*-cinamoil)piperidina, (2E, 4Z-decadienoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)hexametenimina, N-(decanoil)hexametenimina y N-(decanoil)hexametenimina; y (b) uno o más de otros agentes herbicidas para su uso en la modulación de la emergencia de malas hierbas.

- En una realización particular, el análogo o análogos de sarmentina que se pueden usar en las composiciones y métodos de la presente invención tienen sustancialmente la misma actividad que la sarmentina. Tal como se define en el presente documento "sustancialmente la misma actividad que la sarmentina" significa que tiene al menos aproximadamente 80 % de la actividad fitopatogénica y/o herbicida de la sarmentina y, preferiblemente, al menos aproximadamente un 90 % de la actividad fitopatogénica y/o herbicida de la sarmentina y, aún más preferiblemente, al menos aproximadamente un 95 % de la actividad fitopatogénica y/o herbicida de la sarmentina.

- Los análogos de sarmentina incluyen N-(decanoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, N-(*trans*-cinamoil)pirrolidina, (2E,4Z-decadienoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)hexametenimina, N-(decanoil)hexametenimina, y N-(decanoil)hexametenimina.

- En el presente documento se divulgan análogos de sarmentina aislados que tienen la estructura:



5 en la que R1 es un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, heterociclilo, un grupo arilo aromático, NH-sustituido, o N, N-sustituido, la longitud de cadena de R1 puede ser de 4 a 20 átomos, la longitud preferida será de 6 a 12 átomos;

10 en la que R2 y R3 son alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, arilalquilo, aromático, heterociclilo o heteroarilo o R2 + R3 + N pueden ser un anillo heterocíclico o heteroarilo que contiene N que consiste en entre 3-18 átomos y, preferiblemente, entre 5 y 8 átomos.

15 En una realización más particular, el análogo de sarmentina aislado incluye pero no se limita a: (2E,4Z-decadienoil)pirrolidina; (2E,4Z-decadienoil)hexametenilimina y N-(decenoil)hexametenilimina.

20 Las composiciones de la presente invención comprenden además uno o más de otros herbicidas o agentes de modulación fitopatogénicos. La invención también se refiere a los usos de uno o más de sarmentina y/o sus análogos para la preparación de una composición para su uso como un agente herbicida antes o después de la emergencia.

25 En el presente documento también se divulga un método para modular la infección por fitopatógenos en una planta, que comprende aplicar a la planta y/o a semillas de la misma y/o al sustrato utilizado para el crecimiento de dicha planta una cantidad de una sarmentina y/o sus análogos eficaces para modular dicha infección fitopatogénica. El sustrato para el cultivo de dicha planta en una realización particular puede incluir, pero no se limita a los mismos, suelo, un sustrato de crecimiento artificial, agua o sedimentos.

30 En otra realización particular, la invención se refiere a un método para modular la emergencia de malas hierbas monocotiledóneas o dicotiledóneas en un sustrato, que comprende aplicar a las malas hierbas una cantidad de un sarmentina y/o sus análogos eficaces para modular la emergencia de malas hierbas monocotiledóneas o dicotiledóneas en el sustrato. El sustrato puede incluir, pero no se limitan a los mismos, suelos, un sustrato artificial de crecimiento (por ejemplo, sistema de cultivo de arroz), agua o sedimentos. La sarmentina y/o sus análogos se pueden aplicar a las malas hierbas después de la emergencia de dicha(s) malas hierbas. Las malas hierbas pueden ser malas hierbas de hoja ancha y/o de hierba. En una realización particular, las malas hierbas están en un sistema de cultivo de arroz y la mala hierba es una o más malas hierbas del arroz.

35 En una realización más particular, la sarmentina y/o sus análogos se aplica en una cantidad de aproximadamente 0,005 mg/ml a aproximadamente 20 mg/ml. En una realización más particular, la sarmentina y/o sus análogos se aplican en una cantidad de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 15 mg/ml. En una realización todavía más particular, la sarmentina y/o sus análogos se aplican en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml.

40 Descripción detallada de la invención

45 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta el décimo de una unidad del límite inferior a menos que el contexto indique claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de dicho intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en dicho intervalo indicado, entra dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos menores pueden incluirse de forma independiente en los intervalos más pequeños y también entran dentro de la invención, sujetos a cualquier límite excluido específicamente en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen uno o los dos límites incluidos también están incluidos en la invención.

50 A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que un experto en la técnica a la que esta invención pertenece entiende habitualmente. Aunque en la práctica o análisis de la presente invención también se pueden usar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación se describen los procedimientos y materiales preferidos.

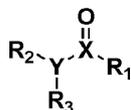
55 Cabe destacar que, como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "uno", "una" y "el" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

Tal como se define en el presente documento, el término "modular" se usa para significar la alteración de la cantidad de la infección fitopatogénica o la velocidad de propagación de la infección fitopatogénica.

Sarmentina y sus análogos

5

La sarmentina y/o sus análogos divulgados en el presente documento pueden tener la siguiente estructura:



10 e la que X incluye, pero no se limita a los mismos, azufre, fósforo, boro o carbono; Y incluye, pero no se limita a los mismos, carbono, oxígeno, nitrógeno, azufre, boro o fósforo; R₁ incluye, pero, no está limitado a los mismos, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, alquilo, alcoxi, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, aromático, arilalquilo, heterociclilo y heteroarilo; R₂ incluye, pero no está limitado a los mismos, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, alquilo, alcoxi, alqueno, alquino, cicloalquilo, aromático, arilalquilo, heterociclilo y heteroarilo; R₃ incluye, pero no está
15 limitado a los mismos, hidrógeno, hidroxilo, halógeno, alquilo, alcoxi, alqueno, alquino, cicloalquilo, aromático, arilalquilo, heterociclilo y heteroarilo; en la que R₂ + R₃ + Y pueden ser un anillo cíclico o heterociclilo que contiene 4-50 átomos. Cada uno de éstos está opcionalmente sustituido.

20 Tal como se utiliza aquí, el término "alquilo" se refiere a un radical hidrocarburo saturado que puede ser de cadena lineal o de cadena ramificada (por ejemplo, etilo, isopropilo, t-amilo, o 2, 5-dimetilhexilo, etc.). Esta definición se aplica tanto cuando el término se utiliza solo como cuando se utiliza como parte de un término compuesto.

25 Los términos "cicloalquilo" y "cicloalqueno" se refieren a un anillo de hidrocarburo saturado e incluye anillos bicíclicos y policíclicos. Del mismo modo, los grupos cicloalquilo y cicloalqueno que tienen un heteroátomo (por ejemplo, N, O, o S) en lugar de un átomo de anillo de carbono pueden denominarse "heterocicloalquilo", "heterociclilo", y "heterocicloalqueno", respectivamente.

30 El término "alqueno", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo como se ha descrito anteriormente que contiene uno o más sitios de insaturación que es un doble enlace. De un modo similar, el término "alquino", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo como se ha descrito anteriormente que contiene uno o más sitios de insaturación que es un triple enlace.

35 El término "alcoxi" se refiere a un radical alquilo, tal como se ha descrito anteriormente, que también lleva un sustituyente de oxígeno que es capaz de unirse de forma covalente a otro radical hidrocarburo (tales como, por ejemplo, metoxi, etoxi, ariloxi, y t-butoxi).

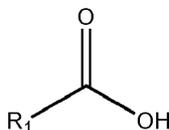
40 El término "arilo" se refiere a un sustituyente carbocíclico aromático que puede ser un solo anillo o múltiples anillos que están condensados, unidos covalentemente o unidos a un grupo común, tal como un resto etileno o metileno. Del mismo modo, los grupos arilo que tienen un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S) en lugar de un átomo de anillo de carbono se conocen como "heteroarilo".

45 Los términos "arilalquilo", "arilalqueno" y "arilalquino" se refieren a un radical arilo unido directamente a un grupo alquilo, un grupo alqueno, o un átomo de oxígeno que está unido a un grupo alquilo, respectivamente. Por razones de brevedad, se entiende que arilo, como parte de un término combinado como anteriormente, incluye heteroarilo también.

50 Los términos "halo" y "halógeno", por sí solos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se indique lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Adicionalmente, con los términos tales como "haloalquilo" se pretende incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo.

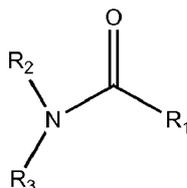
55 El término "hetero", como se usa en un "grupo alquilo que contiene heteroátomos" (es decir, un grupo "heteroalquilo") o un "grupo arilo que contiene heteroátomos" (es decir, un grupo "heteroarilo") se refiere a una molécula, enlace o sustituyente en el que uno o más átomos de carbono se reemplazan con un átomo distinto de carbono, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, o silicio.

En el presente documento se divulgan análogos de sarmentina que tienen la siguiente estructura:



en la que R₁ es un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, heterociclilo, grupo arilo aromático, sustituido con NH, o sustituido con N, N. En una realización específica, R₁ es un resto alquilo o alquenilo que contiene de 4 a 20 átomos y, preferiblemente, de 6 a 12 átomos. En una realización más específica, R₁ es un grupo alquilo C₅₋₁₅ o alquenilo C₅₋₁₅. En una realización todavía más específica, R₁ es un grupo alquilo C₆₋₁₂ o alquenilo C₆₋₁₂. Posibles alquenilos incluyen, pero no se limitan a los mismos, ácidos grasos alquenilo lineales, ácidos grasos alquenilo ramificados, ácidos grasos sustituidos con cicloalquienilo (por ejemplo, ácido ciclohexenilpropanoico, ácido ciclohexenilbutanoico, ácido ciclohexenilpentanoico etc.), heterocicloalquienilo (por ejemplo, ácido 4- [1,2, 3, 4-tetrahidropiridinilo]butanoico).

También se divulgan análogos de sarmentina que tienen la siguiente estructura:



en la que R₁ es un grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, heterociclilo, un grupo arilo aromático, NH-sustituido, o N, N-sustituido, la longitud de cadena de R₁ puede ser de 4 a 20 átomos, la longitud preferida será de 6 a 12 átomos.

En la que R₂ y R₃ son alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, aromático, arilalquilo, heterociclilo o heteroarilo; o, como alternativa, R₂ + R₃ + N puede ser un resto heterocíclico que contiene N.

Un experto en la técnica apreciará que está incluido cualquiera de los materiales que contienen derivados de sarmentina para el tratamiento de malas hierbas o fitopatógenos. Los derivados de sarmentina en estos materiales pueden ser naturales y/o sintetizados.

En ciertas realizaciones, los derivados de sarmentina naturales se pueden obtener a partir de plantas, hongos, bacterias y suelos. En una realización particular, la sarmentina y sus análogos utilizados en el método de la presente invención pueden obtenerse a partir de los frutos, hojas, tallos y raíces de cualquier especie de *Piper*. En una realización más particular, entre los ejemplos de especies de *Piper* que pueden contener derivados de sarmentina se incluyen, pero no se limitan a las siguientes especies, tales como *Piper aborescens*, *P. acutisleginum*, *P. aduncum*, *P. amalago*, *P. argyrophyllum*, *P. attenuatum*, *P. auranticaum*, *P. austrosinense* T., *P. arboricola* C. DC., *P. banksii*, *P. bartlingianum*, *P. betle* L., *P. boehmeriifolium* var. *tonkinense* C. DC., *P. brachystachyum*, *P. callosum*, *P. chaba*, *P. chiadoense*, *P. cubeba* L., *P. damiaoshaneense*, *P. demeraranum*, *P. falconeri*, *P. futokadsura*, *P. guayranum*, *P. guineense*, *P. hainanense* Hemsl. in F.B. Forbes and Hemsl., *P. hamiltonii*, *P. hancei* Maxim., *P. khasiana*, *P. kadsura* (Choisy) Ohwi, *P. laetispicum* C. DC., *P. longum* L., *P. longum* var. ("pipal redondo"), *P. macropodum*, *P. manii*, *P. martinii* C. DC., *P. methysticum*, *P. nepalense*, *P. novae hollandiae*, *P. nigrum* L., *P. nudibaccatum* Y.C. Tseng, *P. officinarum*, *P. peepuloides*, *P. pedicellosum*, *P. poneseense* C. DC., *P. puberulilimum* C. DC., *P. puberulum* (Benth) Maxim., *P. pubicatulum* C. DC., *P. ridleyi*, *P. rugosum*, *P. retrofractum* Vahl, *P. ribesoides*, *P. sanctum*, *P. sarmentosum* R., *P. schmidtii*, *P. semiimmersum* C. DC., *P. sintenense*, *P. spirei* C. DC., *P. syvaticum*, *P. thomsoni*, *P. verruscousum*, *P. trichostachyon*, *P. wallichii* (Miq.), *P. wightii* [Parma, V., Jain, S., Bisht, K., Jain, R., Poonam, T., Jha, A., Tyagi, O., Prasad, A., Wengel, J., Olsen, C. y Boll., P., Phytochemistry of the Genus Piper, Phytochem. 1997 (46) 597-673; Parma, V., Jain, S., Gupta, S., Talwar, S., Rajwanshi, V., Kumar, R., Azim, A., Malhotra, S., Kumar, N., Jain, R., Sharma, N., Tyagi, O., Lawrie, S., Errington, W., Howarth, O., Olsen, C., Singh, S. and Wengel, J. Polyphenols and Alkaloids from Piper Species Phytochem. 1998 (49) 1069-1078]. Los derivados de sarmentina también se pueden obtener de microorganismos tales como **Actinomicetos** [Cho, J., Williams, P., Kwon, H., Jensen, P., y Fenical, W., Lucentamycins A-D, Cytotoxic Peptides form the Marine-Derived Actinomycete *Nocardopsis lucentensis*, J. Nat. Prod., 2007 (70) 1321-1328; Askolar, R., Jensen, P., Kauffman, C., y Fenical, W., Daryamides A-C, Weakly Cytotoxic Polyketides form a Marine-Derived Actinomycete of the Genus *Streptomyces* Strain CNQ-085, J. Nat. Prod., 2006 (69), 1756-1759].

Los derivados de sarmentina pueden extraerse y purificarse en cualquier medio físico y químico de a partir de *Piper longum* usando los procedimientos expuestos en el Ejemplo, más adelante, o utilizando procedimientos conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Likhitwitayawuid, K., Ruangrungsi, N, Lange, G and Decicco, C., Structural Elucidation and Synthesis of New Components isolated from Piper Sarmentosum Tetrahedron 1987 (43) 3689-3694 y Kiuchi, F., Nakamura, N., Tsuda, Y., Kondo, K and Yoshimura, H. Studies on Crude Drugs Effective on Visceral Larva Migrans. IV. Isolation and Identification of Larvicidal Principles in Pepper Chemical and Pharmaceutical Bulletin 1988(36):2452]. También se pueden sintetizar químicamente usando, por ejemplo, el método expuesto en [Bernabeu, M., Chinchilla, R. y Najera, C., (2E,4E)-5-Tosyl-2,4-pentadienamides: New Dienic Sulfones for the Stereoselective Synthesis of (2E,4E)-Dienamides, Tetrahedron Letter, 1995 (36)3901-]. En una realización particular, una muestra de *Piper longum* se somete a extracción con un alcohol alquilo, preferiblemente metanol. La sarmentina se aísla a continuación del extracto mediante, por ejemplo, cromatografía en columna, más particularmente mediante HPLC y las fracciones que contienen la sarmentina se identifican mediante, por ejemplo,

bioensayo.

En una realización particular, el compuesto utilizado puede ser sarmentina, también conocida como N-(2E, 4E-decadienoil)pirrolidina. La sarmentina natural puede existir tanto en extractos vegetales como en forma purificada. El análogo de sarmentina también puede ser N-(decanoil)pirrolidina, N-(decenoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, N-(trans-cinamoil)pirrolidina, (2E,4Z-decadienoil)pirrolidina, N-(decenoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)hexametenimina, N-(decenoil)hexametenimina, y N-(decanoil)hexametenimina.

Formulaciones

Las composiciones herbicidas que contienen sarmentina y/o análogo de sarmentina (también denominados, como alternativa, "formulaciones") se pueden formular en cualquier forma. Entre los ejemplos no limitantes de formulaciones se incluyen concentrados emulsionables (CE), polvos humectables (PH), líquidos solubles (LS), aerosoles, soluciones concentradas de volumen ultrabajo (bus), polvos solubles (PS), microencapsulación, gránulos dispersos en agua, fluidos (FL), microemulsiones (ME), nanoemulsiones (NE), etc. En cualquier formulación descrita en el presente documento, el por ciento de sarmentina y/o sus análogos está dentro de un intervalo de 0,01 % a 99,99 %. En una realización particular, las formulaciones pueden estar libres de agentes tensioactivos.

Las composiciones de la invención pueden comprender además un vehículo y/o diluyente. El término, "vehículo", tal como se usa en el presente documento, significa un material inerte, orgánico o inorgánico, con el que el principio activo se mezcla o se formula para facilitar su aplicación al suelo, semilla, planta u otro objeto que se va a tratar, o su almacenamiento, transporte y/o manipulación. Entre los ejemplos de vehículos portadores para su utilización en la aplicación a los sustratos de crecimiento se incluyen, pero no se limitan a los mismos, carbón activo, harina de gluten de maíz, harina de soja, vermiculita, bentonita, caolinita, germen de trigo, cáscaras de almendras, harina de semilla de algodón, tierra de Fuller, pulpa de naranja, cáscara de arroz, aserrín, goma arábica, etc. Si se desea, los aceites esenciales de plantas, tales como canela, clavo, tomillo (eugenol como principio activo), gaulteria, éster de metilo de soja, citronela y aceite de pino, aceite de cítricos (1-limoneno como principio activo) y similares, pueden incluirse en los gránulos. Como se ha indicado anteriormente, el principio activo solo o en presencia de los vehículos portadores, se puede disolver en, por ejemplo, agua o disolvente orgánico, tal como etanol, ácido fórmico o etanol.

En realizaciones adicionales, la sarmentina y sus análogos se oxidan ellos mismos fácilmente debido a dos dobles enlaces conjugados. Esto se prueba por el hecho de que la sarmentina puede ser un antioxidante *in vivo* de la piel que protege a la piel dañada por la luz 11 [Cornacchione, S. ; Sadick, N. S. ; Neveu, M. ; Talbourdet, S. ; Lazou, K. ; Viron, C. ; Renimel, I.; de Queral, D.; Kurfurst, R.; Schnebert, S.; Heusele, C.; Andre, P.; Perrier, E., *In vivo skin antioxidant effect of a new combination based on a specific Vitis vinifera shoot extract and a biotechnological extract*, J. drugs in Dermatol. 2007 (6 suppl) S8-13]. Por lo tanto, se puede añadir cualquier antioxidante a la formulación que contiene sarmentina y/o sus análogos para reforzar y/o prolongar la actividad fitotóxica. Entre los ejemplos no limitantes de antioxidantes se incluyen alfa tocoferol, beta caroteno, ácido ascórbico, óxido de cinc, óxido de titanio, extracto de *Gynostemma pentaphyllum*, extracto del fruto de *Vaccinium angustifolium* (arándano), extracto de corteza de *Pinus strobus*, raponticina, extracto de plancton, extracto de *Monostroma* sp.r, extracto de algas, venuceane, ácido rosmarínico, y cualquier otro extractos o antioxidante vegetal.

Entre los ejemplos de fitopatógenos controlados por sarmentina y/o sus análogos se incluyen, pero no se limitan a los mismos, virus de plantas, hongos o bacterias fitopatogénicos, insectos o nematodos. En una realización específica, los virus incluyen, pero no se limitan a los mismos, TMV, virus del mosaico del tabaco o del pepino, virus de la mancha anular, virus de necrosis, virus del mosaico del maíz enano. Entre los hongos fitopatogénicos se incluyen, pero sin limitaciones a los mismos, *Fusarium* sp., *Botrytis* sp., *Monilinia* sp., *Colletotrichum* sp, *Verticillium* sp.; *Microphomina* sp., y *Phytophthora* sp., *Mucor* sp., *Rhizoctonia* sp., *Geotrichum* sp., *Phoma* sp., y *Penicillium* sp. Entre las bacterias fitopatogénicas se incluyen, pero sin limitaciones a los mismos, *Bacillus* sp. o *Xanthomonas* sp.

Entre los nematodos que pueden controlarse se incluyen, pero no se limitan a los mismos, nematodos parásitos tales como nematodos de los nudos radiculares, quistes y lesiones, incluyendo *Heterodera* y *Globodera* sp. ; particularmente *Globodera rostochiensis* y *G. pallida* (nematodos del quiste de la patata); *Heterodera glycines* (nematodo del quiste de la soja); *H. schachtii* (nematodo del quiste de la remolacha); y *H. avenae* (nematodo del quiste de los cereales).

Entre los insectos fitopatogénicos controlados se incluyen, pero no se limitan a los mismos, insectos del orden (a) lepidópteros, por ejemplo, *Acleris* sp., *Adoxophyes* sp., *Aegeria* sp., *Agrotis* sp., *Alabama argillaceae*, *Amylois* sp., *Anticarsia gemmatalis*, *Archips* sp., *Argyrotaenia* sp., *Autographa* sp., *Busseola fusca*, *Cadre cautella*, *Carposina nipponensis*, *Chilo* sp., *Choristoneura* sp., *Clysia ambiguella*, *Cnaphalocrocis* sp., *Cnephasia* sp., *Cochylis* sp., *Coleophora* sp., *Crocidolomia binotalis*, *Cryptophlebia leucotreta*, *Cydia* sp., *Diatraea* sp., *Diparopsis castanea*, *Earias* sp., *Ephestia* sp., *Eucosma* sp., *Eupoecilia ambiguella*, *Euproctis* sp., *Euxoa* sp., *Grapholita* sp., *Hedya nubiferana*, *Heliothis* sp., *Hellula undalis*, *Hyphantria cunea*, *Keiferia lycopersicella*, *Leucoptera scitella*, *Lithocolletis* sp., *Lobesia botrana*, *Lymantria* sp., *Lyonetia* sp., *Malacosoma* sp., *Mamestra brassicae*, *Manduca sexta*, *Operophtera* sp., *Ostrinia nubilalis*, *Pammene* sp., *Pandemis* sp., *Panolis flammea*, *Pectinophora gossypiella*, *Phthorimaea operculella*, *Pieris rapae*, *Pieris* sp., *Plutella xylostella*, *Prays* sp., *Scirpophaga* sp., *Sesamia* sp.,

Sparganothis sp., *Spodoptera* sp., *Synanthedon* sp., *Thaumetopoea* sp., *Tortrix* sp., *Trichoplusia ni* y *Yponomeuta* sp.; (b) coleópteros, por ejemplo, *Agriotes* sp., *Anthonomus* sp., *Atomaria linearis*, *Chaetocnema tibialis*, *Cosmopolites* sp., *Curculio* sp., *Dermestes* sp., *Diabrotica* sp., *Epilachna* sp., *Eremnus* sp., *Leptinotarsa decemlineata*, *Lissorhoptrus* sp., *Melolontha* sp., *Oryzaephilus* sp., *Otiorynchus* sp., *Phlyctinus* sp., *Popillia* sp., *Psylliodes* sp., *Rhizopertha* sp., *Scarabeidae*, *Sitophilus* sp., *Sitotroga* sp., *Tenebrio* sp., *Tribolium* sp. y *Trogoderma* sp.; (c) ortópteros, por ejemplo *Blatta* sp., *Blattella* sp., *Grylotalpa* sp., *Leucophaea maderae*, *Locusta* sp., *Periplaneta* sp. and *Schistocerca* sp.; (d) isópteros, por ejemplo *Reticulitermes* sp.; (e) psocópteros, por ejemplo, *Liposcelis* sp.; (f) anopluros, por ejemplo, *Haematopinus* sp., *Linognathus* sp., *Pediculus* sp., *Pemphigus* sp. y *Phylloxera* sp.; (g) malófagos, por ejemplo, *Damalinea* sp. y *Trichodectes* sp.; (h) tisanópteros, por ejemplo, *Frankliniella* sp., *Hercinotrips* sp., *Taeniothrips* sp., *Thrips palmi*, *Thrips tabaci* y *Scirtothrips aurantii*; (i) heterópteros, por ejemplo, *Cimex* sp., *Distantiella theobroma*, *Dysdercus* sp., *Euchistus* sp., *Eurygaster* sp., *Leptocoris* sp., *Nezara* sp., *Piesma* sp., *Rhodnius* sp., *Sahlbergella singularis*, *Scotinophara* sp. y *Tnatomia* sp.; (j) homópteros, por ejemplo, *Aleurothrixus floccosus*, *Aleyrodes brassicae*, *Aonidiella* sp., *Aphididae*, *Aphis* sp., *Aspidiotus* sp., *Bemisia tabaci*, *Ceroplaster* sp., *Chrysomphalus aonidium*, *Chrysomphalus dictyospermi*, *Coccus hesperidum*, *Empoasca* sp., *Eriosoma larigerum*, *Erythroneura* sp., *Gascardia* sp., *Laodelphax* sp., *Lecanium corni*, *Lepidosaphes* sp., *Macrosiphus* sp., *Myzus* sp., *Nephotettix* sp., *Nilaparvata* sp., *Paratoria* sp., *Pemphigus* sp., *Planococcus* sp., *Pseudaulacaspis* sp., *Pseudococcus* sp., *Psylla* sp., *Pulvinaria aethiopica*, *Quadraspidotus* sp., *Rhopalosiphum* sp., *Saissetia* sp., *Scaphoideus* sp., *Schizaphis* sp., *Sitobion* sp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Triozia erytrae* y *Unaspis citri*; (k) himenópteros, por ejemplo, *Acromyrmex*, *Atta* sp., *Cephus* sp., *Diprion* sp., *Diprionidae*, *Gilpinia polytoma*, *Hoplocampa* sp., *Lasius* sp., *Monomorium pharaonis*, *Neodiprion* sp., *Solenopsis* sp. y *Vespa* sp.; (1) dípteros, por ejemplo, *Aedes* sp., *Antherigona soccata*, *Bibio hortulanus*, *Calliphora erythrocephala*, *Ceratitis* sp., *Chrysomyia* sp., *Culex* sp., *Cuterebra* sp., *Dacus* sp., *Drosophila melanogaster*, *Fannia* sp., *Gastrophilus* sp., *Glossina* sp., *Hypoderma* sp., *Hyppobosca* sp., *Liriomyza* sp., *Lucilia* sp., *Melanagromyza* sp., *Musca* sp., *Oestrus* sp., *Orseolia* sp., *Oscinella frit*, *Pegomyia hyoscyami*, *Phorbia* sp., *Rhagoletis pomonella*, *Sciara* sp., *Stomoxys* sp., *Tabanus* sp., *Tannia* sp. y *Tipula* sp.; (m) sifonápteros, por ejemplo, *Ceratophyllus* sp. y *Xenopsylla cheopis* y (n) del orden *Thysanura*, por ejemplo *Lepisma saccharina*. Los ingredientes activos divulgados en el presente documento pueden utilizarse además para controlar los escarabajos pulga de crucíferas (*Phyllotreta* sp.), gusanos de las raíces (*Delia* sp.), gorgojo de cebada (*Ceutorhynchus* sp.) y áfidos en cultivos de semillas oleaginosas, tales como colza, semillas de mostaza e híbridos de los mismos, así como arroz y maíz. La sarmentina y/o sus análogos en estos materiales pueden ser el único o los únicos principios activos o una mezcla con cualquier otro compuesto fitopatógeno y/o herbicida. En algunas realizaciones, los ejemplos de herbicidas naturales que pueden usarse con sarmentina y sus análogos incluyen catequina, ácido eláxico, sorgoleona, juglona, ceratiolina, ácido usnico, 1,8-cineol, geranial, neral, cinmetilina, solstitiolida, ailantona, chaparrina, ailantinol B, ácidos hidroxámicos, glucohirsutina, hirsutina, arabina, *meta*-tirosina. El porcentaje de sarmentina y/o sus análogos en estas composiciones puede estar dentro de un intervalo de 0,01 % a 99,99 %.

En otras realizaciones, entre los ejemplos de herbicidas sintéticos que pueden usarse con sarmentina y/o su análogo se incluyen herbicidas ariloxifenoxipropiónicos (por ejemplo, clorazifop, clodinafop, clofop, cihalofop, diclofop, fenoxaprop, fenoxaprop-P, fenthiaprop, fluazifop, fluazifop-P, haloxifop, haloxifop-P, isoxapirifop, metamifop, propaquizafop, quizalofop, quizalofop-P y trifop); herbicidas de ácido benzoico (por ejemplo, cloramben, dicamba, 2,3,6-TBA y tricamba); herbicidas de alquilsulfonato de benzofuranilo (por ejemplo, benfuresato y etofumesato); herbicidas de benzoilciclohexanodiona (por ejemplo, mesotriona, sulcotriona, tefuriltriona y tembotriona); herbicidas de carbamato ((por ejemplo, asulam, carboxazol clorprocarb, diclormate, fenasulam, karbutilato y terbutcarb); herbicidas de carbanilato (por ejemplo, barban, BCPC, carbasulam, carbetamida, CEPC, clorbufam, clorprofam, CPPC, desmedifam, fenisofam, fenmedifam, fenmedifam-etilo, profam); herbicidas de ciclohexeno oxima (por ejemplo, aloxidim, butoxidim, cletodim, cloproxidim, cicloxidim, profoxidim, setoxidim, tepraloxidim y tralkoxidim); herbicidas de ciclopropilisoxazol (por ejemplo, isoxaclortol e isoxaflutol); herbicidas de dicarboximida (por ejemplo, benzfendizona, cinidon-etilo, flumezina, flumiclorac, flumioxazina y flumipropin); herbicidas de dinitroanilina (por ejemplo, benfluralina, butralina, dinitramina, etalfluralina, fluclorealina, isopropalina, metalpropalina, nitalina, orizalina, pendimetalina, prodiamina, profluralina y trifluralina); herbicidas de dinitrofenol (por ejemplo, dinofenato, dinoprop, dinosam, dinoseb, dinoterb, DNOC, etinofen y medinoterb); herbicidas de ditiocarbamato (por ejemplo, dazomet y metam); herbicidas alifáticos halogenados de tales como alorac, cloropon, dalapon, flupropanato, hexacloroacetona, iodometano, bromuro de metilo, ácido monocloroacético, SMA y TCA); herbicidas de imidazolinona (por ejemplo, imazametabenz, imazamox, imazapic, imazapir, imazaquin e imazetapir); herbicidas inorgánicos (por ejemplo, sulfamato amónico, borax, clorato de calcio, sulfato de cobre, sulfato ferroso, azida potásica, cianato de potasio, azida sódica, clorato de sodio y ácido sulfúrico); herbicidas de nitrofeniléter (por ejemplo, acifluorfen, aclonifen, bifenox, clometoxifen, clornitrofen, etnipromid, fluorodifen, fluoroglicofen, fluoronitrofen, fomesafen, furiloxifen, halosafen, lactofen, nitrofen, nitrofluorfen y oxifluorfen); herbicidas de nitrilo (por ejemplo, bromobonilo, bromoxinilo, cloroxinilo, diclobenilo, yodobonilo, ioxinilo y piraclonilo); herbicidas organofosforados (por ejemplo, amiprofos-metilo, anilofos, bensulida, bilanafos, butamifos, 2,4-DEP, DMPA, EBEP, fosamina, glufosinato, glifosato y piperofos); herbicidas fenoxi (por ejemplo, bromofenoxim, clomeprop, 2,4-DEB, 2,4-DEP, difenopenten, disul, erbon, etnipromid, fenteracol y trifopsima); herbicidas fenoxiacéticos (por ejemplo, 4-CPA, 2,4-D, 3,4-DA, MCPA, MCPA-tioetilo y 2,4,5-T); herbicidas fenoxibutíricos (por ejemplo, 4-CPB, 2,4-DB, 3,4-DB, MCPB y 2,4,5-TB); herbicidas fenoxipropiónicos (por ejemplo, cloprop, 4-CPP, diclorprop, diclorprop-P, 3,4-DP, fenoprop, mecoprop y mecoprop-P); herbicidas de fenilendiamina (por ejemplo, dinitramina y prodiamina); herbicidas de ácido picolínico (por ejemplo, aminopirialid, clopiralid y picloram); herbicidas de pirazolilo (por ejemplo, benzofenap, pirazolinato, pirasulfotol, pirazoxifen,

5 piroxasulfona y topamezona); herbicidas de pirazoliifenilo (por ejemplo, fluazolato y pirafufen; herbicidas de piridazina, tales como credazina, piridafol y piridato); herbicidas de piridazinona (por ejemplo, brompirazon, cloridazon, dimidazon, flufenpir, metflurazon, norflurazon, oxapirazon y pidanon); herbicidas de piridina (por ejemplo, cliodinato, ditiopir, fluroxipir, haloxidina, picolinafen, pirciclor, tiazopir y triclopir); herbicidas de pirimidindiamina (por ejemplo, iprimidam y tioclorim); herbicidas de amonio cuaternario (por ejemplo, ciperquat, dietamquat, difenzoquat, diquat, morfamquat y paraquat); herbicidas de ácido pirimidiniloibenzoico (por ejemplo, bispiribac y pyriminobac); herbicidas de tiocarbamato (por ejemplo, butilato, cicloato, di-alato, EPTC, esprocarb, etiolato, isopolinato, metiobencarb, molinato, orbencarb, pebulato, prosulfocarb, pibuticarb, sulfalato, tiobencarb, tiocarbazilo, trialato y vemolato); herbicidas de sulfonamida (por ejemplo, asulam, carbasulam, fenasulam, orizalin, penoxsulam, piroxsulam); herbicidas de triazina (por ejemplo, dipropetrin, triaziflam y trihidroxitriazina, atrazina, clorazina, cianazina, ciprazina, eglinazina, ipazina, mesoprazina, procirozina, proglinazina, propazina, sebutilazina, simazina, terbutilazina y trietazina, atraton, metometon, prometon, secbumeton, simeton y terbumeton; ametrina, aziprotrina, cianatrina, desmetrina, dimetametrina, metoprotrina, prometrina, simetrina y terbutrina); herbicidas de triazinona (por ejemplo, ametradona, amibuzin, hexazinona, isometiozina, metamitron y metribuzina); herbicidas detriazolopirimidina (cloransulam, diclosulam, florasulam, flumetsulam, metosulam); herbicidas de urea (por ejemplo, bensulfuron, cumiluron, cicluron, dicloralurea, diflufenzopir, isonoruron, isouron, metabenzotiazuron, monisouron y noruron; anisuron, buturon, clorbromuron, cloreturon, clorotoluron, cloroxuron, daimuron, difenoxuron, dimefuron, diuron, fenuron, fluometuron, fluotiuron, isoproturon, linuron, metiuron, metildimron, metobenzuron, metobromuron, metoxuron, monolinuron, monuron, neburon, parafluron, fenobenzuron, siduron, tetrafluron y tidiazuron; amidosulfuron, azimsulfuron, bensulfuron, clorimuron, ciclosulfamuron, etoxisulfuron, flazasulfuron, flucetosulfuron, flupirsulfuron, foramsulfuron, halosulfuron, imazosulfuron, mesosulfuron, nicosulfuron, ortosulfamuron, oxasulfuron, primisulfuron, pirazosulfuron, rimsulfuron, sulfometuron, sulfosulfuron y trifloxisulfuron; clorsulfuron, cinosulfuron, etametsulfuron, yodosulfuron, metsulfuron, prosulfuron, tifensulfuron, triasulfuron, tribenuron, triflusulfuron y tritosulfuron; butiuron, etidimuron, tebutiuron, tiazafurón y tidiazuron), etc.

25 La composición puede comprender además un agente fungicida adicional, tal como miclobutanilo, y fenhexamida, azoxistrobina, azoxistrobina, boscalid, bacillus subtilis, sulfato de cobre, clorotalonilo, hidróxido de cobre, cimoxanilo, dimetomorfo, cloropropano, fosetil aluminio, fludioxonilo, fenamidona, iprodiona, mfenoxam, mancozeb, metalaxilo, metam sódico, bicarbonato de potasio, piraclostrobina, propiconazol, propicocarb, tiram, tiabendazol, tiofanato-metilo, trifloxistrobina, vinclozolina, azufre, ziram. También pueden incluir los siguientes agentes antibacterianos, tales como estreptomina y oxitetraciclina.

30 La composición y método de la presente invención se ilustrarán adicionalmente en los siguientes ejemplos. Los ejemplos son ilustrativos de diversas realizaciones.

35 Ejemplo

En el presente ejemplo, se divulgan resultados que muestran que el extracto de metanol de los frutos de la pimienta larga seca (*Piper longum* L.) son fitotóxicos contra las plántulas de lechuga mantecosa de tipo bibb (*Lactuca sativa*, L.). El extracto se sometió a aislamiento guiado por bioensayo y dio un compuesto activo. El compuesto activo se identificó como un compuesto conocido, denominado sarmentina y es la primera vez que se aisló a partir de *P. longum*. La actividad fitotóxica de la sarmentina se estudió con varias plántulas de cultivos, juncos y malas hierbas. Los resultados indicaron que la sarmentina es un herbicida de contacto y posee una actividad herbicida de amplio espectro. La sarmentina en los diferentes frutos de *P. longum* secos se cuantificó mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas y se encontró que varían espectacularmente, desde casi cero a 0,57 %. Además, se sintetizó una serie de análogos de la sarmentina para estudiar la relación estructura-actividad (SAR). Los resultados del estudio SAR sugirieron que, o bien el ácido graso insaturado largo (es decir, ácido 2E, 4E-decanodienoico) o bien la amina (es decir, pirrolidina) era crucial para la actividad, pero el enlace amida con una amina secundaria parecía ser necesario para la actividad fitotóxica de la sarmentina.

50 MATERIALES Y MÉTODOS

Productos químicos: Sepra C18-E (50 µm y 60 Å) y absorbente de gel de sílice (tamaño de malla 70-230) se adquirieron en Phenomenex® (Torrance, CA, EE.UU.) y Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, EE.UU.), respectivamente. Monolaurato de polioxi-etileno (20) sorbitán (es decir, Glycosperse O-20 KFG) y laurilsulfato sódico (es decir, SLS) se obtuvieron como muestras libres en Lonza Inc. (Allendale, NJ, EE.UU.) y Spectrum Chemical Mfg. Corp. (New Brunswick, NJ, EE.UU.), respectivamente. La ciclopentilamina, el ácido *trans*-cinámico, el *trans*-2-*cis*-4-decadienoato de etilo, la hexametilenoimina, el ácido *trans*-2-decenoico, el ácido decanoico, la 4-dimetilaminopiridina se adquieren en ACROS Organics (Morris Plains, New Jersey, EE.UU.). Todos los demás productos químicos eran de calidad de reactivo.

Frutos de *P. longum* y pretratamiento: Se adquirieron cuatro muestras de frutos de *P. longum* desecada en tiendas de hierbas medicinales chinas. Los frutos se molieron completamente con un molinillo de café (Toastermaster Inc., Boonville, MI, EE.UU.). El polvo recién molido de los frutos se extrajo con disolventes apropiados.

65

Plántulas de malas hierbas, ciperáceas y cultivos: Todas las plántulas de malas hierbas, juncos y cultivos se plantaron en macetas de plástico de 8 cm x 8 cm x 7,2 cm o 10 cm x 10 cm x 9 cm. Las plántulas, incluyendo bleado (*Amaranthus retroflexus*, L.), cola de caballo (*Echinochloa crusgalli* L.), corre güela silvestre (*Convolvulus arvensis* L.), digitaria (*Digitaria sanguinalis* L.), diente de león (*Taraxacum officinale* F.), cenizo (*Chenopodium album* L.), espiguilla (*Poa annua* L.), mostaza negra (*Brassica kaber* L.), hierba mora (*Solanum nigrum* L.), lengua de vaca (*Rumex crispus* L.), hierba de caballo (*Conyza Canadensis* L.), maíz dulce (*Zea may* S.) y trigo PR 1404 (*Triticum aestivum* L.) se plantaron en suelo para macetas Super Soil. Las plántulas, incluyendo arroz rice M-104 (*Oryza saliva* L.), junco (*Cyperus difformis* L.) y cola de zorra (*Leptochloa fascicularis* Lam) se plantaron en barro recogido del arrozal (Woodland, CA, EE.UU.). Cuando se tratan, todas las plántulas tenían 15 días de edad, excepto para el arroz (10 días), el trigo (20 días), el maíz (20 días), la cola de zorra (20 días de edad), el junco (20 días de edad) y la hierba de caballo (70 días de edad).

Extracción y aislamiento guiados por bioensayo: El compuesto activo se aisló mediante cuatro etapas principales descritas de la siguiente manera: 1) el extracto de metanol de polvo de fruto de *P. longum* recién molido se tamizó en un bioensayo en placas de 96 pocillos con plántulas de lechuga mantecosa de tipo Bibb (*Lactuca sativa*); 2) el extracto de metanol (0,5 gramos) se sometió a una columna C-18 inversa y se eluyó con 20 %, 40 %, 60 %, 80 % y 100 % de metanol en agua; las fracciones se secaron al vacío y la eficacia se reevaluó mediante bioensayo en placas de 96 pocillos con plántulas de lechuga mantecosa de tipo bibb (*Lactuca sativa*). La fracción activa se utilizó para guiar la siguiente etapa para la separación; 3) el extracto de acetato de etilo (17,6 g) se cargó en una columna ultrarrápida. La columna se eluyó secuencialmente con hexano (1 l), hexano/acetato de etilo (3:1, 1 l), hexano/acetato de etilo (1: 1, 1l), acetato de etilo (1 l) y acetona (1 l). Basándose en cromatografía en capa fina (TLC), se recogieron nueve fracciones. La eficacia de cada fracción se evaluó mediante pulverización foliar de cola de caballo (*Echinochloa crus-galli*). concentración de cada fracción fue 5 mg/ml con una solución de vehículo que consiste en 4 % de etanol y 0,2 % de glicosperse O-20 KFG. Las fracciones activas (3,4 g) se combinaron y se sometieron a la siguiente etapa; 4) una columna de sílice secundaria se llevó a cabo con una combinación de hexano y acetato de etilo (3:1) como disolvente de elución. El principio activo (0,96 g) se recristalizó a - 20 °C en una mezcla de hexano y acetato de etilo y se obtuvo un compuesto activo puro. La pureza se examinó mediante cromatografía líquida y espectrometría de masas (CL/EM). Las condiciones detalladas para CL/EM se describieron más adelante en Materiales y Métodos.

Dilucidación de la estructura: La identificación de la estructura del compuesto activo se basó en datos de espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) y de espectrometría de masas de alta resolución. Los espectros de RMN, incluyendo ¹H, ¹³C, DEPT, COSY, HMQC and HMBC, se adquirieron en un espectrómetro Bruker Avance (Bruker BioSpin Corporation, Billerica, MA, EE.UU.). Los valores de desplazamiento químico se dan en ppm campo abajo de un patrón interno (trimetilsilano). Las multiplicidades de las señales se representan como singlete (s), doblete (d), doble doblete (dd), triplete (t), cuarteto (q), quinteto (quint) y multiplete (m). La masa exacta del compuesto activo se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución - espectroscopia de masas en tándem.

Comparación del compuesto activo a partir de diferentes muestras de fruta: El polvo de frutos molido (10 g) de diferentes muestras se empaparon en acetato de etilo (50 ml) durante 20 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró mediante un papel de filtro cualitativo Whatman® (NO 1, Ø 155 mm). El residuo y el papel de filtro se lavaron con acetato de etilo (25 ml). La fase orgánica combinada se secó al vacío. Se registró el peso de cada extracto. El compuesto activo en los extractos se cuantificó mediante CL/EM.

Cuantificación del compuesto activo en el extracto de acetato de etilo de frutos desecados mediante (CL/EM): La separación cromatográfica se realizó a 25 °C en un instrumento Termo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) equipado con Finnigan Surveyor PDA más detector, automuestreador plus, bomba de MS y una columna Luna C18 C18 5 µm de 4,6 mm x 100 mm (Thermo Electron Corp., San Jose, CA). El sistema disolvente consistió en agua (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). La fase móvil se inició a 10 % del disolvente B y se aumentó linealmente hasta 100 % del disolvente B durante 20 minutos y después se mantuvo durante 4 minutos, y, finalmente, retornó a 10 % de disolvente B durante 3 minutos y se mantuvo durante 3 minutos. El caudal fue de 0,5 ml/minuto. El volumen de inyección fue de 10 µl y las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente en un automuestreador. El compuesto activo se detectó por un modo de ionización positiva por electropulverización en un modo de barrido completo (m/z 100 a 1500 Da) en un espectrómetro de masas LCQ DECA XP^{plus} (Thermo Electron Corp., San Jose, CA). El caudal del gas nitrógeno se fijó en 30 y 15 arb para la vaina y el caudal del gas aux/barrido, respectivamente. La ionización por electropulverización (ESI) se realizó con una tensión de pulverización fijada a 5000 V y una tensión capilar a 35,0 V. La temperatura del capilar se fijó en 400 °C.

El estándar del compuesto activo se obtuvo mediante cristalización repetida en el laboratorio. Se produjo una serie de concentraciones estándar (125, 62,5, 31,25, 15,6, 7,8, 3,9, 1,95 y 0,976 ng/ml) en etanol. Se realizaron tres muestras independientes (2,5 µg/ml en etanol) para cada extracto. Los espectros de masas se pasaron en un modo SIM con un intervalo de masas de 221,0-224,0 y el tiempo de retención (16,94 min). Los límites de detección (LDD) del compuesto activo se determinaron pasando cantidades decrecientes de la solución estándar hasta que la relación de la señal del compuesto activo sobre el fondo fue mayor o igual a 3. La concentración de las muestras de frutos se presentó mediante un promedio de tres muestras independientes con una desviación estándar.

- 5 **Síntesis de análogos de sarmentina:** A la solución de ácido carboxílico (3 mmol) enfriado con hielo en diclorometano (20 ml) se añadió secuencialmente carbodiimida 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (3,3 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (3 mmol). Después de 5 minutos, se añadió amina (3,3 mmol) en la solución de reacción. La reacción se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se extrajo con acetato de etilo (200 ml). La fase orgánica se secó con sulfato sódico anhidro. Después de la evaporación al vacío, el residuo se ejecutó a través de una columna de gel de sílice con una relación apropiada de acetato de etilo en hexano. El rendimiento de los productos finales varió de 85 % a 90 %. Los productos finales se caracterizaron con RMN de protones.
- 10 **N-Ciclopentilcinnamamida (7):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,62 (d, $J=15,6$ Hz, 1H), 7,50 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 7,35 (m, 3H), 6,37 (d, $J=15,6$, 1H), 5,61 (d, $J=5,0$, Hz, 1H, NH), 4,35 (sexteto, $J=7,0$, 1H), 2,06 (m, 2H), 1,71 (m, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,46 (m, 2H).
- 15 **N-(trans-cinnamoil)pirrolidina (11):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,70 (d, $J=15,5$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 7,36 (m, 3H), 6,74 (d, $J=15,5$, 1H), 3,63 (t, $J=7,0$, 2H), 3,60 (t, $J=7,0$, 2H), 2,01 (quinteto, $J=7,0$, 2H), 1,91 (quinteto, $J=7,0$, 2H).
- 20 **N-(trans-cinnamoil)piperidina (15):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,64 (d, $J=15,5$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J=7,2$ Hz, 2H), 7,36 (m, 3H), 6,90 (d, $J=15,5$, 1H), 3,67 (s, 2H), 3,59 (s, 2H), 1,68 (m, 2H), 1,62 (m, 4H).
- 25 **N-(trans-cinnamoil)hexametenimina (19):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,70 (d, $J=15,4$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J=7,6$ Hz, 2H), 7,36 (m, 3H), 6,88 (d, $J=15,4$, 1H), 3,63 (t, $J=6,0$, 2H), 3,61 (t, $J=6,0$, 2H), 1,76 (m, 4H), 1,59 (m, 4H).
- 30 **N-Ciclopentildecenamida (4):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 5,35 (a, 1H), 4,22 (sexteto, $J=7,00$, 1H), 2,12 (t, $J=7,20$, 2H), 1,98(m, 2H), 1,59-1,67 (m, 6H), 1,26-1,36 (m, 14H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- 35 **N-(Decanoil)pirrolidina (8):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 3,45(t, $J=6,80$, 2H), 3,40 (t, $J=6,80$, 2H), 2,24 (t, $J=7,20$, 2H), 1,94 (quinteto, $J=6,80$, 2H), 1,84 (quinteto, $J=6,80$, 2H), 1,62 (quinteto, $J=7,20$, 2H), 1,25-1,30 (m, 12H), 0,87 (t, $J=7,20$, 3H).
- 40 **N-(Decanoil)piperidina (12):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 3,55(t, $J=5,20$, 2H), 3,39 (t, $J=5,20$, 2H), 2,31(t, $J=7,60$, 2H), 1,58-1,65 (m, 4H), 1,52-1,57(m, 4H), 1,20-1,30 (m, 12H), 0,87 (t, $J=7,20$, 3H).
- 45 **N-(Decanoil)hexametenimina (16):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 3,52(t, $J=6,00$, 2H), 3,42 (t, $J=6,00$, 2H), 2,30(t, $J=7,80$, 2H), 1,66-1,74 (m, 4H), 1,60-1,66 (m, 2H), 1,50-1,6,0 (m, 4H), 1,20-1,30 (m, 12H), 0,87 (t, $J=7,20$, 3H).
- 50 **N-Ciclopentildecenamida (5):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 6,82 (dt, $J_1=15,20$, $J_2=7,20$, 1H), 5,71 (d, $J=15,20$, 1H), 5,33 (a, 1H), 4,27 (sexteto, $J=7,00$, 1H), 2,15 (m, 2H), 2,10(m, 2H), 1,67 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,40 (m, 4H), 1,28 (m, 8H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- 55 **N-(Decanoil)pirrolidina (9):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 6,90 (dt, $J_1=15,20$, $J_2=7,00$, 1H), 6,07 (d, $J=15,20$, 1H), 3,52 (t, $J=6,30$, 2H), 3,50 (t, $J=6,30$, 2H), 2,19 (m, 2H), 1,96 (quinteto, $J=7,00$, 2H), 1,85 (quinteto, $J=7,00$, 2H), 1,44 (m, 2H), 1,28 (m, 8H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- 60 **N-(Decanoil)piperidina (13):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 6,82 (dt, $J_1=15,20$, $J_2=7,00$, 1H), 6,23 (d, $J=15,20$, 1H), 3,59 (t, $J=6,30$, 2H), 3,47(t, $J=6,30$, 2H), 2,17 (m, 2H), 1,64 (quinteto, $J=5,60$, 2H), 1,56 (quinteto, $J=5,60$, 4H), 1,44 (quinteto, $J=7,00$, 2H), 1,28 (m, 8H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- 65 **N-(Decanoil)hexametenimina (17):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 6,91 (dt, $J_1=15,20$, $J_2=7,00$, 1H), 6,21(d, $J=15,20$, 1H), 3,57 (t, $J=6,00$, 2H), 3,49(t, $J=6,00$, 2H), 2,17 (m, 2H), 1,73 (m, 4H), 1,56 (m, 4H), 1,45 (m, 2H), 1,28 (m, 8H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- N-Ciclopentil 2E, 4Z-decadienamida (6):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,55 (dd, $J_1=14,80$, $J_2=11,70$, 1H), 6,06 (t, $J=11,70$, 1H), 5,79 (d, $J_1=14,80$, 1H), 5,75 (m, 1H), 5,50 (s, 1H), 4,30 (sexteto, $J=7,00$, 1H), 2,29 (cuarteto, $J=8,20$, 2H), 2,01 (m, 2H), 1,68 (m, 2H), 1,61(m, 2H), 1,40 (m, 2H), 1,28 (m, 6H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- (2E, 4Z-Decadienoil)pirrolidina (10):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,62 (dd, $J_1=14,60$, $J_2=11,70$, 1H), 6,17 (d, $J=14,60$, 1H), 6,13 (t, $J=11,70$, 1H), 5,78 (m, 1H), 3,55 (t, $J=7,00$, 2H), 3,52 (t, $J=7,00$, 2H), 2,30 (cuarteto, $J=7,40$, 2H), 1,97 (quinteto, $J=7,40$, 2H), 1,87 (quinteto, $J=7,40$, 2H), 1,40 (quinteto, $J=7,40$, 2H), 1,29 (m, 4H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).
- (2E,4Z-Decadienoil)piperidina (14):** RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,59(dd, $J_1=14,60$, $J_2=11,70$, 1H), 6,34 (d, $J=14,60$, 1H), 6,13 (t, $J=11,70$, 1H), 5,78 (m, 1H), 3,62 (t, $J=7,00$,2H), 3,45 (t, $J=7,00$, 2H), 2,31 (cuarteto, $J=7,40$, 2H), 1,67 (quinteto, $J=7,40$, 4H), 1,57 (quinteto, $J=7,40$, 2H), 1,40 (m, 2H), 1,27 (m, 4H), 0,88 (t, $J=7,00$, 3H).

(2E,4Z-Decadienoil)hexametenilimina (18): RMN de ^1H (CDCl_3): δ (ppm) 7,64(dd, $J_1 = 14,60$, $J_2 = 11,70$, 1H), 6,30 (d, $J = 14,60$, 1H), 6,16 (t, $J = 11,70$, 1H), 5,78 (m, 1H), 3,60 (t, $J = 7,00$, 2H), 3,51 (t, $J = 7,00$, 2H), 2,31 (cuarteto, $J = 7,40$, 2H), 1,76 (m, 4H), 1,57 (m, 4H), 1,40 (m, 2H), 1,30 (m, 4H), 0,88 (t, $J = 7,00$, 3H).

5 **Evaluación de la actividad herbicida:** la actividad herbicida del compuesto activo y los compuestos sintetizados se evaluó mediante pulverización foliar. La solución de vehículo de pulverización contenía 2 % de etanol, 0,2 % de glicosperse O-20 y 0,1 % de laurilsulfato de sodio. Se usó l solución recién preparada con el compuesto evaluado en una concentración de 5 mg/ml. En el estudio del espectro, el volumen de pulverización dependía de la superficie foliar, que va desde aproximadamente 1 a 3 ml/plantas de maceta. Se trataron una o dos macetas de plantas para cada uno. El número de plantas dependía del área foliar y de la disponibilidad. En el estudio de la relación estructura-actividad, se utilizó una maceta de cola de caballo y el volumen de pulverización de cada compuesto fue de 3 ml de 5 mg/ml. La actividad fitotóxica se evaluó al menos 3 días después de la pulverización. La eficacia de la actividad fitotóxica se calificó como I (sin efecto), II (< 20 %), III (20-40 %), IV (40-60 %), V (60-80 %) y VI (80-100 %).

15 RESULTADOS

Purificación guiada por bioensayo: El compuesto activo se obtuvo mediante los procedimientos siguientes. El experimento inicial indicó actividad fitotóxica en el extracto de metanol de frutos desecados de *P. longum*. El principio activo o principios activos existían en la fracción con 100 % de elución de metanol cuando se utilizó una columna C18 inversa y no se demostró actividad fitotóxica alguna a partir de otras fracciones en 5 mg/ml (no mostrado). En el siguiente experimento de los inventores, el extracto de acetato de etilo se pasó a través de una columna de sílice ultrarrápida. La elución se recogió como 9 fracciones (basado en la indicación de la TLC). El peso de cada fracción 1 a 9 fue 3,0, 1,0, 1,7, 3,6, 0,9, 2,5, 1,2, 0,2 y 2,3 gramos, respectivamente. Dos de las nueve fracciones eran activas contra cola de caballo (Figura 1). Las dos fracciones activas combinadas (es decir, la fracción 5 y la fracción 6, 3,4 g) se volvieron a pasar a través de una columna de sílice y se produjo aceite ligeramente amarillento como compuesto activo. Este aceite se recristalizó en una mezcla de hexano y acetato de etilo a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y se obtuvo como un aceite incoloro (0,83) a temperatura ambiente.

30 **Dilucidación de la estructura:** Se identificó el compuesto activo basado en las siguientes pruebas: Los datos de masas de alta resolución (TOF MS ESI⁺) es 222,5386, lo que indica que la fórmula molecular del compuesto activo es más posiblemente $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{NO}$. Los datos de la RMN de ^1H y de ^{13}C enumerados en la tabla 1 apoyaron además esta fórmula molecular. Los datos de la RMN de protones indican que hay un total de 23 protones, incluyendo 4 protones olefínicos (4CH), 1 CH_3 y 8 CH_2 . Los datos de la RMN de ^{13}C y DEPT-135 (no mostrado) confirmaron que hay 14 carbonos, incluyendo 1 carbonilamida (N-CO-), 4CH, 8 CH_2 y 1 CH_3 . Los datos de COSY (no mostrados) indicaron que 2 sistemas de espines están presentes en la molécula. Uno contiene 4 CH_2 consecutivos. Y otro contiene 4 protones olefínicos conjugados que están conectados además a $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$. Por otra parte, los datos de HMBC (no mostrados) indicaron que los sistemas de 2 espines mencionados anteriormente se conectaron a través de una carbonilamida para dar la estructura plana. Finalmente, la conformación geométrica es *trans* para ambos dobles enlaces basados en las constantes de acoplamiento ($J = 14,4$ Hz). Este compuesto activo (Tabla 1) es un compuesto conocido denominado sarmentina, que se purificó por primera vez de polvo del fruto de *P. sarmentosum* desecado (Likhitwitayawuid, K., Ruangrungsi, N., Lange, G and Decicco, C., Structural Elucidation and Synthesis of New Components isolated from Piper Samentosum, Tetrahedron 1987 (43) 3689-3694) y también de *P. nigrum* (Kiuchi, F.; Nakamura, N.; Tsuda, Y.; Kondo, K.; Yoshimura, H. Studies on crude drugs effective on visceral larva migrans, IV isolation and identification of larvicidal principles in Pepper, Chem Pharm. Bull, 1988, 36, 2452-2465). Sin embargo, es la primera vez que se aisló de *P. longum* y se encontró que era un compuesto fitotóxico.

Tabla 1 Datos de RMN de ^1H y de ^{13}C (CDCl_3) de sarmentina

N.º	Datos de RMN de ^{13}C	Datos de RMN de ^1H
1	165,4	-
2	120,0	6,08 1H d ($J=14,4$ Hz)
3	142,4	7,26 1H dd ($J_1=14,4$, $J_2=10,8$ Hz)
4	128,8	6,16 1H dd ($J_1=10,8$, $J_2=9,6$ Hz)
5	143,4	6,07 1H dt ($J_1=14,4$, $J_2=7,2$ Hz)
6	33,1	2,13 2H cuarteto ($J=7,2$ Hz)
7	26,3	1,39 2H quinteto ($J=7,2$ Hz)
8	24,5	1,27 2H m

9	22,7	1,27 2H m
10	14,2	0,87 3H t ($J=7,2$ Hz)
1'	46,6	3,50 2H t ($J=7,2$ Hz)
2'	31,5	1,95 2H quinteto ($J=7,2$ Hz)
3'	28,6	1,85 2H quinteto ($J=7,2$ Hz)
4'	46,0	3,52 2H t ($J=7,2$ Hz)

Espectro herbicida de sarmentina: La actividad fitotóxica de la sarmentina dependía de la concentración. La concentración óptima de sarmentina fue 5 mg/ml para un excelente control de la cola de caballo. Por lo tanto, dicha concentración se sometió a estudio del espectro herbicida. Debido a la propiedad hidrófoba de sarmentina, se utilizó una solución de vehículo que contenía 0,2 % de glicosperse O-20, 2 % de etanol y 0,1 % de laurilsulfato de sodio. Aunque esta solución contiene una alta concentración de agentes tensioactivos, la sarmentina puede permanecer suspendida en esta solución no más de 15 minutos. Por lo tanto, la sarmentina se preparó justo antes de la pulverización. Además, esta solución no mostró ninguna actividad fitotóxica hacia las plantas analizadas cuando se registraron los resultados.

La sarmentina mostró actividad fitotóxica contra varias plantas, incluyendo juncos, cultivos y malas hierbas (Tabla 2).

Tabla 2 Actividad fitotóxica de sarmentina hacia diferentes plantas

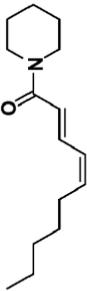
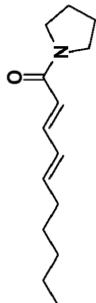
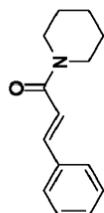
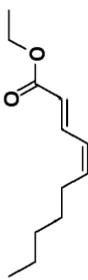
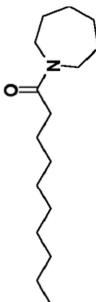
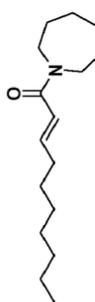
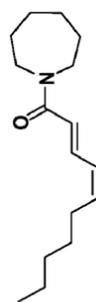
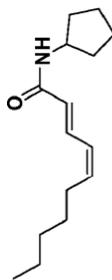
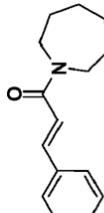
N.º	Nombre de la planta	Eficacia*	N.º	Nombre de la planta	Eficacia*
1	Bledo (<i>Amaranthus retroflexus</i> , L.)	VI	9	Cenizo (<i>Chenopodium album</i> L.)	VI
2	Cola de caballo (<i>Echinochloa crusgalli</i> L.)	VI	10	Espiguilla (<i>Poa annua</i> L.)	VI
3	Corregüela silvestre (<i>Convolvulus arvensis</i> , L.)	VI	11	Mostaza negra (<i>Brassica kaber</i> L.)	VI
4	Digitaria (<i>Digitaria sanguinalis</i> L.)	VI	12	Hierba mora (<i>Solanum nigrum</i> L.)	VI
5	Hierba de caballo (<i>Conyza Canadensis</i> L.)	II	13	Lengua de vaca (<i>Rumex crispus</i> L.)	VI
6	Junco (<i>Cyperus difformis</i> L.)	III	14	Maíz dulce (<i>Zea mays</i> S.)	VI
7	Cola de zorra (<i>Leptochloa fascicularis</i> Lam.)	VI	15	Trigo (PR 1404) (<i>Triticum aestivum</i> L.)	VI
8	Diente de león (<i>Taraxacum officinale</i> F.)	VI	16	Arroz (M 104) (<i>Oryza saliva</i> L.)	I

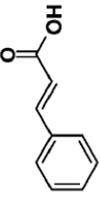
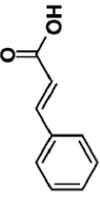
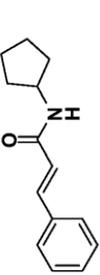
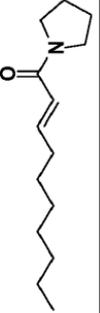
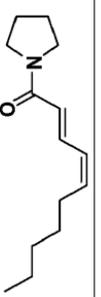
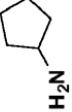
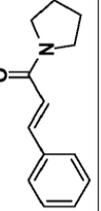
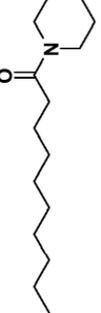
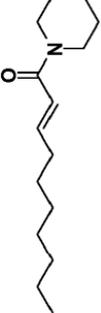
*La eficacia de la actividad fitotóxica se calificó como I (sin efecto), II (< 20 %), III (20-40 %), IV (40-60 %), V (60-80 %) y VI (80-100 %).

La actividad fitotóxica de la sarmentina dependía de las plantas, variando de cero a 100 % de muerte. No se demostró actividad fitotóxica visible (después de 10 días) en plantas de arroz hacia la sarmentina. Se demostró una ligera actividad fitotóxica de la sarmentina hacia el junco y la cola de caballo. Sin embargo, se demostró actividad altamente fitotóxica de la sarmentina hacia el bleado, la cola de caballo, la corregüela silvestre, la digitaria, la cola de zorra, el diente de león, el cenizo, la espiguilla, la mostaza negra, la hierba mora, la lengua de vaca, el maíz dulce y el trigo. La actividad fitotóxica puede estar relacionada con la edad de las plantas. Por ejemplo, la cola de caballo (70 días de edad) era mucho mayor que otras malas hierbas, pero se mostró menos actividad fitotóxica.

Relación estructura-actividad (REA): El estudio REA sugirió que el ácido graso insaturado largo o la pirrolidina de la sarmentina es crucial para la actividad fitotóxica, pero el enlace amida con una amina secundaria parecía ser necesario. Esta conclusión se apoyó en los siguientes resultados experimentales que se resumen a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3 Actividad fitotóxica de la sarmentina y sus análogos hacia la cola de caballo

N.º	Estructuras	Eficacia*	N.º	Estructuras	Eficacia*
1 [†]	vector	I	14		VI
2	 (sarmentina)	VI	15		IV
3 [†]		II	16		VI
4 [†]		II	17		VI
5 [†]		II	18		VI
6 [†]		II	19 [†]		II

7 †		II	20 †		V
8		VI	21 †		VI
9		VI	22 †		VI
10		VI	23 †		I
11		VI	24 †		I
12		VI	25 †		I
13		VI	26 †		I
<p>*La eficacia de la actividad fitotóxica se calificó como I (sin efecto), II (< 20 %), III (20-40 %), IV (40-60 %), V (60-80 %) y VI (80-100 %), t para referencia, no conforme a la invención.</p>					

La actividad fitotóxica siguió siendo la misma, ya que el resto ácido de la sarmentina se reemplazó por ácidos grasos estructuralmente similares, tales como ácido 2E, 4Z-decadienoico (es decir, isómero geométrico del ácido 2E, 4E-decadienoico) con dos dobles enlaces (10), ácido 2-E-decenoico con un doble enlace (9) y ácido decanoico sin ningún doble enlace (8), e incluso ácido estructuralmente diferente, tal como ácido *trans*-cinámico (11). Esto sugirió que el resto de ácido de la sarmentina puede ser diversos ácidos cuando la amina es pirrolidina. Del mismo modo, cuando el resto de ácido se mantuvo igual, la amina puede ser varias. Por ejemplo, la actividad fitotóxica se mantuvo igual en términos de ácido decanoico cuando la amina se cambió de un anillo de cinco miembros (8) a un anillo de seis o siete miembros (12 y 16, respectivamente). Sin embargo, la actividad fitotóxica disminuyó espectacularmente cuando el enlace amida con una amina secundaria se transformó en un enlace éster (por ejemplo, 3) y un enlace amida con una amina primaria (por ejemplo, 4-7). Además, los resultados de estudio REA (Tabla 3) también indicaron que el resto amina de la sarmentina, pirrolidina (24), y sus análogos, tales como ciclopentilamina (23), hexametiliminina (26) y piperidina (25) eran no tóxicos para la cola de caballo; pero los análogos del resto ácido de la sarmentina, tales como el ácido decanoico (21), ácido 2E--decenoico (22) y ácido *trans*-cinámico (20) eran muy activos. Para obtener una mejor REA, la longitud de cadena de carbono en el resto ácido y aminas disustituidas (sistema no anular) debe investigarse más a fondo.

Síntoma de la actividad fitotóxica: La sarmentina es un compuesto de contacto fitotóxico. Cuando las plantas se trataron con la solución de sarmentina, primero se muestran pequeñas manchas ligeramente negras en las hojas y se hicieron cada vez más grandes hasta que cubrieron las hojas completamente, especialmente evidentes en la cola de caballo. Este síntoma se pudo observar en un plazo de media hora a 2 horas después de la pulverización. La actividad fitotóxica predominante se produjo en un plazo de 48 horas después de la pulverización. Este síntoma se observó de forma muy similar al de los ácidos grasos de cadena media, tales como ácido decanoico (21, Tabla 4) y ácido 2E-decenoico (22, Tabla 3) durante el estudio de REA.

Cuantificación de la sarmentina en diferentes muestras de frutos de *P. longum*: Se obtuvo la curva patrón de la sarmentina ($Y = 83324X - 30784$, $R^2 = 0,9998$; X e Y representan la concentración de sarmentina y el área del pico, respectivamente). El límite de detección para sarmentina era de 12 pg por inyección (o 1,2 ng/ml). Sobre la base de esta curva patrón externa, la concentración de sarmentina en los extractos de cuatro diferentes muestras de frutos de *P. longum* varió de 0,0005 % a 0,57 %. Estos resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. La concentración de sarmentina en diferentes muestras de frutos de *P. longum* desecados

Muestra	Porcentaje de sarmentina en el extracto de acetato de etilo	Peso (g) del extracto de 10 gramos de polvo del fruto desecado molido	Porcentaje del contenido de sarmentina en el fruto seco
1	12,66 ± 0,45	0,45 ± 0,03	0,5697 ± 0,0380
2	1,83 ± 0,10	0,51 ± 0,03	0,0933 ± 0,0055
3	0,01 ± 0,001	0,55 ± 0,02	0,00055 ± 0,00002
4	0,008 ± 0,001	0,66 ± 0,03	0,00053 ± 0,00002

Esta diferencia en las cantidades de sarmentina presentes en cada una de las muestras puede ser el resultado de la edad y/o el origen de los frutos desecados. La cantidad de sarmentina en el polvo molido de los frutos de *P. longum* desecados se puede ver a simple vista, porque cuanto mayor es la concentración de sarmentina, más oleoso es el polvo molido. Por ejemplo, no había aceite visible para el polvo molido de las muestras 3 y 4, pero se vio polvo oleoso en el polvo molido de las muestras 1 y 2.

REIVINDICACIONES

1. Un método para controlar una mala hierba monocotiledónea, ciperácea, o dicotiledónea que comprende aplicar a la mala hierba una cantidad de una sarmentina o un análogo de sarmentina eficaz para el control de la mala hierba, en el que dicho análogo de sarmentina se selecciona de N-(decanoil)pirrolidina, N-(decenoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, N-(*trans*-cinamoil)pirrolidina, N-(*trans*-cinamoil)piperidina, (2E, 4Z-decadienoil)pirrolidina, N-(decenoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)hexametenilimina, N-(decenoil)hexametenilimina y N-(decanoil)hexametenilimina, en donde la sarmentina o el análogo sarmentina se aplican mediante aplicación foliar.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha mala hierba es una mala hierba de hoja ancha o de las gramíneas.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha mala hierba es una mala hierba del arroz.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que la sarmentina o el análogo sarmentina se aplican a la mala hierba.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la mala hierba se selecciona de entre bleado, cola de caballo, correjüela silvestre, digitaria, hierba de caballo, cenizo, diente de león, cenizo, espiguilla, mostaza negra, hierba mora y lengua de vaca.
6. El método de la reivindicación 1, en el que la mala hierba se selecciona de *Amaranthus retroflexus*, L., *Echinochloa crusgalli* L., *Convolvulus arvensis*, L., *Digitaria sanguinalis* L., *Conyza canadensis* L., *Cyperus difformis* L., *Leptochloa fascicularis* Lam., *Taraxacum officinale* F., *Chenopodium album* L., *Poa annua* L., *Brassica kaber* L., *Solanum nigrum* L., y *Rumex crispus* L.
7. Una composición herbicida que comprende (a) sarmentina o un análogo de sarmentina, en donde dicho análogo de sarmentina se selecciona de N-(decanoil)pirrolidina, N-(decenoil)pirrolidina, N-(decanoil)piperidina, N-(*trans*-cinamoil)pirrolidina, N-(*trans*-cinamoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)pirrolidina, N-(decenoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)piperidina, (2E,4Z-decadienoil)hexametenilimina, N-(decenoil)hexametenilimina y N-(decanoil)hexametenilimina; y (b) uno o más de otros agentes herbicidas para su uso en la modulación de la emergencia de malas hierbas.