

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 762 962**

51 Int. Cl.:

A01P 21/00 (2006.01)

A01N 57/24 (2006.01)

A01N 57/16 (2006.01)

C07H 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2016 PCT/GB2016/052011**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.01.2017 WO17006095**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2016 E 16738504 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.10.2019 EP 3316688**

54 Título: **Tratamiento del estrés hídrico en plantas**

30 Prioridad:

03.07.2015 GB 201511732

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

26.05.2020

73 Titular/es:

**ROTHAMSTED RESEARCH LIMITED (100.0%)
West Common Harpenden
Hertfordshire AL5 2JQ, GB**

72 Inventor/es:

**PAUL, MATTHEW JEREMY y
GRIFFITHS, CARA ASHLEIGH**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 762 962 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

Tratamiento del estrés hídrico en plantas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos fotolábiles que aumentan la cantidad o concentración de trehalosa-6-fosfato (T6P) en plantas y métodos y usos de estos para tratar el estrés hídrico en una amplia gama de especies de plantas. La invención también se refiere a métodos y al uso de los compuestos para la resurrección de plantas con estrés hídrico, y para mejorar el rendimiento de las plantas de cultivo en condiciones de estrés hídrico en comparación con las plantas sin tratar.

Antecedentes

10 Los rendimientos globales de los cultivos deben duplicarse en los próximos 35 años para satisfacer la demanda proyectada de alimentos (Ray et al., 2013, PLoS ONE 8, e66428; Grassini et al., 2013, Nat Commun 4, doi: 10.1038/ncomms3918). Este requisito llega en un momento de variabilidad climática sin precedentes (Lobell and Tebaldi, 2014, Environmental Research Letters 9, 074003). Los métodos actuales de mejoramiento de cultivos no están a la par con los aumentos de rendimiento requeridos (Ray et al., 2013, PLoS ONE 8, e66428).

15 Este requisito de aumentos sustanciales en los rendimientos de los cultivos se establece en un contexto de agotamiento de los recursos hídricos mundiales, aumentando la frecuencia de sequía (tanto moderada como severa) y aumentando la intensidad de la sequía (UN 2012). El estrés hídrico ya es extremadamente común en las plantas y se sabe que limita la productividad de todas las principales especies de cultivos. Por ejemplo, aproximadamente el 80% de las tierras agrícolas en los Estados Unidos experimentan sequías anualmente (United States Department of
20 Agriculture, Economic Research Service, 2012). Incluso el estrés hídrico estacional leve o moderado en etapas críticas de crecimiento puede causar reducciones sustanciales del rendimiento (10-20%) en sistemas con riego limitado o aquellos que dependen únicamente de la lluvia. Dado que el 80% de la agricultura mundial se lleva a cabo en sistemas agrícolas de secano, en lugar de irrigados, muchos de estos sistemas experimentan una escasez extrema de agua, si se satisface la necesidad apremiante de cambios graduales en la producción de alimentos,
25 aumentando el rendimiento de los cultivos en ambientes con agua limitada deben ser priorizados. Por lo tanto, existe una necesidad continua para el desarrollo de estrategias novedosas para abordar el estrés hídrico de las plantas en el campo.

30 La ruta de la trehalosa ha estado implicada durante mucho tiempo en el estrés hídrico y se ha dirigido previamente usando enfoques basados en la modificación genética (por ejemplo, véase el documento WO 97/42326). Sin embargo, los enfoques de GM dirigidos a la ruta de la trehalosa han arrojado una imagen bastante confusa en relación con T6P y la tolerancia a la sequía. Algunos experimentos que se dirigieron a la ruta de la trehalosa indicaron que los enfoques transgénicos, que daban como resultado un aumento en los niveles de T6P en las plantas, conferían resistencia a la sequía en las plantas modelo, incluyendo *Arabidopsis*, arroz y papa (Holmstrom et al., 1996, Nature 379: 683-684; Romero et al., 1997, Planta 201: 293-297; Lee et al., 2003, Mol Breeding 11: 1-13;
35 Karim et al., 2007, Plant Mol Biol 64: 371- 386; Miranda et al., 2007, Planta 226: 1411-1421; Garg et al., 2002, PNAS 99: 15898- 15903; Jang et al., 2003, Plant Physiol 131 : 516-524; Li et al., 2011, Planta 234: 1007-1018)

Adicionalmente, se ha demostrado que la manipulación genética de esta ruta tiene una gama de otros efectos pleiotrópicos no relacionados con el estrés hídrico, por ejemplo, alterando la capacidad de respuesta a las hormonas durante la germinación (Debast et al., 2011, Plant Physiol. 156: 1754-1771) y muchas plantas con alteraciones en los niveles de trehalosa muestran defectos de desarrollo y fenotipos morfológicos gravemente aberrantes tales como retraso en el crecimiento, número reducido de semillas, esterilidad, desarrollo anormal de la raíz y hojas en forma de lanceta (revisado en Avonce et al., (2004) Plant Physiol. 136: 3649-3659).

40 Cualquier función de la trehalosa en conferir resistencia al estrés hídrico no está clara. Si bien la modificación genética (GM) permite algunos enfoques (Campos et al., 2004, Field Crops Res 90: 19-34) tiene limitaciones temporales y estratégicas y no se acepta como un enfoque en todo el mundo (especialmente en Europa).

El documento WO2012/146914 ISIS Innovation Limited (y el correspondiente documento US2014/0113820) describe precursores de trehalosa-6-fosfato y fosfonato fotolábiles, y las sales agrícolas aceptables del mismo, y describe métodos y usos de estos compuestos para aumentar la producción de almidón en plantas.

50 Hao-Wen Li et al., (2011) "Overexpression of the trehalosa-6-fosfato synthase gene enhances abiotic stress tolerance in arroz" Planta vol 234 pp1007 - 1018, describe la introducción y la sobreexpresión de un gen de trehalosa-6- fosfato sintasa (TPS) *OsTPSI* en arroz. Se descubrió que esto mejora la tolerancia de las semillas de arroz al frío, la alta salinidad y el tratamiento de la sequía sin otros cambios fenotípicos significativos. Las concentraciones de trehalosa fueron más altas en las plantas que sobreexpresan en comparación con las de tipo salvaje.

55 El documento US2010/024066 Leyman Barbara et al., describe el uso de una trehalosa-6-fosfato sintasa de clase II, que comprende una parte tanto similar a la sintasa como a la fosfatasa, para modular el crecimiento de la planta. La

actividad de la trehalosa-6-fosfato sintasa se regula negativamente para obtener un mayor rendimiento de biomasa de la planta.

5 Suárez R. et al., (2008) "Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by overexpressing trehalosa-6-fosfato synthase in rhizobia" *Molecular Plant-Microbe Interactions* Vol 21 pp958 - 966. Esta publicación científica describe sobreexpresión de trehalosa-6-fosfato sintasa en la bacteria simbiótica *Rhizobium etli*. Las plantas de *Phaseolus vulgaris* inoculadas con la sobreexpresión de *R. etli* tuvieron más nódulos con mayor actividad de nitrogenasas y mayor biomasa en comparación con las plantas inoculadas con *R. etli* de tipo salvaje. Como consecuencia de este y otros experimentos, los autores proponen que el metabolismo de la trehalosa en rizobios es clave para señalar el crecimiento, el rendimiento y la adaptación de las plantas al estrés abiótico en las plantas leguminosas.

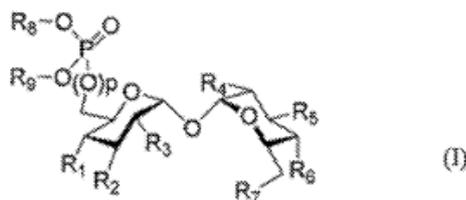
10 La presente invención se basa en un descubrimiento sorprendente de que la aplicación de compuestos precursores de T6P a las plantas durante el estrés hídrico y antes del alivio del estrés hídrico por riego, da como resultado mejoras dramáticas en el crecimiento posterior de la planta en comparación con las plantas de control no tratadas.

15 El estrés hídrico de las plantas, a menudo una consecuencia de la sequía, puede tener importantes impactos en el crecimiento y el desarrollo de las plantas, lo que en última instancia puede dar como resultado reducciones significativas en el rendimiento del cultivo o, en casos extremos, el fracaso completo del cultivo. Una aplicación práctica del descubrimiento de la invención es la capacidad de desencadenar químicamente la resistencia de las plantas al estrés hídrico y, al hacerlo, mejorar

20 la productividad de las plantas en condiciones limitadas de agua, por ejemplo, para aumentar el rendimiento de una especie de cultivo que experimenta escasez de agua durante cualquier etapa del crecimiento vegetativo.

Resumen de la invención

De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), un fosfonato del mismo, o las sales agrícolamente aceptables del mismo:



25 en la que;

p es 0 o 1;

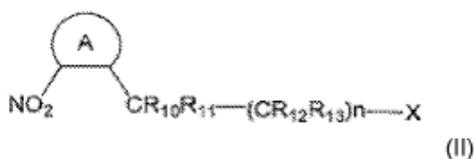
R₁ a R₇ representan independientemente F, N₃, NR'R'', alquilo C₁₋₄, -(alquilo C₁₋₄)OH u OH, en la que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

30 y R₈ y R₉ son iguales o diferentes y representan H o un grupo protector fotolábil, en el que al menos uno de R₈ y R₉ representan un grupo protector fotolábil;

como tratamiento para una planta con estrés hídrico. Por lo tanto, los compuestos definidos en este documento se usan para tratar el estrés hídrico en plantas.

Los usos preferidos de los compuestos se exponen en las reivindicaciones 2, 3 y 4.

El grupo protector fotolábil puede ser de fórmula (II):



35

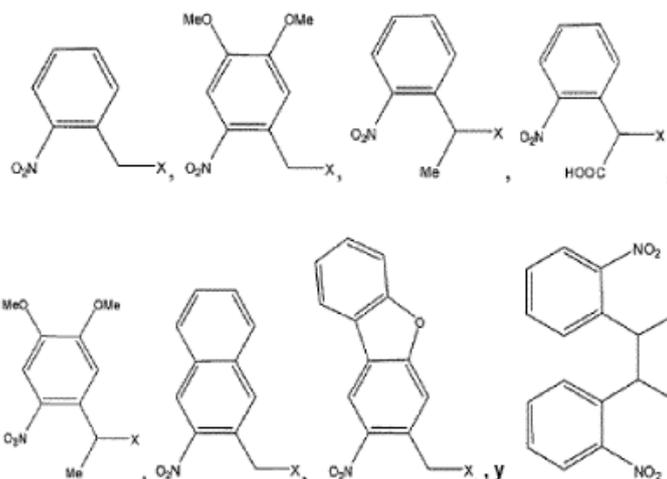
en la que;

el anillo A representa un grupo arilo o heterocíclico;

(i) R₁₀ y R₁₁ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en el que R' y R'' se seleccionan

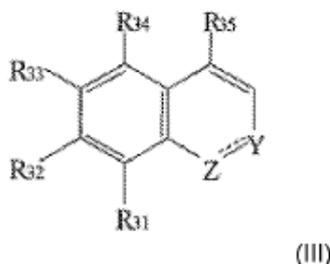
- independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄, o (ii) dos grupos R₁₀ en grupos protectores fotolábiles adyacentes juntos forman un enlace y R₁₁ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en el que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄; n es 0 o 1; y R₁₂ y R₁₃ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en el que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄; en el que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I).

El grupo fotolábil se puede seleccionar de;



- 10 en la que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I).

El grupo protector fotolábil puede ser de fórmula (III):



en la que;

- 15 Z representa N, Y representa CR₃₆ y Z e Y están unidos por un doble enlace; o Z representa O, Y representa C = O y Z e Y están unidos por un enlace sencillo;

R₃₆ representa -CR₃₇R₃₈X;

cuando Y representa CR₃₆, R₃₅ representa hidrógeno, y cuando Y representa C = O, R₃₅ representa -CR₃₇R₃₈X;

- 20 (i) R₃₇ y R₃₈ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en la que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄, o (ii) dos grupos R₃₇ en grupos protectores fotolábiles adyacentes juntos forman un enlace y R₃₈ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R' en la que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄;

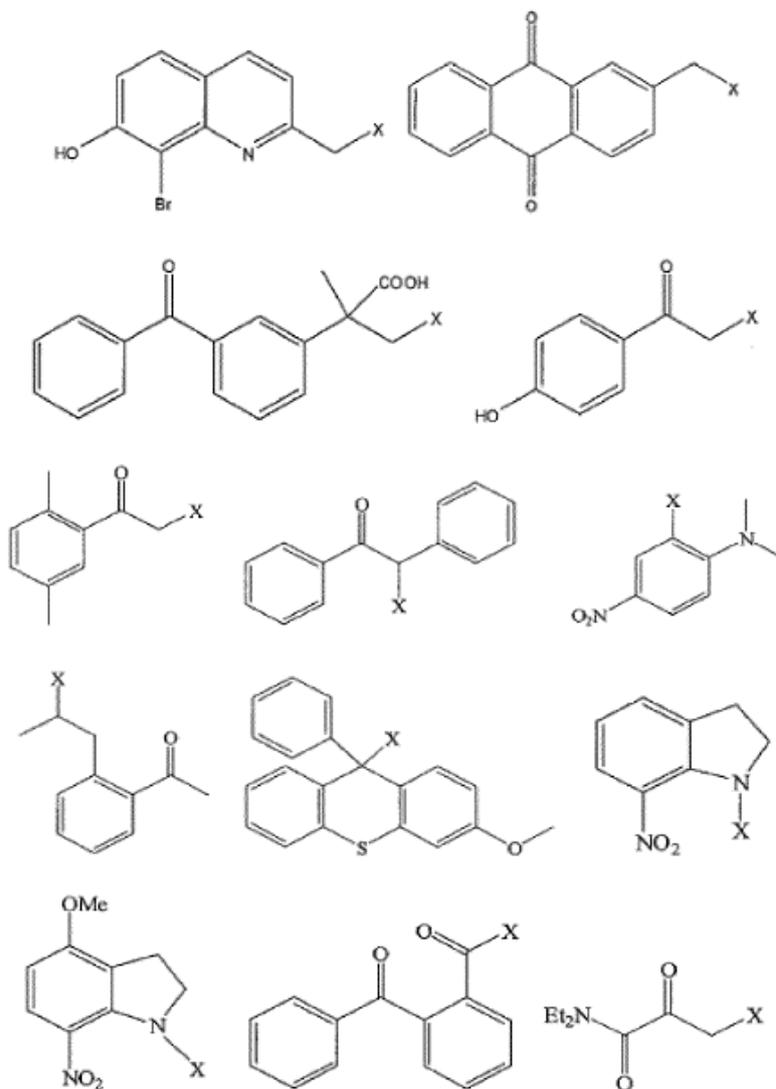
R₃₂ representa -OR', -NR'R'', -O(alquilo C₁₋₄)-COOR', -O(alquilo C₁₋₄)-OR' u -O(alquilo C₁₋₄)-NR'R'', en la que R' y

- 25 R'' representa independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄; y

R₃₁, R₃₃ y R₃₄ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, -OR', -NR'R'', -O(alquilo C₁₋₄)-COOR', -O(alquilo C₁₋₄)-OR' u -O(alquilo C₁₋₄)-NR'R'', en la que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

en la que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I).

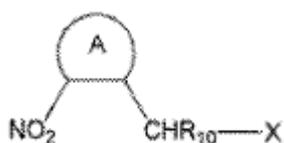
El grupo protector fotolábil se puede seleccionar de:



- 5 La presente invención también proporciona el uso de dicho compuesto, en el que el grupo protector fotolábil es de fórmula (II) y el anillo A representa un grupo arilo C₆₋₁₀ o un grupo heterocíclico de 5 a 14 miembros que contiene uno o más átomos seleccionados de N, O y S, en el que el grupo arilo o heterocíclico no está sustituido o está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₄, -OR', halógeno, CN, -NR'R'', -COOR', -(alquilo C₁₋₄)COOR' y -O (alquilo C₁₋₄)COOR', en la que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄, o en la que dos sustituyentes adyacentes en el grupo arilo o heterocíclico juntos forman un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de N, O u S.
- 10

El grupo protector fotolábil puede ser de fórmula (II) y el anillo A representa un anillo de fenilo, naftalenilo o dibenzofuranilo.

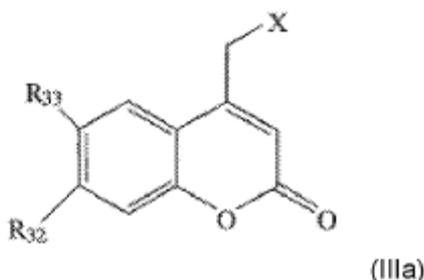
El grupo protector fotolábil puede ser de fórmula (IIa):



- 15 en la que;

5 el anillo A representa un grupo no sustituido o sustituido seleccionado de fenilo, naftilo o dibenzofuranilo, en el que un grupo fenilo, naftilo o dibenzofuranilo sustituido es un grupo fenilo, naftilo o dibenzofuranilo que tiene uno o dos sustituyentes metoxi, o un grupo fenilo, naftilo o dibenzofuranilo en el que dos posiciones adyacentes del anillo están sustituidas con una unidad estructural $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$; y R_{10} representa hidrógeno, metilo, $-\text{CF}_3$ o $-\text{COOH}$; en la que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I).

El grupo protector fotolábil puede ser de fórmula (IIIa):



en la que;

10 R_{32} representa $-\text{OR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$ u $-\text{O}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})-\text{COOR}'$, en la que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-2} ; y

R_{33} representa hidrógeno, Br, $-\text{OR}'$, $-\text{NR}'\text{R}''$ u $-\text{O}(\text{alquilo } \text{C}_{1-4})-\text{COOR}'$, en la que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-2} ;

en la que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I). Preferiblemente, R_{33} representa H y

15 R_{32} representa OMe, NMe_2 , NEt_2 u $-\text{OCH}_2\text{COOH}$. Alternativamente, R_{33} puede representar Br y R_{32} puede representar OH. Alternativamente, R_{33} y R_{32} pueden representar ambos $-\text{OCH}_2\text{COOH}$.

De acuerdo con la invención, R_1 a R_7 pueden representar hidroxilo.

De acuerdo con la invención, p puede ser 1.

Se puede preparar cualquiera de los compuestos como se describe en este documento de acuerdo con WO2012/146914 ISIS Innovations.

20 La presente invención también proporciona un método de tratamiento de una planta con estrés hídrico como se establece en cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15.

En lo siguiente, los aspectos técnicos de los métodos de la invención que se mencionan de diversas maneras se aplican igualmente a los usos reivindicados de los compuestos definidos anteriormente en este documento.

25 En los métodos de la invención, ya sea para aliviar el estrés hídrico en una planta o para resucitar una planta que experimenta estrés hídrico agudo, los métodos comprenden preferiblemente tratar la planta en la fase de crecimiento vegetativo; en otras palabras, en cualquier momento o período anterior a la antesis.

30 Las etapas del desarrollo del brote de la planta están bien caracterizadas y los rasgos morfológicos y anatómicos que cambian de manera coordinada en momentos predecibles en el desarrollo vegetativo se establecen para la mayoría de las especies. La fase de crecimiento vegetativo o fase vegetativa es, por lo tanto, bien conocida en la técnica y se refiere al período de crecimiento entre la germinación y la floración, que termina con el inicio de la fase reproductiva, con lo cual la planta adquiere la capacidad de producir las estructuras necesarias para la reproducción sexual.

35 Lo más práctico, esto se puede determinar visualmente o alternativamente en relación con un perfil característico de marcadores moleculares que definen las diversas fases del ciclo de vida de la planta; incluyendo por ejemplo, pero no limitado a; una disminución en la expresión de miR156 y miR157 o un aumento en la expresión de factores de transcripción de la proteína de unión al promotor squamosa/tipo SBP (SBP/SPL) que se sabe que regulan una variedad de procedimientos en el desarrollo de brotes, incluido el desarrollo de inflorescencia y el tiempo de floración. En las plantas de trigo, por ejemplo, la fase vegetativa se caracteriza por el crecimiento y el inicio de la hoja y termina con el inicio de la espiguilla y el inicio floral (revisado en Sadras and Calderini, 2015, Crop Physiology: Applications for Genetic Improvement and Agronomy, 2nd Ed., Elsevier).

40 El estrés hídrico se refiere a una situación en la que hay menos agua disponible de la que demandan los tejidos vegetales. El estrés hídrico puede ser continuo o discontinuo. La magnitud o severidad del estrés en una planta

puede variar con el tiempo o entre diferentes especies o individuos en un punto de tiempo particular, por ejemplo en un campo de plantas de cultivo.

5 Se conocen bien en la técnica varias técnicas prácticas para la medición precisa del estrés hídrico de la planta a escala de tejido, planta individual y campo. De manera útil, a nivel de la hoja, el estrés hídrico se puede estimar con precisión mediante la medición del potencial hídrico de la planta, que puede obtenerse determinando la presión negativa (tensión) dentro de la hoja. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante escisión y colocación de una hoja de una planta en una cámara sellada, agregando gas comprimido a la cámara y registrando la presión a la que aparece agua en la superficie del extremo cortado de la hoja.

10 En todo el nivel de la planta, la temperatura del dosel se ha usado ampliamente durante muchos años para detectar el inicio y la duración del estrés hídrico de la planta (Tanner, 1963; Weigand and Namken, 1966; Ehrler and van Bavel, 1967; Astin and van Bavel, 1972; Bartholic et al, 1972; and Ehrler, 1973). Con el desarrollo de la teledetección y las técnicas de termografía infrarroja, la temperatura del dosel se ha demostrado posteriormente como un método eficaz de evaluación a escala de campo del estado del agua del cultivo en tiempo real o cerca de él.

15 Existen varias herramientas disponibles comercialmente para la medición del estrés hídrico de la planta, por ejemplo, the Plant Water Status Console (<http://www.soilmoisture.com/letthe/>)(Soilmoisture Equipment Corp., 801 S. Kellogg Ave., Goleta, Santa Barbara, CA).

20 Otras medidas del estrés hídrico de las plantas pueden incluir, pero no se limitan a, la temperatura de la hoja a nivel de la planta individual o la temperatura del dosel a escala de campo (revisado en Jackson et al., Water Resources Research 4: 1133-1138) ya sea solo o en combinación con temperaturas del aire de bulbo húmedo y seco y estimaciones de radiación neta (índice de estrés hídrico del cultivo); potencial de agua del tallo, potencial de agua de la hoja, potencial de presión de xilema, conductancia estomática. También se ha demostrado la reflectancia a 970 nm medida usando espectroscopía infrarroja térmica, por ejemplo usando un espectrómetro de diodo de silicio. Las mediciones también pueden ser específicas de cada especie, por ejemplo, el uso del potencial de agua del tallo al mediodía (Naor, 2000, Acta Hortic. (ISHS) 537: 447-454) o la contracción diurna del tronco en árboles frutales (Intrigliolo and Castel, 2005, Tree Physiology 26: 303-311).

30 Preferiblemente, el método, ya sea para la resurrección de plantas con estrés hídrico agudo o para el alivio del estrés hídrico, comprende tratar la planta con el compuesto al menos 24 horas antes del riego. También se puede usar un período de tiempo menor, por ejemplo, al menos 8, al menos 12 o al menos 18 horas. Opcionalmente, la planta se puede tratar al menos 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 o 36 horas antes del riego. Períodos de tiempo más largos antes del riego caen dentro del alcance de la invención, por ejemplo, una cantidad de días seleccionados entre y que incluyen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días. Por lo general, la planta se trata con uno o más compuestos en el intervalo de 24 a 336 horas antes del riego, opcionalmente en el intervalo de 24 a 312, 24 a 288, 24 a 264, 24 a 240, 24 a 216, 24 a 192, 24 a 336, 24 a 168, 24 a 144, 24 a 72, 24 a 48, 24 a 36, 24 a 35, 24 a 34, 24 a 33, 24 a 32, 24 a 31, 24 a 30, 24 a 29, 24 a 28, 24 a 27, 24 a 26 o 24 a 25 horas antes del riego.

35 Preferiblemente, los métodos y usos de la invención comprenden tratar la planta con el compuesto en el que la planta está bajo estrés hídrico durante un período que cae en el intervalo de 8 horas a 10 días. De acuerdo con lo anterior, la planta se puede tratar por ejemplo al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 12 o al menos 18 horas después del inicio del estrés hídrico, sin embargo, en circunstancias normales, por ejemplo en el campo, el estrés hídrico por lo general permanece sin ser detectado antes de 24 horas después del inicio del estrés. Comúnmente, la planta se puede tratar con uno o más compuestos desde el período que comienza después de al menos 24 horas de estrés hídrico hasta el punto en que ocurre la muerte de la planta y la recuperación ya no es posible. Por lo general, la planta se trata con uno o más compuestos en el intervalo de 24 horas a 10 días después del inicio del estrés hídrico. Comúnmente, la planta se puede tratar al menos 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 45 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71 o 72 horas después del inicio del estrés hídrico. Las plantas se pueden tratar con los compuestos después de períodos más largos de estrés hídrico, seleccionando de una cantidad de días entre 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días.

50 Por lo general, la planta se trata con uno o más compuestos en el intervalo de 8 a 336 horas después del estrés hídrico, opcionalmente en el intervalo de 10 a 336, 12 a 336, 18 a 336, 24 a 336, 24 a 312, 24 a 288, 24 a 264, 24 a 240, 24 a 216, 24 a 192, 24 a 336, 24 a 168, 24 a 144, 24 a 72, 24 a 48, 24 a 36, 24 a 35, 24 a 34, 24 a 33, 24 a 32, 24 a 31, 24 a 30, 24 a 29, 24 a 28, 24 a 27, 24 a 26 o 24 a 25 horas después del inicio del estrés hídrico.

En los métodos y usos relacionados con la resurrección de plantas que experimentan estrés hídrico agudo, el período de estrés hídrico puede ser uno seleccionado de 48 horas o más. También un período seleccionado entre varios días que son 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días.

55 En los métodos y usos de la invención, cualquiera de los compuestos se puede aplicar solo o junto con otros compuestos. En particular, los compuestos se pueden aplicar comúnmente junto con al menos un fertilizante, fungicida, herbicida, insecticida o regulador del crecimiento de las plantas, ya sea por separado, secuencial o simultáneamente.

Preferiblemente, los métodos de la invención alivian los efectos del estrés hídrico en las plantas. Preferiblemente, la aplicación de cualquiera de los compuestos descritos en este documento da como resultado una planta que tiene un rendimiento incrementado en comparación con las plantas no tratadas.

5 De acuerdo con lo anterior, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para mejorar el rendimiento del cultivo de cultivos en campo, que comprende tratar el cultivo en crecimiento en fase vegetativa antes de la floración con un compuesto como se definió en este documento anteriormente. Un rendimiento aumentado se puede referir a partes vegetativas o reproductivas de la planta, dependiendo del cultivo y si se desea biomasa, índice de cosecha o número de semilla o tamaño de semilla. En realizaciones preferidas, el tamaño y/o número de semillas o granos producidos por una planta tratada de acuerdo con los métodos de la invención aumenta en relación con las plantas de control sin tratar o el material vegetal que ha soportado la condición de estrés hídrico. Más preferiblemente, el tamaño y el número de semillas producidas por las plantas tratadas de acuerdo con los métodos de la invención aumentan en relación con las plantas equivalentes no tratadas.

15 De acuerdo con todos los aspectos de la presente invención, los compuestos descritos en este documento se pueden usar para tratar cualquier especie de planta, que pueden ser monocotiledóneas o dicotiledóneas. Los compuestos descritos en este documento se pueden usar preferiblemente para tratar aquellas plantas que por lo general se explotan para la producción de grano o biomasa, exhiben altas tasas de crecimiento y se cultivan y cosechan fácilmente. En particular, las plantas preferidas incluyen aquellas que crecen naturalmente o se cultivan en ambientes áridos y/o aquellas con altas temperaturas, baja humedad, altos déficits de presión de vapor o que reciben pequeñas cantidades de agua (lluvia y/o riego) en relación con su demanda de agua y uso eficiente de agua (WUE). Los compuestos descritos en este documento pueden aliviar útilmente el estrés hídrico en plantas, ya sean severas, moderadas, suaves, continuas o intermitentes. Los compuestos descritos en este documento se pueden usar para resucitar aquellas plantas que experimentan estrés hídrico severo, que de otro modo habrían muerto si no se hubieran tratado (o si se trataran solo mediante un riego).

25 En uso, los compuestos descritos en este documento se aplican generalmente directamente sobre la superficie de la planta o cultivo. Por lo general, esto se puede lograr mediante la aplicación directa a la planta o cultivo, por ejemplo rociando el compuesto o la mezcla de compuestos directamente sobre el material vegetal, por ejemplo sobre hojas, tallos o raíces de la planta durante la fase vegetativa, aunque otros métodos igualmente factibles de aplicación se conocerán en la técnica. Se prevé que los compuestos descritos en este documento también se puedan aplicar indirectamente al medio (por ejemplo, suelo o agua) en el que crecen las plantas o el cultivo.

30 El tratamiento de las plantas de acuerdo con los métodos de la invención puede implicar una sola aplicación del compuesto a la planta o al medio de crecimiento. Sin embargo, se entenderá que el tratamiento puede implicar alternativamente múltiples aplicaciones del mismo compuesto o, de hecho, combinaciones de los compuestos descritos en este documento. Cuando se aplican múltiples (esto es, dos o más) compuestos diferentes al mismo cultivo, estos se pueden aplicar simultáneamente, por separado (en cualquier orden) o secuencialmente.

35 Los compuestos descritos en este documento se proporcionan por lo general a la planta o cultivo en forma de una solución acuosa. Sin embargo, los compuestos descritos en este documento también se pueden proporcionar a la planta o cultivo en forma sólida tal como un polvo, polvo o en forma granular y combinaciones de los mismos.

40 Cuando los compuestos descritos en este documento se proporcionan como una solución acuosa, normalmente la solución aplicada a la planta o al medio de crecimiento tendrá una concentración final de compuesto en el intervalo de 0.1 a 10 mM, opcionalmente en el intervalo de 0.1 mM a 1 M, 0.1 a 900 mM, 0.1 a 800 mM, 0.1 a 700 mM, 0.1 a 600 mM, 0.1 a 500 mM, 0.1 a 400 mM, 0.1 a 300 mM, 0.1 a 200 mM, 0.1 a 100 mM, 0.1 a 50 mM, 0.1 a 40 mM, 0.1 a 30 mM, 0.1 a 20 mM, 0.1 a 10 mM, 0.1 a 9 mM, 0.1 a 8 mM, 0.1 a 7 mM, 0.1 a 6 mM, 0.1 a 5 mM, 0.1 a 4 mM, 0.1 a 3 mM, 0.1 a 2 mM o 0.1 a 1 mM. Opcionalmente, los compuestos descritos en este documento se pueden aplicar a una concentración final de 1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM, 6 mM, 7 mM, 8 mM, 9 mM, 10 mM, 11 mM, 12 mM, 13 mM, 14 mM, 15 mM, 16 mM, 17 mM, 18 mM, 19 mM, 20 mM, 21 mM, 22 mM, 23 mM, 24 mM, 25 mM, 26 mM, 27 mM, 28 mM, 29 mM, 30 mM, 31 mM, 32 mM, 33 mM, 34 mM, 35 mM, 36 mM, 37 mM, 38 mM, 39 mM, 40 mM, 41 mM, 42 mM, 43 mM, 44 mM, 45 mM, 46 mM, 47 mM, 48 mM, 49 mM, 50 mM, 51 mM, 52 mM, 53 mM, 54 mM, 55 mM, 56 mM, 57 mM, 58 mM, 59 mM, 60 mM, 61 mM, 62 mM, 63 mM, 64 mM, 65 mM, 66 mM, 67 mM, 68 mM, 69 mM, 70 mM, 71 mM, 72 mM, 73 mM, 74 mM, 75 mM, 76 mM, 77 mM, 78 mM, 79 mM, 80 mM, 81 mM, 82 mM, 83 mM, 84 mM, 85 mM, 86 mM, 87 mM, 88 mM, 89 mM, 90 mM, 91 mM, 92 mM, 93 mM, 94 mM, 95 mM, 96 mM, 97 mM, 98 mM, 99 mM, 100 mM. Preferiblemente, los compuestos descritos en este documento se aplican a una concentración final de 0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM, 0.5 mM, 0.6 mM, 0.7 mM, 0.8 mM, 0.9 mM, 1 mM, 1.1 mM, 1.2 mM, 1.3 mM, 1.4 mM, 1.5 mM, 1.6 mM, 1.7 mM, 1.8 mM, 1.9 mM o 2 mM. Más preferiblemente los compuestos descritos en este documento se aplican a una concentración final de 1 mM.

55 La presente invención proporciona el uso de una composición que comprende cualquiera de los compuestos descritos en este documento (y combinaciones de los mismos) o una sal agrícolamente aceptable de los mismos en el tratamiento de una planta con estrés hídrico. De acuerdo con lo anterior, los compuestos descritos en este documento y las sales agrícolamente aceptables de los mismos se aplicarán preferiblemente a la planta o al medio de crecimiento como una solución acuosa.

En las realizaciones en las que el compuesto se puede aplicar a plantas como un polvo o polvo, los compuestos descritos en este documento se pueden proporcionar solos o en combinación con otros compuestos descritos en este documento y/o junto con un portador sólido no reactivo y/o un surfactante, por ejemplo un agente humectante. Se puede seleccionar un portador sólido inerte apropiado entre, pero no se limita al grupo que comprende arcillas (por ejemplo, atapulgita, caolín o montmorillonita), silicatos purificados o finamente divididos y/o tierra de diatomeas. Los surfactantes apropiados pueden ser iónicos o no iónicos y tienen capacidades de dispersión, penetración o humectación. Comúnmente, estos surfactantes pueden incluir alquilbencenosulfonatos, alquilsulfatos, ligninas sulfonatadas, naftalenosulfonatos, naftalenosulfonatos condensados y surfactantes no iónicos tales como productos de condensación de óxido de etileno con alquifenoles. Tales surfactantes pueden comprender por lo general del 0.5 al 10 por ciento en peso del producto final para su aplicación a la planta o al medio.

Las composiciones sólidas tales como polvos que contienen un compuesto de la invención contienen preferiblemente al menos 0.1%, por ejemplo, del 0.1 al 95% en peso del compuesto de la invención y del 0.1 al 75% de un portador o surfactante inerte.

Cuando las plantas se tratan con cualquiera de los compuestos descritos en este documento por aplicación indirecta, por ejemplo al medio de crecimiento o al suelo en lugar de directamente sobre la superficie de la planta, se puede encontrar que los polvos o formulaciones granulares son más prácticos. Las formulaciones granulares comunes pueden incluir, pero no se limitan a, cualquiera de los compuestos descritos en este documento, ya sea solos o en combinación, dispersos (por ejemplo por pulverización) sobre un portador inerte tal como arcilla molida gruesa.

Por conveniencia, los compuestos descritos en este documento se pueden combinar con otros ingredientes activos usados para el tratamiento de plantas, por ejemplo, se pueden incorporar a otros productos agroquímicos tales como fertilizantes, herbicidas, agentes antibacterianos o antifúngicos y/o pesticidas

Las plantas receptoras apropiadas pueden incluir hierbas, árboles, cultivos, arbustos, vegetales y plantas ornamentales. Más particularmente, las plantas apropiadas para el tratamiento con los compuestos descritos en este documento en la presente invención son aquellas que producen un alto rendimiento de grano para alimentos, materia prima o biomasa para la producción de combustible o papel. Los ejemplos de tipos de plantas apropiados incluyen, pero no se limitan a, cultivos de crecimiento rápido, por ejemplo trigo, soja, alfalfa, maíz, arroz, sorgo, avena *Panicum*, caña de azúcar y remolacha azucarera. Preferiblemente, la planta es un cultivo de cereal seleccionado de los géneros *Triticum*, *Zea*, *Oryza*, *Hordeum*, *Sorghum*, *Panicum*, *Avena*, *Saccharum* o *Secale*. Más preferiblemente, la planta es una planta *Triticum* sp. Aún más preferiblemente, la planta es una planta *Triticum aestivum*.

Otras plantas apropiadas pueden incluir aquellas plantas que tienen una alta demanda de agua y/o se usan para la producción de biocombustibles o celulosa, por ejemplo, árboles, arbustos y hierbas. Los árboles preferidos para usar en la invención incluyen álamo, álamo híbrido, sauce, arce plateado, sicómoro, goma dulce y eucalipto. Las plantas herbáceas preferidas incluyen tabaco. Las hierbas perennes incluyen hierba de interruptor (*Panicum virgatum*), hierba de la pradera (*Spartina* sp.), Hierba canaria de caña (*Phalaris arundinacea*), falso bromo púrpura (*Brachypodium distachyon*) y *Miscanthus* sp.

Comúnmente dicha planta receptora también se puede seleccionar de: álamo; eucalipto; abeto Douglas; pino; nuez; ceniza; abedul; roble; teca; picea. Preferiblemente, dicha planta se usa por lo general como cultivo, ya sea para alimentación u otros fines. En aspectos preferidos de la invención, dicha planta se puede seleccionar de: maíz (*Zea mays*), canola (*Brassica napus*, *Brassica rapa* ssp.), lino (*Linum usitatissimum*), alfalfa (*Medicago sativa*), arroz (*Oryza sativa*), centeno (*Secale cereale*), sorgo (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*), girasol (*helianthus annuus*), trigo (*Triticum aestivum*), soja (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), patata (*Solanum tuberosum*), maní (*Arachis hypogaea*), algodón (*Gossypium hirsutum*), batata (*Iopmoea batatus*), yuca (*Manihot esculenta*), café (*Cofea* spp.), coco (*Cocos nucifera*), piña (*Anana comosus*), árbol de cítricos (*Citrus* spp.) cacao (*Theobroma cacao*), té (*Camellia senensis*), plátano (*Musa* spp.), avocado (*Persea americana*), higo (*Ficus casica*), guayava (*Psidium guajava*), mango (*Mangifer indica*), oliva (*Olea europaea*), papaya (*Carica papaya*), anacardo (*Anacardium occidentale*), macadamia (*Macadamia intergrifolia*), almendra (*Prunus amygdalus*), remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), avena (*Avena* sp.) o cebada (*Hordeum vulgare*).

Adicionalmente, los compuestos de la invención se pueden usar para tratar el estrés hídrico en vegetales y plantas ornamentales dependiendo de la aplicación elegida, y en particular aquellos con valor comercial, ya sea porque producen un cultivo comestible (por ejemplo, raíces, tubérculos, tallos, hojas, flores, frutos, semillas) y/o por su aspecto estético (por ejemplo, flores, hojas, aroma, frutos, tallos, corteza o una combinación de los mismos). De acuerdo con lo anterior, la planta receptora también se puede seleccionar, por ejemplo: chirivías, rábanos, zanahorias, remolachas, daikon, nabo, apio, rutabaga, jicama, espárragos, apio, ruibarbo, corazones de palma, brotes de bambú, brócoli, jengibre, patata, taro, nopales, rabe, Radicchio, nabo, espinacas, lechuga, repollo, Rocket, acelga, Napa, repollo, Bok Choy, Col rizada, berza, puerro, remolacha verde, alcachofa, brócoli, coliflor, caléndula, flores de calabaza, calabaza bellota, pimienta, berenjena, pepino, calabaza, tomate, tomatillo, calabacín, maíz dulce, ají, melones, naranja, mandarina, lima, limón, pomelo, bayas, peras, manzanas, cerezas, duraznos, semillas de

girasol, habas, habichuelas verdes, judías verdes, guisantes, guisantes de nieve, guisantes, guisantes de azúcar, guisantes, almendras, nueces, nueces o cacahuetes.

Los ejemplos de plantas ornamentales incluyen, pero no se limitan a; *Acacia*, *Achillea*, boj africano, lirio africano, violeta africana, *Agapanthus*, *Ageratum*, *Ageratum houstonianum*, *Allium*, *Alpina*, *Alstroemeria*, *Amaranthus hypochondriacus*, *Amaryllis*, *Ammi majus*, *Anconitum*, *Anemone*, *Anigozanthus*, Annual *Delphinium*, *Anthurium*, *Antirrhinum majus*, *Asparagus*, *Aster*, *Aster* spp., *Astilbe*, *Azalea*, Baby's Breath, Bachelor's Button, *Banksia*, *Begonia*, campanilla; campanas de Irlanda, lino grande, Billy Buttons, estrella ardiente; corazón sangrante, *Boronia*, *Bouvardia*, retama, *Buddleia*, *Bupleurum*, arbusto de mariposa, orquídea mariposa, pimienta de California, lirio de agua, campanula, canasta de plata, campanas de Cantorbury, clavel, *Carthamus*, *Caspia*, *Cattleya*, *Celosia*, *Celosia argenta*, *Centaurea cyanus*, *Chamaelucium*, Chimney Bells, *Chrysanthemum*, *Chrysanthemum morifolium*, *Clarkia*, *Consolida ambigua*, *Convallaria*, campana coral, Cordyline, *Coreopsis*, aciano, *Craspedia*; Sauce rizado, *Cyclamen*, *Cymbidium*, orquídea *Cymbidium*, narciso, margarita, margarita mamá, azucena, *Delphinium*, *Dendrobium*, orquídea *Dendrobium*, *Dianthus barbatus*, *Dianthus caryophyllus*, *Dianthus caryophyllus nana*, Lengua de dragón, morguina, *Enthusiasm*, *Erica* spp, *Eustoma grandiflorum*, ave del paraíso falsa, espirea falsa, farewell-to-spring, anturio, floss flower, *Freesia*, *Freesia*3hybrida, Fuji o spider Mums, gayfeather, *Genista* spp., *Geranium*, *Gerbera*, *Gerbera* spp., Ginger, *Gladiolus*, nanus híbrido *Gladiolus*, barba de chivo, *Godetia*, goldenrod, Guersney Lily, Gyp, *Gypsophila paniculata*, brezo, *Helianthus annuus*, *Heliconia* spp., *Hippeastrum*, *Hosta*, *Hydrangea*, *Iberis amara*; *Impatiens*; lirio Inca, Iris, Iris spp., lirio de marfil, planta de jade, orquídea Japhet, Jonquil, Kalanchoe, pata de canguro, centaurea, espuela de caballero, *Lathyrus odoratus*, *Lavandula*, lavanda, *Liatris*, lila, *Lilium* spp., lirio de los valles, lirio, lirio del campo, lirio del Nilo, *Limonium*, *Limonium* spp., Lisianthus, garra de langosta, arañuela, Love-lies-bleeding, *Mattholia incana*, mimosa, clavel miniatura, mini clavel; gladiolo en miniatura, *Moluccella laevis*, acónito, lengua de suegra, *Musa*, Myrsine, mirto, *Myrtus*, *Narcissus*, *Nephrolepis*, Nerine, Nerine Lily, *Nigella*; orquídea; cebolla Ornamental; *Ornithogalum*, *Paeonia*, Painted Tongue, peonía, lirio peruano, petunia, *Phalaenopsis*, *Philodendron*, *Phlox*, flor del acerico, Pitt, *Pittosporum*, Clavel de duendecillo; Flor de pascua, *Polianthes tuberosa*, pompon crisantemo, anémoma amapola; *Porium*, *Protea* spp.; Coneflower púrpura, sauce, encaje de la reina Ann, *Ranunculus*, Rattlesnake, Red Ribbons, *Rosa* spp., Rose, *Rudbeckia*, Safflower, *Salix*, *Salvia*, *Sansevieria*, Satin Flowers, *Scabiosa*, *Schinus*, lavanda de mar, *Sedum*, flores de concha, planta de serpiente, Snapdragon, *Solidago*, *Solidaster* spp., verónica, lirio araña, Spider Mums, clavel spray, estrella de Belén, stalice, Stenamezon, Stock, Summer's Darling, girasol, guisante dulce, Sweet William, helecho espada, *Syringa vulgaris*, Tailflowers, Tassel flower, Thoroughwax, Throatwort, *Trachelium*, Tree Fern, lirio de trompeta, Tuberose, Tulipán, Tulipa, *Veronica*, Wattle, Waxflower, Wild Plantain, Windflower, Wolfsbane, Youth y Old Age, *Zantedeschia*, *Zinna*, *Zinnia elegans* o *Zygocactus*.

En la presente invención, las plantas, el material vegetal o la parte de la planta se pueden referir a hojas, tallos, raíces, vástagos, puntas de raíces, tejidos o células.

Las plantas, material vegetal o partes de plantas con "estrés hídrico aliviado" pueden referirse a plantas que vivían donde las plantas no tratadas no lo harían. Las plantas también pueden demostrar un mayor rendimiento en comparación con las plantas equivalentes no tratadas que se pueden manifestar, por ejemplo, como aumentos en la biomasa en relación con las plantas no tratadas y/o aumentos o reducciones en el número y/o tamaño de semilla producida por las plantas en relación con las plantas no tratadas o material vegetal.

Breve descripción de los dibujos

La invención se describirá ahora en detalle con referencia a los ejemplos y con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 muestra un diagrama esquemático de una estrategia química para controlar la trehalosa-6-fosfato (T6P) en plantas.

La figura 2 muestra un diagrama esquemático que ilustra el principio de la liberación fotoactivada de T6P *in planta* a partir de precursores de señalización permeables a la planta de T6P.

La figura 3 muestra la síntesis de bis-(2-nitrobencil)-N, N-diisopropilfosforamidita 9.

La figura 4 muestra la síntesis de bis-(4,5-dimetoxi-2-nitrobencil)-N, N-diisopropilfosforamidita 10.

La figura 5 muestra la síntesis de bis-[1-(2-nitrofenil)-etil]-N, N-diisopropilfosforamidita 11.

La figura 6 muestra la síntesis del compuesto 1.

La figura 7 muestra la síntesis del compuesto 2.

La figura 8 muestra la síntesis del compuesto 3.

La figura 9 muestra la síntesis del compuesto 4.

La figura 10 muestra la síntesis del compuesto 13.

- La figura 11 muestra la síntesis del compuesto 14.
- La figura 12 muestra la síntesis del compuesto 15.
- La figura 13 muestra la síntesis del compuesto 16.
- La figura 14 muestra la síntesis del compuesto 17.
- 5 La figura 15 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 9.
- La figura 16 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 9.
- La figura 17 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 10.
- La figura 18 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 10.
- La figura 19 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 11.
- 10 La figura 20 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 11.
- La figura 21 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 1.
- La figura 22 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 1.
- La figura 23 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 2.
- La figura 24 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 2.
- 15 La figura 25 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 3.
- La figura 26 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 3.
- La figura 27 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 4.
- La figura 28 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 4.
- La figura 29 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 14.
- 20 La figura 30 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 14.
- La figura 31 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 15.
- La figura 32 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 15.
- La figura 33 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 16.
- La figura 34 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 16.
- 25 La figura 35 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 17.
- La figura 36 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto 17.
- La figura 37 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto T6P.
- La figura 38 muestra los espectros de ^1H y ^{13}C RMN del compuesto T6P.
- 30 La figura 39 muestra las estructuras bioquímicas conocidas y la síntesis en un recipiente de variantes precursoras de señalización permeables diseñadas a partir de precursores apropiados.
- La figura 40 muestra el efecto de pulverizar precursores de señalización de T6P sobre la resiliencia de los cultivos; fenotipos generales de las plantas después de una aplicación de oNPE-T6P 1 mM (3) o DMNB-T6P 1 mM (2) un día antes del riego después de 20 días de recuperación.
- 35 La figura 41 muestra la biomasa de las plantas experimentales de la figura 4. Los asteriscos indican significación estadística.
- La figura 42 muestra los fenotipos generales de las plantas después de una aplicación de oNPE-T6P1mM (3) o DMNB-T6P 1mM (2) un día antes del riego, cortar a los 5 días después del riego y dejar crecer nuevamente durante 10 días. El punto de corte se indica con una flecha y una línea blancas. El recrecimiento se indica con una flecha negra.

La figura 43 muestra el peso fresco de biomasa de recrecimiento. Los asteriscos indican significación estadística.

Descripción detallada

Ejemplos

5 La ruta de síntesis de trehalosa 6-fosfato (T6P) en plantas se resume en la figura 1. La fotosíntesis genera sacarosa, que se transloca a las regiones de crecimiento de la planta. Dentro de la célula, alimenta un conjunto de metabolitos centrales que son sustratos para procedimientos biosintéticos que determinan el crecimiento y la productividad. T6P se sintetiza a partir de UDPG y G6P por la trehalosa 6-fosfato sintasa (TPS) y, por lo tanto, refleja la abundancia de sacarosa. Se descompone por la trehalosa fosfato fosfatasa (TPP). El aumento de T6P (a) estimula la síntesis de almidón a través de la activación redox postraduccional de ADP-glucosa pirofosforilasa (AGPasa) que cataliza la primera etapa comprometida de la biosíntesis de almidón y (b) inhibe SnRK1, una proteína quinasa central para la conservación de la energía y la supervivencia durante la privación de energía. La inhibición de SnRK1 por T6P de este modo desvía el consumo de esqueleto de carbono hacia procedimientos biosintéticos.

Ejemplo 1. Diseño y síntesis de precursores de señalización de T6P

15 El T6P es impermeable a las plantas (Figura 2). Con el fin de alterar los niveles de T6P *in planta*, se diseñaron y sintetizaron variantes precursoras de señalización permeables a la planta en una reacción de único recipiente a partir de precursores apropiados.

Síntesis de compuestos precursoras de señalización 1-4

20 Se agregó solución de 1H-tetrazol (0.45 M en CH₃CN) (0.6 mL, 0.24 mmol, 2.0 equiv.) a una solución agitada de 12 (100 mg, 0.12 mmol, 1 equiv.) y bis-(2-nitrobencil)-N, N-diisopropilfosforamidita 9 (78.3 mg, 0.18 mmol, 1.5 equiv.) en CH₂Cl₂ anhidro (5 mL) en atmósfera de argón a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó a 0-5 °C y el progreso de la reacción se controló por TLC (éter de petróleo:éter; 8:2) y espectrometría de masas. Después de la desaparición completa del material de partida (1 h), se agregó tBuOOH (0.1 mL) a 0 °C y se continuó la agitación durante otros 30 minutos. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se suspendió en metanol (2 mL) y se agitó en presencia de 30 mg de resina Dowex-H⁺ durante 1 hora a temperatura ambiente para eliminar globalmente los grupos TMS.

25 Se eliminó el Dowex-H⁺ mediante filtración y se concentró el filtrado, que mediante la purificación en cromatografía instantánea (agua: isopropanol: acetato de etilo, 1: 2: 8) produjo 1 (70 mg) con un rendimiento aislable del 87%. Se adoptaron protocolos de reacción similares para la síntesis de los compuestos 2 y 3. El compuesto 4 se obtuvo cuando una solución agitada de 12 (100 mg, 0.12 mmol) en piridina (2 mL) a temperatura ambiente se trató con POCl₃ (0.012 mL, 0.132 mmol) durante 10 minutos seguido de la adición de alcohol 4,5-dimetoxi-2-nitrobencílico (76.7 mg, 0.36 mmol) y agitación continua durante 1 hora.

30 La mezcla de reacción resultante se concentró al vacío para producir una mezcla de producto en bruto, que se trató con Dowex-H⁺ (30 mg) en metanol (2 mL). Después de la filtración, la concentración al vacío y la purificación por cromatografía instantánea produjeron 4 (45 mg, 62%) como un sólido pegajoso puro. Los detalles completos de la síntesis de cada uno de los compuestos se proporcionan a continuación.

35 Protocolos de síntesis, datos experimentales y de caracterización para todos los compuestos.

Síntesis de bis-(2-nitrobencil)-N,N-diisopropilfosforamidita 9.

40 Se disolvió dicloruro de diisopropilfosforamido 5 (2.0 g, 9.90 mmol) en 15 mL de THF y la solución resultante se agregó lentamente a una solución que contenía 4.2 mL (29.7 mmol) de trietilamina y 3.03 g (19.8 mmol) de alcohol 2-nitrobencílico 6 en 10 mL de THF a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C, durante 30 minutos y luego a 25 °C, durante otras 2 horas. El precipitado incoloro se aisló por filtración y el sólido se lavó con 100 mL de acetato de etilo. La fase orgánica se lavó sucesivamente con porciones de 15 mL de NaHCO₃ saturado y NaCl saturado y luego se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida a 25 °C. El residuo se precipitó a partir de acetato de etilo/hexano, proporcionando bis (2-nitrobencil) N, N-diisopropilfosforamidita 9 (3.0 g, 70%) como un sólido incoloro.⁵

45 *bis*-(2-nitrobencil)-N,N-diisopropilfosforamidita 9. Mp 71-72 °C. [lit.⁵ Mp 71-73 °C] ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8.10 (d, J = 8.4 Hz, 2 H, H-3 y H-3'), 7.86 (d, J = 8.0 Hz, 2 H, H-6 y H-6'), 7.67 (t, J = 8.0 Hz, 2H, H-5 y H-5'), 7.44 (t, J = 8.4 Hz, 2H, H-4 y H-4'), 5.21 (dd, J = 16.4 Hz y J = 6.8 Hz, 2H, CH₂Ar), 5.12 (dd, J = 16.4 Hz y J = 6.8 Hz, 2H, CH₂Ar), 3.77-3.71 (m, 2H, 2 x CH(CH₃)₂), 1.25 (d, J = 8.5 Hz, 12H, 2 x CH(CH₃)₂); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 146.8 (C-2 y C-2'), 136.1, 136.0 (C-1 y C-1'), 133.7 (C-6 y C-6'), 128.5 (C-5 y C-5'), 127.8 (C-4 y C-4'), 124.6 (C-3 y C-3'), 62.5 (CH₂Ar), 62.3 (CH₂Ar), 43.4 (CH(CH₃)₂), 43.3 (CH(CH₃)₂), 24.7 (CH(CH₃)₂), 24.6 (CH(CH₃)₂); ³¹P RMN (162 MHz, CDCl₃) δ 149.0; ESI-LRMS *m/z* calculado para C₂₀H₂₆N₃O₆P [M+H]⁺ 436.1; Encontrado 436.1.

Síntesis de bis-(4,5-dimetoxi-2-nitrobencil)-N,N-diisopropilfosforamidita

10. A una suspensión enfriada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de alcohol 4,5-dimetoxi-2-nitrobenílico 7 (2.1 g, 9.90 mmol) y trietilamina (1.5 mL, 10.8 mmol) en THF seco (10 mL) gota a gota una solución de dicloruro de diisopropilfosforamido 5 (1.0 g, 4.95 mmol) en THF seco (2 mL). La mezcla se dejó calentar a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, se agitó durante 18 h, y se agregó una solución saturada acuosa de NaHCO_3 , (15 mL). El sólido se filtró, se lavó con agua (20 mL) y se secó para dar 2.0 g (74%) de 10^6 . (véase la figura 4)

bis-(4,5-dimetoxi-2-nitrobenzil)-*N,N*-diisopropilfosforamidita 10. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.72 (s, 2H, H-3 y H-3'), 7.39 (s, 2H, H-6 y H-6'), 5.24 (dd, $J = 16.4\text{ Hz}$ y $J = 6.8\text{ Hz}$, 2H, CH_2Ar), 5.15 (dd, $J = 16.4\text{ Hz}$ y $J = 6.8\text{ Hz}$, 2H, CH_2Ar), 3.95 (s, 6H, 2 x OMe), 3.94 (s, 6H, 2 x OMe), 3.85-3.70 (m, 2H, 2 x $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) 1.27 (d, $J = 8.5\text{ Hz}$, 12H 2 x $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C RMN (100 MHz, CDCl_3) δ 153.8 (C-5 y C-5'), 147.5 (C-4 y C-4'), 138.6 (C-2 y C-2'), 131.7, 131.6 (C-3 y C-3'), 109.2 (C-1 y C-1'). 107.8 (C-6 y C6'), 62.5 (CH_2Ar), 62.4 (CH_2Ar), 56.3 (OMe). 43.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 43.3($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 25.6 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 24.7 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); ^{31}P RMN (162 MHz, CDCl_3) δ 147.4; ESILRMS *m/z* calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{P}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 556. L; Encontrado 556.1.

Síntesis de *bis*-[1-(2-nitrofenil)-etil]-*N,N*-diisopropilfosforamidita 11.

Se disolvió dicloruro de diisopropilfosforamido 5 (1.0 g, 4.95 mmol) en 5 mL de THF seco y la solución resultante se agregó lentamente a una solución que contenía 1.5 mL (10.89 mmol) de trietilamina y 1.65 g (9.90 mmol) de alcohol 1-metil-2-nitrobenílico 8 en 10 mL de THF a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla de reacción se agitó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante 1 min y luego a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante otras 18 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc. La fase orgánica se lavó sucesivamente con porciones de 15 mL de NaHCO_3 saturado y NaCl saturado y luego se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ para obtener el producto en bruto. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en columna usando acetato de etilo/éter de petróleo (5:95 v/v), proporcionando *bis*-[1-(2-nitrofenil)-etil]-*N,N*-diisopropilfosforamidita 11 (1.6 g, 72%) como un sólido incoloro. (véase la figura 5)

Bis-[1-(2-nitrofenil)-etil]-*N,N*-diisopropilfosforamidita 11. Aislado como una mezcla diastereomérica. ^1H RMN(400 MHz, CDCl_3) δ 7.83-7.76 (m, 3 H, H-3, H-3' y H-5), 7.54-7.46 (m, 3 H, H-5', H-4 y H-4'), 7.33-7.18 (m, 2H, H-6 y H-6'). 5.48-5.29 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ar}$), 3.62-3.44 (m, 2H, 2 x $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.55-1.48 (m, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ar}$), 1.40-1.35 (m, 3H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ar}$), 1.13-1.07 (m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.90-0.83 (m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); ^{13}C RMN(100 MHz, CDCl_3) δ 147.2, 147.1, 146.9 (C-2 y C-2'), 141.3, 141.1, 140.8 (C-1 y C-1'), 133.4, 133.3 (C-3 y C-3'), 128.5, 128.3 (C- 5 y C-5'), 127.8, 127.7 (C-4 y C-4'), 124.0, 123.9 (C-6 y C-6'), 67.3, 67.2 ($\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ar}$), 67.0, 66.7 ($\text{CH}(\text{CH}_3)$), 43.1, 43.0, 25.1, 25.0 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 24.5, 24.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 24.2, 24.1 ($\text{CH}(\text{CH}_3)\text{Ar}$); ESI-LRMS *m/z* calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_6\text{P}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 464.1; Encontrado 464.1.

Síntesis del compuesto 1. A una solución de 12 (100 mg, 0.12 mmol, 1 equiv.) y solución de 1H-tetrazol (16.8 mg, 0.24 mmol, 2.0 equiv. Se agregaron ~ 0.5 mL de solución 0.4M en CH_3CN) en CH_2Cl_2 anhidro (4 mL) bajo una atmósfera de argón a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ de *bis*-(2-nitrobenzil) N, N-diisopropilfosforamidita 9 (78.3 mg, 0.18 mmol, 1.5 equiv.). La solución se agitó durante 30 minutos y el progreso de la reacción se controló por TLC (éter de petróleo: éter; 8: 2). Después de la desaparición completa del material de partida, se agregó tBuOOH (32.5 mg, 0.36 mmol, 3.0 equiv. ~ 0.1 mL de solución 5M en decano) a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó durante 30 min. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se agitó con 30 mg de resina Dowex- H^+ en metanol (10 mL) durante 1 hora para obtener el compuesto desprotegido como un producto en bruto. Este producto en bruto después de la purificación por cromatografía instantánea produjo el producto deseado 1 (70 mg) con un rendimiento aislable del 87%. (véase la figura 6)

6-0-*bis*-(2-nitrobenxiloxifosforil)-D-trehalosa 1. R_f 0.60 (1 agua: 2 isopropanol: 4 acetato de etilo); $[\alpha]_D^{21} + 80.6$ (c 1.0, MeOH); FT-IR (ATR) $\nu\text{ cm}^{-1}$ (3347 (br, OH), 1526 (s, N=O), 1343 (s, N=O), 1255 (P=O)); ^1H RMN (500 MHz, D_2O) δ 8.02 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 2H ArH), 7.66-7.65 (m, 4H, ArH), 7.50-7.46 (m, 2H, ArH), 5.43 (d, $J = 7.2\text{ Hz}$, 4H, 2 x (CH_2Ar), 4.96 (d, $J_{1,2} = 3.6\text{ Hz}$, 1H, H-1'), 4.93 (d, $J_{1,2} = 3.6\text{ Hz}$, 1H, H-1), 4.40 (dd, $J_{6'a,6'b} = 11.0\text{ Hz}$, $J_{6'a,5} = 2.0\text{ Hz}$, 1H, H-6'a), 4.35 (dd, $J_{6'b,6'a} = 11.0\text{ Hz}$, $J_{6'b,5} = 4.5\text{ Hz}$, 1H, H-6'b), 3.93 (td, $J_{5'4'} = 10.0\text{ Hz}$ y $J_{5',6'a} = 2.0\text{ Hz}$, 1H, H-5'), 3.71 (t, $J_{3'2'} = 9.2\text{ Hz}$, $J_{3',4'} = 9.2\text{ Hz}$, 1H, H-3'), 3.70-3.68 (m, 1 H, H-5), 3.67 (t, $J_{3,2} = 9.6\text{ Hz}$, $J_{3,4} = 9.6\text{ Hz}$, 1H, H-3), 3.66-3.65 (m, 1H, H-6a), 3.58 (dd, $J_{6b,6a} = 12.0\text{ Hz}$ y $J_{6b,5} = 5.2\text{ Hz}$, 1H, H-6b), 3.44 (dd, $J_{2'3'} = 9.9\text{ Hz}$, $J_{2',1'} = 3.5\text{ Hz}$, 1 H, H- 2'), 3.40 (dd, $J_{2,3} = 9.6\text{ Hz}$, $J_{2,1} = 3.8\text{ Hz}$, 1H, H-2), 3.27 (t, $J_{4'3'} = 9.6\text{ Hz}$, $J_{4'5'} = 9.6\text{ Hz}$, 1H, H-4'), 3.22 (t, $J_{4,3} = 9.6\text{ Hz}$, $J_{4,5} = 9.6\text{ Hz}$, 1H, H-4); ^{13}C RMN (125 MHz, D_2O) δ 147.7 (qCAr), 134.3(qCAr), 132.1 (ArC), 129.4 (ArC), 129.0 (ArC), 128.9 (ArC), 125.0 (ArC), 94.4 (C-1'), 94.3 (C-1), 73.5 (C-3'), 73.3 (C-3), 72.8 (C-2'), 72.1 (C-2), 72.0 (C- 5'), 71.0 (C-5), 70.9 (C-4'), 70.8 (C-4), 70.1 (C-6'), 67.2 (CH_2Ar), 66.6 (CH_2Ar), 61.6 (C-6); ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O) δ -0.11; ESI-HRMS *m/z* calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_{18}\text{P}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 715.1368; Encontrado 715.1368.

Síntesis del compuesto 2. A una solución de 12 (100 mg, 0.12 mmol, 1 equiv.) y 1H-tetrazol (84 mg, 1.2 mmol, 10 equiv. 3.0 mL de solución 0.4 M en CH_3CN) en CH_2Cl_2 anhidro (8 mL) en atmósfera de argón a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, se le agregó *bis*-(4,5-dimetoxi-2-nitrobenzil)-*N,N*-diisopropilfosforamidita 10 (100 mg, 0.18 mmol, 1.5 equiv.) y la mezcla de reacción resultante se agitó a $0-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. El progreso de la reacción se controló por TLC (éter de petróleo: éter; 8: 2). Después de la desaparición completa del material de partida (18 h), se agregó tBuOOH (32.5 mg, 0.36 mmol, 3.0 equiv. ~ 0.1 mL de solución 5 M en decano) a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la mezcla se agitó durante 30 minutos más. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se agitó con 30 mg de resina Dowex- H^+ en metanol (10 mL) durante 1 hora para obtener el compuesto desprotegido como producto en bruto. Este producto en

bruto después de la purificación por cromatografía instantánea produjo el producto deseado 2 (50 mg) con un rendimiento aislable del 52%. (véase la figura 7)

5 6-O-bis-(4,5-dimetoxi-2-nitrobenciloxifosforil)-D-trehalosa 2. R_f 0.50 (1 agua; 2 isopropanol: 4 acetato de etilo); $[\alpha]_D^{21} + 64.8$ (c 1.1, MeOH); FT-IR (ATR) ν cm^{-1} 3347 (br, OH), 1519 (s, N=O), 1326 (s, N=O), 1220 (P=O); ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 7.53 (s, 2H, ArH), 7.03 (s, 2H, ArH), 5.37 (d, $J = 8.0$ Hz, 4H, 2 x CH_2Ar), 4.95 (d, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, 1H, H-1'), 4.91 (d, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, 1H, H-1), 4.30 (dd, $J_{6a,6b} = 11.6$ Hz, $J_{6a,5} = 2.0$ Hz, 1H, H-6'a), 4.35 (dd, $J_{6b,6a} = 11.0$ Hz, $J_{6b,5} = 3.6$ Hz, 1H, H-6'b), 3.94 (td, $J_{5,4} = 10.0$ Hz y $J_{5,6a} = 2.0$ Hz, 1H, H-5'), 3.71 (t, $J_{3,2} = 9.6$ Hz, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, 1H, H-3'), 3.70-3.68 (m, 1H, H-5), 3.67 (t, $J_{3,2} = 9.6$ Hz, $J_{3,4} = 9.6$ Hz, 1H, H-3), 3.66-3.65 (m, 1H, H-6a), 3.58 (dd, $J_{6b,6a} = 11.6$ Hz y $J_{6b,5} = 5.6$ Hz, 1H, H-6b), 3.35 (dd, $J_{2,3} = 8.4$ Hz, $J_{2,1} = 4.0$ Hz, 1H, H-2'), 3.33 (dd, $J_{2,3} = 8.5$ Hz, $J_{2,1} = 3.8$ Hz, 1H, H-2), 3.26 [t, $J_{4,3} = 8.8$ Hz, $J_{4,5} = 8.8$ Hz, 1H, H-4'), 3.24 (t, $J_{4,3} = 9.6$ Hz, $J_{4,5} = 9.6$ Hz, 1H, H-4); ^{13}C RMN (125 MHz, CD_3OD) δ 154.2 (qCAr), 148.9. (qCAr), 143.7 (qCAr), 139.6 (ArC), 126.8 (ArqC), 126.6 (ArC), 110.4 (ArC), 110.3 (ArC), 108.2, 94.4 (C-1'), 94.3 (C-1), 73.5 (C-3'), 73.3 (C-3), 72.8 (C-2'), 72.1 (C-2), 72.0 (C-5'), 70.8 (C-5), 70.2 (C-6'), 69.7 (CH_2Ar), 66.6 (CH_2Ar), 61.6 (C-6), 56.1 (2 x OMe), 55.8 (2 x OMe); ^{31}P RMN (162 MHz CD_3OD) δ - 0.15; ESI-HRMS m/z calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{41}\text{N}_2\text{O}_{22}\text{P}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 835.1786; Encontrado 835.1782.

15 Síntesis del compuesto 3. A una solución de 12 (100 mg, 0.12 mmol, 1 equiv.) y 1H-tetrazol (84 mg, 1.2 mmol, 10 equiv. 3.0 mL de solución 0.4 M en CH_3CN) en CH_2Cl_2 anhidro (8 mL) en atmósfera de argón a $^\circ\text{C}$, se le agregó bis-[1-(2-nitrofenil)-etil]-*N,N*-diisopropilfosforamidita 11 (83.5 mg, 0.18 mmol, 1.5 equiv.) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 0-5 $^\circ\text{C}$. El progreso de la reacción se controló por TLC (éter de petróleo: éter; 8: 2) y espectrometría de masas. Después de la desaparición completa del material de partida (18 h), se agregó tBuOOH (32.5 mg, 0.36 mmol, 3.0 equiv. ~ 0.1 mL de solución 5M en decano) a 0 $^\circ\text{C}$ y se agitó durante 30 min. Después de 30 minutos, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se agitó con 30 mg de resina Dowex- H^+ en metanol (10 mL) durante 1 hora para obtener el compuesto desprotegido como producto en bruto. Este producto en bruto después de la purificación por cromatografía instantánea produjo el producto deseado 3 (44 mg) con un rendimiento aislable del 52%. (véase la figura 8)

25 6-O-bis[1-(2-nitrofenil)-etoxifosforil]-D-trehalosa 3. Aislado como una mezcla de cuatro diastereómeros. R_f 0.65 (1 agua : 2 isopropanol : 4 acetato de etilo); FT-IR (ATR) ν cm^{-1} 3394 (br, OH), 1521 (s, N=O), 1326 (s, N=O), 1276 (P=O); ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 7.91-7.05 (m, 8 H, ArH), 5.92-5.84 (m, 2H, 2 x CHMe), 5.04-4.94 (m, 2H, H-1 y H-1'), 3.90-3.60 (m, 7H), 3.41-3.05 (m, 5H), 1.56-1.46 (m, 6H, 2 x CHMe); ^{13}C RMN (125 MHz, CD_3OD) δ 148.8, 148.3, 148.2 148.1 (qCAr), 147.9, 145.4, 138.9, 138.3 (qCAr), 138.2, 135.4, 135.3, 135.2 (ArC), 130.4, 130.3, 129.9, 129.3, 129.2, 128.8 (ArC) 128.7, 128.6, 126.3, 125.6, 125.5 (ArC), 95.4 (C-1'), 95.3 (C-1), 79.8, 74.6 (C-3'), 74.4, 74.2, (C-3), 74.0, 73.9 (C-2'), 73.6, 73.3 (C-2), 73.2, 73.1 (C-5'), 73.0, 72.9 (C-5), 71.9, 71.8 (C-4'), 71.2, 71.1 (C-4), 71.0 (C-6'), 68.5, 68.4 (CHMe₂), 68.2, 68.1 (CHMe₂), 62.6, 62.1 (C-6), 30.7, 30.5, 24.7 (CHCH₃); ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ - 1.70, - 2.20, - 2.50, - 2.81 (P=O) cuatro picos de diferentes diastereómeros; ESI-HRMS m/z calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_{18}\text{P}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$; 743.1677; Encontrado 743.1676.

35 Síntesis del compuesto 4. A una solución agitada del compuesto 12 (100 mg, 0.12 mmol) en piridina (2 mL) a temperatura ambiente, se le agregó POCl_3 (0.012 mL, 0.132 mmol) gota a gota y la mezcla se agitó durante más de 10 min. Después de 10 minutos, se agregó alcohol 4,5-dimetoxi-2-nitrobencilico (DMNB-OH) (76.7 mg, 0.36 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora más. La mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener la mezcla de producto en bruto, que después del tratamiento con Dowex- H^+ (50 mg) en metanol (2 mL) proporcionó los compuestos 2 y 4. Después de la filtración, la concentración al vacío y la purificación por cromatografía instantánea produjeron 4 (45 mg, 62%) como una goma. (véase la figura 9) 6-O-(4,5-dimetoxi-2-nitrobenciloxifosforil)-D-trehalosa 4. R_f 0.33 (1 agua : 2 isopropanol : 4 acetato de etilo); $[\alpha]_D^{21} + 48.7$ (c 1.1, MeOH); FT-IR (ATR) ν cm^{-1} 3312 (br, OH), 1521 (s, N=O), 1326 (s, N=O), 1220 (P=O); ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 7.62 (s, 1H, ArH), 7.39 (s, 1H, ArH), 5.21 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2Ar), 4.91 (d, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, 1H, H-1'), 4.87 (d, $J_{1,2} = 4.0$ Hz, 1H, H-1), 4.14-3.98 (m, 2H, H-6'), 3.88 (s, 3H, OMe), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.71-3.65 (m, 4H, H-6a, H-3', H-3 y H-5'), 3.57 (dd, $J_{6b,6a} = 12.0$ Hz y $J_{6b,5} = 5.6$ Hz, 1H, H-6b), 3.35 (dd, $J_{2,3} = 7.2$ Hz y $J_{2,1} = 3.6$ Hz, 1H, H-2'), 3.32 (dd, $J_{2,3} = 6.8$ Hz y $J_{2,1} = 3.4$ Hz, 1H, H-2), 3.22-3.21 (m, 3H, H-4', H-4 y H-5); ^{13}C RMN (125 MHz, CD_3OD) δ 155.5 (qC Ar), 149.0 (qC Ar) 139.9 (qC Ar), 132.1 (qC Ar), 110.8 (ArC), 109.0 (ArC), 95.3 (C-1'), 95.2 (C-1), 74.4 (C-3'), 74.3 (C-3), 73.7 (C-2'), 73.2 (C-2), 73.1 (C-5'), 72.7 (C-5), 71.8 (C-4'), 71.4 (C-4), 65.9 (CH_2Ar), 65.5 (C-6'), 62.6 (C-6), 57.0 (OMe), 56.8 (OMe); ^{31}P RMN (162 MHz, CD_3OD) δ 2.18 (P=O); ESI-HRMS m/z calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{NO}_{18}\text{P}$ [$\text{M}-\text{H}$] $^-$: 616.1279; Encontrado 616.1273.

55 Síntesis del compuesto 13. El metil tetra-O-trimetilsilil- α -D-glucopiranosido (3.0 g, 4.14 mmol, 1 equiv.) se disolvió en metanol (50 mL) y se mantuvo a 0 $^\circ\text{C}$ seguido de la adición de solución de K_2CO_3 en MeOH (50 mL, 4.5 g/L) a 0-4 $^\circ\text{C}$ y se agitó durante 1 h (TLC, EtOAc: éter de petróleo; 1: 4). Después de la neutralización con AcOH (5 mL), la mezcla se concentró para producir la mezcla de producto en bruto. La mezcla del producto en bruto se disolvió en diclorometano (50 mL) y se lavó con agua (3 x 15 mL). La capa de diclorometano se separó y se concentró al vacío. La cromatografía instantánea (EtOAc: éter de petróleo; 1: 9) produjo el producto deseado 13 (1.56 g, 61%). 2 (véase la figura 10)

60 Metil 2,3,4-tri-O-trimetilsilil- α -D-glucopiranosido 13. sólido incoloro $[\alpha]_D^{21} + 95.3$ (c 1, CHCl_3), [lit₂ $[\alpha]_D^{21} + 93$ (c3, CHCl_3)]; ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3): δ 4.61 (d, $J_{1,2} = 3.6$ Hz, 1H, H-1), 3.78-3.74 (m, 2H, H-6' y H-3), 3.68 (dd, $J_{6,5} =$

4.4 Hz $J_{6,6'}$ = 11.6 Hz, 1H, H-6), 3.57 (ddd, $J_{5,4}$ = 9.6 Hz, $J_{5,6}$ = 4.3 Hz, $J_{5,6'}$ = 3.1 Hz, 1H, H-5), 3.48 (dd, $J_{2,1}$ = 3.0 Hz, $J_{2,3}$ = 8.4 Hz, 1H, H-2), 3.45 (dd, J = 6.4 Hz, J = 2.4 Hz, 1H, H-4), 3.34 (s, 3H, OMe), 0.17 (s, 9H, Si(CH₃)₃), 0.15 (s, 9H, Si(CH₃)₃), 0.14 (s, 9H, Si(CH₃)₃); ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃): δ

5 99.6 (C-1), 74.8 (C-3), 73.7 (C-2), 71.9 (C-4), 71.5 (C-5), 61.8 (C6), 54.8 (OMe), 1.2 (s, 3C, Si(CH₃)₃), 0.86 (s, 3C, Si(CH₃)₃), 0.46 (s, 3C, Si(CH₃)₃); ESI-LRMS m/z calculado para C₁₆H₃₈O₆Si₃ [M+ Na]⁺: 433.18; Encontrado 433.20.

10 Síntesis del compuesto 14. A una solución de 13 (100 mg, 0.24 mmol, 1 equiv.) y 1H-tetrazol (85 mg, 1.21 mmol, 5.0 equiv. 3.0 mL de solución 0.4M en CH₃CN) en CH₂Cl₂ seco (8 mL) en atmósfera de argón a 0 °C, se le agregó *bis*-(2-nitrobenzil)-*N,N*-diisopropilfosforamidita 9 (156 mg, 0.36 mmol, 1.5 equiv.). La solución se agitó durante la noche a 0-5 °C. Después de la desaparición completa del material de partida (18 h), se agregó tBuOOH (64.8 mg, 0.72 mmol, 3.0 equiv. ~ 0.2 ml de solución 5.0 M en decano) a 0 °C. Después de 30 minutos de agitación, la mezcla se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en metanol (15 mL) y se agitó con 30 mg de resina Dowex-H⁺ durante 1 h para obtener el compuesto desprotegido. Después de 1 h, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró para producir un producto en bruto desprotegido que, mediante purificación por cromatografía instantánea, produjo el producto deseado 14 (66 mg) con un rendimiento aislable del 50%. (véase la figura 11)

15 Metil 6-O-bis- (2-nitrobenziloxifosforil) - α -D-glucopiranosido 14. R_f 0.50 (1 Metanol: 9 diclorometano); [α]_D²¹ + 49.5 (c 1.0, MeOH); FT-IR (ATR) ν cm⁻¹ 3354 (br, OH), 1525 (s, N=O), 1342 (s, N=O), 1255 (P=O); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 8.00 (d, J = 8.0 Hz, 2H, ArH), 7.67-7.61 (m, 4H, ArH), 7.48 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 7.47 (t, J = 8.0 Hz, 1H, ArH), 5.44 (d, J = 7.2 Hz, 4H, 2 x CH₂Ar), 4.50 (d, $J_{1,2}$ = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.31 (ddd, $J_{6a,6b}$ = 11.2 Hz, $J_{6a,31P}$ = 6.4 Hz, $J_{6a,5}$ = 1.6 Hz, 1H, H-6a), 4.22 (ddd, $J_{6b,6a}$ = 12.0 Hz, $J_{6b,31P}$ = 7.2 Hz, $J_{6b,5}$ = 4.8 Hz, 1H, H-6b), 3.57 (ddd, $J_{5,4}$ = 10.0 Hz, $J_{5,6}$ = 4.8 Hz, $J_{5,6'}$ = 1.6 Hz, 1H, H-5) 3.50 (brt, = 9.2 Hz $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, 1H, H-3), 3.24 (dd, $J_{2,1}$ = 3.6 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, 1H, H-2), 3.23 (s, 3H, OMe), 3.20 (dd, $J_{4,3}$ = 9.2 Hz, $J_{4,5}$ = 9.7 Hz, 1H, H-4); ¹³C RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 147.3 (qC Ar), 143.3 (qC Ar), 134.2, 132.0, 129.4, 128.8, 125.0

20 (ArC), 100.3 (C-1), 73.9 (C-3), 72.3 (C-2), 70.7 (C5), 70.1 (C-4), 67.9 (C-6), 66.5 (CH₂Ar), 54.7 (OMe); ³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ -1.65; ESI-HRMS m/z calculado para C₂₁H₂₅N₂O₁₃P [M+ Na]⁺: 567.0986; Encontrado 567.0983.

25 Síntesis del compuesto 15. A una solución de 13 (100 mg, 0.24 mmol, 1 equiv.) y 1H-tetrazol (85 mg, 1.21 mmol, 5.0 equiv. 3.0 mL de solución 0.4M en CH₃CN) en CH₂Cl₂ seco (8 mL) bajo una atmósfera de argón a 0 °C, se le agregó *bis*-(4,5-dimetoxi-2-nitrobenzil)-*N,N*-diisopropilfosforamidita 10 (200 mg, 0.36 mmol, 1.5 equiv.). La solución se agitó durante la noche a 0-4 °C. Después de la desaparición completa del material de partida (18 h), se agregó tBuOOH (64.8 mg, 0.72 mmol, 3.0 equiv. ~ 0.2 mL de solución 5.0 M en decano) a 0 °C. Después de 30 minutos de agitación, la mezcla se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en metanol (15 mL) y se agitó con 30 mg de resina Dowex-H⁺ durante 1 hora para obtener compuestos desprotegidos. Después de 1 h, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró para producir un producto en bruto completamente desprotegido que, mediante cromatografía instantánea, produjo el producto deseado 15 (60 mg) con un rendimiento aislable del 37%. (véase la figura 12)

35 Metil 6-O-bis- (4,5-dimetoxi-2-nitrobenziloxifosforil)- α -D-glucopiranosido 15. R_f 0.40 (1 Metanol: 9 diclorometano); [α]_D²¹ + 40.7 (c 1.09, MeOH); FT-IR (ATR) ν cm⁻¹ 3355 (br, OH), 1519 (s, N=O), 1326 (s, N=O), 1220 (P=O); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7.51 (s, 2H, ArH), 7.03 (s, 2H, ArH), 5.37 (d, J = 8.0 Hz, 4H, 2 x CH₂Ar), 4.50 (d, $J_{1,2}$ = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.32 (ddd, $J_{6a,6b}$ = 11.2 Hz, $J_{6a,31P}$ = 6.4 Hz, $J_{6a,5}$ = 1.6 Hz, 1H, H-6a), 4.22 (ddd, $J_{6b,6a}$ = 12.0 Hz, $J_{6b,31P}$ = 7.2 Hz, $J_{6b,5}$ = 4.8 Hz, 1H, H-6b), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.57 (dd, $J_{5,4}$ = 10.0 Hz, $J_{5,6b}$ = 4.8 Hz, 1H, H-5), 3.50 (brt, $J_{3,2}$ = 9.2 Hz, $J_{3,4}$ = 9.2 Hz, 1H, H-3), 3.25 (dd, $J_{2,1}$ = 3.6 Hz, $J_{2,3}$ = 9.2 Hz, 1H, H-2), 3.24 (s, 3H, OMe), 3.21-3.16 (m, 1H, H-4); ¹³C RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 154.1, 148.9 (qC Ar), 143.2, 139.5 (qC Ar), 126.6 110.3, 108.1 (ArC), 100.3 (C-1), 73.9 (C-3), 72.3 (C-2), 70.7 (C-5), 70.1 (C-4),

40 68.0 (C-6), 66.8 (CH₂AR), 56.0, 55.8 (OMe), 54.7 (OMe); ³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ - 1.62; ESI-HRMS m/z calculado para C₂₅H₃₃N₂O₁₇P [M+ Na]⁺: 687.1409; Encontrado 687,1421.

45 Síntesis del compuesto 16. A una solución de 13 (100 mg, 0.24 mmol, 1 equiv.) y 1H-tetrazol (85 mg, 1.21 mmol, 5.0 equiv. 3.0 mL de solución 0.4M en CH₃CN) en CH₂Cl₂ seco (5 mL) bajo una atmósfera de argón a 0 °C, se le agregó *bis*-[1-(2-nitrofenil)-etil]-*N,N*-diisopropilfosforamidita 11 (167 mg, 0.36 mmol, 1.5 equiv.). La solución se agitó durante la noche (15 h) a 0-4 °C. Después de la desaparición completa del material de partida, se agregó t-BuOOH (64.8 mg, 0.72 mmol, 3.0 equiv. ~ 0.2 ml de solución 5.0 M en decano) a 0 °C. Después de 30 minutos de agitación, la mezcla se concentró al vacío. La mezcla residual se desprotegió agitando en metanol (15 mL) con 25 mg de resina Dowex-H⁺ durante 1 h. Después de la filtración, el filtrado se concentró para producir un producto en bruto completamente desprotegido que, mediante cromatografía instantánea, produjo el producto deseado 16 (62 mg) con un rendimiento del 45%. (véase la figura 13)

50 Metil 6-O-bis [1- (2-nitrofenil) -etoxifosforil] - α -D-glucopiranosido 16. R_f 0.55 (1 Metanol: 9 diclorometano); Aislado como una mezcla de cuatro diastereómeros, FT-IR (ATR) ν 3334 cm⁻¹ (br, OH), 1520 (s, N=O), 1325 (s, N=O), 1219 (P=O); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7.86-7.84 (m, 2H, ArH), 7.75-7.50 (m, 3H, ArH), 7.45-7.34 (m, 3H, ArH), 5.89-5.80 (m, 2H, 2 x CH(CH₃)), 4.57-4.45 (4d, $J_{1,2}$ = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.16-3.89 (m, 2H, H-6), 3.51-3.40 (m, 2H, H-5 y H-3), 3.31-3.25 (m, 1H, H-2), 3.25, 3.22 3.17, 3.13 (4s, 3H, OMe), 3.16-3.12 (m, 1H, H-4), 1.68-1.57 (4d, J = 6.8 Hz, 6H,

2 x CH(CH₃): ¹³C RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 137.2, 137.2, 134.3, 134.2, 129.4, 129.3, 127.8, 127.7, 127.6, 127.5, 124.6, 124.5 (ArC), 100.7, 100.3, 100.2, 100.1 (C-1), 74.0, 73.9 (C-3), 73.3, 73.2 (C-2), 72.9, 72.3 (C-5), 72.2, 70.6 (C-4), 70.5, 70.1 (C-6), 70.0, 67.4 (CH(CH₃)), 55.1, 54.8, 54.7, 54.6 (OMe), 23.6, 23.5, 23.4 (CH(CH₃)); ³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ -3.2, -3.7, -3.8, -4.0; ESI-HRMS *m/z* calculado para C₂₃H₂₉N₂O₁₃P [M+ Na]⁺: 595.1299; Encontrado 595.1305.

Síntesis del compuesto 17. A una solución agitada del compuesto 13 (100 mg, 0.24 mmol) en piridina (2 mL) a temperatura ambiente se le agregó POCl₃ (0.024 mL, 0.26 mmol) y la mezcla se agitó. Después de 10 minutos, se agregó alcohol 4,5-dimetoxi-2-nitrobencílico (153.4 mg, 0.72 mmol) y la mezcla de reacción se dejó agitando a la misma temperatura durante 1 hora. La mezcla de reacción se concentró entonces al vacío para producir una mezcla de producto en bruto, que después del tratamiento con resina Dowex-H⁺ (50 mg) en metanol (2 mL) proporcionó los compuestos 15 y 17. La filtración, concentración al vacío y purificación por cromatografía instantánea produjeron el compuesto 17 (55 mg, 48%) como un sólido puro. (véase la figura 14)

Metil 6-O- (4,5-dimetoxi-2-nitrobenciloxifosforil)- α -D-glucopiranosido 17. R_f 0.35 (1 agua : 2 isopropanol: 4 acetato de etilo): [α]_D²¹ + 38.9 (c 0.64, MeOH), FT-IR (ATR) ν cm⁻¹ 3319 (br OH), 1521 (s, N=O), 1326 (s, N=O), 1220 (P=O); ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 7.74 (s, 1H, ArH), 7.50 (s, 1H, ArH), 5.33 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH₂Ar), 4.57 (d, *J*_{1,2} = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.02 (s, 3H, OMe), 3.92 (s, 3H, OMe), 3.64-3.60 (m, 2H, H-6), 3.42 (dd, *J*_{5,4} = 9.6 Hz, *J*_{5,6b} = 2.8 Hz, 1H, H-5), 3.40 (brt, *J*_{3,2} = 9.2 Hz, *J*_{3,4} = 9.2 Hz, 1H, H-3), 3.39 (dd, *J*_{2,3} = 9.6 Hz, *J*_{2,1} = 3.0 Hz, 1H, H-2), 3.32 (s, 3H, OMe), 3.32-3.31 (m, 1H, H-4); ¹³C RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 154.3, 147.9, 138.9, 131.1, 110.0, 107.9 (ArC), 100.0 (C-1), 73.6 (C-3), 72.2 (C-2), 71.3 (C-5), 70.0 (C-4), 64.8 (C-6), 64.5 (CH₂Ar), 56.3 (OMe), 56.0 (OMe), 54.8 (OMe); ³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ 0.66; ESI-HRMS *m/z* calculado para C₁₆H₂₄NO₁₃P [M-H]⁻: 468.0907; Encontrado 468.0905.

Los espectros de ¹H y ¹³C RMN de todos los compuestos se muestran en las figuras 15-38.

La estrategia de precursores de señalización se basó en la liberación por la luz (Figura 2). El control activado por luz es una estrategia potente en biología porque puede permitir una resolución temporal e incluso espacial que supera la de los métodos genéticos estándar (Mayer and Heckel, 2006, *Angew Chem Int Ed Engl* 45: 4900-4921). En principio, esta resolución se puede aumentar aún más cuando se combina con un control químico de molécula pequeña dado que estos también se pueden aplicar con localización y en puntos de tiempo predeterminados (Adams and Tsien, 1993, *Annu Rev Physiol* 55: 755-784; Givens and Kueper, 1993, *Chem. Rev.* 93, 55-66; Ellis-Davies, 2007, *Nat Methods* 4: 619-628). La potencia de dicho método aumenta aún más cuando conduce a la liberación de una molécula de señalización cuyo efecto se amplifica varias veces. Notablemente, sin embargo, ninguno de estos enfoques controlados por la luz, hasta ahora, se ha aplicado a la biología del azúcar.

Adicionalmente, las moléculas de azúcar hidrofílicas o las moléculas cargadas no se cruzan fácilmente en las plantas a menos que se transporten activamente. Se planteó la hipótesis de que se podrían diseñar precursores no naturales que contienen grupos que enmascararían la carga/aumentarían la hidrofobicidad y también serían liberados por la luz. Se seleccionaron cuatro precursores solubles en agua (1-4) de T6P (Figura 3). Cada uno contenía diferentes unidades estructurales sensibles a la luz que encapsulaban funcionalmente a T6P en una forma inactiva y neutra para facilitar la entrada en las células y que luego se liberarían en la molécula activa tras la irradiación con luz: orto-nitrobencilo (oNB) en 1; 4,5-dimetoxinitrobencilo (DMNB) en 2 y 4 y 2-(orto-nitrofenil)etilo (oNPE) en 3. Estos diferentes grupos estaban destinados a permitir la generación de precursores de creación con diferentes comportamientos a la luz y a afinar la absorción y liberación a través del cambio de propiedades tanto físicas como químicas.

La construcción de los precursores (Figura 3) usó diferentes químicas de fósforo: química de fosforamidita (Scheiget and Roy, 2000, *Synth. Commun.* 30: 1437-1445; Arslan, et al., 1997, *J. Am. Chem. Soc.* 119: 10877-10887) para crear intermedios de P(III) que luego se oxidaron a intermedios de fosfotriéster P(V) correspondientes o química de fosforilación de P(V) directa (Figura 3). El acceso regioselectivo al grupo OH-6 en trehalosa se logró mediante el uso de trimetilsililo (TMS) como grupo protector para formar éteres correspondientes. El éter TMS es químicamente ortogonal al grupo fosfotriéster encontrado en cada una de las unidades estructurales sensibles a la luz y se logró con éxito su eliminación en condiciones ligeramente ácidas. Esto era importante ya que los ésteres de fosfato son altamente propensos a la migración en condiciones básicas (Billington, 1989, *Chem. Soc. Rev.* 18: 83-122). De este modo, el intermedio 12 se preparó en cantidades en gramos por eliminación regioselectiva de un grupo éter O-6 TMS en trehalosa persililada (Ronnow et al., (1994) *Carbohydr. Res.* 260: 323-328). La fosforilación general del hidroxilo OH-6 revelado en 12 implicó la reacción con fosforamiditas 9-11 (Scheiget and Roy, 2000, *Synth. Commun.* 30: 1437-1445; Arslan, et al., 1997, *J. Am. Chem. Soc.* 119: 10877-10887) seguido de oxidación *in situ* usando tBuOOH. Usando química alternativa directa de P(V), también se creó una variante que contiene un solo DMNB para explorar el efecto de diferentes números de copias de unidades estructurales sensibles a la luz; 12 fue tratado con 1 equiv. de POCl₃ en piridina (Meldal et al., (1992) *Carbohydr. Res.* 235: 115-127) seguido de la adición de alcohol DMNB. Finalmente, todos los intermedios resultantes se agitaron en metanol en presencia de Dowex-H⁺ para inducir una desprotección leve que proporcionó los correspondientes precursores de señalización 1-4 (véase SI). Esta ruta de síntesis demostró ser eficiente y eficaz, permitiendo la preparación de gramos de precursores de señalización a escala para su aplicación en ensayos en plantas (*vide infra*).

Ejemplo 2. Aplicación de precursores de señalización a plantas de trigo con estrés hídrico

5 Se sembraron semillas de trigo de primavera (*Triticum aestivum* Cadenza) en una mezcla de Rothamsted Prescription Compost (75% de turba de grado medio (L+P), 12% de marga esterilizada filtrada, 3% de vermiculita de grado medio, 10% de arena (sin cal), 3.5 kg de Osmocote Exact 3-4 meses/m³ (Scott's UK Professional, Ipswich, Suffolk, www.scottinternational.com), 0.5 kg de mezcla PG/m³ (Hydro Agri Ltd., Immingham, Reino Unido), agente humectante y cal) y crecido en condiciones de ambiente controlado con un fotoperíodo de 16 horas de luz, 8 horas de oscuridad, temperaturas diurnas/nocturnas de 20 °C/16 °C, densidad de flujo de fotones de 600 μmol m⁻² s⁻¹ y humedad relativa ambiental. Una vez que las plantas llegaron a la etapa 4 de Feekes, se retuvo el agua durante 10 días. El noveno día, se aplicaron 30 ml de soluciones 1 mM de oNPE-T6P y DMNBT6P a toda la biomasa aérea, el 10 décimo día se restableció el programa de riego. Las plantas se cosecharon para medir la producción de biomasa cada 5 días, durante 30 días después de que se restableció el riego. Ambos experimentos se completaron en réplicas de 6.

vi) Métodos estadísticos

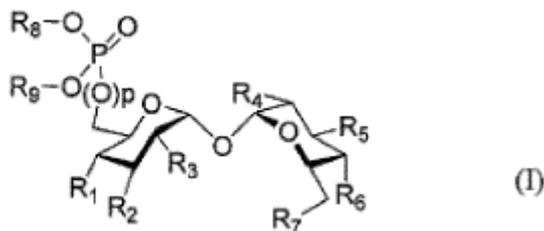
15 El análisis de varianza (ANOVA) se aplicó a los datos para probar las diferencias entre los tratamientos. Se usó una transformación logarítmica natural cuando fue necesario para garantizar una variación constante. El sistema estadístico GENSTAT se usó para este análisis (2011, 14th edition, ©VSN International Ltd, Hemel Hempstead, Reino Unido).

20 Se probó el efecto de los precursores de señalización sobre la resistencia y recuperación de la planta. Los resultados se muestran en las figuras 40-43. La sequía sigue siendo el mayor factor global que limita los rendimientos de los cultivos, incluso en países desarrollados, tales como el Reino Unido (Boyer, 1982, Science 218: 443-448). Cuando las plantas de trigo de 4 semanas de edad se rociaron con DMNB-T6P 2 u oNPET6P 3 (30 mL de 1 mM, una sola vez) después de 9 días de sequía y luego se midió el recrecimiento (respuesta de recuperación) después de la reanudación del riego 1 día después del inicio tratamiento químico, los efectos fueron dramáticos (Figuras 40 y 41).

25 Además, el recrecimiento (respuesta de resurrección) de tejido nuevo de plantas que se habían reducido después del tratamiento de sequía fue mayor en las plantas tratadas con precursores de T6P (Figuras 42 y 43). Esto demuestra la capacidad de los precursores de T6P para facilitar el crecimiento de tejido nuevo (en el caso de la respuesta de resurrección), así como para salvar y cultivar tejido nuevo (respuesta de recuperación) en plantas tratadas con sequía. Cabe señalar que en todos estos experimentos, el uso de la solución de T6P solo dio 30 resultados idénticos al uso de agua sola, de manera consistente con la falta de T6P para ingresar a las plantas, lo que resalta aún más el éxito de los principios de diseño para estos precursores de señalización.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula (I), un fosfonato del mismo, o las sales agrícolas aceptables del mismo:



en la que;

5 p es 0 o 1;

R₁ a R₇ representan independientemente F, N₃, NR'R'', alquilo C₁₋₄, -(alquilo C₁₋₄)OH u OH, en la que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

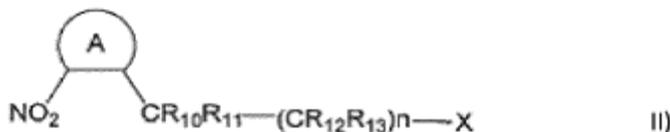
y R₈ y R₉ son iguales o diferentes y representan H o un grupo protector fotolábil, en el que al menos uno de R₈ y R₉ representa un grupo protector fotolábil; como tratamiento para el estrés hídrico en plantas.

10 2. Uso del compuesto, fosfonato del mismo, o sal del mismo, como se reivindica en la reivindicación 1, en la que los cultivos cultivados en campo que sufren estrés hídrico o sequía se tratan con el compuesto en una fase vegetativa antes de la floración para mejorar el rendimiento del cultivo.

3. Uso de un compuesto según la reivindicación 2, en el que el cultivo se trata al menos 8 horas después del comienzo del estrés hídrico.

15 4. Uso de un compuesto según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, en el que el cultivo se trata al menos 24 horas antes del riego.

5. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el grupo protector fotolábil es de fórmula (II):



20 en la que;

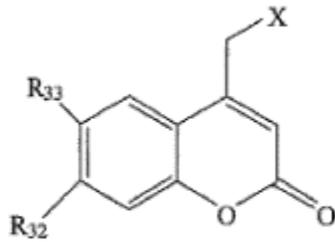
el anillo A representa un grupo arilo o heterocíclico;

25 (i) R₁₀ y R₁₁ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en el que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄, o (ii) dos grupos R₁₀ en grupos protectores fotolábiles adyacentes juntos forman un enlace y R₁₁ representa hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en el que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄; n es 0 o 1; y

30 R₁₂ y R₁₃ son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁₋₄ que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, -OR', halógeno, -NR'R'' o -CO₂R', en el que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄; en el que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I); opcionalmente en la que

35 (a) el grupo protector fotolábil es de fórmula (II) y el anillo A representa un grupo arilo C₆₋₁₀ o un grupo heterocíclico de 5 a 14 miembros que contiene uno o más átomos seleccionados de N, O y S, en el que el grupo arilo o heterocíclico no está sustituido o está sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₄, -OR', halógeno, CN, -NR'R'', -COOR', -(C₁- alquil) COOR' y -OC(alquilo C₁₋₄)COOR', en el que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₄, o en el que dos sustituyentes adyacentes en el grupo arilo o heterocíclico juntos forman un anillo heterocíclico de 5 o 6 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados de N, O u S; o

(b) el grupo protector fotolábil es de fórmula (IIIa):



(IIIa)

en la que;

R₃₂ representa -OR', -NR'R'' u -O (alquilo C₁₋₄) -COOR', en el que R' y

R'' representa independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₂; y

5 R₃₃ representa hidrógeno, Br, -OR', -NR'R'' u -O (alquilo C₁₋₄) -COOR', en el que R' y

R'' representa independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₂;

en el que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I); preferiblemente en el que;

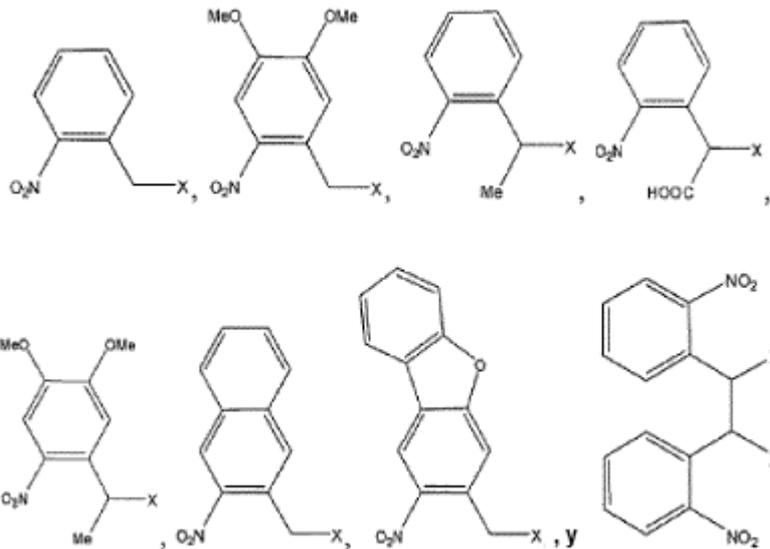
a) R₃₃ representa H y R₃₂ representa OMe, NMe₂, NEt₂ u -OCH₂COOH; o

b) R₃₃ representa Br y R₃₂ representa OH; o

10 c) R₃₃ y R₃₂ representan ambos -OCH₂COOH.

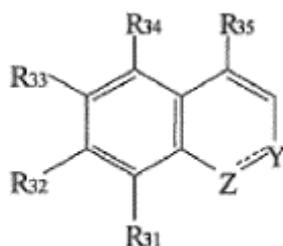
6. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que

(a) el grupo fotolábil se selecciona de;



en el que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I); o

15 (b) en el que el grupo protector fotolábil es de fórmula (III):



(III)

en el que

Z representa N, Y representa CR_{36} y Z e Y están unidos por un doble enlace; o

5 Z representa O, Y representa $C=O$ y Z e Y están unidos por un enlace sencillo; R_{36} representa $-CR_{37}R_{38}X$; cuando Y representa CR_{36} , R_{35} representa hidrógeno, y cuando Y representa $C=O$, R_{35} representa $-CR_{37}R_{38}X$;

(i) R_{37} y R_{38} son iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C_{1-4} que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno,

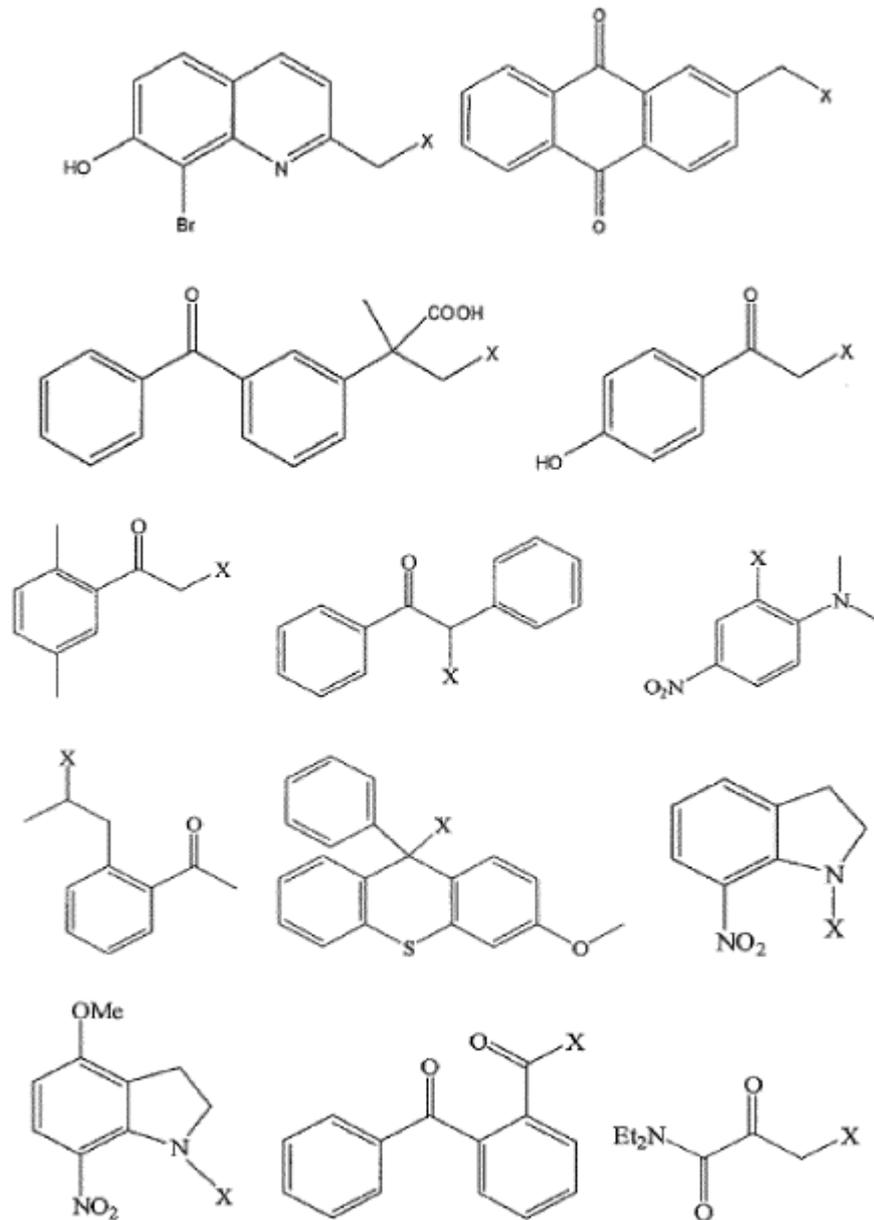
$-OR'$, halógeno, $-NR'R''$ o $-CO_2R'$, en la que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C_{1-4} , o

10 (ii) dos grupos R_{37} en grupos protectores fotolábiles adyacentes juntos forman un enlace y R_{38} representa hidrógeno, alquilo C_{1-4} que no está sustituido o está sustituido con uno o más átomos de halógeno, $-OR'$, halógeno, $-NR'R''$ o $-CO_2R'$ en la que R' y R'' se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C_{1-4} ;

R_{32} representa $-OR'$, $-NR'R''$, $-O(\text{alquilo } C_{1-4})-COOR'$, $-O(\text{alquilo } C_{1-4})-OR'$ u $-O(\text{alquilo } C_{1-4})-NR'R''$, en el que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-4} ; y R_{31} , R_{33} y R_{34} se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, $-OR'$, $-NR'R''$, $-O(\text{alquilo } C_{1-4})-COOR'$, $-O(\text{alquilo } C_{1-4})-OR'$ o $-O(\text{alquilo } C_{1-4})-NR'R''$,

15 en la que R' y R'' representan independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-4} ; en la que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I); o

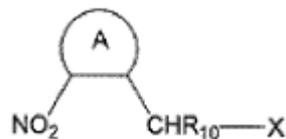
(c) en la que el grupo protector fotolábil se selecciona de:



o

(d) el grupo protector fotolábil es de fórmula (II) y el anillo A representa un anillo de fenilo, naftalenilo o dibenzofuranilo; o

5 (e) el grupo protector fotolábil es de fórmula (IIa):



10

en la que; el anillo A representa un grupo no sustituido o sustituido seleccionado de fenilo, naftilo o dibenzofuranilo, en el que un grupo fenilo, naftilo o dibenzofuranilo sustituido es un grupo fenilo, naftilo o dibenzofuranilo que tiene uno o dos sustituyentes metoxi, o un grupo fenilo, naftilo o dibenzofuranilo en el que dos las posiciones adyacentes del anillo están sustituidas con una unidad estructural $-CH_2-O-CH_2-$; y R_{10} representa hidrógeno, metilo, $-CF_3$ o $-COOH$; en el que X representa el enlace al resto del compuesto de fórmula (I).

7. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R₁ a R₇ representan hidroxilo; y/o en el que p es 1.
- 5 8. Uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la planta es una planta monocotiledónea; preferiblemente en la que la planta es un cultivo de cereal seleccionado de los géneros *Triticum*, *Zea*, *Oryza*, *Hordeum*, *Sorghum*, *Panicum*, *Avena* o *Secale*; preferiblemente en la que la planta es una planta *Triticum* spp.
9. Un método de tratamiento de una planta con estrés hídrico, en el que el método comprende tratar la planta con un compuesto, fosfonato del mismo o sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 10 10. Un método según la reivindicación 9, en el que el método comprende tratar la planta en una fase de crecimiento vegetativo.
11. Un método según la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en el que el método comprende
- (a) tratar la planta con el compuesto al menos 24 horas antes del riego; y/o
- (b) la planta está bajo estrés hídrico por un período que cae en el intervalo de 8 horas a 10 días.
- 15 12. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que el compuesto se aplica junto con al menos un fertilizante, fungicida, herbicida, insecticida o regulador del crecimiento de las plantas.
13. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en el que la planta es una planta monocotiledónea; preferiblemente en el que la planta es un cultivo de cereal seleccionado de los géneros *Triticum*, *Zea*, *Oryza*, *Hordeum*, *Sorghum*, *Panicum*, *Avena* o *Rye*; más preferiblemente en el que la planta es una planta *Triticum* sp.
- 20 14. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, en el que la planta tiene un mayor crecimiento, biomasa y/o rendimiento en comparación con las plantas sin tratar.
15. Un método para aumentar el rendimiento de un cultivo cultivado en campo que sufre estrés hídrico que comprende tratar el cultivo en crecimiento en fase vegetativa antes de la floración con un compuesto, fosfonato del mismo o sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

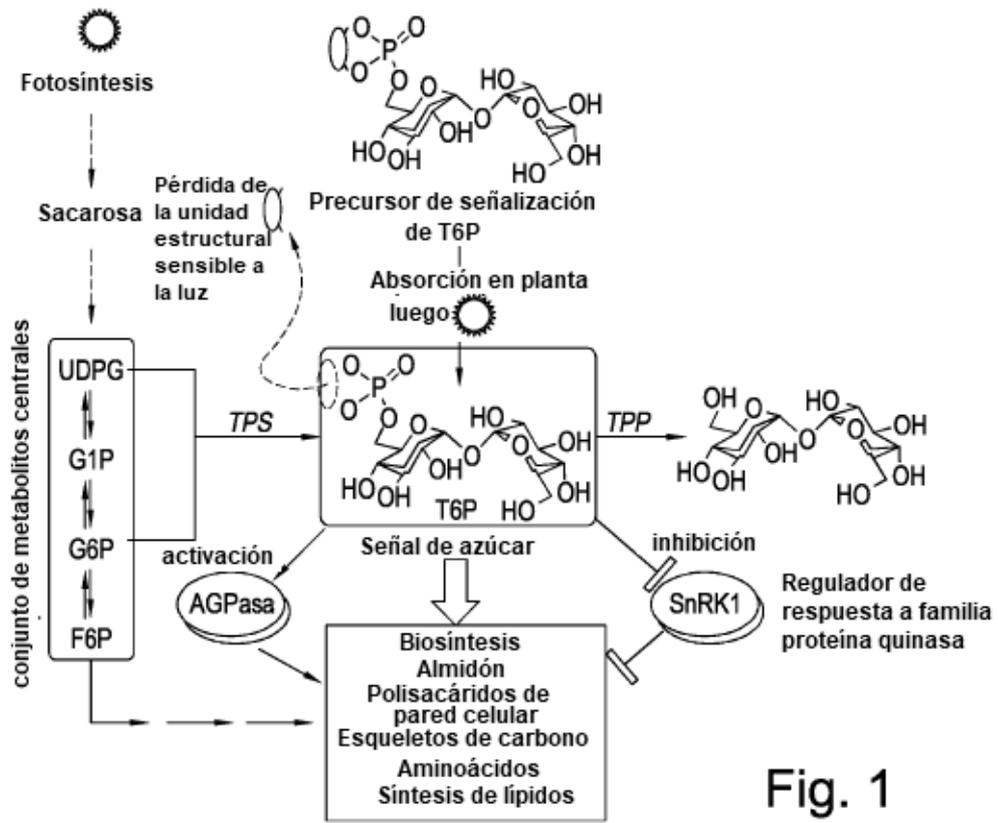


Fig. 1

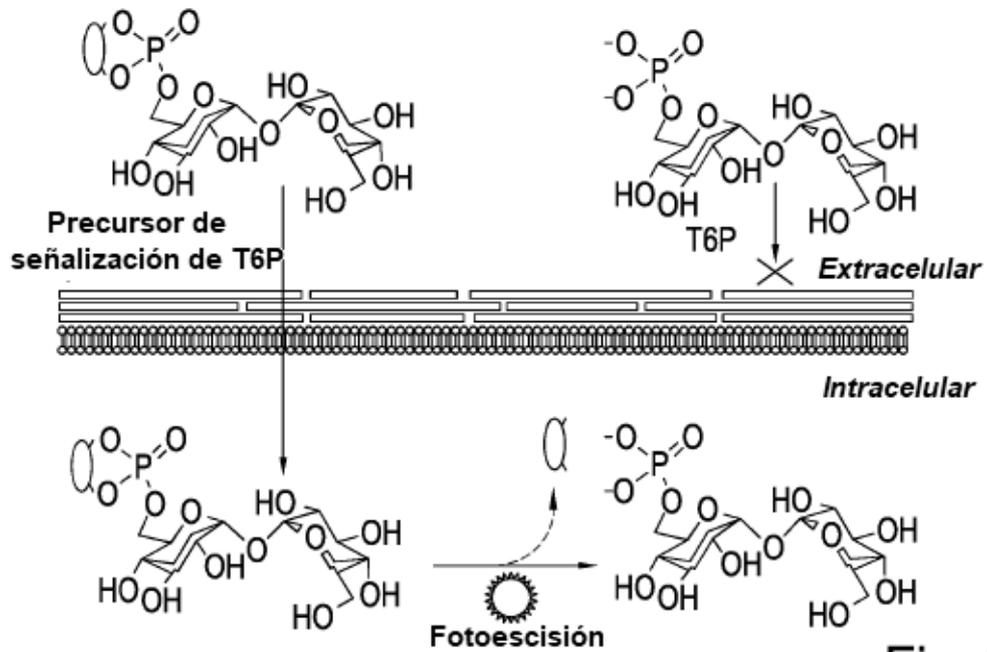


Fig. 2

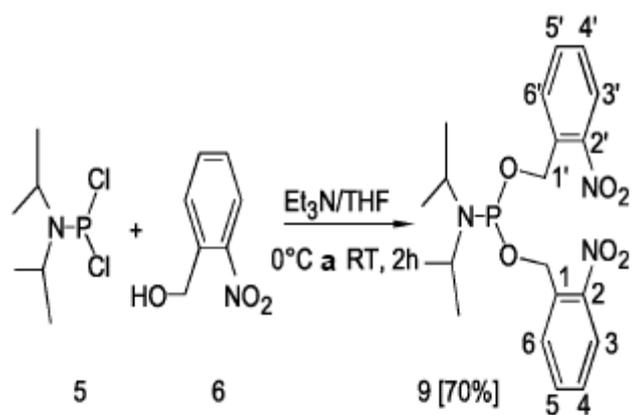


Fig. 3

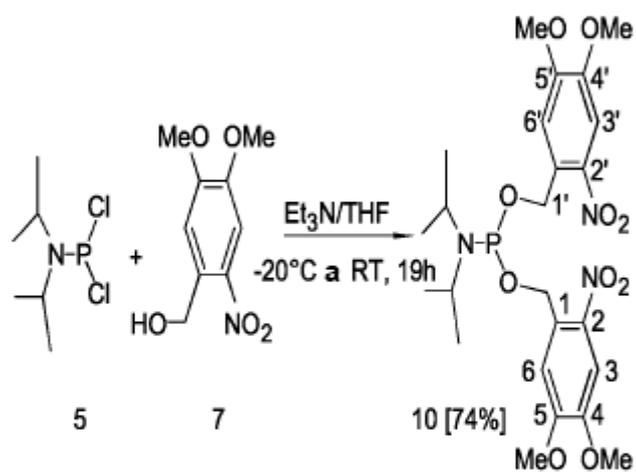


Fig. 4

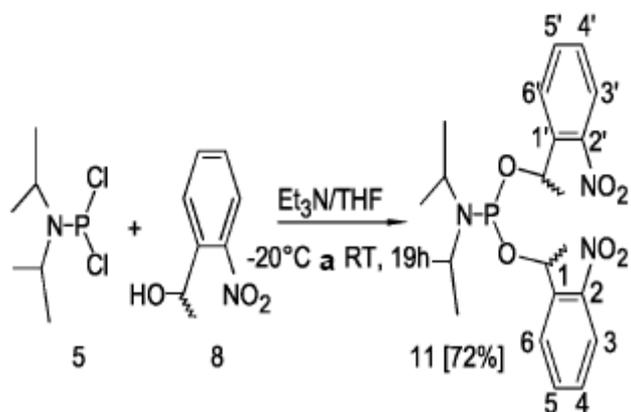


Fig. 5

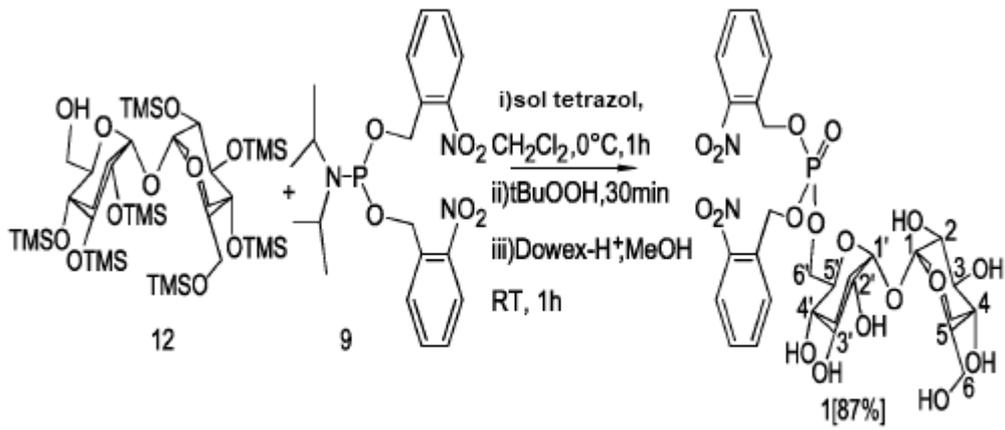


Fig. 6

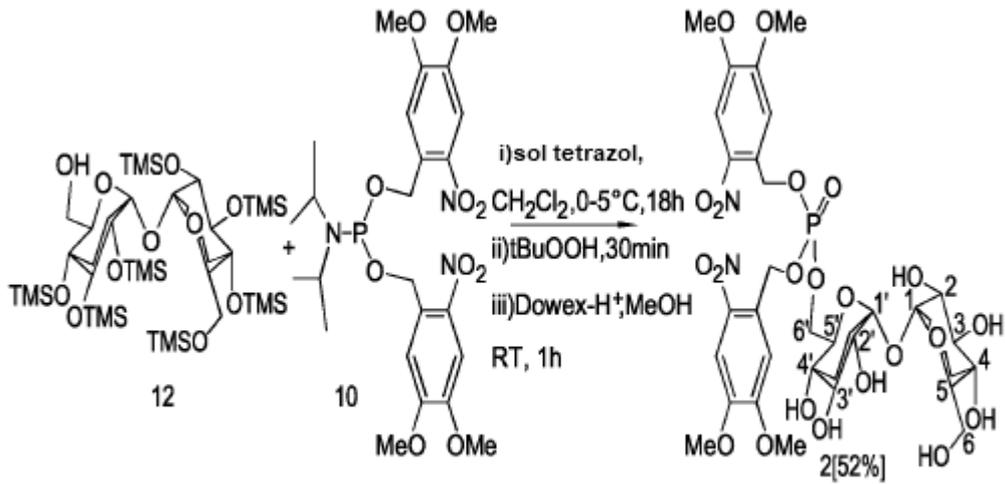


Fig. 7

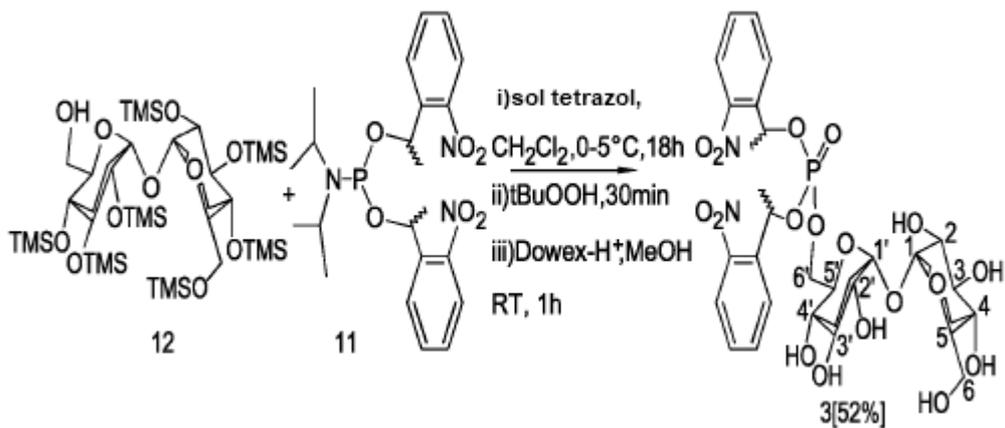


Fig. 8



Fig. 9

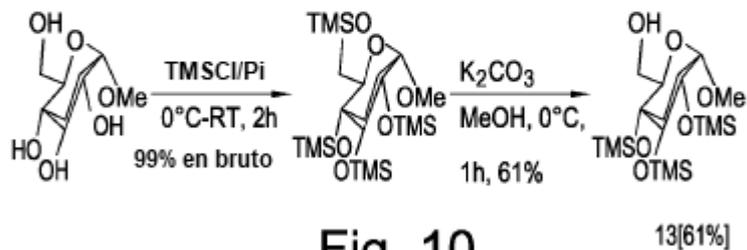


Fig. 10

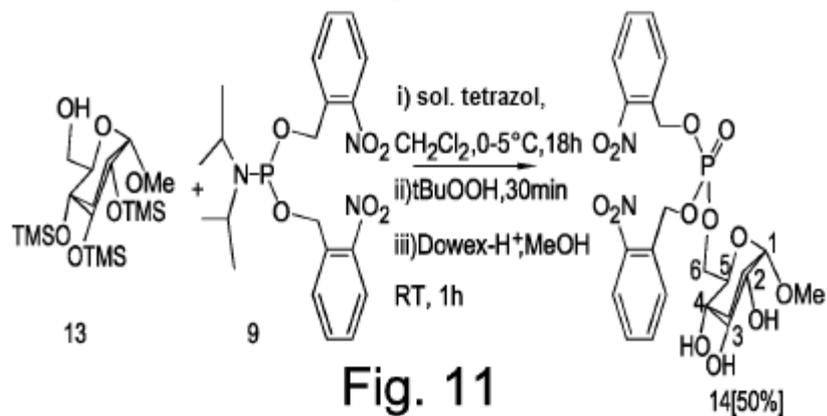


Fig. 11

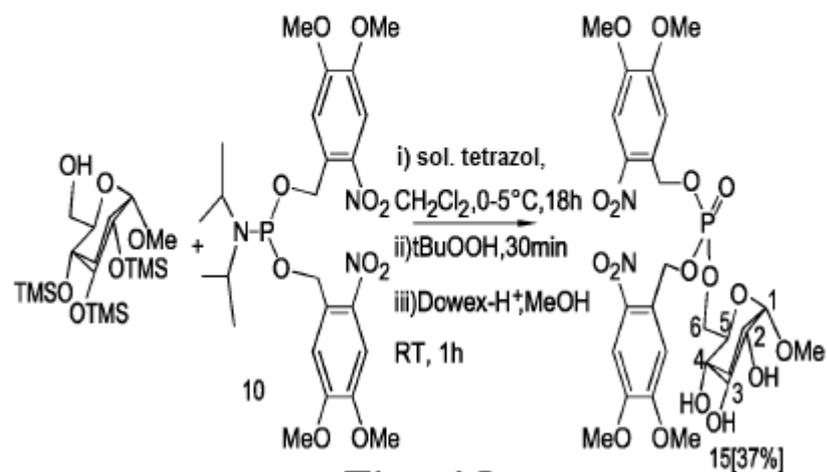
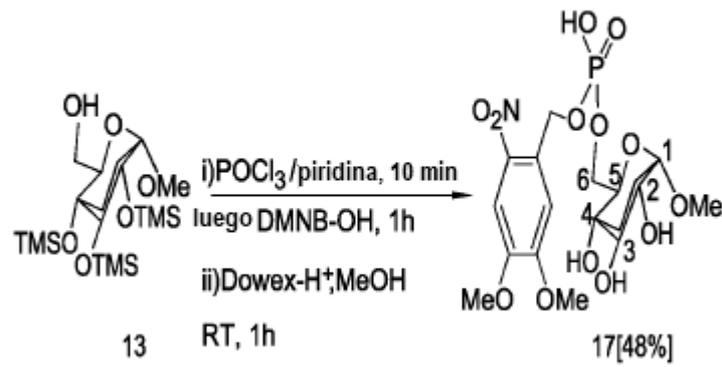
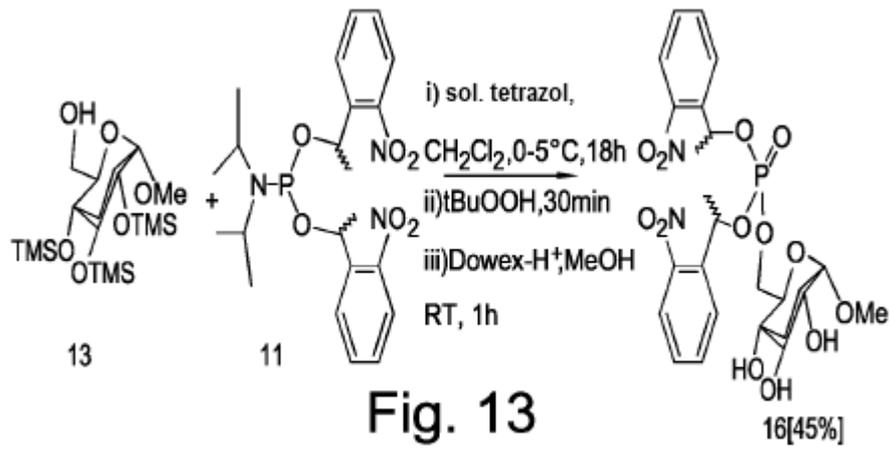


Fig. 12



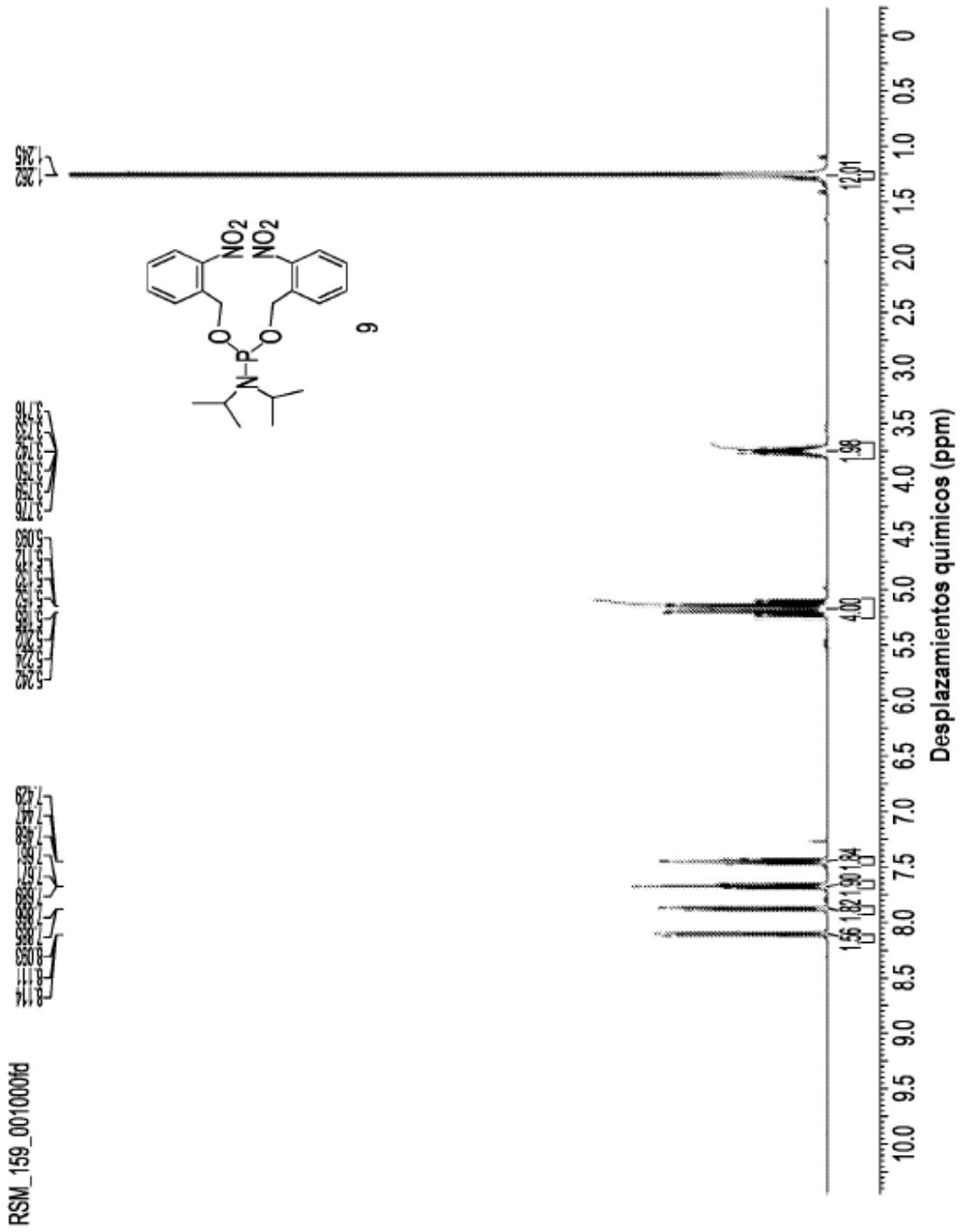


Fig. 15

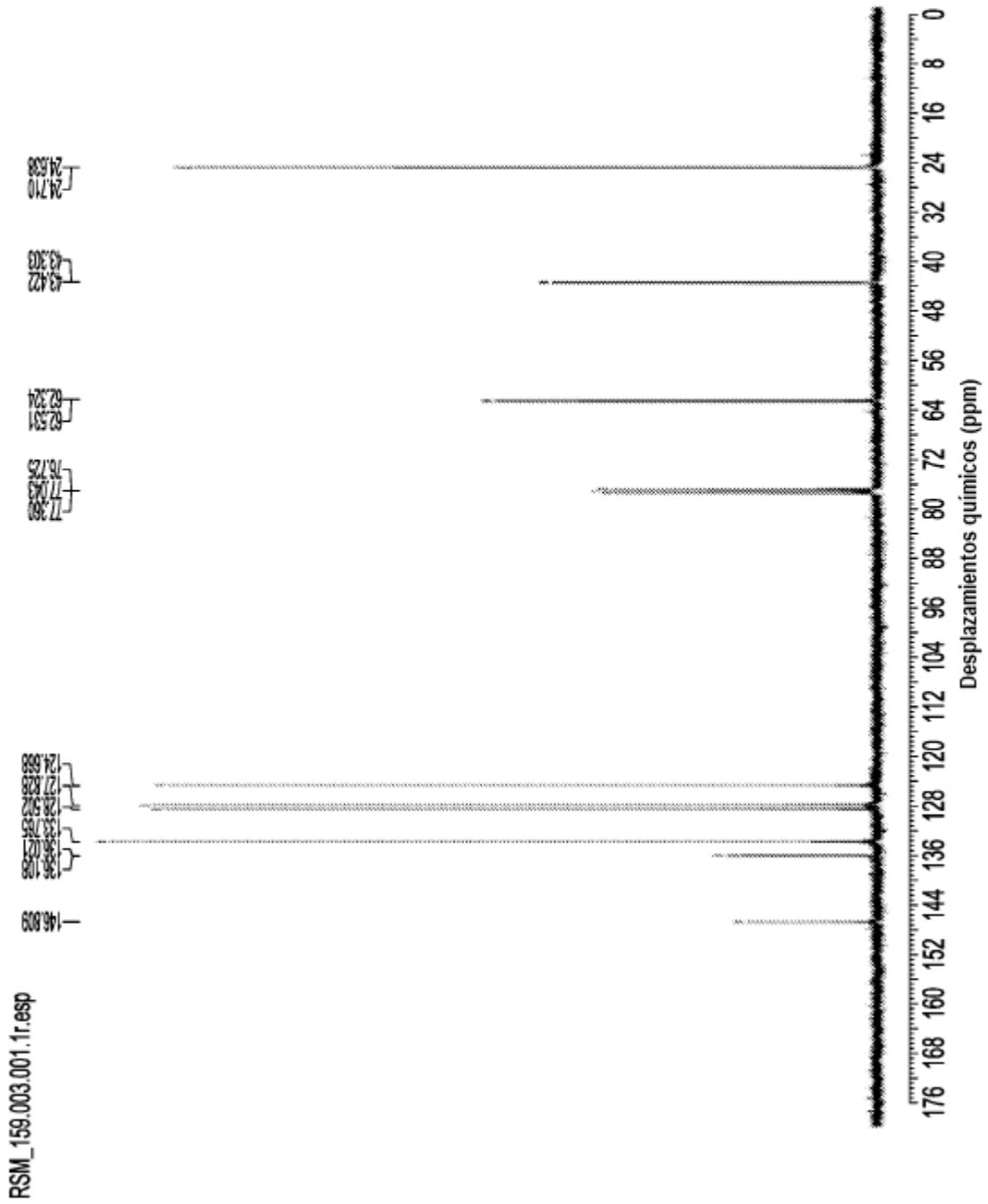


Fig. 16

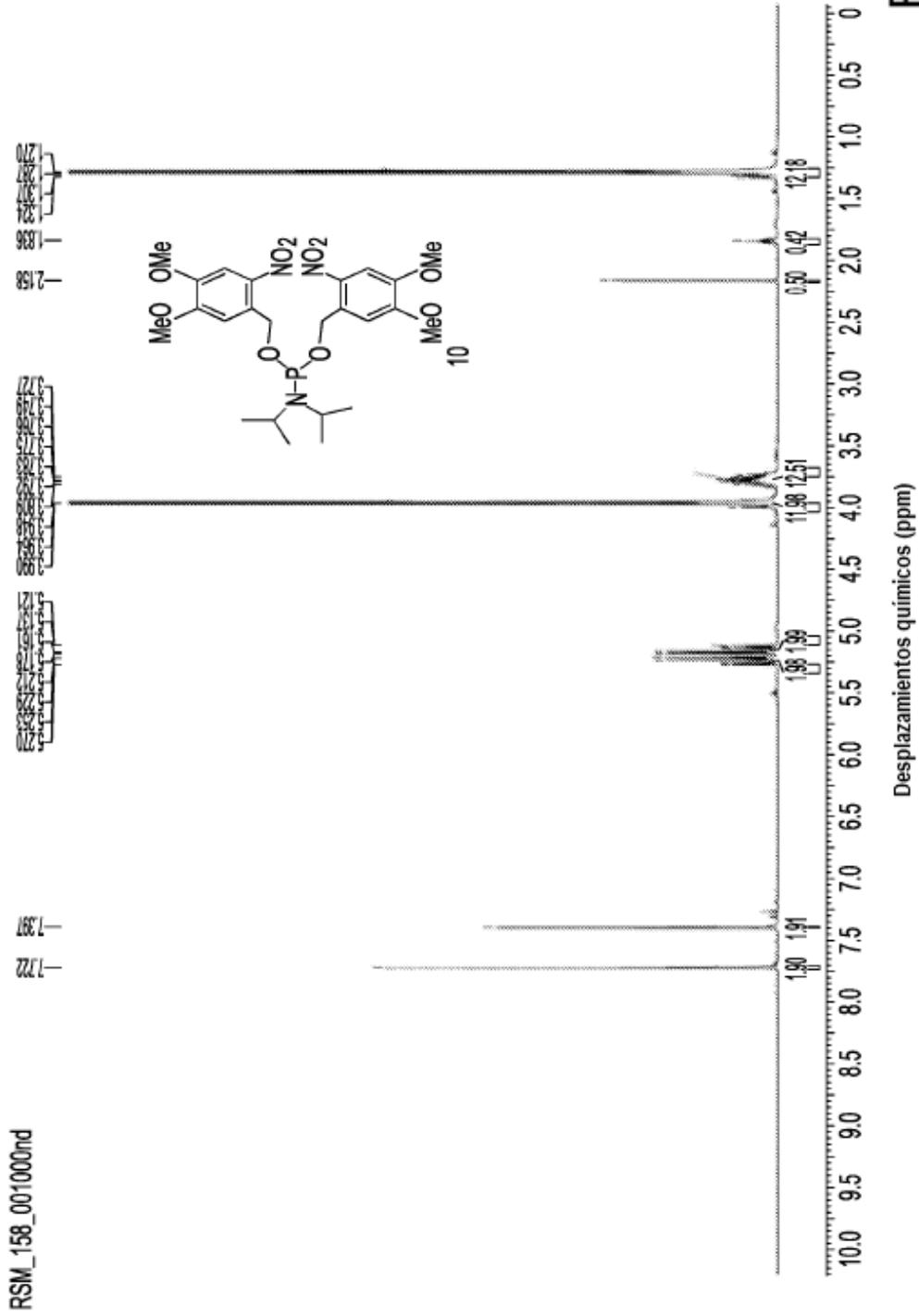


Fig. 17

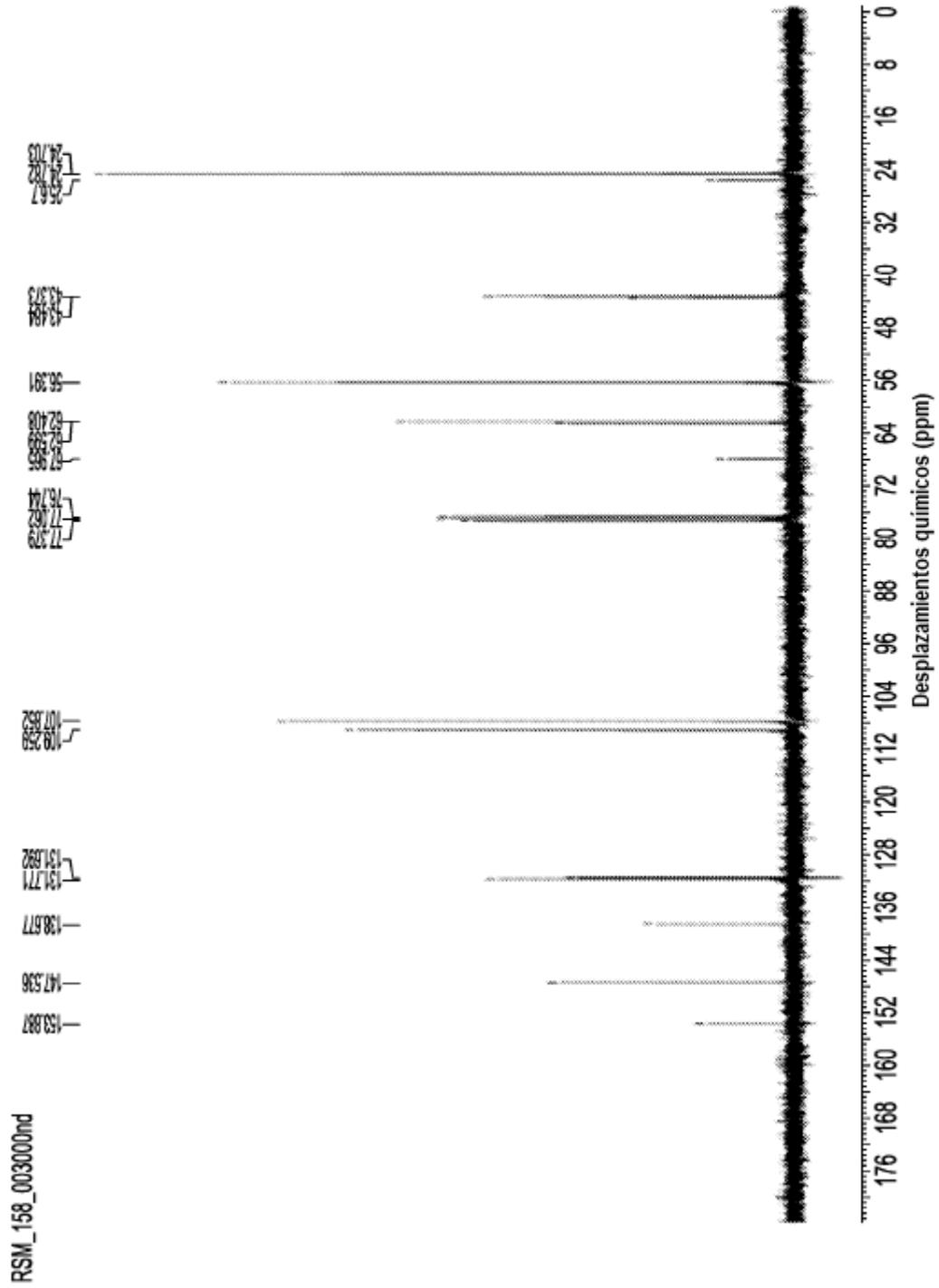


Fig. 18

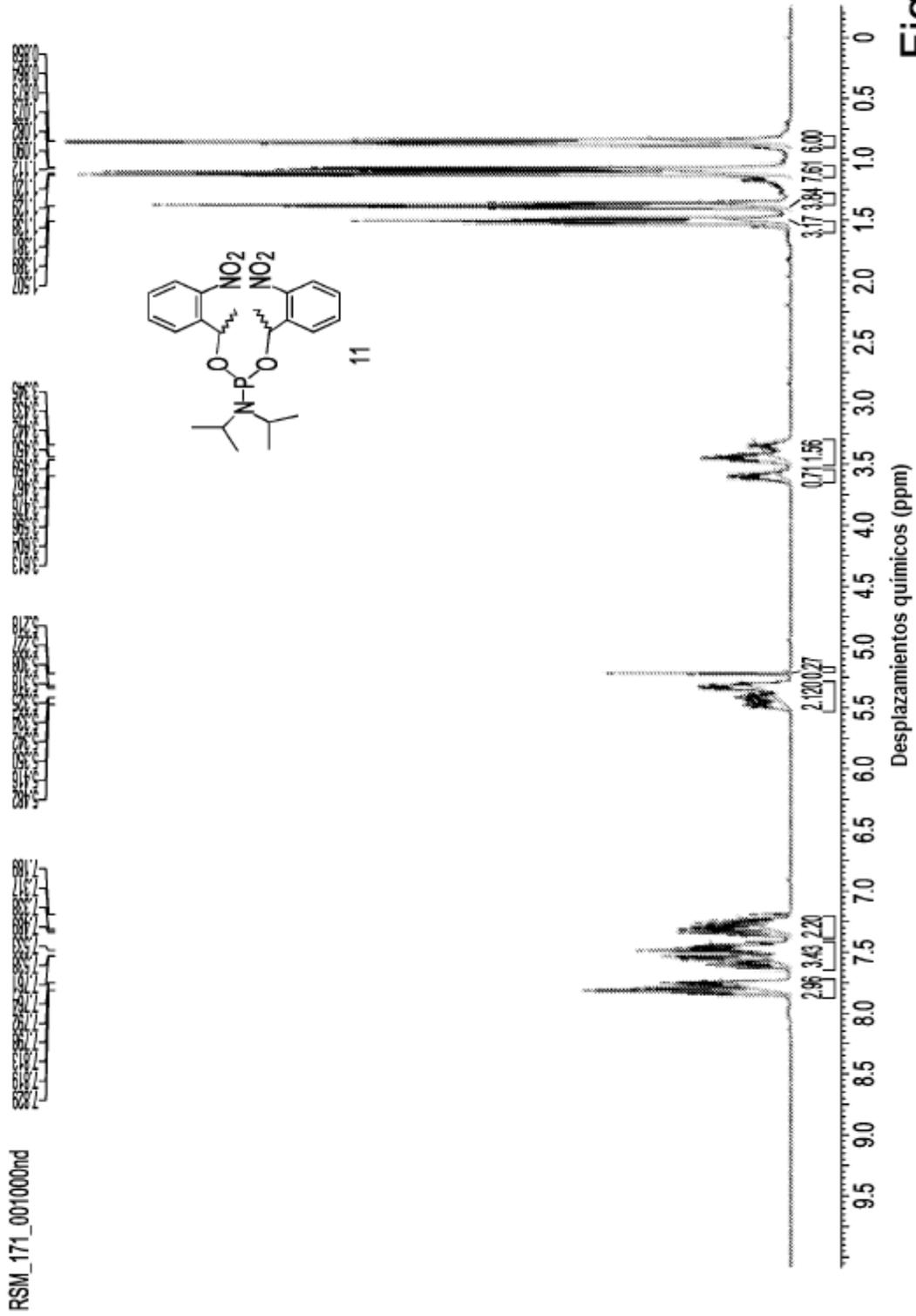


Fig. 19

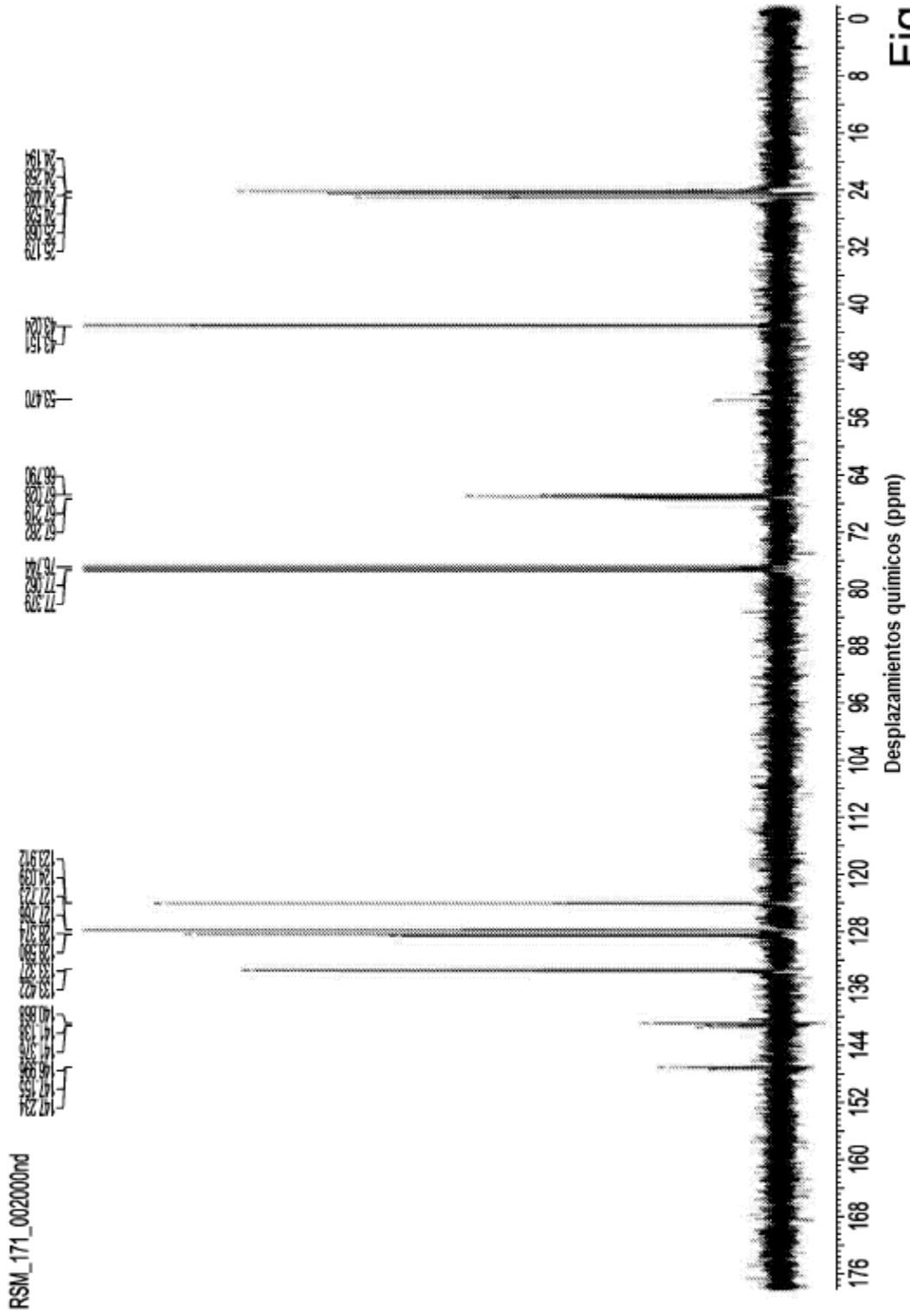


Fig. 20

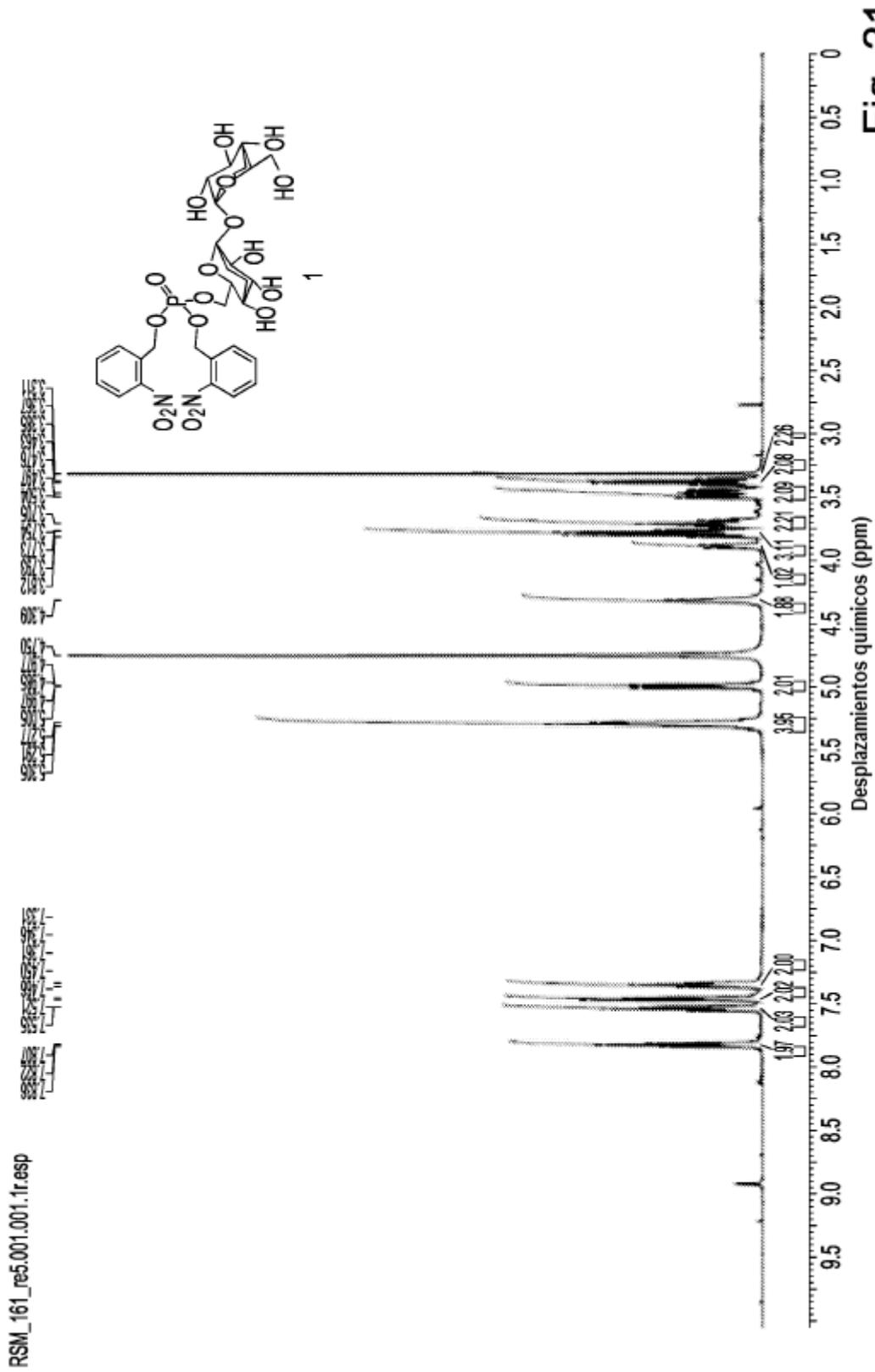


Fig. 21

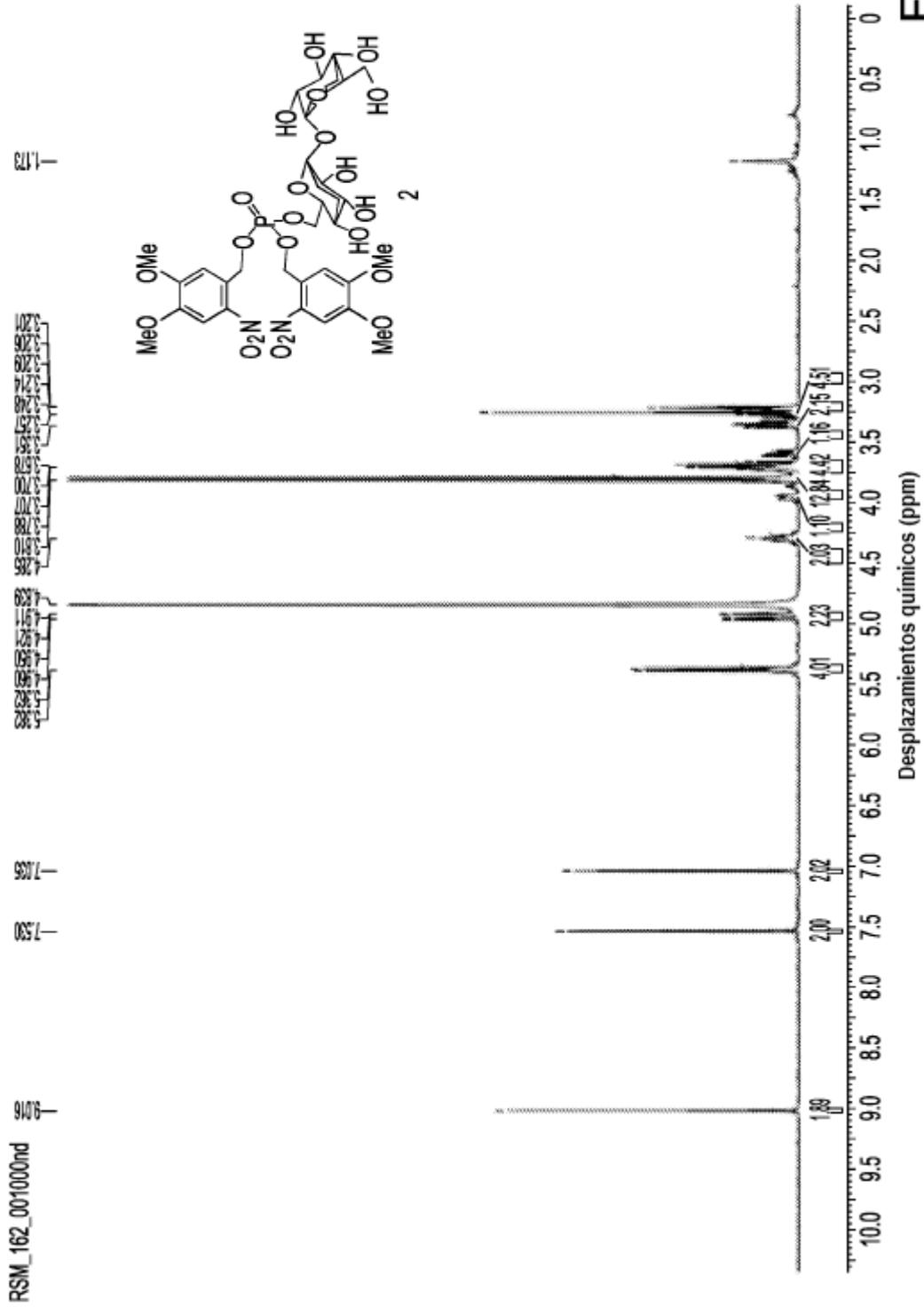


Fig. 23

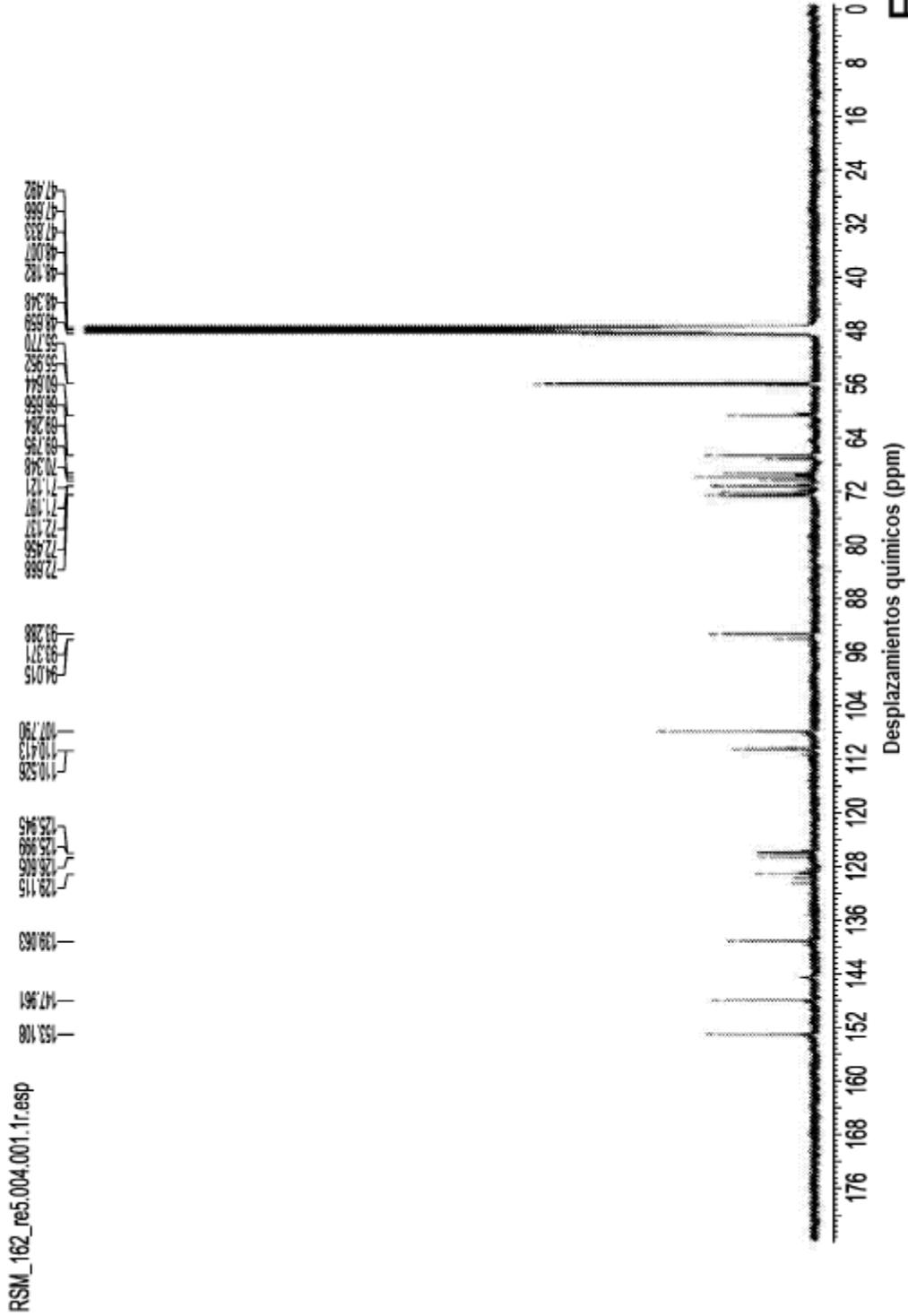
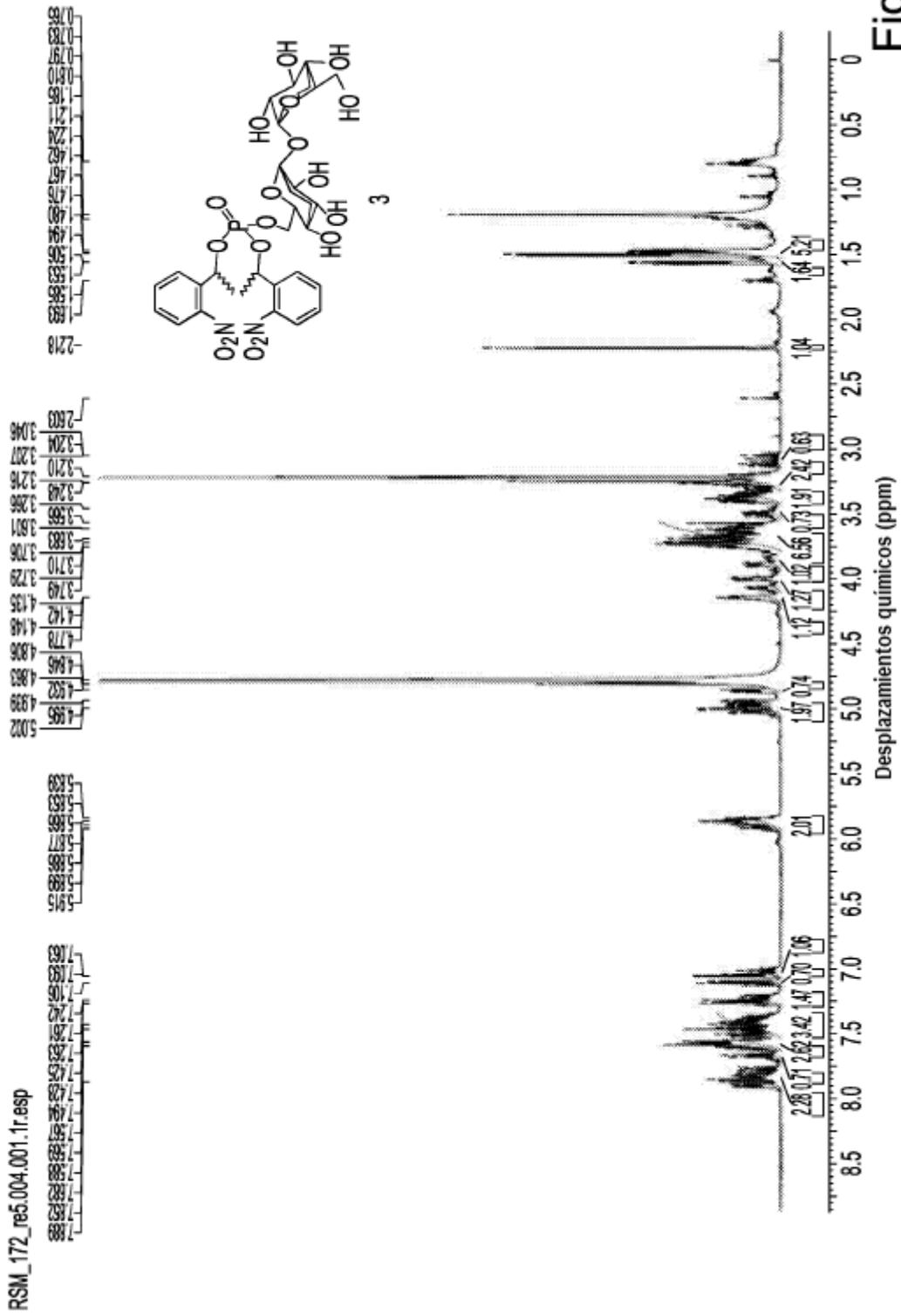


Fig. 24



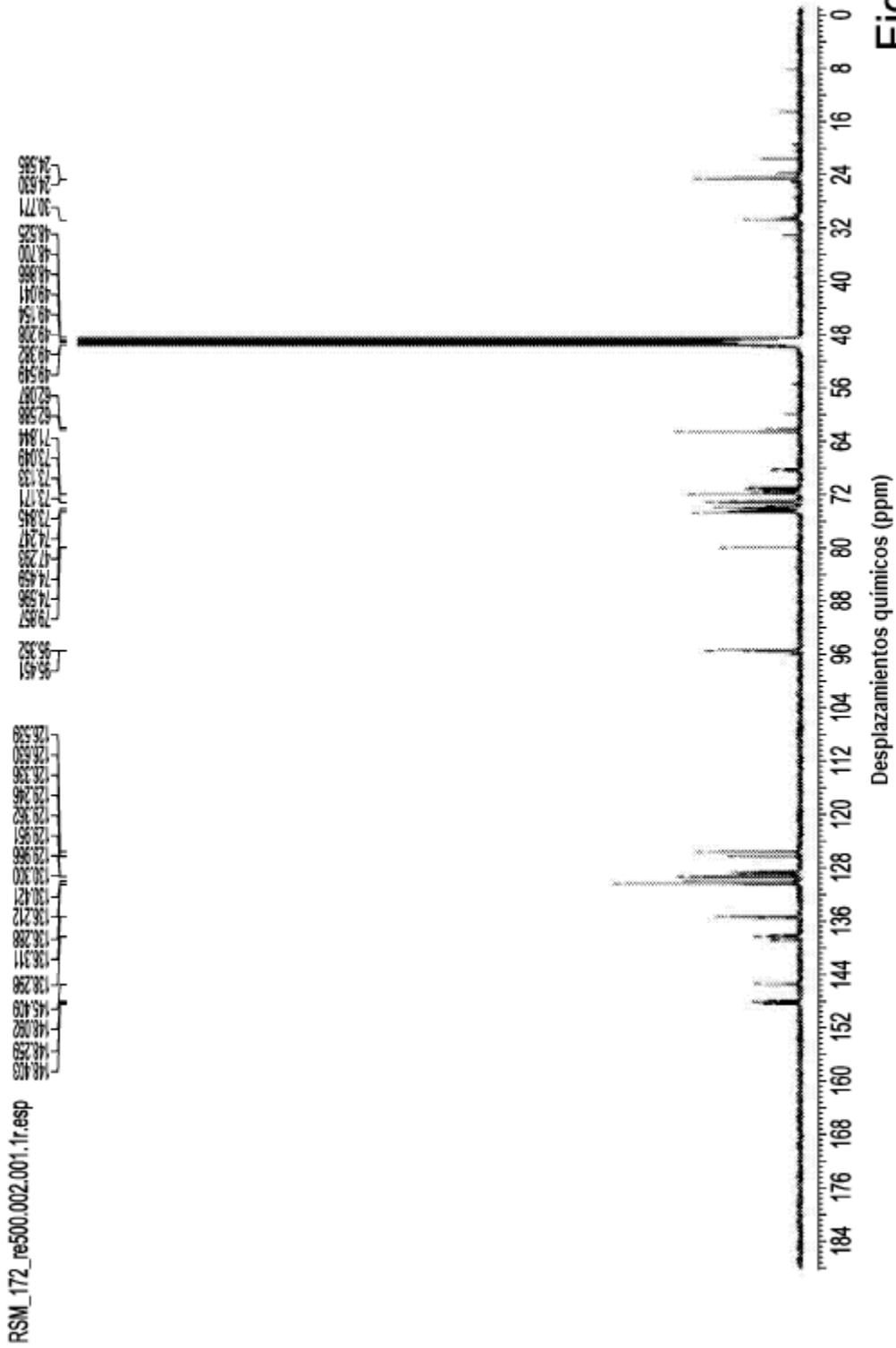


Fig. 26

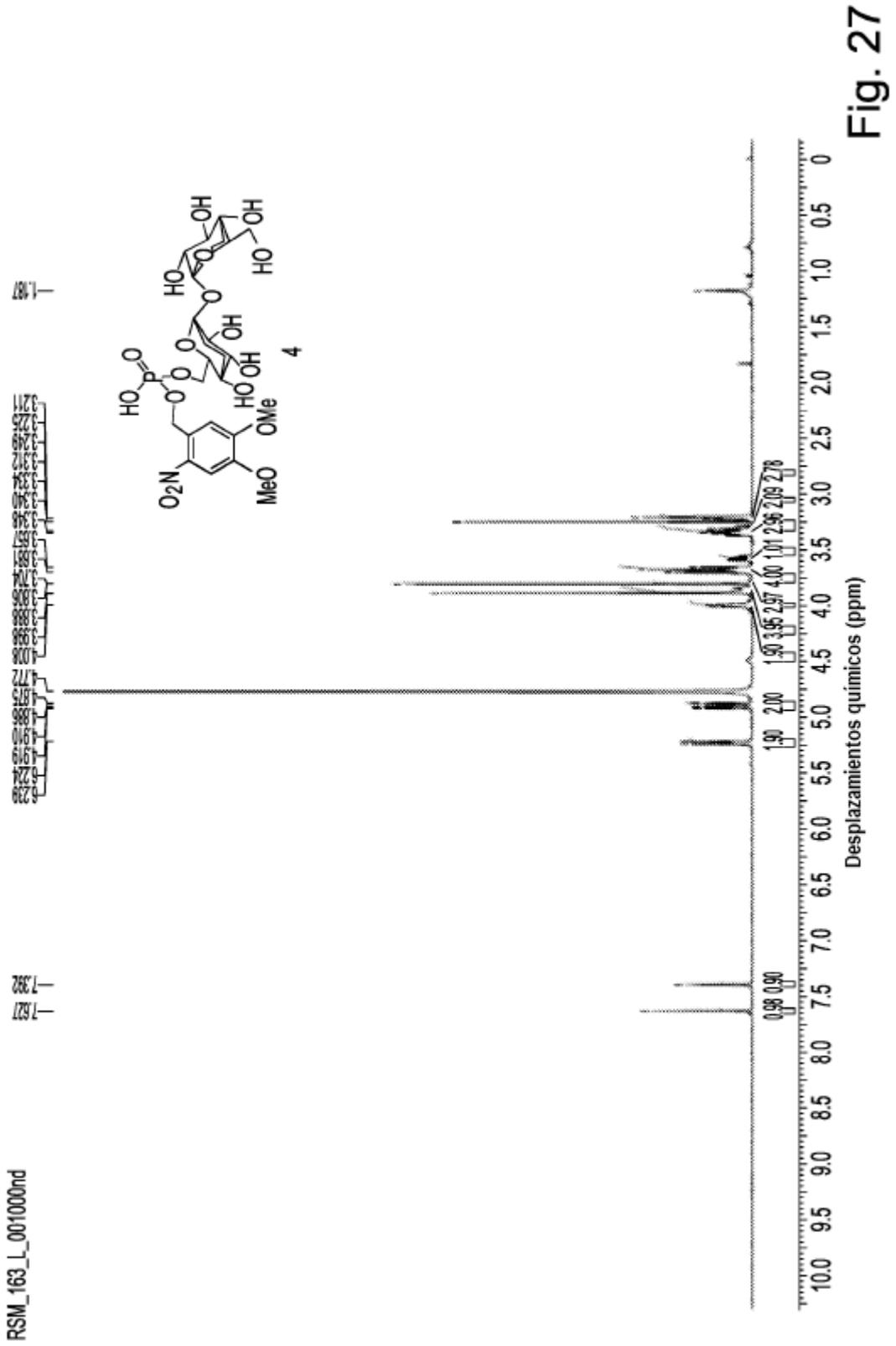


Fig. 27

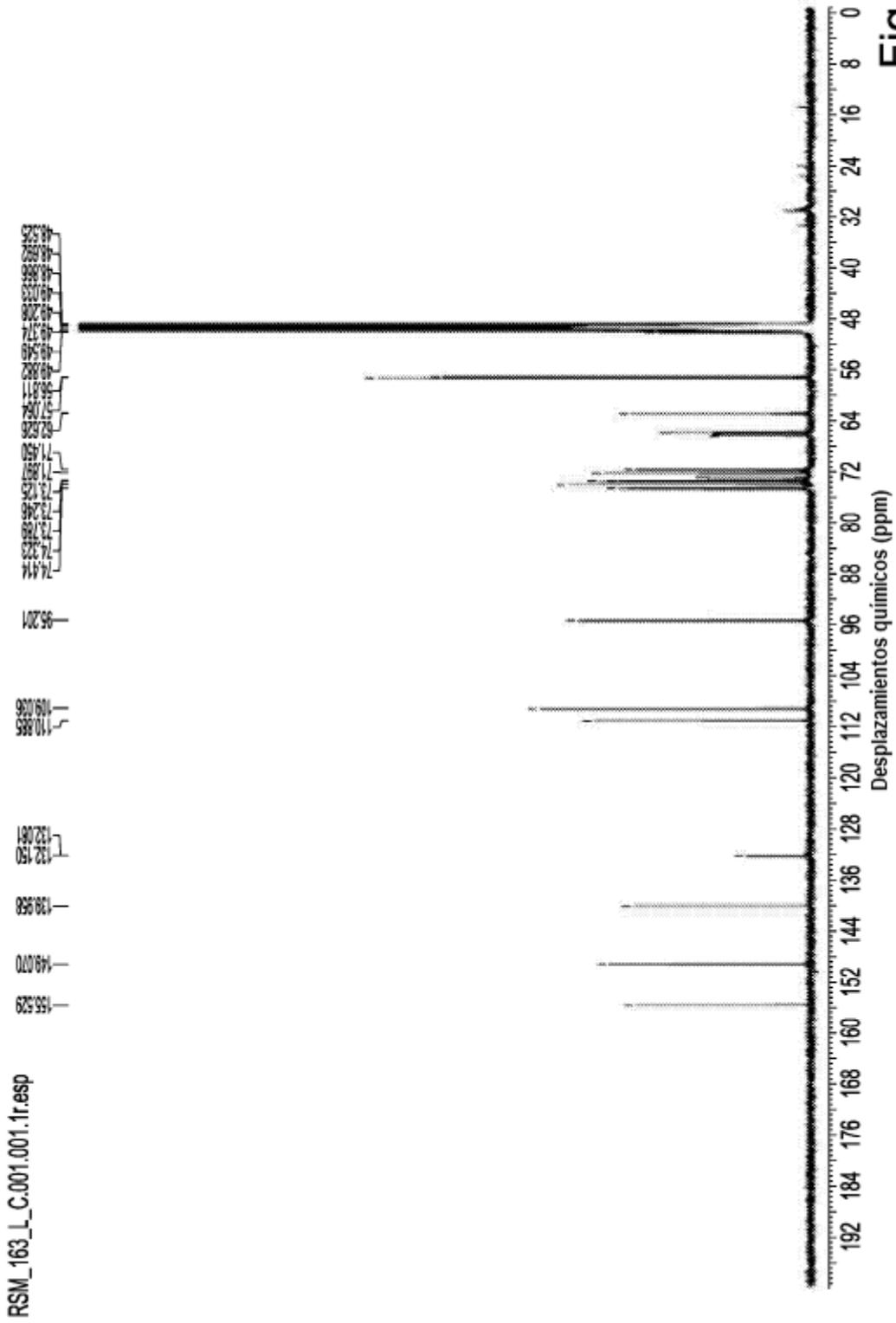


Fig. 28

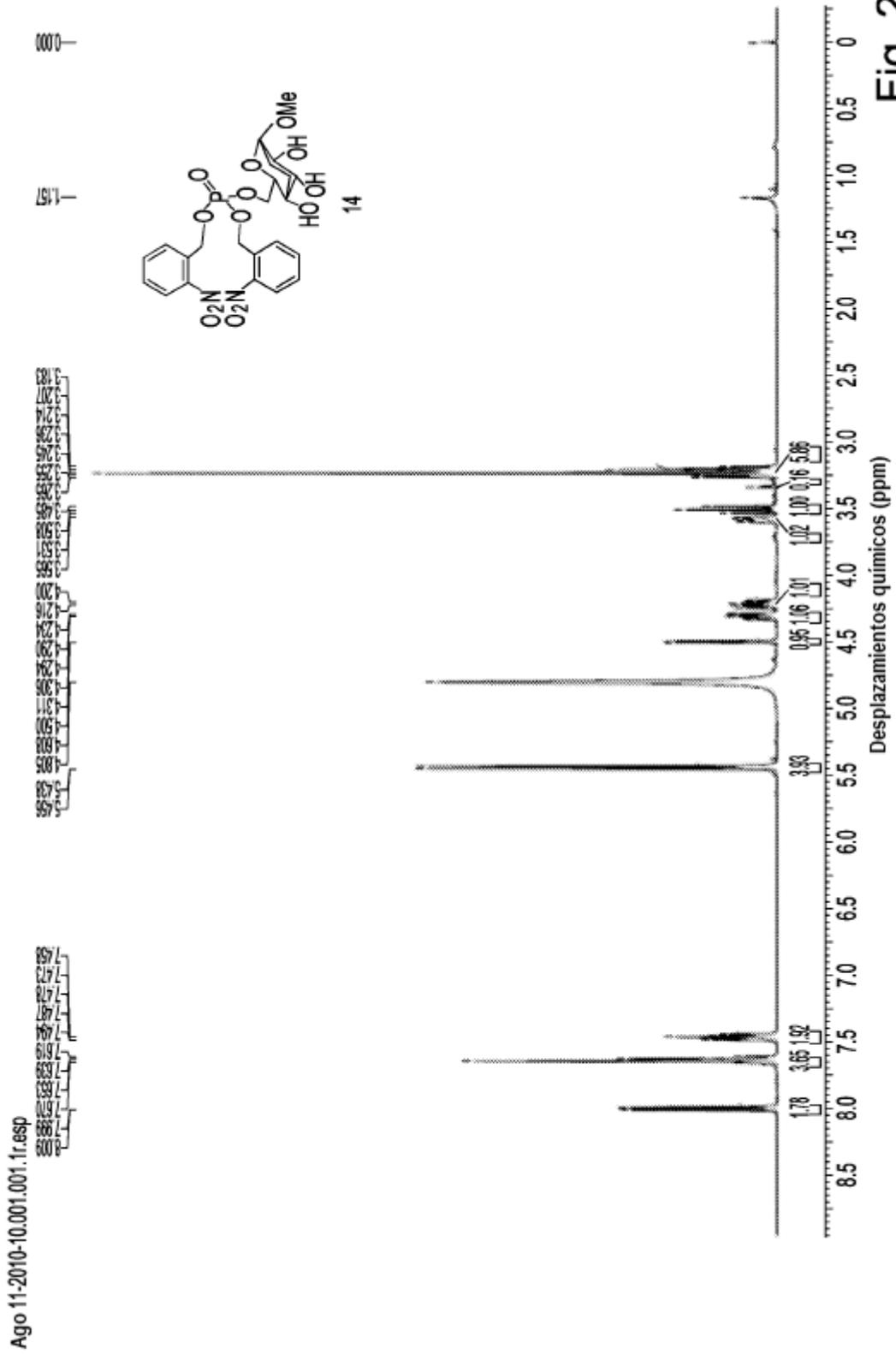


Fig. 29

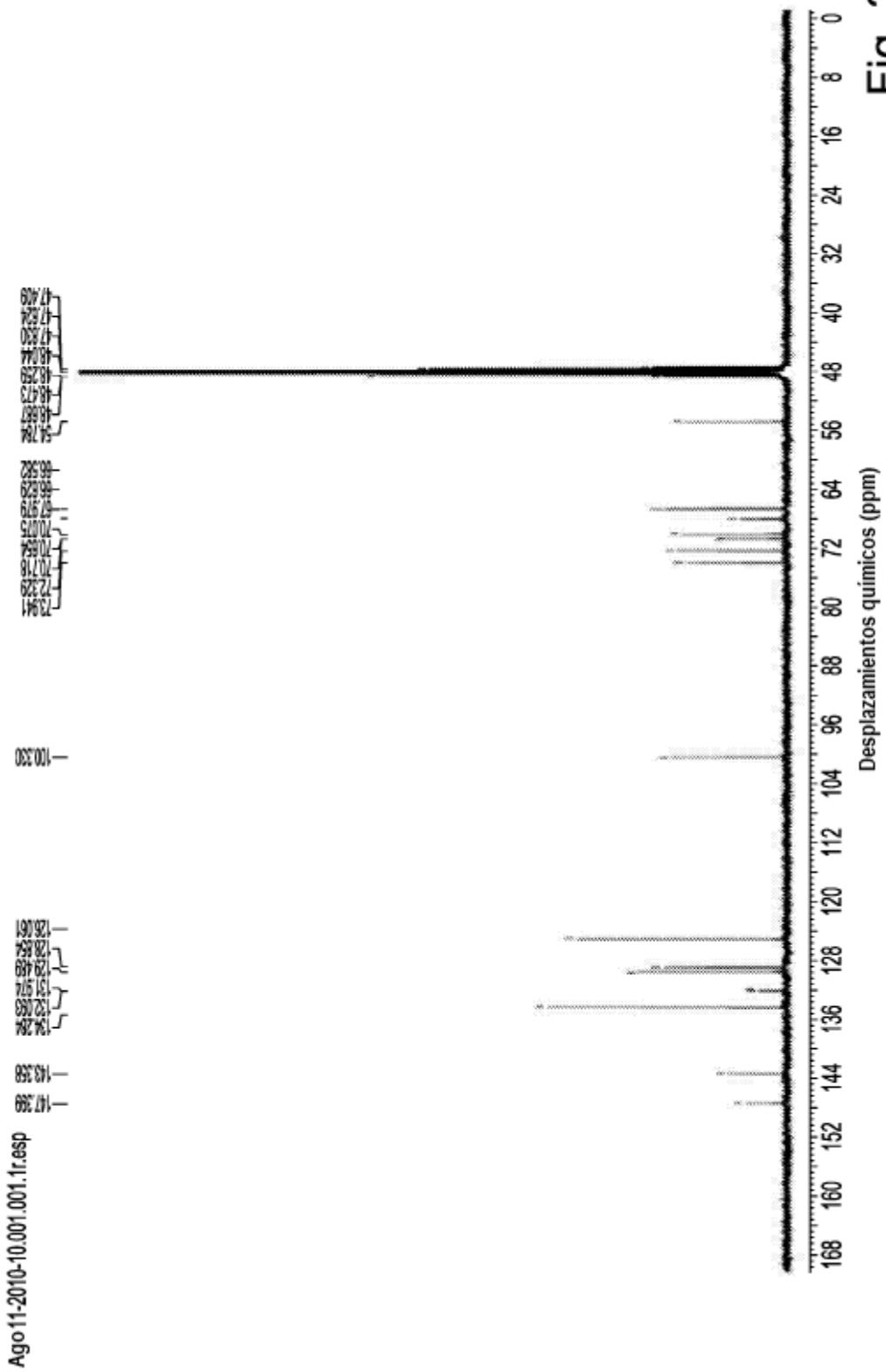
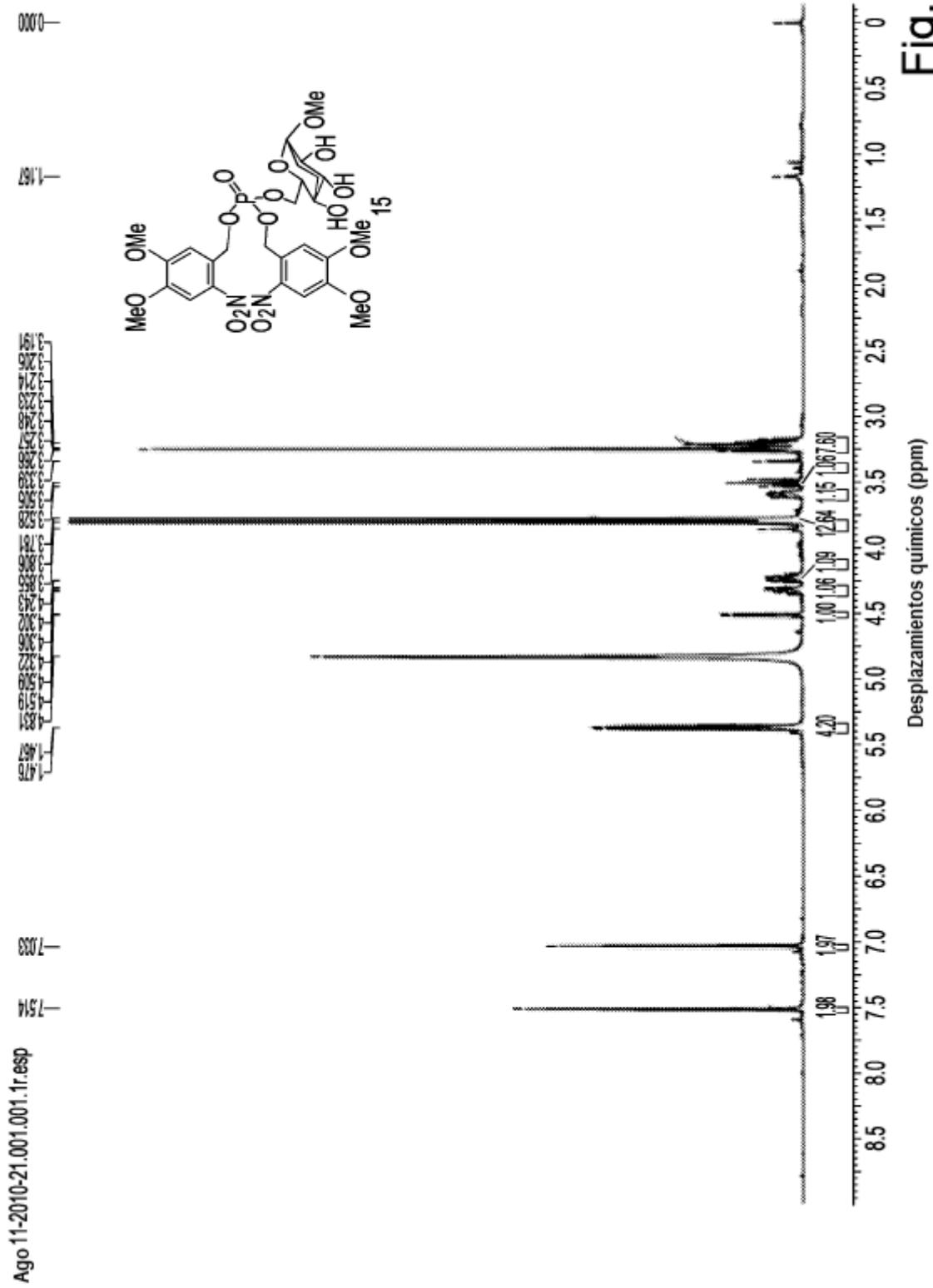


Fig. 30



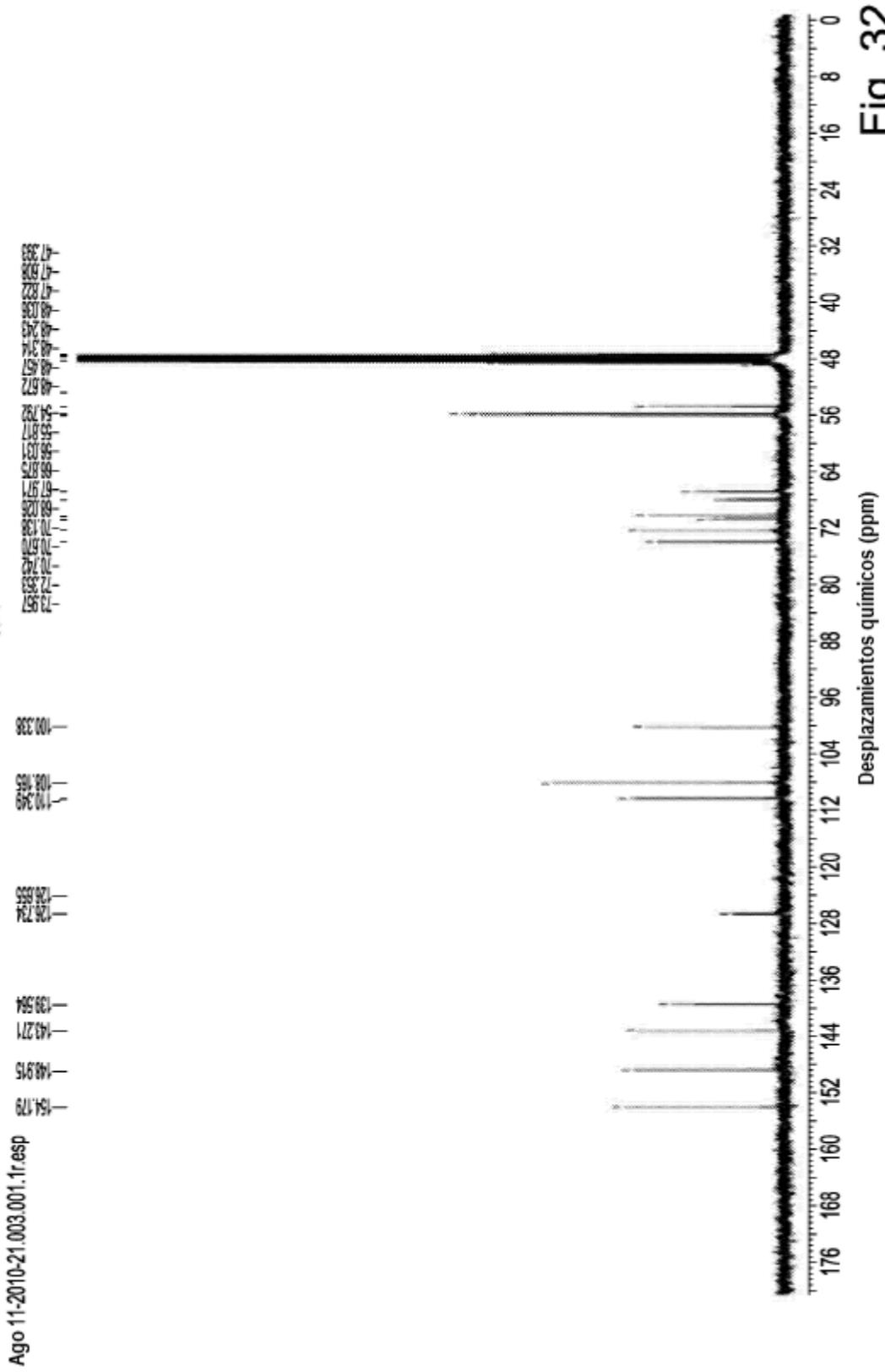


Fig. 32

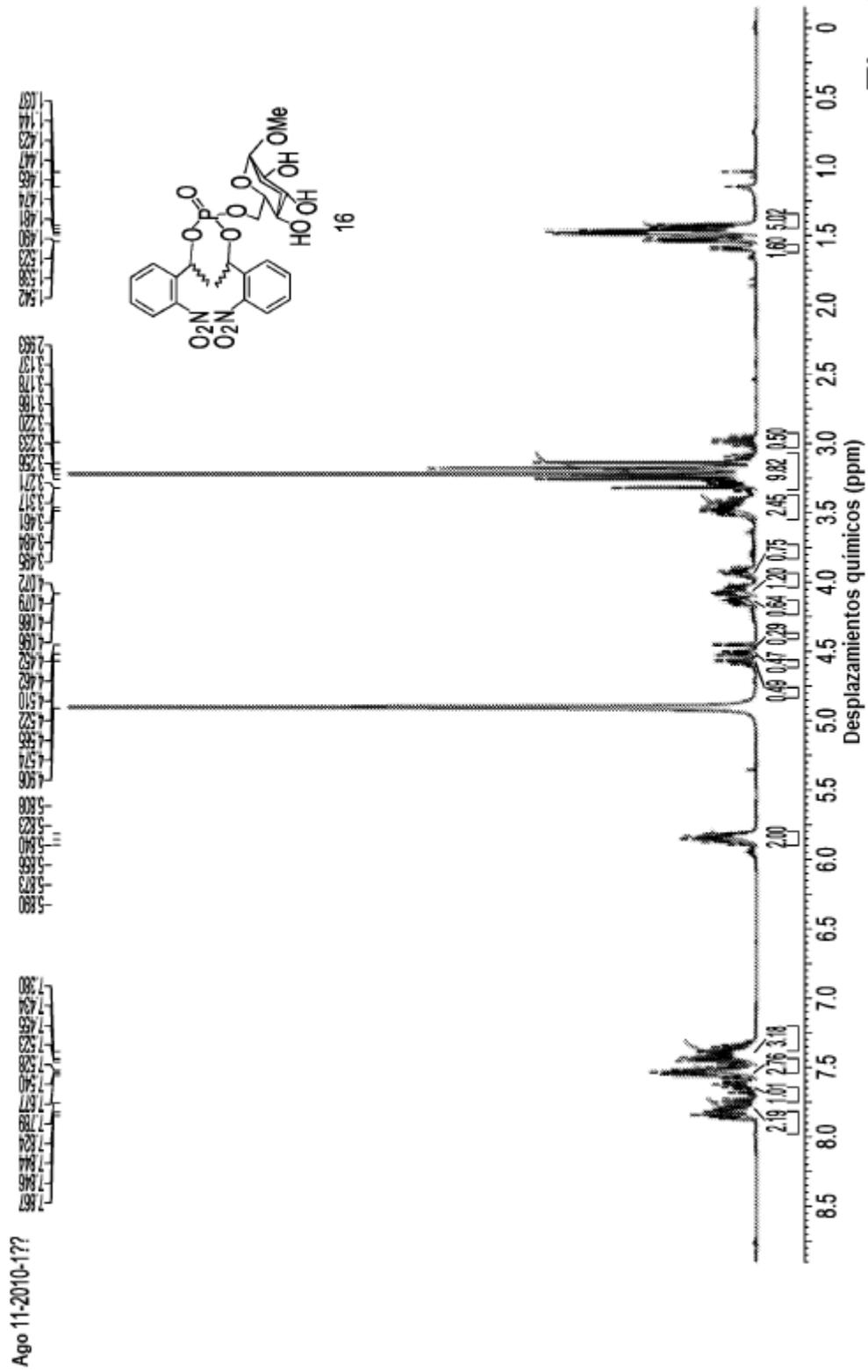


Fig. 33

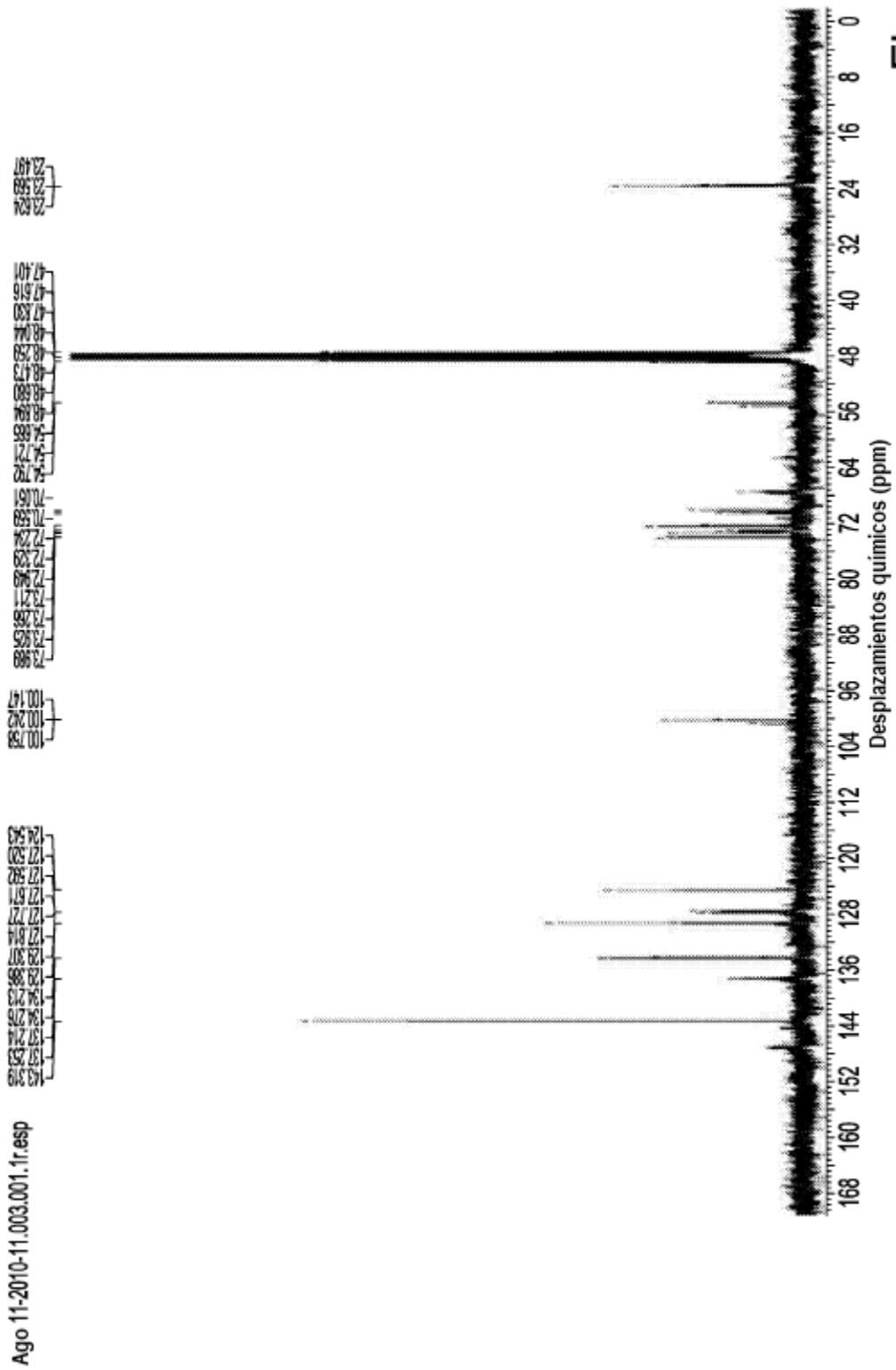
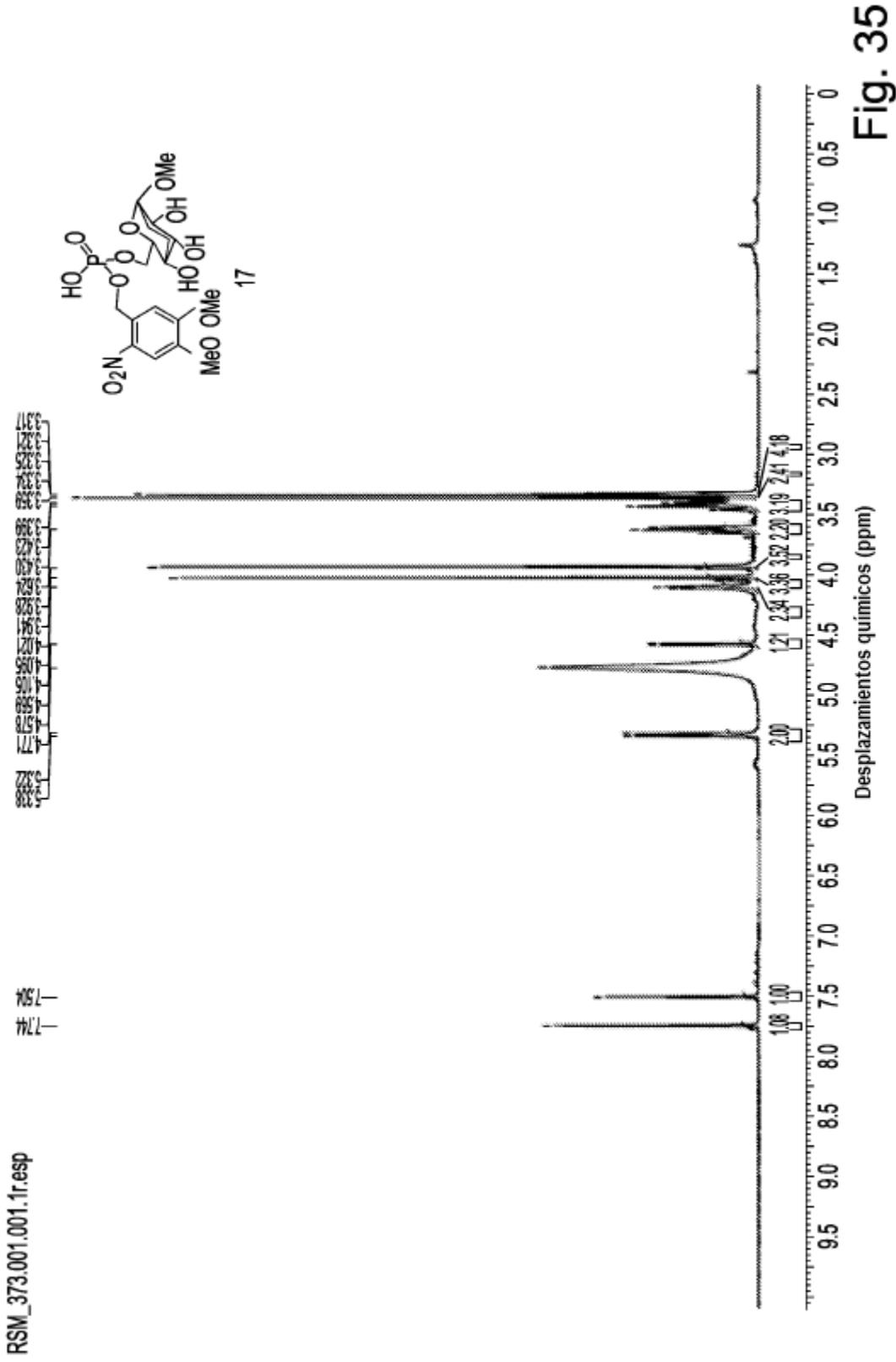


Fig. 34



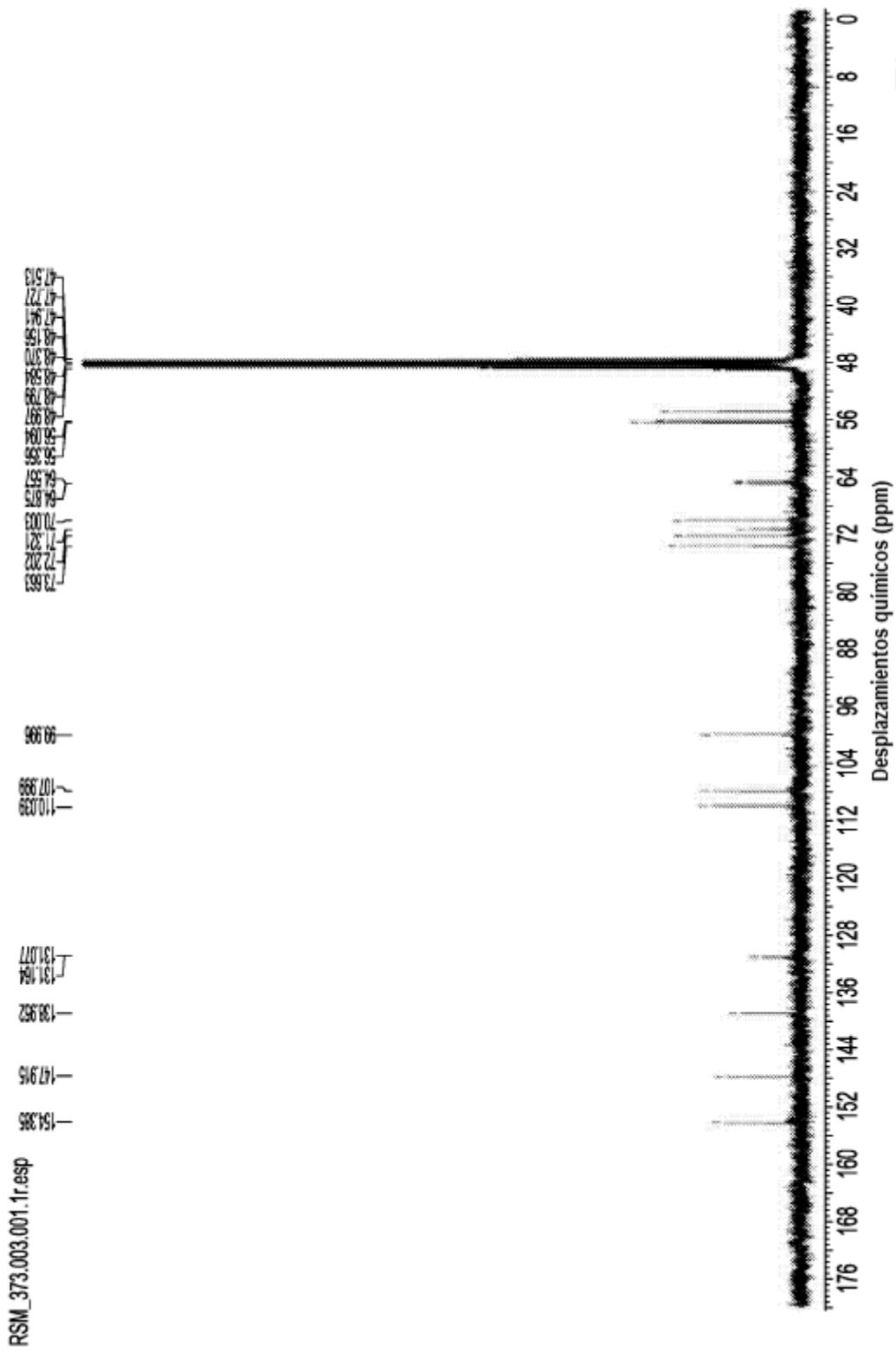


Fig. 36

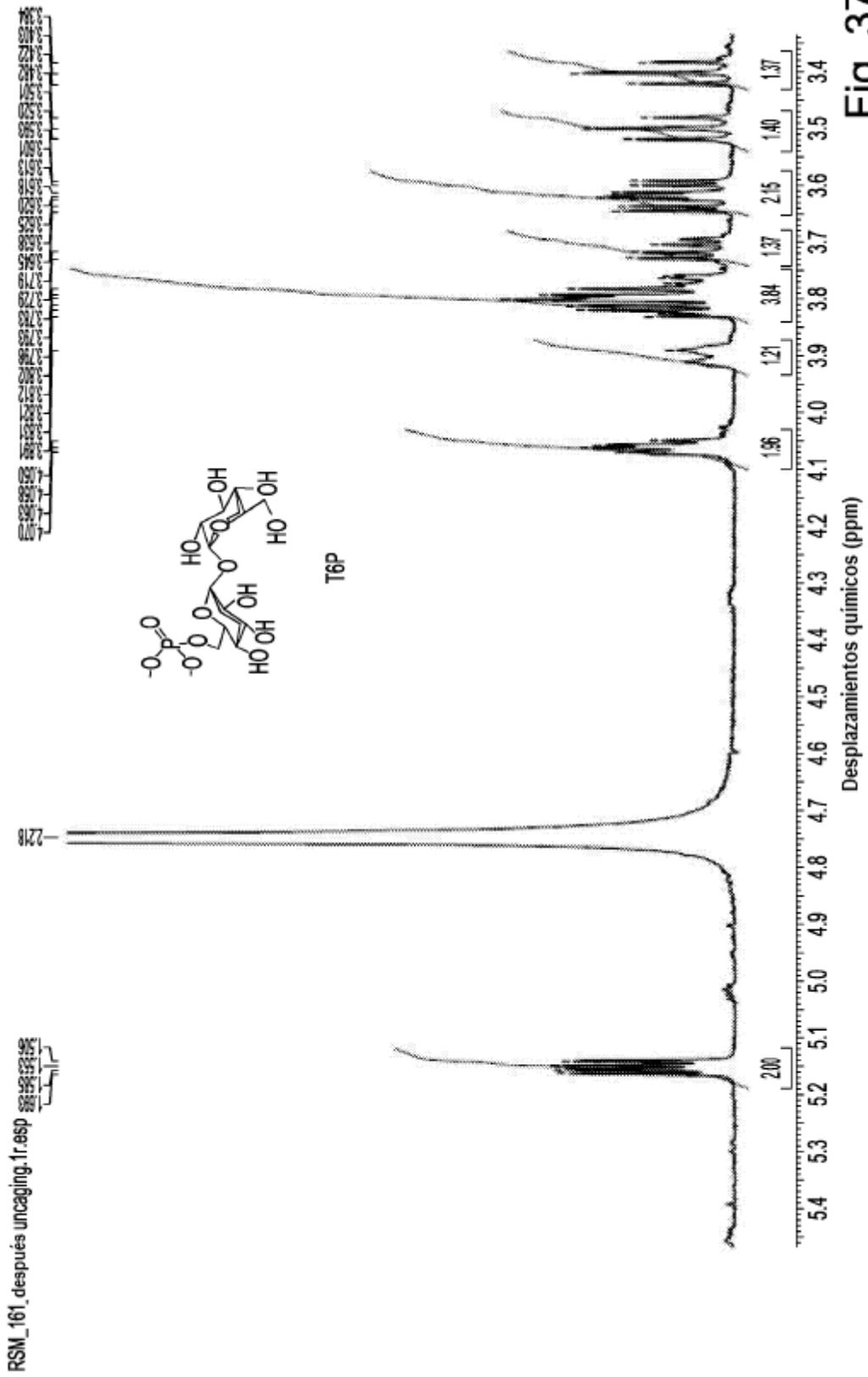


Fig. 37

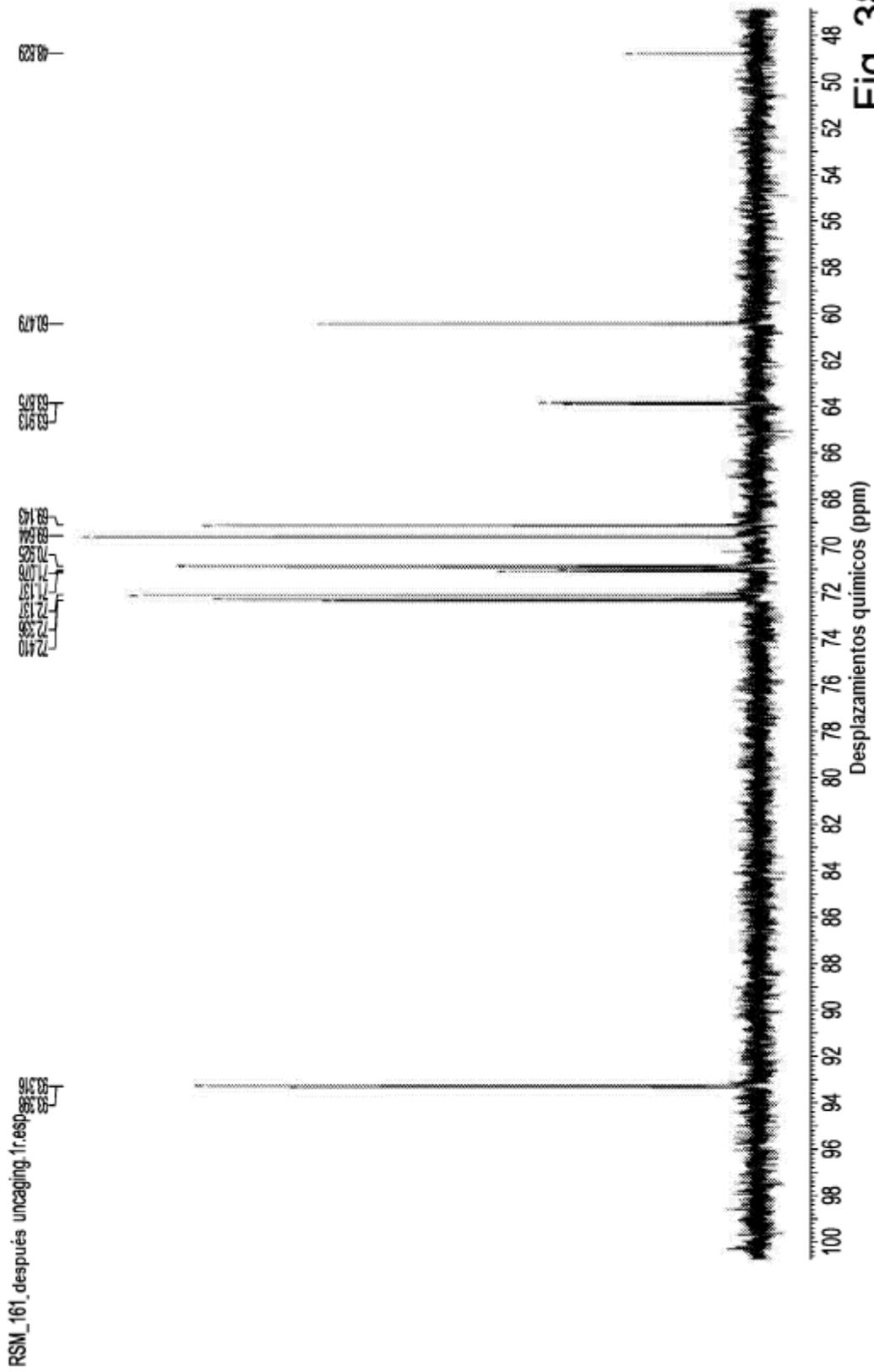


Fig. 38

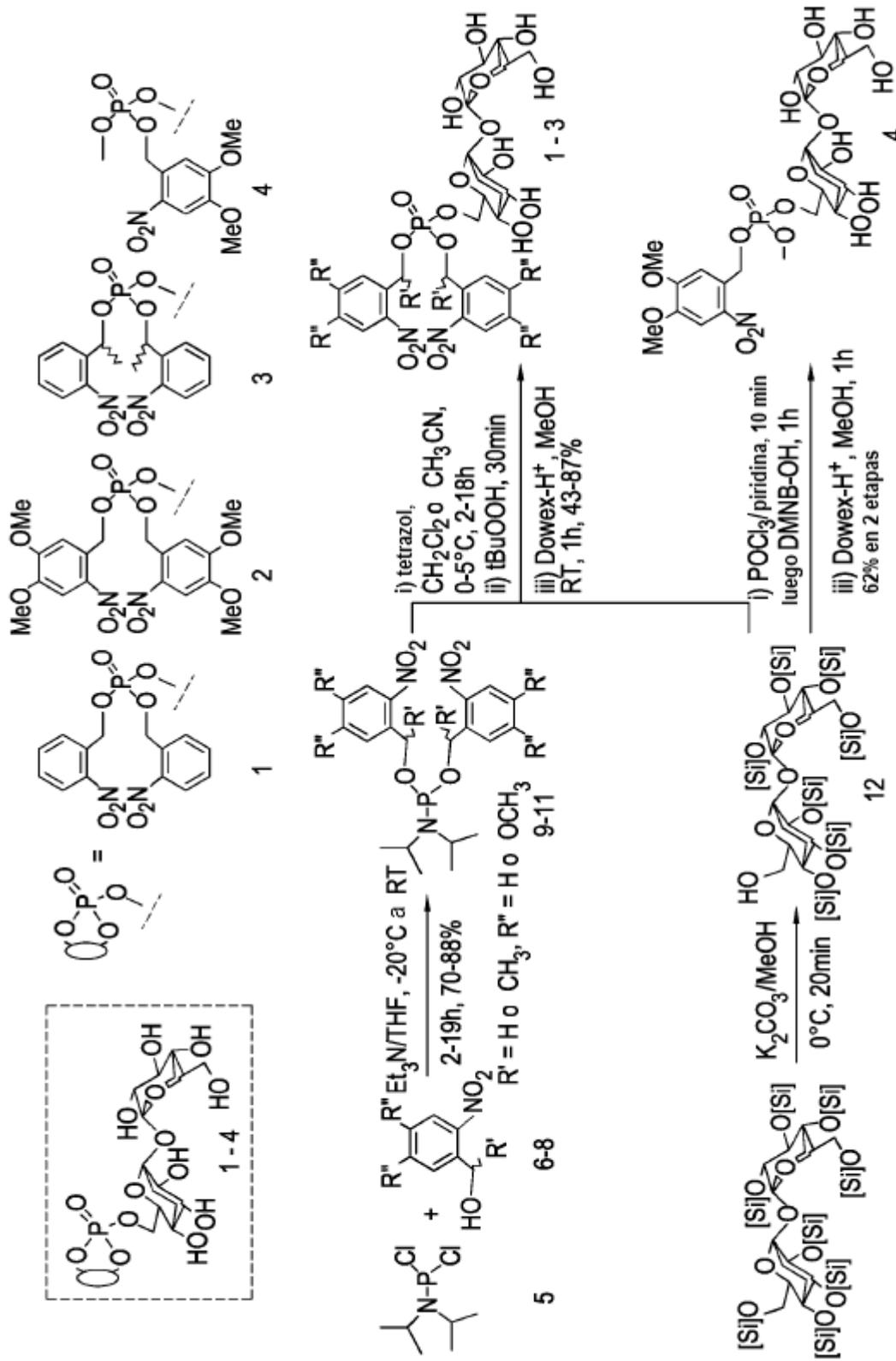


Fig. 39

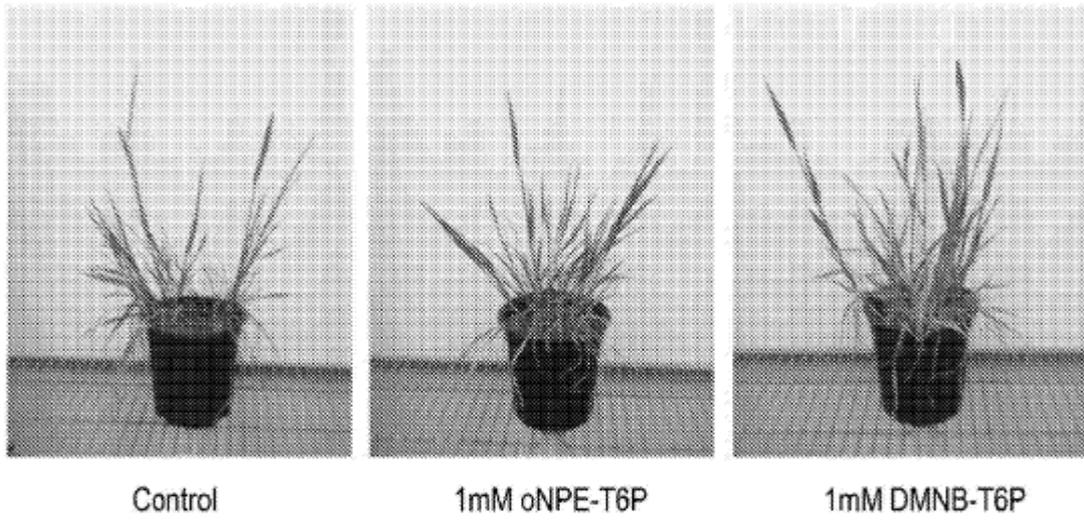


Fig. 40

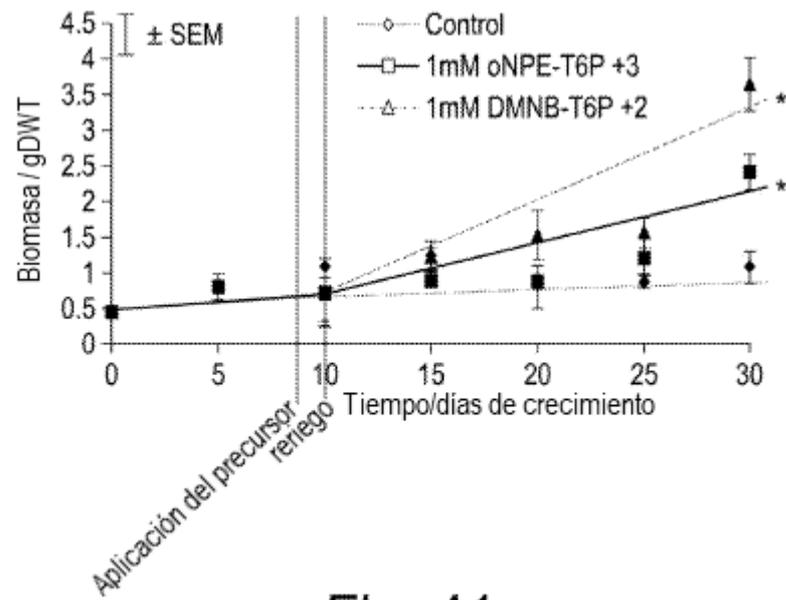


Fig. 41

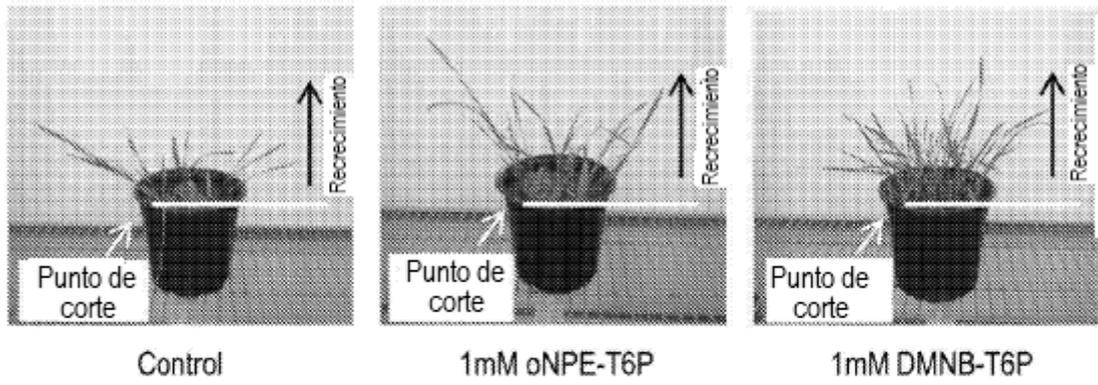


Fig. 42

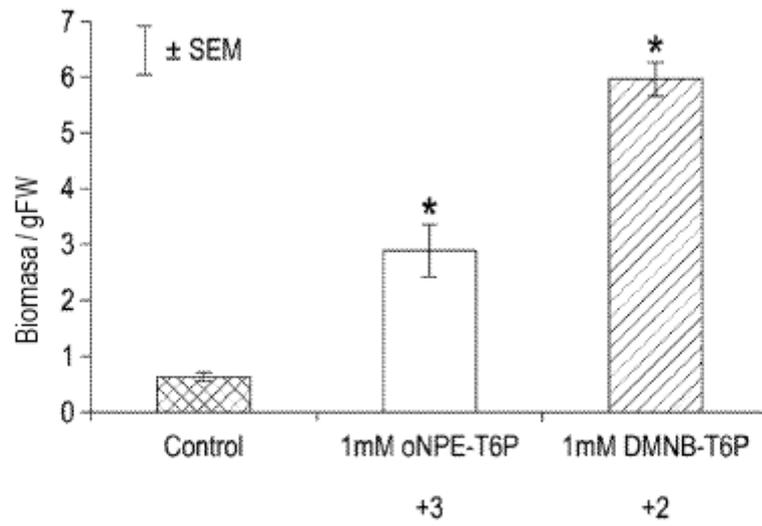


Fig. 43