



UNIVERSIDAD DE CHILE

Facultad de Ciencias Básicas
y Farmacéuticas

"DESCOMPOSICION DE LA 2,4-DIHIIDROXI-7-METOXI-
1,4-BENZOXAZIN-3-ONA EN SOLVENTES NO ACUOSOS"

HECTOR RENAN BRAVO VERGARA

1983

VCH-FC
Mag-Q
B 826
C.1



"DESCOMPOSICION DE LA 2,4-DIHIROXI-7-METOXI-
1,4-BENZOXAZIN-3-ONA EN SOLVENTES NO ACUOSOS"

Tesis
presentada a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de
Magister en Ciencias Químicas
Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas

por

HECTOR RENAN BRAVO VERGARA

01-0202056

Profesor Patrocinante: Dr. Hermann Niemeyer M.

Noviembre 1983



Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas
Universidad de Chile

INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGISTER

Se informa a la comisión de Postgrado de la Facultad de Ciencias Básicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magister presentada por el candidato

HECTOR RENAN BRAVO VERGARA

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito de Tesis para optar al Grado de Magister en Ciencias Químicas con mención en Química Orgánica.

Director Patrocinante de Tesis

Dr. Hermann Niemeyer M.

Comisión Informante de Tesis

Dr. Hernán Rodríguez

Dra. Elsa Abuin

Dr. Enrique Castro

Dr. Fernando Ibáñez

A mi esposa
A mis hijos
A mis padres
A mis hermanas

AGRADECIMIENTOS

Al DR. HERMANN NIEMEYER M. por su contribución permanente con valiosas opiniones a la orientación y desarrollo de esta Tesis y a mi formación profesional.

Al DR. LUIS CORCUERA P. por sus importantes sugerencias.

A los integrantes del Laboratorio de Fisiología Vegetal y Físicoquímica Orgánica.

INDICE DE MATERIAS

	Pág.
LISTA DE ABREVIATURAS EMPLEADAS	vi
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xii
INTRODUCCION	1
MATERIALES Y METODOS	9
Obtención del DIMBOA	9
Purificación de los solventes	11
Estudios cinéticos	11
Preparación de reactivos	14
Procedimiento	14
Determinación de los parámetros de activación	15
Determinación de la solubilidad del DIMBOA	16
Determinación de los productos	16
Determinación de los rendimientos de MBOA	18
Espectros vibracionales del DIMBOA en solución	19
Solventes apróticos	19
Solventes próticos	19
RESULTADOS Y DISCUSION	20
Interacciones DIMBOA-solvente	23
Solventes apróticos	23
Solventes próticos	29

	Pág.
Descomposición del DIMBOA	32
Entalpías y entropías de activación	32
Energías libres de activación	42
Productos de la descomposición del DIMBOA	50
Productos de la descomposición	50
Cuantificación del producto principal	50
CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFIA	54

ABREVIATURAS EMPLEADAS

Compuestos

2,4-Dihidroxi-7-metoxi-1,4-benzoxazin-3-ona	DIMBOA
2,4-Dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona	DIBOA
6-Metoxi-benzoxazolin-2-ona	MBOA
Benzoxazolin-2-ona	BOA

Solventes

1 Acetato de etilo	AcOEt
2 Acetona	AC
3 Acetonitrilo	AN
4 Benceno	B
5 Benzonitrilo	BN
6 1-Butanol	1-BuOH
7 2-Butanol	2-BuOH
8 t-Butanol	t-BuOH
9 N,N-Dimetilacetamida	DMA
10 N,N-Dimetilformamida	DMF
11 Dimetilsulfóxido	DMSO
12 Dioxano	DX
13 Etanol	EtOH
14 Eter etílico	EE
15 Hexametilfosforamida	HMPA
16 Metanol	MeOH
17 N-Metil-2-Pirrolidona	NMP
18 Nitrobenceno	NB

19	Nitrometano	NM
20	Piridina	PIR
21	1-Propanol	1-PrOH
22	2-Propanol	2-PrOH
23	Tetrahidrofurano	THF
24	Trimetilfosfato	TMF

LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Características físicas y espectroscópicas del DIMBOA.	10
2. Características físicas y espectroscópicas del MBOA.	17
3. Comparación entre número aceptor determinado por Gutmann y por la ecuación 5.	23
4. Solubilidad del DIMBOA a 11° en solventes apróticos.	24
5. Frecuencias de absorción IR de los grupos hidroxilo del DIMBOA en solventes apróticos.	26
6. Frecuencias de absorción IR de grupos hidroxilo de distinta acidez, en soluciones diluidas en tetracloruro de carbono.	27
7. Solubilidad del DIMBOA a 11° en alcoholes alifáticos.	29
8. Frecuencias de absorción IR y ancho de banda del grupo carbonilo del DIMBOA en solventes próticos.	31
9. Parámetros cinéticos y de activación para la descomposición de DIMBOA en solventes apróticos.	33
10. Parámetros cinéticos y de activación de la descomposición de DIMBOA en solventes próticos.	34
11. Cuociente número aceptor/número dador para algunos solventes apróticos.	41
12. Velocidades específicas observadas para la descomposición del DIMBOA a 53° en solventes apróticos con distintos porcentajes de agua.	49
13. Rendimiento de MBOA después de 5 períodos de semidescomposición del DIMBOA a 63° en solventes apróticos.	51

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
1.	Cinética de descomposición del DIMBOA en piridina.	13
2.	Efecto del solvente sobre la solubilidad del DIMBOA en solventes apróticos.	25
3.	Efecto del solvente sobre las frecuencias de elongación de los grupos hidroxilo.	28
4.	Efecto del solvente sobre la solubilidad del DIMBOA en solventes próticos.	30
5.	Efecto del solvente sobre los parámetros de activación de la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos.	35
6.	Efecto del solvente sobre los parámetros de activación de la descomposición del DIMBOA en solventes próticos.	36
7.	Esquema de la apertura de un hemiacetal cíclico catalizada por electrófilos y nucleófilos.	38
8.	Relación isocinética para la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos.	43
9.	Relación isocinética para la descomposición del DIMBOA en alcoholes alifáticos.	44
10.	Efecto del solvente sobre la energía libre de activación para la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos.	46
11.	Efecto del solvente sobre la energía libre de activación de la descomposición del DIMBOA en alcoholes alifáticos.	47
12.	Esquema de la catálisis por el solvente en la formación del intermediario isocianato a partir del DIMBOA.	48

RESUMEN

Se han descrito en extractos de gramíneas ciertos ácidos hidroxámicos que estarían involucrados en la resistencia de estas plantas contra el ataque de patógenos. Estos compuestos son inestables en medio acuoso; el mecanismo de la descomposición es incierto. En esta tesis se realizó un estudio del efecto del medio sobre las propiedades físicas y químicas de uno de estos ácidos (DIMBOA) en solventes no acuosos con el objeto de definir el mecanismo de su descomposición.

La naturaleza de las interacciones DIMBOA-solvente fueron determinadas sobre la base de la influencia de solventes próticos y apróticos sobre la solubilidad y el espectro vibracional del DIMBOA. Se obtuvieron correlaciones lineales directas entre el logaritmo de la solubilidad del DIMBOA y el número dador de solventes apróticos y el número aceptor de solventes próticos, y una correlación lineal inversa entre las frecuencias de absorción en el IR de los grupos hidroxilo del DIMBOA y el número dador de solventes apróticos. Las frecuencias de absorción en el IR del grupo carbonilo y el ancho de la banda se correlacionó directamente con el número aceptor del solvente prótico. Estos resultados sugieren que las interacciones principales serían entre los protones de los grupos hidroxilo del DIMBOA y los centros nucleofílicos de los solventes apróticos o entre el grupo carbonilo del DIMBOA y los centros electrofílicos de los solventes próticos.

La naturaleza del estado de transición en el mecanismo de la descomposición se estudió sobre la base de los efectos del solvente sobre la velocidad de la reacción. Los parámetros de activación correlacionaron linealmente con el número dador de los solventes apróticos y el número aceptor de los solventes próticos. La correlación en solventes apróticos muestra un quiebre que fué atribuido a un cambio en la etapa determinante de la velocidad de la reacción. El agregado de agua a solventes apróticos de bajo número dador varía sustancialmente los valores de entalpía y entropía de activación, haciéndolos comparables con los valores obtenidos en solventes próticos. Por otra parte, en acetonitrilo, un solvente aprótico con número aceptor excepcionalmente alto, los parámetros de activación escapan de las correlaciones observadas para los otros solventes apróticos y son consistentes con los esperados para su interacción bifuncional con el DIMBOA. Estos resultados permiten postular para solventes apróticos con bajo número dador, la apertura del DIMBOA como etapa determinante, y para solventes apróticos de alto número dador y solventes próticos la formación del intermediario isocianato como la etapa lenta de la reacción. (Ver esquema 1, página 7).

El producto principal tanto en solventes próticos como apróticos fué el mismo que en agua (MBOA) y su rendimiento es función directa de la velocidad de la descomposición. Estos resultados permiten suponer que el mecanismo de la descomposición en solventes no acuosos y en agua es semejante.

ABSTRACT

Hydroxamic acids isolated from extracts of certain Gramineae have been related to plant resistance to pathogens. These acids are unstable in aqueous solutions, the mechanisms of decomposition being unknown. We have studied the reaction in non-aqueous solvents in order to define its mechanism.

The nature of the interaction between DIMBOA (a hydroxamic acid in maize extracts) and the solvent was clarified through solubility and IR measurements. Linear solvation energy correlations were obtained between solubilities of DIMBOA and donor number of aprotic solvents or acceptor number of protic solvents and between OH absorption frequencies and donor number of the solvent. The CO absorption frequencies and band widths were related to the acceptor number of the protic solvent. These results suggest that the main interactions between DIMBOA and the solvent occur between hydroxyl protons of DIMBOA and nucleophilic sites of aprotic solvents and between carbonyl oxygen of DIMBOA and hydroxyl protons of protic solvents.

The nature of the transition state for decomposition was clarified through solvent effects on the reaction kinetics. The activation parameters correlated with donor number of aprotic solvents or acceptor number of protic solvents. In aprotic solvents the correlation breaks down into 2 straight lines, indicative of a change in the rate-limiting step of the reaction. Addition of H₂O to an aprotic solvent gave activation

parameters similar to those obtained for protic solvents. The activation parameters in acetonitrile, a solvent with an unusually large acceptor number, fall off the lines of the other aprotic solvents. These results are consistent with a mechanism in which the rate-limiting step is the opening of the hemiacetal in aprotic solvents of low donor numbers and the formation of the isocyanate in aprotic solvents of high donor number and in protic solvents.

The main product of the reaction is MBOA, its yield being directly related to the rate of the reaction. The fact that MBOA is the main decomposition product in aqueous solutions suggests that the same mechanism may be prevailing in aqueous and non-aqueous media.

INTRODUCCION

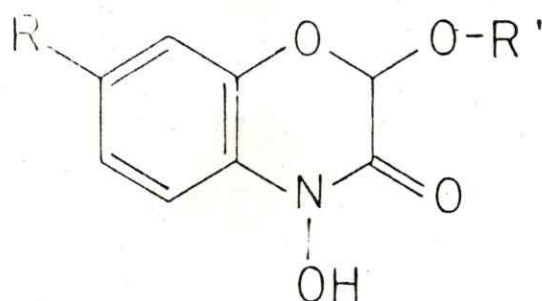
El adecuado desarrollo y producción de frutos de una planta no sólo depende de la disponibilidad de agua, nutrientes, luz y calor, sino también de su protección contra el ataque de patógenos. Es común que las plantas sean atacadas por numerosos patógenos, y que sólo algunos de ellos tengan éxito en una especie determinada. Este fenómeno se asocia a la presencia en la planta de barreras químicas y estructurales que la defienden de este ataque (Akai y Ouchi, 1971; Deverall, 1977; Ingham, 1978).

La principal barrera estructural que encuentra el patógeno es la superficie de la planta. Esta puede tener características muy diversas: sobre la superficie de hojas y frutos pueden encontrarse ceras que crean una zona hidrofóbica que impide la formación de una película acuosa donde el patógeno pueda depositarse y multiplicarse; pueden existir cutículas o capas de corcho que cubren las paredes celulares, oponiendo así resistencia a la penetración directa; o pueden formarse gomas o incisiones que aíslan la zona infestada, evitando así la propagación de la infección.

Aunque estas defensas son factores importantes en la protección de la planta, frecuentemente no son únicas, y la planta exhibe también mecanismos químicos de defensa. Uno de estos mecanismos consiste en la producción de sustancias repelentes y/o tóxicas al patógeno. Estas sustancias pueden encontrar-

se en la planta previo al ataque del patógeno (Farkas, 1962; Kosuge, 1969) o ser producidas bajo el estímulo del agente atacante (Kuč, 1966; Ingham, 1978; Rehr *et al.*, 1973). En el primer grupo están los taninos. Estos compuestos, capaces de precipitar proteínas por formación de puentes de hidrógeno con sus átomos de nitrógeno, inactivan las proteasas del tubo digestivo del patógeno restándole valor nutritivo a las proteínas que éste ingiere. En el segundo grupo están los glucósidos cianogénicos. Estos compuestos sufren hidrólisis enzimática cuando la planta es atacada por el patógeno, generando una cianhidrina que posteriormente libera el altamente tóxico cianuro de hidrógeno.

En extractos de maíz, trigo y centeno se han descrito ácidos hidroxámicos que llegan a constituir hasta 2% del peso seco de la planta (Willard y Penner, 1976) y que estarían involucrados en la resistencia de la planta contra el ataque de patógenos (Virtanen y Hietala, 1955; Virtanen *et al.*, 1956, 1957; Willard y Penner, 1976). Estos compuestos se encuentran en la planta como glucósidos relativamente inactivos (Ib, Id) y sufren hidrólisis enzimática (Wahlroos y Virtanen, 1959; Virtanen y Hietala, 1959a, 1959b, 1960a, 1960b; Hamilton *et al.*, 1962; Tipton *et al.*, 1967; Cahagan y Mumma, 1967) cuando la planta es atacada por el patógeno, generando agluconas biológicamente activas (Ia, Ic) (Wahlroos y Virtanen, 1959; Willard y Penner, 1976; Klun *et al.*, 1970).



<u>R</u>	<u>R'</u>	<u>Compuesto</u>	
CH ₃ O	H	DIMBOA	Ia
CH ₃ O	Glucosilo	DIMBOA-Glc	Ib
H	H	DIBOA	Ic
H	Glucosilo	DIBOA-Glc	Id

El alto contenido de estos compuestos en plantas con importancia nutricional para el hombre, ha despertado interés en el conocimiento de su rol fisiológico en la planta, sus efectos sobre organismos vivos y la explicación de estos fenómenos a nivel molecular.

Numerosos estudios relacionan la presencia de estos compuestos en la planta con la resistencia al ataque de bacterias (Corcuera *et al.*, 1978; Lacy *et al.*, 1979), hongos (Elnaghy y Linko, 1962; Elnaghy y Shaw, 1966; Knott y Kumar, 1972) e insectos (Long *et al.*, 1977; Klun *et al.*, 1967; Gallum *et al.*, 1975; Klun y Robinson, 1969). El caso mejor documentado es el de los efectos de los ácidos hidroxámicos sobre algunos pulgones de cereales.

Se han informado correlaciones lineales inversas entre el contenido de ácidos hidroxámicos en la planta y la tasa de crecimiento poblacional de pulgones alimentándose en ellas (Argandoña *et al.*, 1980, 1981), inducción de resistencia a pulgones al incorporar ácidos hidroxámicos en plantas susceptibles carentes de ellos (Argandoña *et al.*, 1980) y efectos deletéreos de los compuestos sobre áfidos alimentados con dietas artificiales (Argandoña *et al.*, 1980). En los experimentos con dietas, se demostró que los ácidos provocan disminución tanto de la tasa de reproducción como de la sobrevivencia de los pulgones. A concentraciones menores que 4 mM, el efecto sobre la sobrevivencia es predominantemente por toxicidad en tanto que a concentraciones mayores que 4 mM los compuestos ejercen una acción predominantemente repelente (Argandoña *et al.*, 1983).

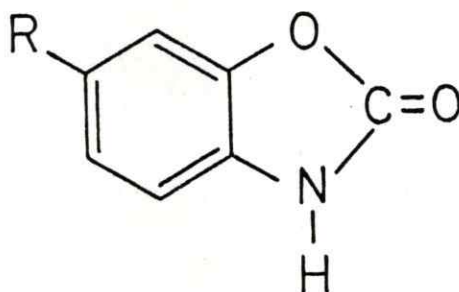
El mecanismo de acción biológica a nivel molecular de los ácidos hidroxámicos es desconocido, pero podría estar relacionado con la presencia de centros con fuerte carácter electrofílico en estas moléculas, que les permitirían modificar proteínas por reacción con centros nucleofílicos de ellas. Consecuente con esta hipótesis se ha demostrado que el DIMBOA (Ia), el principal ácido hidroxámico en extractos de maíz (Hamilton *et al.*, 1962; Klun *et al.*, 1967, 1970; Tipton *et al.*, 1967; Woodward *et al.*, 1979), inhibe las ATPasas de cloroplastos de espinaca y de mitocondrias de hígado de rata (Queirolo *et al.*, 1981) y la Na/K ATPasa de riñón de bovino (Villarreal *et al.*, 1982).

La inhibición de estos procesos de transducción de energía ha sido atribuida a la interacción del DIMBOA con grupos sulfhidrilo de residuos de cisteína de las enzimas (Queirolo *et al.*, 1983). En concordancia con estos resultados se ha observado que la presencia de cisteína en dietas de alimentación de pulgones disminuye la actividad inhibitoria del DIMBOA (Argandoña *et al.*, 1982).

Las interacciones electrófilo-nucleófilo del DIMBOA han sido demostradas in vitro con tioles como el mercaptoetanol, el ditiotreitól, el etanotiol y la cisteína (Niemeyer *et al.*, 1982a). De la reacción entre el DIMBOA y el etanotiol se aislaron productos de reducción, de adición o de ambas reacciones (Niemeyer *et al.*, 1982a). Esta reactividad es atribuida al carácter oxidante del átomo de nitrógeno en el DIMBOA y al carácter electrofílico del grupo aldehído en el compuesto 2 (Esquema 1, página 7), compuesto que en solución estaría en equilibrio con el DIMBOA.

Un estudio mecanístico de la interacción entre el DIMBOA y los centros nucleofílicos de una enzima, requiere de un conocimiento cabal de la reactividad del DIMBOA en ausencia de otros reaccionantes, puesto que los centros nucleofílicos de una enzima competirían por intermediarios comunes con esta reacción. La reacción de descomposición en solución de los ácidos hidroxámicos ha sido estudiada con cierto detalle con el DIBOA (Ic), (Brendenberg *et al.*, 1962; Smismann *et al.*,

1972), el principal ácido hidroxámico aislado de extractos de centeno (Virtanen y Hietala, 1959a, 1959b, 1960a, 1960b), y con el DIMBOA (Woodward *et al.*, 1978; Niemeyer *et al.*, 1982b), en medio acuoso. Así, para el DIBOA entre pH 3,9 y 9,7 (Brendenberg *et al.*, 1962) y para el DIMBOA entre pH 5 y 7,5 (Woodward *et al.*, 1978) las cinéticas de descomposición son de primer orden con respecto al sustrato. El producto principal de la reacción es normalmente la benzoxazolinona respectivamente, BOA (IIb) en el caso del DIBOA (Virtanen y Hietala, 1959a, 1959b, 1960a, 1960b; Honkanen y Virtanen, 1961) y MBOA (IIa) en el caso del DIMBOA (Klun y Brindley, 1966; Virtanen y Wahlroos, 1963; Wahlroos y Virtanen, 1959).

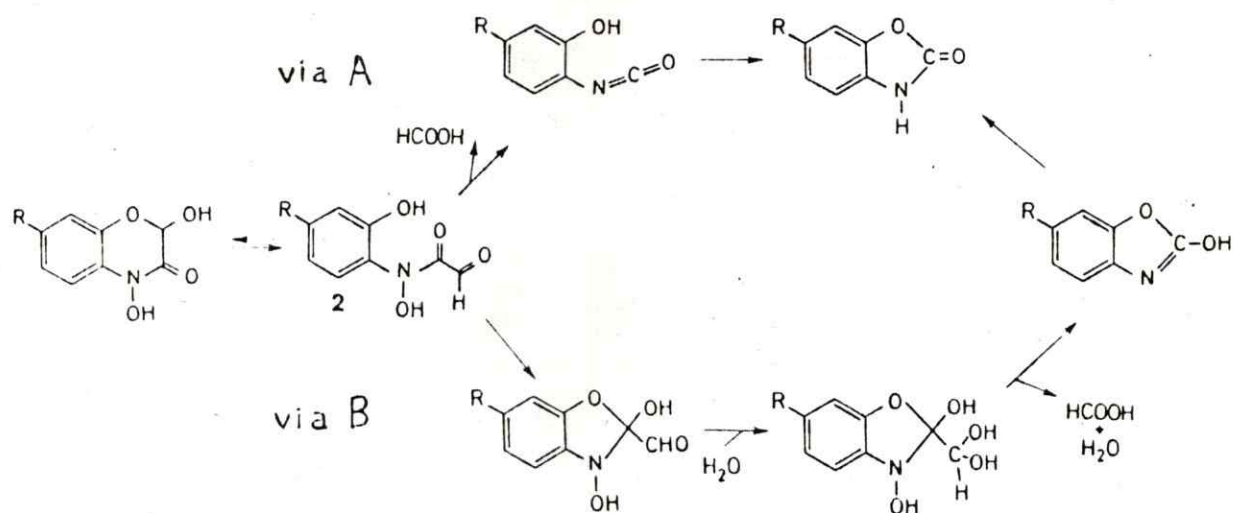


<u>R</u>	<u>Compuesto</u>
CH ₃ O	MBOA IIa
H	BOA IIb

La transformación de un anillo de seis en uno de cinco miembros transcurre con liberación de ácido fórmico cuyo átomo de carbono proviene del C₂ en el sustrato (Honkanen y Virtanen, 1961). La naturaleza de los productos de descomposi-

ción de las benzoxazolinonas dependen del pH y de la temperatura. Entre pH 5 y 7,5 y temperaturas entre 20° y 80° los rendimientos de MBOA a partir de DIMBOA varían entre 41 y 75% (Woodward *et al.*, 1978). A pH extremos, como fusión alcalina y HCl 0,1 N, los productos principales de la descomposición del DIBOA son 2-aminofenol y fenilhidroxilamina (Virtanen y Hietala, 1960a, 1960b).

El mecanismo de estas degradaciones no ha sido aclarado. Se ha postulado dos alternativas para la descomposición del DIBOA en solución acuosa. Ambas sugieren como primera etapa la apertura rápida y reversible del hemiacetal para formar el compuesto 2 (Esquema 1). Brendenberg *et al.* (1962), de acuer-



Esquema 1. Mecanismos postulados para la descomposición de 2,4-dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-onas en medio acuoso.

do con los efectos del pH sobre la cinética de la descomposición y la obtención de BOA como producto principal, consideran que el OH hidroxámico en 2 participaría como nucleófilo en la etapa determinante formando, a través de un estado de transición cíclico, el intermediario isocianato (Esquema 1: vía A). En una etapa posterior este isocianato sufriría una ciclación para formar BOA. Smissman *et al.* (1972) sugieren la formación de un hemiacetal cíclico con anillo de 5 miembros y luego la participación del agua, que actuaría como co-reaccionante en la etapa lenta (Esquema 1: vía B) transformando el grupo aldehído en un grupo electrófilo saliente. Se formaría así el tautómero de BOA con liberación de ácido fórmico y salida del hidroxilo hidroxámico. Este tautómero se reordenaría al isómero más estable, BOA.

Dos diferencias fundamentales entre los mecanismos propuestos son: i) la participación del agua como co-reaccionante en la etapa lenta de la reacción en un caso, o simplemente como solvente en el otro, y ii) la participación del OH hidroxámico como nucleófilo en un caso o como nucleófilo en el otro. En esta tesis se pretende distinguir entre estas alternativas estudiando la reacción en solventes no-acuosos. Estos estudios serán, además, de utilidad para la manipulación de estos ácidos hidroxámicos y en particular del DIMBOA, puesto que diversos procesos, tales como su extracción, análisis cromatográficos y espectroscópicos y reacciones enzimáticas, utilizan en algún momento soluciones de DIMBOA en solventes orgánicos.

MATERIALES Y METODOS

Obtención del DIMBOA. Durante el desarrollo de esta tesis fué necesario aislar DIMBOA en numerosas oportunidades, ya que la disponibilidad de equipo limitaba la cantidad de plántulas de maíz que podían ser procesadas y era necesario realizar el proceso de extracción en un tiempo mínimo para evitar así pérdidas debido a la descomposición del compuesto.

La obtención se realizó sobre la base de modificaciones a métodos descritos (Klun *et al.*, 1967; Woodward *et al.*, 1978) que tuvieron por objeto mejorar los rendimientos y obtener un compuesto más puro. Se describe a continuación un experimento típico de aislamiento del DIMBOA. Se cultivó 1,5 Kg de frutos de maíz (Tracy T-129s) en un invernadero por 6 días entre 22 y 29° con luz permanente. Se recolectó la zona aérea de las plántulas, que luego se trituró y filtró sobre gasa. El filtrado (2 l) fué enfriado en un baño con hielo y acidificado con HCl concentrado hasta pH 3,3. La solución ácida fué centrifugada a 7.500 rpm por 20 min y el sobrenadante extraído dos veces con éter etílico grado técnico, recién destilado, en una relación éter:sobrenadante 2:1 v/v. El extracto etéreo fué concentrado en un evaporador rotatorio a temperatura ambiente. El residuo fué lavado 3 veces con pequeñas porciones de acetona p.a. y luego disuelto en 50 ml de dioxano p.a.. A esta solución, enfriada en un baño de hielo, se agregó con agitación constante éter de petróleo p.a. hasta turbidez.

Se dejó reposar la solución 30 min en frío para completar la precipitación. El sólido se filtró, se lavó con pequeñas porciones de éter de petróleo p.a. y finalmente se secó con vacío por 30 min. El lavado acetónico fué concentrado con corriente de aire seco. El residuo sólido fué lavado 3 veces con pequeñas porciones de acetona p.a. y finalmente sometido al mismo proceso de purificación ya descrito. Se obtuvo un total de 1,05 g de un producto blanco identificado como DIMBOA por las características físicas y espectroscópicas de la Tabla 1.

TABLA 1. Características físicas y espectroscópicas del DIMBOA.

Propiedad ^a	Obtenido	Informado	Referencia
Punto de fusión	153-154°	152-154°	b
UV _{EtOH} λ(ε)	290,262(10.135)	288,262(10.000)	b
IR _{KBr} ν	3325,3150,2950 1670,1610	3352,1655,1603	c
rmn _{Acetona-D₆} τ	6,2(3H-s) 2,8-3,4(3H-m) 4,2(1H-s)	6,2(3H-s) 2,8-3,4(3H-m) 4,28(1H-s)	b

^aUnidades empleadas: λ(nm), ε(1/mol.cm), ν(cm⁻¹), τ(ppm)

^bWoodward et al., 1978.

^cKlun et al., 1967.

Purificación de solventes. Los solventes utilizados fueron grado proanálisis Merck (EE, DX, AcOEt, AC, B, DMSO, THF, EtOH, 1-PrOH, 2-BuOH, t-BuOH), grado Uvasol Merck (DMF, MeOH, 2-PrOH), grado Gold Label Aldrich (AN, HMPA, DMA, BN, NM, PIR) o grado normal Aldrich (TMF, NB, NMP).

Los solventes AN, DX, AC, THF, DMSO, HMPA, DMF y PIR fueron tratados según métodos descritos en la literatura (Riddick y Bunger, 1970), guardados sobre tamices moleculares (Linde 3A o 4A) y redestilados en el momento de usar. Los solventes EE, NMP, BN, NM, TMF, AcOEt, DMA, MeOH, EtOH, 1-PrOH, 2-PrOH, 1-BuOH, 2-BuOH, fueron tratados con tamices moleculares y posteriormente destilados.

En algunos casos fué necesario repetir los tratamientos hasta lograr una concentración de agua entre 2 y 10 veces inferior a la concentración de DIMBOA que se emplearía. El contenido de agua fué determinado por el método de Karl Fischer.

Estudios cinéticos. Cuando el DIMBOA se agrega a una solución de cloruro férrico, ésta se torna azul y su absorbancia a 590 nm es proporcional a la concentración de DIMBOA (entre 0,2 y 230 mM) en dicha solución. En consecuencia, la variación de la concentración de DIMBOA durante el transcurso de la reacción de descomposición se determinó extrayendo, cada cierto tiempo, una alícuota de la solución reaccionante, diluyéndola con solución de cloruro férrico y midiendo la absorbancia a 590 nm ($\epsilon = 1335 \text{ l/mol.cm}$) con la ayuda de un colorímetro.

Spectronic-20. A cada medición se le restó la absorbancia a 590 nm de una alícuota diluida con el solvente de la solución de cloruro férrico.

Este método consideró que en la mezcla reaccionante sólo el DIMBOA podía formar una solución azul con cloruro férrico. Esta suposición se apoya en el hecho que en todas las reacciones la absorbancia de la solución FeCl_3 -mezcla reaccionante disminuía hasta los límites de detección del método durante el transcurso de la reacción. Una descomposición típica del DIMBOA en solvente no-acuoso se encuentra en la figura 1. Además, se comprobó que la absorbancia correspondiente a los productos coloreados, sólo comenzaba a ser detectada desde aproximadamente 1,5 períodos de semidescomposición en todos los solventes. Los valores permanecían, sin embargo, próximos a los límites de detección del método (figura 1). En consecuencia, estas absorbancias no fueron consideradas en la determinación de las constantes de velocidad. Las constantes de pseudo primer orden fueron determinadas sobre la base de las absorbancias hasta 2 períodos de semidescomposición en todos los solventes excepto en HMPA, donde las absorbancias finales fueron significativas y fueron consideradas en la determinación de la constante.

Los estudios cinéticos se desarrollaron de la siguiente manera:

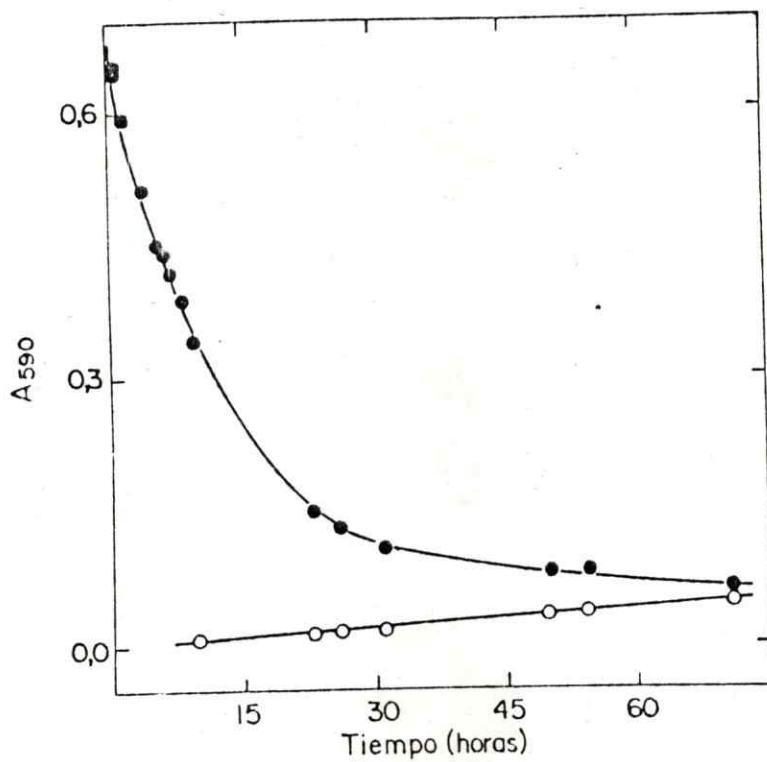


Figura 1. Cinética de descomposición del DIMBOA en piridina.

○ = absorbancia de los productos coloreados (ver procedimiento). ● = absorbancia de la solución de DIMBOA con FeCl_3 .

Preparación de los reactivos:

- i) La solución base de cloruro férrico (A), era preparada disolviendo 100 g de $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada que contenía 1,35 ml de ácido clorhídrico al 37% y enrasado a 100 ml con agua destilada.
- ii) La solución para controlar la variación de la concentración de DIMBOA (B), era preparada en el momento en que iba a ser usada, mezclando la solución A, etanol al 95% y ácido clorhídrico al 37%, en la proporción 1:10:0,1.
- iii) La solución para la determinación de los productos coloreados (C) era preparada mezclando agua, etanol al 95% y ácido clorhídrico al 37%, en la proporción 1:10:0,1.

Procedimiento:

Un conjunto de tubos que contenían soluciones 60 mM de DIMBOA en HMPA, PIR, DMSO, DMF, THF, DX, AC, EtOH, MeOH, 1-PrOH, 2-PrOH, 1-BuOH, 2-BuOH o t-BuOH y, debido a una menor solubilidad, una solución 24 mM en AN, fueron puestos en un baño termorregulado a 53°. Cada cierto tiempo se extraían 2 alícuotas de 20 μl cada una. Una de estas alícuotas se diluía con 3 ml de solución B y se medía la absorbancia a 590 nm contra un blanco formado por 3 ml de solución B y 20 μl del solvente respectivo; la otra, se diluía con 3 ml de solución C y su absorbancia se medía contra un blanco formado por 3 ml de solución C y 20 μl del solvente respectivo.

Se siguió la cinética hasta 2 vidas medias de reacción y las constantes de pseudo primer orden se determinaron por el método de los cuadrados mínimos. Las constantes de velocidad informadas corresponden a un promedio de 2 a 3 determinaciones para cada solvente. Los errores estándares fueron inferiores a 4%.

Determinación de los parámetros de activación: Las entalpías de activación (ΔH^\ddagger) se determinaron a partir de la ecuación 1. Las energías de activación (E_a) correspondieron al valor con signo opuesto de la pendiente del gráfico de Arrhenius ($\log k_{\text{obs.}}$ vs. $1/T$, $k_{\text{obs.}}$ = constante de velocidad de pseudo primer orden observada, T = temperatura absoluta) multiplicado por el factor $2,3 R$ (R = constante de los gases).

$$\Delta H^\ddagger = E_a - RT \quad (1)$$

La energía libre de activación (ΔG^\ddagger) se obtuvo a partir de la ecuación 2, donde $k'_{\text{obs.}}$ correspondió a la constante de pseudo primer orden interpolada para 53° del gráfico de Arrhenius.

$$\Delta G_{53}^\ddagger = -2,3 RT \log \frac{k'_{\text{obs.}} \cdot h}{k \cdot T} \quad (2)$$

h = constante de Planck; k = constante de Boltzmann

Las entropías de activación (ΔS^\ddagger) se obtuvieron de la ecuación 3.

$$\Delta S_{53}^\ddagger = \frac{\Delta H_{53}^\ddagger - \Delta G_{53}^\ddagger}{T} \quad (3)$$

Los errores de los valores de activación debido a fluctuaciones de la temperatura durante la determinación de los parámetros cinéticos, fueron inferiores al 1%.

Determinación de la solubilidad del DIMBOA. Un conjunto de tubos que contenían 0,1 ml de DMSO, PIR, NMP, DMF, AC, THF, DX, EE, AN, BN, NM, MeOH, EtOH, 1-PrOH, 2-PrOH, 1-BuOH o 2-BuOH, fué colocado por 10 min en un baño de glicerina termorregulado a 11°. Luego se agregó DIMBOA en pequeñas porciones y con agitación constante, hasta tener un exceso sin disolver después de 5 min de agitación. De cada tubo se extrajo 3 alícuotas iguales del sobrenadante que fueron diluidas con solución B de cloruro férrico. La cantidad de DIMBOA extraído de la solución saturada, se determinó midiendo la absorbancia a 590 nm de cada solución contra un blanco de solución B más el solvente correspondiente. El promedio de estas 3 mediciones constituyó una determinación y los resultados informados corresponden a un promedio de 3 determinaciones para cada solvente. Los errores estándares de las determinaciones fueron menores que 4,5%.

Determinación de productos. El DIMBOA fué descompuesto por 5 períodos de semidescomposición en DMSO, HMPA, DMF, THF, PIR, AC, DX, AN, MeOH y EtOH en un baño termorregulado a 63°. Las soluciones fueron concentradas con una corriente de aire seco y la separación de los productos del residuo se realizó

por cromatografía en capa fina de silicagel 60 GF₂₅₄ (0,5 mm de espesor), utilizando como eluyente una mezcla de benceno: éter etílico = 1:4 v/v (R_f MBOA = 0,65; R_f DIMBOA = 0,15). La zona correspondiente al MBOA se extrajo con etanol absoluto. La solución alcohólica se concentró en un evaporador rotatorio a temperatura ambiente, obteniéndose en todos los solventes un sólido blanco identificado como MBOA por sus características físicas y espectroscópicas (Tabla 2). De las otras zonas del cromatograma sólo se obtuvieron residuos coloreados que no fué posible identificar.

TABLA 2. Características físicas y espectroscópicas del MBOA.

Propiedad ^a	Obtenido	Informado ^b
Punto de fusión:	152 - 153°	149 - 152°
UV _{EtOH} $\lambda(\epsilon)$	232, 290 (5885)	232, 290 (5830)
IR _{KBr} ν	3160, 1780, 1630	1755, 1635, 1515
	1500, 1320, 1120	1320, 1150
$^1\text{H-NMR}$ _{CDCl₃} τ	6,3(3H-s)	6,2(3H-s)
	3,0-3,6(3H-m)	3,1(3H-m)
	1,1(1H-ancho)	0,9(1H-ancho)

^aUnidades empleadas: λ (nm), ϵ (l/mol.cm), ν (cm⁻¹), τ (ppm).

^bWoodward et al., 1978.

Determinación de los rendimientos de MBOA. Un conjunto de tubos sellados que contenían soluciones 60 mM de DIMBOA en PIR, DMSO, DMF, THF y DX fué colocado en un baño termorregulado a 63° por un tiempo equivalente a 5 períodos de semidescomposición. Las soluciones fueron concentradas con una corriente de aire seco y los residuos sometidos al proceso cromatográfico utilizado en la determinación de productos. La zona correspondiente al MBOA se extrajo 3 veces con etanol absoluto y las soluciones alcohólicas se concentraron en un evaporador rotatorio a temperatura ambiente. La cantidad de MBOA obtenida en cada reacción (R_1) se determinó redisolviendo los residuos en etanol absoluto y midiendo las absorbancias a 290 nm ($\epsilon = 5885 \text{ l/mol.cm}$) en un espectrofotómetro Carl Zeiss.

Se realizaron controles para determinar pérdidas debido al método utilizado y a la posible descomposición del MBOA en las condiciones de la reacción. La descomposición se comprobó haciendo reaccionar en un conjunto de tubos sellados, soluciones de MBOA en PIR, DMSO, DMF, DX o THF de concentración equivalente a la producida por la descomposición de una solución 60 mM de DIMBOA en cada solvente. El MBOA residual (R_2), se extrajo y cuantificó por el mismo método descrito en el párrafo precedente de manera que las pérdidas debido al método serían iguales en ambas determinaciones. Por lo tanto, el rendimiento de MBOA (expresado en %) fué corregido por la pérdida debido a la descomposición del MBOA por la expresión

$$\text{Rendimiento corregido (R}_c\text{)} = \frac{R_1}{R_2} \times 100$$

Espectros vibracionales del DIMBOA en solución.

Solventes apróticos:

Se prepararon soluciones desde 0,1 mM hasta 10 mM de DIMBOA en DMF, HMPA, DMA, THF, AcOEt, Ac, TMF, DX, AN o BN y se tomaron los espectros IR entre 3800 y 3100 cm^{-1} , utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer 621 provisto de celdas de 0,5 mm de espesor con ventanas de NaCl.

Solventes próticos:

Se prepararon soluciones 17,7 mM de DIMBOA en MeOH, EtOH, 2-PrOH, 1-BuOH, 2-BuOH o t-BuOH, y se tomaron los espectros IR entre 2000 y 1500 cm^{-1} , utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer 567 con celdas de 0,5 mm de espesor con ventanas de NaBr.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el estudio de la reactividad de un sustrato en solución, el concepto "polaridad" de un solvente es uno de los criterios más frecuentemente utilizados para racionalizar los efectos del solvente sobre una amplia variedad de fenómenos químicos, entendiéndose este concepto como una propiedad que depende, principalmente, de la permitividad relativa y del momento dipolar del solvente. Sin embargo, las interacciones entre un sustrato y un solvente suelen ser más complejas y específicas que meras interacciones electrostáticas. En ausencia de una teoría ab initio que tome en cuenta en toda su complejidad estas interacciones soluto-solvente, el enfoque semiempírico ha cobrado en los últimos años gran interés, no sólo por su simplicidad conceptual, sino por su valor predictivo y por la posibilidad de ofrecer, por analogía, una interpretación molecular de ciertos observables.

La influencia del solvente sobre una propiedad del soluto ha sido expresada como:

$$\Delta G_x = \Delta G_o + \sum_i \rho_i (P_x^i - P_o^i) \quad (4)$$

donde ΔG_x y ΔG_o son las energías libres que describen dicha propiedad en el solvente x y en el solvente de referencia o, P_x^i y P_o^i son parámetros que miden las magnitudes del mecanismo i de interacción soluto-solvente en los solventes x y o, respectivamente y ρ_i es la sensibilidad de la propie-

dad al mecanismo de interacción i.

Una de las limitaciones de este enfoque es que los parámetros descritos pueden no estar desacoplados unos de otros. Sin embargo, se trata de seleccionar procesos en los cuales alguna propiedad de la solución sea el reflejo de un mecanismo de interacción francamente predominante. De este modo se han definido una amplia variedad de parámetros de solventes, que miden distintas características de ellos. Para su determinación se utilizan diferentes fenómenos dependientes del solvente. Entre los parámetros de solventes más frecuentemente empleados está E_T (Dimroth *et al.*, 1963), que corresponde al desplazamiento de la frecuencia de absorción máxima de una betaína producido por el solvente con respecto a la frecuencia medida en n-hexano y el parámetro Π^* (Kamlet *et al.*, 1977) que corresponde al promedio de los desplazamientos de las frecuencias de absorción máxima $\Pi \rightarrow \Pi^*$ inducidos por el solvente en siete indicadores primarios. Estos parámetros medirían la habilidad de un solvente para estabilizar una carga o dipolo, aunque la última escala no considera la participación de las interacciones por enlace de hidrógeno soluto-solvente en dicha estabilización. Los parámetros número dador (DN) y número aceptor (AN) (Gutmann, 1978) son, respectivamente, medidas de las propiedades nucleofílicas y electrofílicas de los solventes. El primero de ellos corresponde a la entalpía (con signo opuesto) para la reacción de forma-

ción del aducto 1:1 entre pentacloruro de antimonio y el solvente, a través de pares de electrones libres de este último, en soluciones diluidas en 1,2-dicloroetano. El segundo corresponde a los desplazamientos químicos en los espectros rnm de ^{31}P del óxido de la trietilfosfina cuando interactúa con el solvente, relativos al corrimiento del aducto 1:1 óxido de la trietilfosfina-pentacloruro de antimonio en 1,2-dicloroetano.

Es razonable suponer que el DIMBOA interactúa fundamentalmente a través de sus centros electrofílicos (protones en los grupos hidroxilo) y nucleofílicos (oxígeno carbonílico) con los respectivos centros nucleofílicos y electrofílicos de los solventes. En consecuencia, el análisis de los resultados obtenidos se basó en correlaciones lineales de energía de solvatación con los parámetros número dador y número aceptor de los solventes.

Es frecuente encontrar correlaciones lineales entre los diversos parámetros que miden propiedades análogas de los solventes y que utilizan modelos y métodos similares (Kamlet *et al.*, 1981). En consecuencia, para aquellos solventes prácticos utilizado en este estudio cuyos números aceptores no han sido determinados directamente, éstos fueron obtenidos de la ecuación 5, donde α es un parámetro que mediría la habilidad

$$\text{AN} = 0,16 + 16,7 \Pi^* + 32,9 \alpha \quad (5)$$

de un solvente para entregar un protón a un sustrato y formar un enlace de hidrógeno con un par de electrones libres de éste

(Kamlet *et al.*, 1981). Se comprobó el valor predictivo de esta ecuación comparando los valores determinados por esta expresión con aquellos determinados por Gutmann para otros solventes próticos (Tabla 3).

TABLA 3. Comparación entre números aceptores determinados por Gutmann (1978) y mediante la ecuación 5.

Solvente	AN Gutmann	AN Ecuación 5
MeOH	41,3	42,4
EtOH	37,1	37,1
2-PrOH	33,5	31,8

Interacciones DIMBOA-Solvente. La naturaleza de las interacciones entre el DIMBOA y el solvente fueron determinadas por medidas de la solubilidad y del espectro vibracional del DIMBOA, en solventes próticos y apróticos.

Solventes apróticos:

La solubilidad del DIMBOA a 11° en distintos solventes se muestra en la Tabla 4. El logaritmo de este parámetro correlacionó linealmente con el número dador del solvente (Figura 2), sugiriendo que la solubilidad del DIMBOA estaría estrechamente relacionada con las propiedades nucleofílicas de los solventes, y por lo tanto, con la interacción de centros

TABLA 4. Solubilidad del DIMBOA a 11° en solventes apróticos.

Solvente	Solubilidad (M)	DN
PIR	3,4	33,1
DMSO	2,6	29,8
DMF	2,2	26,6
NMP	1,8	27,3
THF	0,24	20,0
DX	0,078	14,8
AC	0,070	17,0
EE	0,016	19,2
AN	0,014	14,2
BN	0,006	11,9
NB	0,005	4,4
NM	0,002	2,7

nucleofílicos del solvente con centros electrofílicos del DIMBOA. Estos últimos serían los protones de los grupos hidroxilo del DIMBOA.

La confirmación de estas interacciones por puente de hidrógeno entre el DIMBOA y el solvente se obtuvo del análisis del espectro de absorción IR en la región de las frecuencias de alargamiento de los enlaces O-H, en soluciones diluidas del DIMBOA en distintos solventes apróticos. El espectro en esta zona mostró absorciones correspondientes a grupos hidroxilo

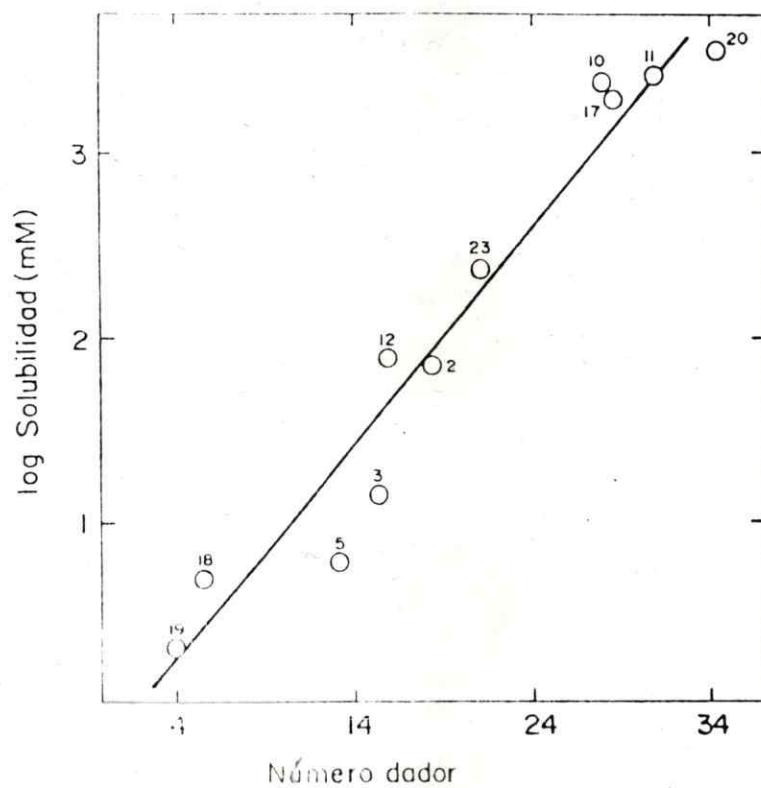


Figura 2. Efecto del solvente sobre la solubilidad del DIMBOA en solventes apróticos (ver en la pág. vi correspondencia entre número y solvente).

Correlación: $\log S = -0,16 + 0,12 DN$ ($r=0,945$)

libres y asociados, dependiendo de la concentración de la solución. A concentraciones inferiores a 1 mM, los grupos hidroxilo estaban esencialmente no-asociados en todos los solventes, distinguiéndose dos bandas, correspondientes a los dos grupos hidroxilo del DIMBOA (Tabla 5). Estas bandas se desplazan hacia la región de los enlaces O-H asociados, a medida que el número dador del solvente aumentaba. La rela-

TABLA 5. Frecuencias de absorción IR de los grupos hidroxilo del DIMBOA en solventes apróticos.

Solvente	ν_{OH}^1 (cm ⁻¹)	ν_{OH}^2 (cm ⁻¹)
BN	3630	3550
AN	3625	3542
AC	3612	3522
AcOEt	3590	3500
DX	3575	3515
THF	3570	3500
TMF	3550	3494
DMF	3548	3505
DMA	3535	3475
HMPA	3507	3454
PIR	3480	3410

ción entre la absorción y el número dador del solvente, fué de hecho, lineal (Figura 3). Este resultado estaría relacionado con el alargamiento y consecuente debilitamiento de los enlaces O-H (Kagiya *et al.*, 1968) debido al aumento de la interacción por puente de hidrógeno con el solvente.

La frecuencia de absorción en el IR de grupos hidroxilo se relaciona directamente con su pKa (Tabla 6). En conse-

TABLA 6. Frecuencias de absorción IR de grupos hidroxilo de distinta acidez, en soluciones diluidas en tetracloruro de carbono ^a

Sustrato	pKa	ν_{OH} (cm ⁻¹)
C ₂ H ₅ OH	18	3625
C ₆ H ₅ OH	10	3610
p-NO ₂ -C ₆ H ₄ -OH	7,1	3595
CH ₃ COOH	4,8	3530

^aEglinton, 1969.

cia, la banda de mayor energía del DIMBOA se asignó tentativamente al grupo hidroxilo enlazado al carbono y la de menor energía al grupo hidroxilo enlazado al nitrógeno.'

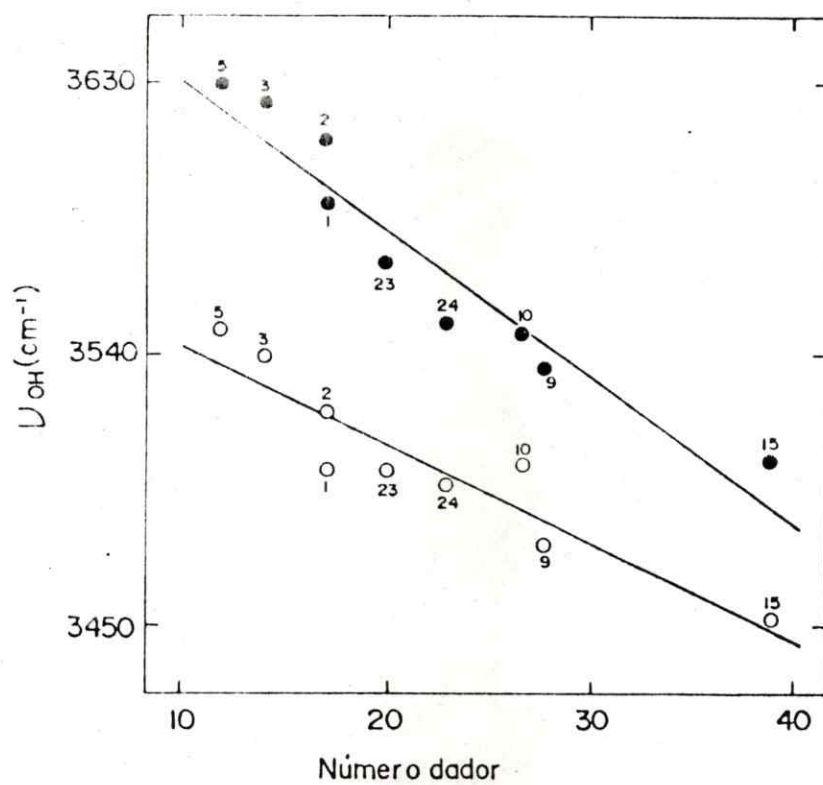


Figura 3. Efecto del solvente sobre las frecuencias de elongación de los dos enlaces OH del DIMBOA.

Correlaciones: (●) = $3681 - 4,90 \text{ DN}$ ($r = -0,953$);
 (○) = $3577 - 3,32 \text{ DN}$ ($r = -0,911$).

Solventes próticos:

La solubilidad del DIMBOA a 11° en distintos alcoholes alifáticos se muestra en la Tabla 7. El logaritmo de estos

TABLA 7. Solubilidad del DIMBOA a 11° en distintos alcoholes alifáticos.

Solvente	Solubilidad (M)	AN ^a
MeOH	0,13	41,3
EtOH	0,084	37,1
1-PrOH	0,054	(35,3)
2-PrOH	0,038	33,5
1-BuOH	0,032	(32,2)
2-BuOH	0,030	-

^aLos valores entre paréntesis fueron extrapolados de la ecuación 5.

valores correlacionó linealmente con el número aceptor del solvente (Figura 4), sugiriendo que la solubilidad del DIMBOA estaría estrechamente relacionada con las propiedades electrofílicas de los alcoholes y por lo tanto, con la interacción de centros electrofílicos del solvente con centros nucleofílicos del DIMBOA. El centro electrofílico de los alcoholes es el

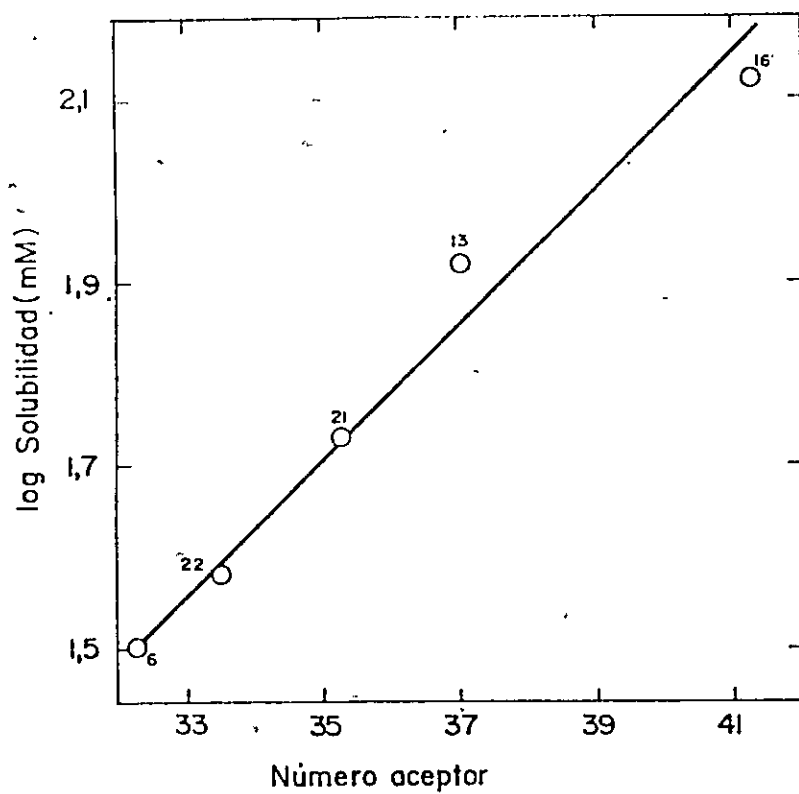


Figura 4. Efecto del solvente sobre la solubilidad del DIMBOA en solventes próticos.

$$\text{Correlación} = -0,72 + 0,07 \text{ AN} \quad (r = 0,986)$$

protón del grupo hidroxilo; el centro nucleofílico del DIMBOA sería el oxígeno carbonílico de la molécula.

La confirmación de este tipo de interacción se obtuvo del análisis del espectro de absorción IR en la región de las frecuencias de alargamiento del enlace carbonilo. En esta zona del espectro, el cambio de un solvente por otro con mayor número aceptor produjo el corrimiento de la frecuencia hacia la zona de grupos carbonilo con mayor carácter de enlace simple y el ensanchamiento de la banda (Tabla 8).

TABLA 8. Frecuencias de absorción IR y ancho de banda del grupo C = O del DIMBOA

Solvente	$\nu_{C=O}$ (cm ⁻¹)	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	AN ^a
MeOH	1672	muy ancha	41,3
EtOH	1684	57	37,1
1-PrOH	1689	48	(35,3)
1-BuOH	1687	47	(32,2)
2-PrOH	1687	48	33,5
t-BuOH	1689	40	(27,7)

^a Los valores entre paréntesis fueron extrapolados de la ecuación 5.

Ambos efectos serían el reflejo de la interacción de los solventes con el grupo carbonilo del DIMBOA, a través de puentes de hidrógeno.

Descomposición del DIMBOA. Los efectos del solvente sobre la cinética de una reacción pueden ser atribuidos a diferencias de solvatación entre los reaccionantes y el estado de transición de la reacción. La naturaleza del estado de transición para la descomposición del DIMBOA se determinó estudiando la influencia de solventes próticos y apróticos sobre los parámetros de activación de la reacción y sobre las propiedades físicas y espectroscópicas de los reaccionantes y comparando estos datos entre sí. Los datos cinéticos y termodinámicos se discutirán en relación con la vía de un isocianato propuesta para la descomposición del DIMBOA (Esquema 1: vía A). Se aportarán, además, datos que descartarían la vía de los hemiacetales cíclicos (Esquema 1: vía B) como alternativa.

Entalpías y entropías de activación:

Los parámetros cinéticos y de activación para la descomposición del DIMBOA a 53° en solventes apróticos y próticos, se muestran en las tablas 9 y 10 respectivamente. Los valores de entalpía y entropía de activación determinados en solventes apróticos generaron dos relaciones lineales con el número dador (Figura 5) y los valores determinados en alcoholes alifáticos, una relación lineal con el número aceptor del solvente (Figura 6). Las dos correlaciones con el número dador ob-

TABLA 9

Parámetros cinéticos y de activación para la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos.

Solvente	$k_{53} \times 10^4$ (min^{-1})	τ_{53}^a (horas)	ΔG_{53}^\ddagger (Kcal/mol)	ΔS_{53}^\ddagger (cal/mol K)	ΔH_{53}^\ddagger (Kcal/mol)	$r(n)$	ΔT^b
PIR	14,0	8,3	$26,2 \pm 0,2$	$+ 3,5 \pm 0,4$	$27,4 \pm 0,4$	0,999	(4) 30
DMSO	10,8	10,7	$26,3 \pm 0,1$	$- 20,4 \pm 0,7$	$19,8 \pm 0,7$	0,995	(4) 30
DMF	8,33	13,9	$26,5 \pm 0,1$	$- 41,9 \pm 0,3$	$12,8 \pm 0,2$	0,978	(3) 20
TMF	0,89	128,6	$25,3 \pm 0,1$	$- 41,9 \pm 0,7$	$14,4 \pm 0,2$	0,997	(4) 30
THF	2,38	48,5	$27,3 \pm 0,1$	$- 43,8 \pm 0,3$	$13,1 \pm 0,7$	0,999	(3) 20
DX	1,0	115,5	$27,9 \pm 0,1$	$- 45,8 \pm 0,1$	$13,0 \pm 0,6$	0,999	(3) 20
AN	1,29	89,5	$27,7 \pm 0,2$	$- 58,7 \pm 0,2$	$8,6 \pm 0,5$	0,989	(3) 20
DX-H ₂ O ^c	0,65	176,3	$28,2 \pm 0,2$	$+ 1,8 \pm 0,2$	$27,8 \pm 0,6$	0,999	(3) 20

a_τ = período de semidescomposición del DIMBOA

b_r = coeficiente de correlación para relación de Arrhenius; n = número de puntos en la correlación; ΔT = rango de temperatura empleada

c = mezcla DX-H₂O 0,41% v/v.

TABLA 10

Parámetros cinéticos y de activación para la descomposición del DIMBOA en alcoholes alifáticos

Solvente	$k_{53} \times 10^4$ (min^{-1})	τ^a (horas)	ΔG_{53}^\ddagger (Kcal/mol)	ΔS_{53}^\ddagger (cal/mol K)	ΔH_{53}^\ddagger (Kcal/mol)	$r(n)\Delta T^b$
MeOH	4,94	23,4	$26,8 \pm 0,1$	$-32,6 \pm 0,1$	$16,2 \pm 0,1$	0,999 (4) 20
EtOH	1,83	62,1	$27,4 \pm 0,1$	$-18,9 \pm 0,2$	$21,2 \pm 0,1$	0,995 (4) 30
1-PrOH	1,65	70,0	$27,6 \pm 0,1$	$-15,1 \pm 0,3$	$22,7 \pm 0,3$	0,998 (4) 30
2-PrOH	0,56	205,5	$28,1 \pm 0,1$	$-10,2 \pm 0,3$	$24,8 \pm 0,2$	0,996 (4) 30
1-BuOH	1,49	77,5	$27,8 \pm 0,1$	$-3,2 \pm 0,2$	$26,7 \pm 0,2$	0,992 (4) 30

a = período de semidescomposición del DIMBOA.

b_r = coeficiente de correlación para la relación de Arrhenius; n = número de puntos en la correlación; ΔT = rango de temperatura empleado.

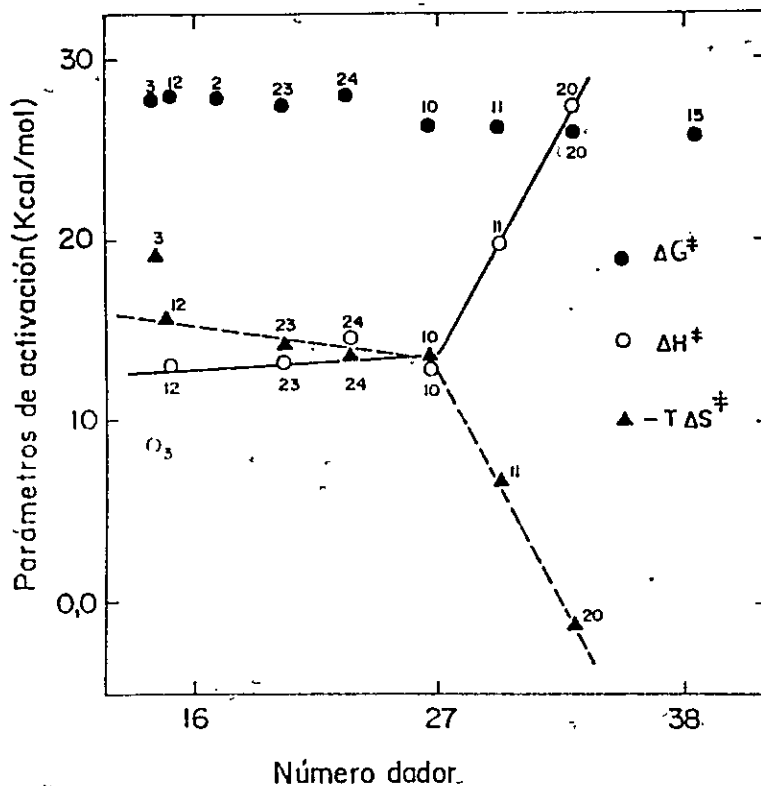


Figura 5. Efecto del solvente sobre los parámetros de activación de la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos. Correlaciones:

$$\begin{aligned} \Delta H^\ddagger (10-12-23-24) &= 12,9 + 0,15 \text{ DN} \quad (r=0,820); \\ \Delta H^\ddagger (10-11-20) &= -47,0 + 2,20 \text{ DN} \quad (r=0,999); \\ -T\Delta S^\ddagger (10-12-23-24) &= 18,34 - 0,20 \text{ DN} \quad (r=-0,936); \\ -T\Delta S^\ddagger (10-11-20) &= 74,3 - 2,27 \text{ DN} \quad (r=-0,999). \end{aligned}$$

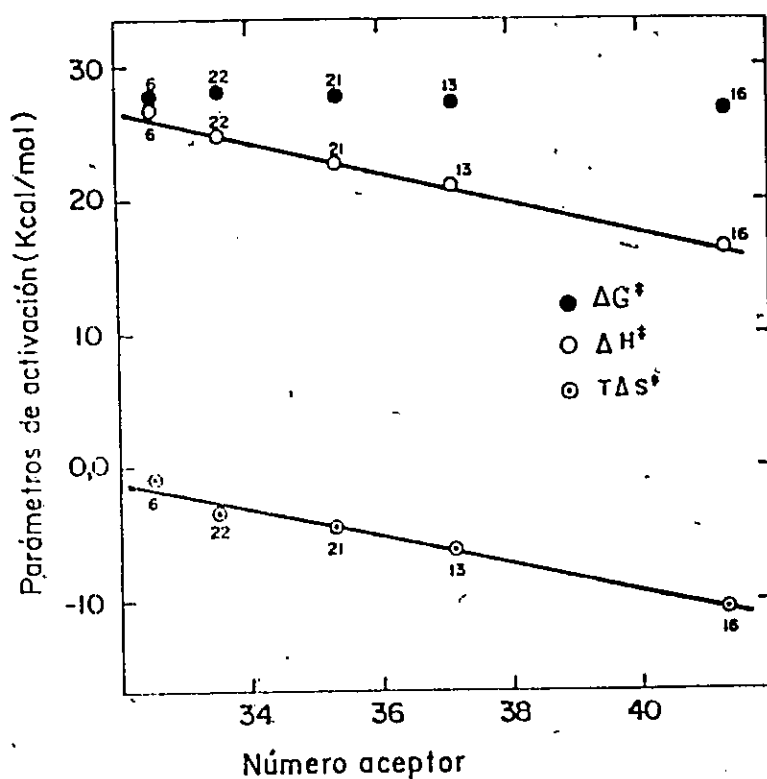


Figura 6. Efecto del solvente sobre los parámetros de activación para la descomposición del DIMBOA en solventes próticos. Correlaciones:

$$\Delta H^\ddagger = 62,8 - 1,13 AN \quad (r = -0,998);$$

$$T\Delta S^\ddagger = 30,7 - 1,00 AN \quad (r = -0,993).$$

servadas en solventes apróticos pueden ser atribuidas a un cambio en la etapa determinante de la reacción (Leffler y Grunwald, 1963; Johnson, 1973). Los valores de entalpía y entropía de activación determinados en solventes de bajo número dador corresponderían, en consecuencia, a un estado de transición distinto de aquel en solventes de alto número dador.

La apertura de un hemiacetal cíclico comprende la remoción del protón unido al grupo hidroxilo, el rompimiento del enlace C-O y la transferencia de un protón al oxígeno del anillo. Este proceso ha sido estudiado con detalle en el caso de la mutarrotación de la glucosa y de glucosas sustituidas, con el objeto de establecer la secuencia de etapas involucradas y los efectos del medio. En medio acuoso, la reacción transcurre con catálisis ácida y básica generales. La primera etapa en el mecanismo de apertura sería un pre-equilibrio rápido de transferencia del protón del ácido al oxígeno del anillo en el caso de catálisis ácida (Capon y Walker, 1974; Ballash y Robertson, 1973) o la remoción del protón unido al grupo hidroxilo en el caso de catálisis básica (Capon y Walker, 1974). La reacción sufre también catálisis bifuncional nucleofílica-electrofilica por el solvente anfiprótico siendo la apertura en este caso un proceso concertado con la participación de dos o más moléculas del solvente en el estado de transición (Ballash y Robertson, 1973; Capon, 1969; Capon y Walker, 1974; Huang

et al., 1966). La reacción ha sido también estudiada en solventes apróticos en presencia o ausencia de aminas, fenoles sustituidos o piridinas sustituidas (Swain y Brown, 1952a; 1952b; Rony *et al.*, 1969). En estos casos, la catálisis bifuncional (por ácidos y bases conjuntamente) es más efectiva que la mono funcional (por ácido o base o solvente solo). La catálisis mono o bifuncional de un solvente (Figura 7) requiere

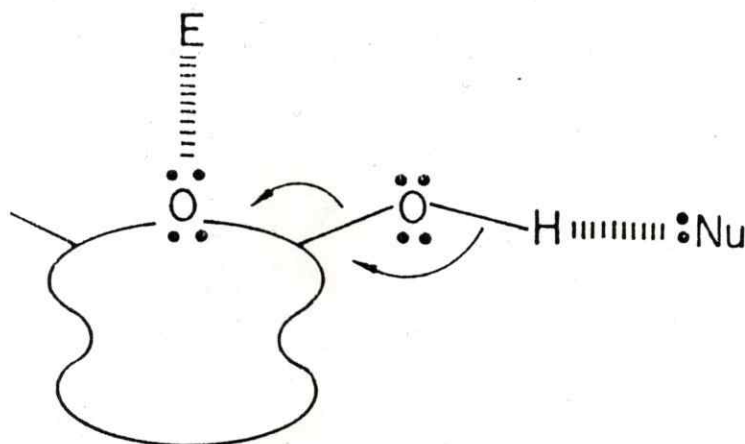


Figura 7. Esquema de la apertura de un hemiacetal cíclico catalizada por electrófilos y nucleófilos.

re de una alta organización del solvente en el estado de transición en torno al centro de reacción, significativamente diferente de aquella en los reaccionantes, lo que se refleja en valores negativos de entropía de activación (Capon, 1969; Ballash y Robertson, 1973). En solventes apróticos puros, sin agregados de ácidos o de bases, la catálisis es esencialmente

monofuncional por el solvente y requiere de una organización en el estado de transición que permita la migración del protón unido al grupo hidroxilo hasta el oxígeno del anillo. Esto se traduce en diferencias aún más drásticas de ordenamiento entre el estado de transición y los reaccionantes, especialmente en solventes poco organizados (bajo número dador), lo cual se refleja en una catálisis relativamente menos efectiva que la bifuncional y en valores muy negativos de entropía de activación (Rony *et al.*, 1969; Ballash y Robertson, 1973).

Por analogía con estos datos de la literatura, la descomposición del DIMBOA en solventes de bajo número dador tendría como etapa determinante la apertura del hemiacetal cíclico. La migración parcial del protón hidroxílico en el estado de transición disminuiría la densidad electrónica en su entorno por ruptura parcial del enlace O-H. Esto se traduciría en un aumento de su interacción con el solvente durante el proceso de formación del estado de transición y, por consecuencia, en una sustancial reorganización del solvente, que en los reaccionantes estaba principalmente asociado a dicho protón (páginas 23 a 28). Estas consideraciones se ven reflejadas en valores negativos de entropía de activación.

El aumento del carácter nucleofílico del solvente (mayor número dador) aumentaría la fuerza de las interacciones por enlace de hidrógeno soluto-solvente (páginas 23 a 28) y favorecería la catálisis básica monofuncional para la apertura

del DIMBOA. En solventes con alto número dador, la apertura del hemiacetal se transformaría entonces en una etapa rápida con respecto a la formación del isocianato. Los valores de entalpía y entropía de activación son en este caso muy sensibles al carácter nucleofílico del solvente (Figura 5, página 35) y caen dentro del rango encontrado para la descomposición del DIMBOA en distintos alcoholes alifáticos (Tabla 10). La apertura del hemiacetal en estos últimos es rápida, ya que siendo ellos solventes anfipróticos, actúan como catalizadores bifuncionales en forma semejante a la catálisis ácido-básica por agua en la mutarrotación de la glucosa (Kamlet *et al.*, 1981) (página 37).

Dos datos cinéticos adicionales apoyan la hipótesis de cambio de etapa determinante. El primero se refiere a la desviación del acetonitrilo con respecto a los demás solventes en la correlación de parámetros de activación vs. número dador (Figura 5). La participación del solvente como electrófilo podría favorecer la transferencia del protón del hemiacetal, ya que permitiría la asociación del solvente con el oxígeno del anillo dando origen a una catálisis con cierto carácter bifuncional (Swain y Brown, 1952a, 1952b; Rony *et al.*, 1969). El valor del cociente AN/DN (número aceptor/ número dador) para este solvente (Tabla 11) es sustancialmente mayor que los valores para los otros solventes, por lo que la catálisis bifuncional tendría una participación relativa mayor en acetonitrilo que en los otros solventes.

TABLA 11

Cuociente AN/DN para algunos solventes apróticos ^a

Solvente	AN/DN
AN	1,34
DX	0,73
THF	0,44
DMF	0,60

^a Gutmann, 1978.

En consecuencia, la entropía de activación en acetonitrilo sería menor que la predicha sobre la base de la tendencia para los otros solventes (mayor orden del solvente en torno al centro de reacción) y también sería menor la entalpía de activación (más interacciones soluto-solvente en el estado de transición).

La segunda comprobación de la hipótesis de cambio en la etapa determinante proviene de la descomposición del DIMBOA en dioxano con agregado de una pequeña cantidad de agua (0,41%). En este caso, aunque la velocidad de la reacción no experimentó cambios significativos (ver páginas 48 y 49), los valores de entalpía y entropía de activación resultaron sustancialmente distintos a los obtenidos en dioxano anhidro y semejantes a los encontrados en solventes próticos y en solventes

apróticos con alto número dador (Tabla 9). El agua agregada se comportaría como un catalizador bifuncional y aceleraría la apertura del hemiacetal en relación con la formación de isocianato.

Los valores de entalpía y entropía de activación generaron relaciones isocinéticas lineales estadísticamente significativas (Exner, 1964) con pendientes (β) iguales a 298 K para los solventes apróticos (Figura 8) y 365 K para los solventes próticos (Figura 9). Estos valores de β caen dentro del rango esperado para el efecto del solvente sobre los parámetros de activación (Leffler y Grunwald, 1963). La obtención de relaciones isocinéticas lineales al variar el solvente implica la predominancia de sólo un mecanismo de interacción soluto-solvente (Leffler y Grunwald, 1963). Esto es consistente con las correlaciones lineales entre las propiedades físicas y espectroscópicas del DIMBOA y el número dador o el número aceptor del solvente (Figuras 2, 3 y 4). La linealidad obtenida para los valores determinados en solventes apróticos, a pesar del quiebre observado en el gráfico de los parámetros de activación vs. número dador del solvente (Figuras 5 y 10), puede interpretarse en función de dos relaciones isocinéticas con β similares (Leffler y Grunwald, 1963), consecuente con el hecho que las interacciones principales entre el solvente y los dos estados de transición postulados son del mismo tipo.

Energías de libre activación.

Los valores de energía libre de activación determinados en

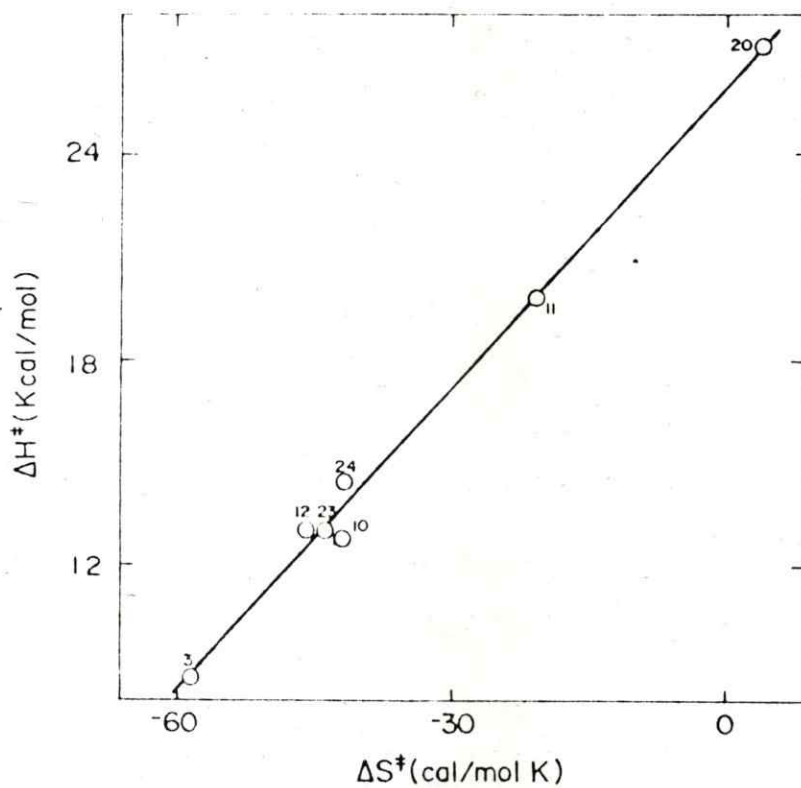


Figura 6. Relación isocinética para la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos.

Correlación: $\Delta H^\ddagger = 26,2 + 0,30 \Delta S^\ddagger$ ($r = 0,998$)

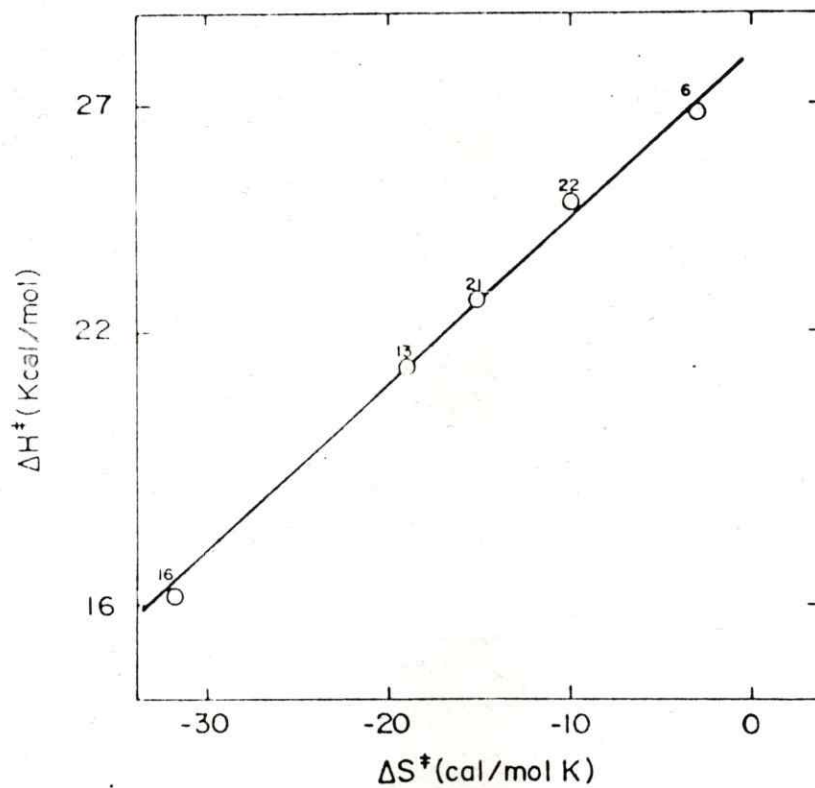


Figura 9. Relación isocinética para la descomposición del DIMBOA en solventes próticos.

Correlación: $\Delta H^\ddagger = 28,1 + 0,36 \Delta S^\ddagger$ ($r = 0,998$)

solventes apróticos (Tabla 9) y próticos (Tabla 10) sufren variaciones bastante menores que las entalpías y entropías de activación, en parte debido a la cancelación de los valores de ΔH^\ddagger y $T\Delta S^\ddagger$ por estar en las proximidades de la temperatura isocinética. Los valores de ΔG^\ddagger determinados en solventes apróticos generaron dos correlaciones lineales inversas con el número dador del solvente (Figura 10) y los valores determinados en solventes próticos una correlación lineal inversa con el número aceptor del solvente (Figura 11). Los mecanismos propuestos para la descomposición del DIMBOA (Esquema 1, página 7) no pueden ser distinguidos cinéticamente en solventes apróticos de bajo número dador, ya que en estos casos las diferencias se producen después de la etapa determinante de la reacción. Sin embargo, en solventes apróticos de alto número dador y en solventes próticos, la distinción puede hacerse. La correlación inversa de ΔG^\ddagger con número dador en el primer caso implica que la asociación solvente-hidrógeno hidroxámico se fortalece en el estado de transición con respecto a los reaccionantes. Esto sería un reflejo de una disminución de la densidad electrónica sobre dicho hidrógeno, que tendría su origen en la acción del oxígeno hidroxámico como nucleófilo. En forma similar, la correlación de ΔG^\ddagger con número aceptor en solventes próticos sería también una consecuencia de la transferencia de densidad electrónica desde el oxígeno hidroxámico hasta el grupo aldehídico del compuesto 2, que se

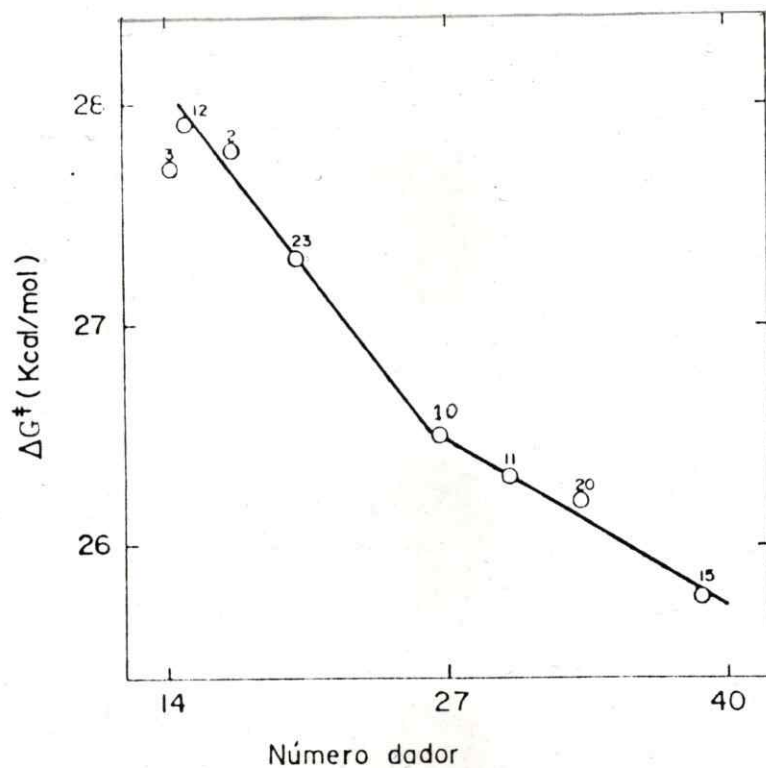


Figura 10. Efecto del solvente sobre la energía libre de activación para la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos. Correlaciones:

$$\Delta G^\ddagger(2-3-10-12-23) = 29,4 - 0,11 \text{ DN } (r=-0,965);$$

$$\Delta G^\ddagger(10-11-15-20) = 28,0 - 0,06 \text{ DN } (r=-0,989).$$

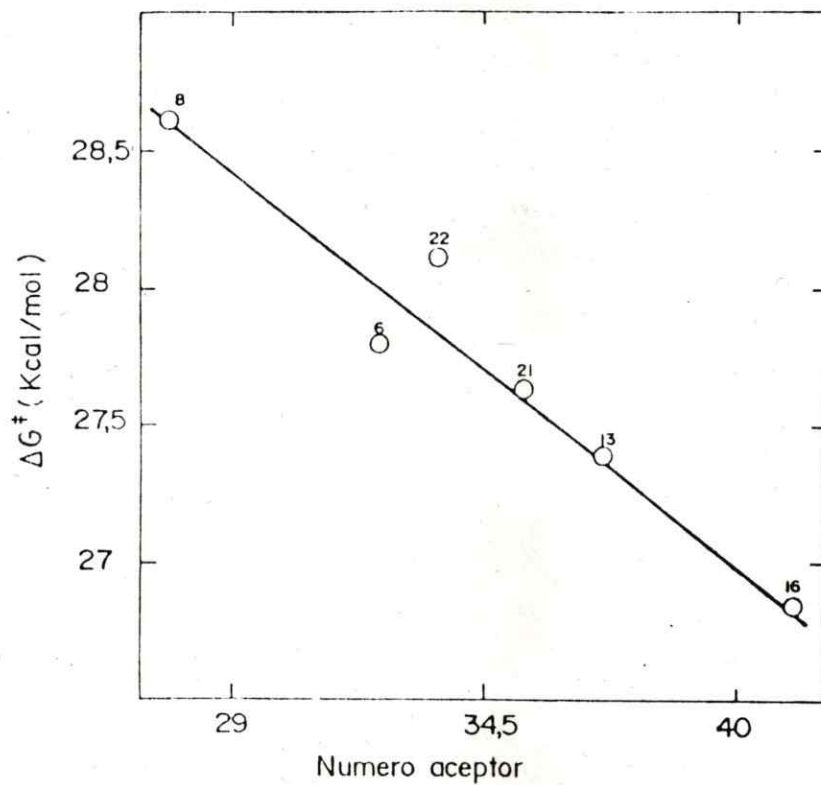


Figura 11. Efecto del solvente sobre la energía libre de activación para la descomposición del DIMBOA en solventes próticos. Correlación: $\Delta G^\ddagger = 32,20 - 0,13AN$
($r = -0,970$)

traduciría en una asociación más fuerte de éste con el solvente (Figura 12).

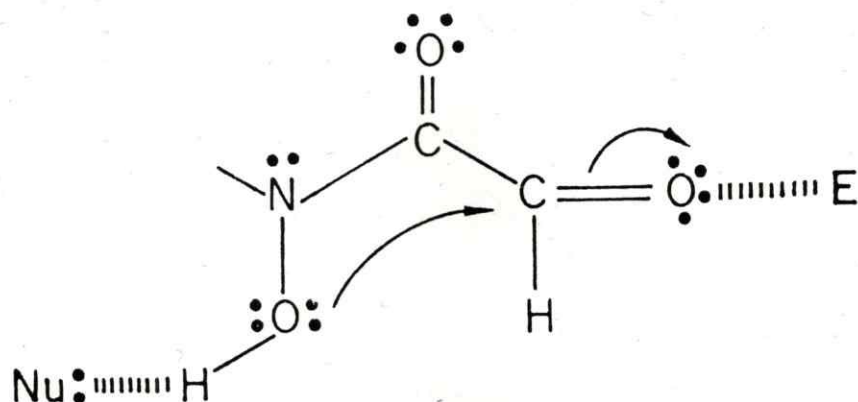


Figura 12. Esquema de la catálisis por el solvente en la formación del intermediario isocianato a partir del DIMBOA.

En el mecanismo de los hemiacetales cíclicos de 5 miembros (Esquema 1, página 7) se postula la intervención del agua como co-reaccionante en la etapa determinante. La Tabla 12 muestra los valores de las constantes de velocidad observadas para la descomposición del DIMBOA en solventes apróticos a los cuáles se agregó cantidades variables de agua. Las variaciones en la velocidad específica no son significativas aún aumentando la concentración de agua por factores cercanos a 70.

TABLA 12

Velocidades específicas observadas para la descomposición del DIMBOA a 53° en solventes apróticos con distintos porcentajes de agua.

Solvente	$k \times 10^3 (\text{min}^{-1})$	% $\text{H}_2\text{O} (\text{v/v})$	moles H_2O /moles DIMBOA
PIR	1,40	0,10	0,9
	1,40	0,16	1,5
	1,34	0,45	4,2
	1,60	0,65	6,0
DMSO	1,45	0,02	0,2
	1,33	0,15	1,4
	1,10	0,30	2,8
	1,05	0,38	3,5
	0,94	1,44	13,3
DMF	0,89	0,15	1,5
	0,81	0,35	3,2
	0,79	0,60	5,6
AN	0,13	0,05	1,2
	0,10	0,39	9,0
	0,20	2,72	63,0
*DX	0,18	0,08	0,7
	0,18	0,12	1,1
	0,17	0,26	2,4
	0,16	0,41	3,8

* Constantes de velocidad observadas para la descomposición del DIMBOA a 63°.

En consecuencia, la participación del agua como co-reaccionante en la etapa determinante puede ser descartada.

Productos de la descomposición del DIMBOA. La naturaleza de los productos de la descomposición del DIMBOA en solventes próticos y apróticos y su cuantificación, se estudió a 63° en condiciones similares a las utilizadas en los estudios cinéticos.

Productos de la descomposición:

El producto principal aislado después de cinco períodos de semidescomposición del DIMBOA en solventes próticos y apróticos fué la 6-metoxi-2-benzoxazolin-2-ona (MBOA), a juzgar por sus características físicas y espectroscópicas (Tabla 2). Puesto que el MBOA también es el producto principal de la descomposición en medio acuoso (Woodward *et al.*, 1978), cabría esperar que el mecanismo de esta descomposición sea en ambos medios similar. Los productos secundarios fueron todos residuos coloreados que no fué posible analizar.

Cuantificación del producto principal:

Los rendimientos de MBOA determinados en distintos solventes apróticos se muestran en la Tabla 13. Estos rendimientos están relacionados con las velocidades específicas de descomposición del DIMBOA (Tabla 13). Esta relación se debería a la existencia de reacciones secundarias más insensibles al solvente que la descomposición del DIMBOA, cuya importancia relativa disminuiría en la medida que aumentara la velocidad

de la descomposición. La naturaleza de estas reacciones no ha sido aclarada .

TABLA 13

Rendimientos de MBOA obtenidos después de 5 períodos de semi-descomposición del DIMBOA a 63°

Solvente	R_c (%) ^a	$k_{obs} \times 10^4$ (min ⁻¹)
PIR	85,9 ± 2,8	43,3
DMSO	71,5 ± 1,7	26,2
DMF	69,0 ± 1,5	19,1
THF	65,7 ± 1,1	4,52
DX	50,4 ± 2,3	1,85

^a Ver la definición en las páginas 18 y 19.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten establecer que el comportamiento del DIMBOA en solución está estrechamente relacionado con las propiedades nucleofílicas y electrofílicas del solvente, medidas por sus números dador y aceptor. Las interacciones principales DIMBOA-solvente serían entre los hidrógenos hidroxílicos del DIMBOA con regiones nucleofílicas del solvente aprótico (Figuras 2 y 3) o entre el grupo carbonilo del DIMBOA y regiones electrofílicas del solvente prótico (Figura 4 y Tabla 8).

El empleo de los solventes no acuosos para el estudio de la descomposición del DIMBOA ha contribuido a definir el mecanismo de esta descomposición. El DIMBOA se descompone en solventes apróticos como próticos. Los quiebres obtenidos entre parámetros de activación vs. número dador del solvente aprótico, indicarían un cambio en la etapa determinante de la reacción (Figuras 5 y 10). Los efectos sobre los parámetros de activación de la adición de agua a un solvente aprótico de bajo número dador y del uso de un solvente de bajo número dador y alto número aceptor (Tabla 9), permiten proponer que en solventes apróticos de bajo número dador la etapa determinante de la velocidad de la reacción sería la apertura del hemiacetal cíclico (Figura 7). La variación de los valores de velocidad de reacción con el número dador (Figuras 5 y 10) permiten postular que en solventes apróticos de alto número

dador la formación de un isocianato por el ataque nucleofílico del oxígeno hidroxámico al carbono aldehídico del hemiacetal abierto (Figura 12), sería la etapa lenta de la reacción.

En solventes próticos la apertura del hemiacetal sería rápida en relación a la formación del isocianato por efecto de una catálisis bifuncional propia de estos solventes.

La formación del mismo producto principal en solventes no acuosos y en agua permite suponer que el mecanismo de la descomposición es análogo en ambos tipos de solventes.

BIBLIOGRAFIA

- Akai, S. y Ouchi, S. (1971) "Morphological and Biochemical Events in Plant-Parasite Interaction". The Phytopathol. Soc. of Japan, Tokyo, p. 415.
- Argandoña, V.H., Luza, J.G., Niemeyer, H.M. y Corcuera, L.J. (1980) Role of hydroxamic acids in the resistance of cereals to aphids. *Phytochemistry* 19: 1665-1668.
- Argandoña, V.H., Niemeyer, H.M. y Corcuera, L.J. (1981) Effect of content and distribution of hydroxamic acids in wheat on infestation by the aphid *Schizaphis graminum*. *Phytochemistry* 20: 673-676.
- Argandoña, V.H., Peña, G.F., Niemeyer, H.M. y Corcuera, L.J. (1982) Effects of cysteine on stability and toxicity to aphids of a cyclic hydroxamic acid from Gramineae. *Phytochemistry* 21: 1573-1574.
- Argandoña, V.H., Corcuera, L.J., Niemeyer, H.M. y Campbell, B.C. (1983) Toxicity and feeding deterrency of hydroxamic acids from Gramineae in synthetic diets against the greenbug, *Schizaphis graminum*. *Entomol. Exp. & Appl.* 34: 134-138.
- Ballash, N.M. y Robertson, E.B. (1973) The mutarotation of glucose in dimethylsulfoxide and water mixtures. *Canad. J. Chem.* 51: 556-564.

- Brendenberg, J.B., Honkanen, E. y Virtanen, A.I. (1962) The Kinetics and mechanism of decomposition of 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one. *Acta Chem.Scand.* 16: 135-147.
- Capon, B. (1969) Mechanisms in carbohydrate chemistry. *Chem. Rev.* 69: 407-498.
- Capon, B. y Walker, R.B. (1974) Kinetics and mechanism of the mutarotation of aldoses. *J.Chem.Soc. Perkin II*: 1600-1610.
- Corcuera, L.J., Woodward, M.D., Helgeson, J.P., Kelman, A. y Upper, C.D. (1978) 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, an inhibitor from *Zea mays* with differential activity against soft-rotting *Erwinia* species. *Plant Physiol.* 61: 791-795.
- Deverall, B.J. (1977) Defense mechanisms of plants, Cambridge Univ. Press, Cambridge, p. 110.
- Dimroth, K., Reichardt, C., Siepmann, T. y Bohlmann, F. (1963) Über Pyridinium-N-phenol-betaïne und ihre Verwendung zur Charakterisierung der Polarität von Lösungsmitteln. *Justus Liebig Ann.Chem.* 661, 1-37 .
- Elnaghy, M.A. y Linko, P. (1962) The role of 4-O-glucosyl-2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one in resistance of wheat to stem rust. *Physiol. Plant.* 15: 764-771.
- Elnaghy, M.A. y Shaw, M. (1966) Correlation between resistance to stem rust and the concentration from glucoside in wheat. *Nature* 210: 417-418.
- Exner, O. (1964) Concerning the isokinetics relationships. *Nature* 201: 488-490 (1964).

- Eglinton, G. (1964) Infrared and raman spectroscopy, en "Physical Methods in Organic Chemistry". J.C.P. Schwartz, ed., Oliver & Boyd, Edinburgh & London, p. 35.
- Farkas, G.L. y Király, Z. (1962) Role of phenolic compounds in the physiology of plant disease and disease resistance. *Phytopathol. Z.* 44: 105-150.
- Gahagan, H.E. y Mumma, R.O. (1967) The isolation of 2(2-hydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one) β -D-glycopyranoside from *Zea mays*. *Phytochemistry* 6: 1441-1448.
- Gallum, R.L., Starks, K.J. y Guthrie, W.D. (1975) Plant resistance to insects attacking cereals. *Ann.Rev.Entomol.* 20: 337.
- Gutmann, V. (1978) "The Donor-acceptor Approach to Molecular Interactions". Plenum Press, New York, London.
- Hamilton, R.H., Bándurski, R.S. y Rensch, W.H. (1962) Isolation and characterization of a cyclic hydroxamate from *Zea mays*. *Cereals Chem.* 39: 107-113.
- Honkanen, E. y Virtanen, A.I. (1961) On the reaction of 2,4-dihydroxy-1,4-benzoxazin-3-one to 2(3)-benzoxazolinone. *Acta Chem. Scand.* 15: 221-222.
- Huang, H.H., Robinson, R.R. y Lond, F.A. (1966) The acid-base catalyzed mutarotation of α -D-tetramethylglucose in mixed H_2O - D_2O solvents. *J.Am.Chem.Soc.* 88: 1866-1872.

- Ingham, J.L. (1978) Disease Resistance in higher plants.
Phytopathol. Z. 78: 314-335.
- Johnson, C.D. (1973) "The Hammett Equation", Cambridge Univ.
Press, Cambridge, pp. 27-68.
- Kagiya, T., Sumida, Y. e Inoe, T. (1968) A measure of the
electron-donating power and electron-accepting power of
liquid-organic compounds. Bull.Chem.Soc. Japan 41:
767-773.
- Kamlet, M.J., Abboud, J.L.M. y Taft, R.W. (1981) An
examination of linear solvation energy relationships.
Prog.Phys.Org.Chem. 13: 485-630.
- Kamlet, M.J., Abboud, J.L.M. y Taft, R.W. (1977) The
solvatochromic comparison method. 6. The Π^* scale of solvent
polarities. J.Am.Chem.Soc. 99: 6027-6038.
- Klun, J.A. y Brindley, T.A. (1966) Role of 6-methoxy-
benzoxazolinone in inbred resistance of host plant (maize)
to first-brood larvae of European corn borer. J.Econ.
Entomol. 59: 711-718.
- Klun, J.A., Tipton, C.L. y Brindley, T.A. (1967) 2,4-
Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA) an
active agent in the resistance of maize to the European
corn borer. J.Econ.Entomol. 60: 1529-1533.
- Klun, J.A. y Robinson, J.F. (1969) Concentration of two 1,4-
benzoxazinones in dent corn at various stages development

- of plant and its relation to resistance of the host plant to the European corn borer. J.Econ. Entomol. 62:214-220.
- Klun, J.A., Guthrie, W.D., Hallauer, A.R. y Russel, W.A. (1970) Genetic nature of the concentration of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one and resistance to the European corn borer. Crop Sci. 10: 87-90.
- Knott, D.R. y Kumar, J. (1972) Test of the relationship between a phenolic glucoside and stem rust resistance in wheat. Physiol.Plant Pathol. 2: 393-399.
- Kosuge, T. (1969) The role of phenolics in host response to infestation. Ann.Rev. Phytopathol. 7: 195-222.
- Kuč, J. (1966) Phytoalexins. Ann.Rev.Phytopathol. 10: 207-232.
- Lacy, G.H., Hiriano, S.S., Victoria, J.I., Kelman, A. y Upper, C.D. (1979) Inhibition of soft-rotting *Erwinia* spp. strains by 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one in relation to their pathogenicity on *Zea mays*. Phytopathology 69: 757-763.
- Leffler, J.E. y Grunwald, E. (1963) "Rates and Equilibria of Organic Reactions", John Wiley and Sons, Inc., New York, London, pp. 371-402.

- Long, B.J., Dunn, G.M., Bowman, J.S. y Routley, D.G. (1977) Relationship of hydroxamic acid content in corn and resistance to the corn leaf aphid. *Crop Sci.* 17: 55-58.
- Niemeyer, H.M., Corcuera, L.J. y Pérez, F.J. (1982a) Reaction of a cyclic hydroxamic acid from Gramineae with thiols, *Phytochemistry* 21: 2287-2289.
- Niemeyer, H.M., Bravo, H.R., Peña, G.F. y Corcuera, L.J. (1982b) Decomposition of 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3(4H)-one, a hydroxamic acid from Gramineae en "Chemistry and Biology of Hydroxamic Acids" (H. Kehl, ed.) Karger AG, Basel, pp. 22-28.
- Queirolo, C.B., Andreo, C.S., Vallejos, R.H., Niemeyer, H.M. y Corcuera, L.J. (1981) Effects of hydroxamic acids isolated from Gramineae on adenosine 5'-triphosphate synthesis in chloroplasts. *Plant Physiol.* 68: 914-916.
- Queirolo, C.B., Andreo, C.S., Niemeyer, H.M. y Corcuera, L.J. (1983) Inhibition of ATP-ase from chloroplasts by a hydroxamic acid from Gramineae, *Phytochemistry* (en prensa).
- Rehr, S.S., Feeny, P.P. y Janzen, D.H. (1973) Chemical Defenses in Central American Non-ant Acacias. *J. Anim. Ecol.* 42: 405-416.
- Riddick, J. y Bunger, W.B. (1970) "Techniques of Chemistry". Vol. II (A. Weissberger, ed.) Wiley-Interscience, New York.

- Rony, P.R., McCormack, W.E. and Wunderly, S.W. (1969)
Polyfunctional catalysis II. General base catalysis of
the mutarotation of tetramethyl-D-glucose in benzene and
methanol-benzene. *J. Am. Chem. Soc.* 91: 4244-4251.
- Smisssman, E.E., Corbett, M.D., Jenny, N.A. y Kristiansen, O.
(1972) Mechanism of the transformation of 2,4-dihydroxy-
1,4-benzoxazin-3-ones and 2-hydroxy-2-methyl-4-methoxy-
1,4-benzoxazin-3-one to 2-benzoxazolinone. *J. Org. Chem.*
37: 1700-1703.
- Swain, C.G. y Brown, J.F., Jr. (1952a) Concerted displacement
reactions. VII. The mechanism of acid-base catalysis in
non-aqueous solvents. *J. Am. Chem. Soc.* 74: 2534-2537.
- Swain, C.G. y Brown, J.F., Jr. (1952b) Concerted displacement
reactions. VIII Polyfunctional catalysis. *J. Am. Chem. Soc.*
74: 2538-2543.
- Tipton, C.L., Klun, J.A., Husted, R.R. y Pierson, M.D. (1967)
Cyclic hydroxamic acids and related compounds from maize
Isolation and characterization. *Biochemistry* 6: 2866-
2870.
- Villarroel, A.A., Cecchi, X., Corcuera, L.J. y Niemeyer, H.M.
(1982) Inhibición de la (Na⁺K)-ATPasa por un ácido
hidroxámico de gramíneas, *Bol. Soc. Chil. Quím.*, 27: 313-315.
- Virtanen, A.I. y Hietala, P.K. (1955) 2(3)-Benzoxazolinone
and anti-fusarium factors in rye seedlings. *Acta Chem.*
Scand. 9 1543-1544.

- Virtanen, A.I., Hietala, P.K. y Wahlroos, O. (1956) An antifungal factor in maize and wheat plants, Suomen Kemist, B 29: 143.
- Virtanen, A.J., Hietala, P.K. y Wahlroos, O. (1957) Anti-microbial substances in cereals and fodder plants. Arch.Biochem.Biophys. 69: 486-500.
- Virtanen, A.I. y Hietala, P.K. (1959a) On the structure of the precursors of benzoxazolinone in rye seedlings, Suomen Kemist. B. 32: 138.
- Virtanen, A.J. y Hietala, P.K. (1959b) On the structure of the precursors of benzoxazolinone in rye plants. II., Suomen Kemist. B. 32: 252.
- Virtanen, A.J. y Hietala, P.K. (1960a) Precursors of benzoxazolinone in rye plants. I. Precursor II. The aglucone. Acta Chem. Scand. 14: 499-502.
- Virtanen, A.I. y Hietala, P.K. (1960b). Precursors of benzoxazolinone in rye plants. II. Precursor I. The glucoside, Acta Chem.Scand. 14: 502-504.
- Virtanen, A.I. y Wahlroos, O. (1963) Absence of 6-methoxy-benzoxazolinone in uninjured maize tissue. J.Pharm.Sci. 52: 713-714.
- Wahlroos, O. y Virtanen, A.I. (1959) The precursors of 6-methoxy-benzoxazolinone in maize and wheat plants.

Their isolation and some of their properties. Acta Chem. Scand. 13. 1906-1908.

Willard, J.I. y Penner, D. (1976) Benzoxazinones: cyclic hydroxamic acids found in plants, Residue Rev. 64: 67-76.

Woodward, M.D., Corcuera, L.J., Helgeson, J.P. y Upper, C.D. (1978) Decomposition of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-benzoxazin-3(4H)-one in aqueous solutions. Plant Physiol. 61: 796-802.

Woodward, M.D., Corcuera, L.J., Helgeson, J.P., Kelman, A. y Upper, C.D. (1979) Quantitation of 1,4-benzoxazin-3-ones in maize by gas-liquid chromatography. Plant Physiol. 63: 14-19.