

# ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD FRENTE A *E. COLI* DE CUATRO BENZOXAZINAS DE SINTESIS Y CUATRO ANTIBIOTICOS CONOCIDOS

Julian F. Orozco R. \*  
Pedro I. Rivera B. \*  
Manuel Arteaga \*\*  
José M. Rincón \*\*\*

## Resumen:

Con el trabajo se realiza un estudio comparativo entre la actividad antimicrobiana que manifiestan cuatro benzoxazinas y cuatro antibióticos de uso común sobre *Escherichia coli* de diferente procedencia.

## Summary:

This work presents a comparative study of the antimicrobial activities of four benzoxazines and four antibiotics of common use against *Escherichia coli* from different origins.

## I. INTRODUCCION

Dado el interés y la importancia que reviste el estudio de nuevas sustancias de síntesis con propiedades antimicrobianas, entre ellas algunos tipos de Benzoxazinas (1 a 17), y que en anteriores trabajos hemos reportado (1) (2) la obtención y caracterización como antimicrobianos de cuatro compuestos de este tipo, se pretende con el presente estudio complementar los realizados llevando a cabo una comparación entre la actividad antimicrobiana que manifiestan éstas sustancias y las manifestadas por cuatro antibióticos de uso común (Tetraciclina, Cloranfenicol, Ampicilina y Kanamicina) sobre *Escherichia coli*.

## II. MATERIALES Y METODOS

### 1. Obtención de las Benzoxazinas.

Se siguió el método de síntesis descrito en el trabajo "Síntesis de cuatro benzoxazinas y determinación de su espectro de actividad antibacteriana" (2).

### 2. Medios de cultivo.

Caldo y Agar Mueller Hinton (MH).

### 3. Microorganismos de Control

Se emplearon 41 cepas de *Escherichia coli* de diferente procedencia (de muestras humanas, animales y de suelos) suministradas por las Facultades de Ciencias, Medicina y Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), el Instituto de Seguros Sociales (ISS), la Empresa Colombiana de Productos Veterinarios (VECOL), el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) y algunos laboratorios clínicos particulares.

Las cepas se agruparon de la manera siguiente:

#### Origen Humano:

Las cepas 1H,2H,3H,4H,5H,11H,12H,13H y 14H, fueron obtenidas por urocultivo; la cepa 6H, de cultivo renal; las 7H,8H,9H y 10H, de coprocultivos y las 15H y 16H, de cultivos vaginales - partos.

#### Origen animal:

Las cepas 1V,2V,3V,10V,11V,12V,13V,14V, 15V,16V,17V,18V,19V y 20V proceden de orina; las 4V y 5V de materias fecales, las 6V y 7V de leche y las 8V y 9V, de cultivos renales.

#### Origen de suelos:

La cepa IF procede de tierra del Departamento de Santander y las 2F,3F,4F y 5F de la Sabana de Bogotá.

### 4. Antimicrobianos

#### 4.1 Benzoxazinas en estudio.

\* Estudiantes

\*\* Profesor Asociado, Departamento de Farmacia,  
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional

\*\*\* Profesor Asociado, Departamento de Química,  
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional

Benzoxazina A: N,N'-etilen-bis-(6-cloro-3,4-dihidro-1,3,2 H-benzoxazina).

Benzoxazina B: 6-cloro-3-bencil-3,4-dihidro-1,3,2H-benzoxazina.

Benzoxazina C: 6-cloro-3-fenil-3,4-dihidro-1,3,2 H-benzoxazina.

Benzoxazina D: 2-etanol-N-(6-cloro-3,4-dihidro-1,3,2 H benzoxazina).

Estas sustancias se emplearon bajo la forma de clorhidratos.

En los estudios de sensibilidad de los microorganismos que sirvieron como control, se usaron las benzoxazinas a concentraciones de 10, 20 y 40 mcg/ml. en agar Mueller - Hinton (2). Para los estudios comparativos de actividad antimicrobiana se usaron concentraciones que oscilaron entre 30 y 420 mcg/ml. en agua destilada estéril, dependiendo de cada benzoxazina y la resistencia de cada uno de los microorganismos de control.

#### 4.2 Antibióticos.

Bajo sus formas solubles en agua, se emplearon los siguientes:

Tetraciclina (T)  
Ampicilina (Am)  
Cloranfenicol (Cl)  
Kanamicina (K)

Para los estudios de sensibilidad de los microorganismos de control se emplearon T, Am y Cl a concentraciones de 10 mcg/ml. y K. a concentraciones de 20 mcg/ml. En los estudios comparativos de actividad se emplearon a concentraciones que oscilaron entre 8 y 140 mcg/ml. en agua estéril, dependiendo de cada antibiótico en particular y de la resistencia de las diferentes microorganismos de control.

#### 5. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana.

##### 5.1. Determinación de la sensibilidad de los microorganismos de control.

Se empleó en esta evaluación Agar MH que contenía, por separado, las benzoxazinas y los antibióticos en estudio en las concentraciones que se anotaron en los numerales 4.1. y 4.2. respectivamente. Una vez listas las cajas con el medio, se sembraron sobre la superficie de él, en forma de manchas (M) y de estrias (E) los microorganismos.

##### 5.2. Comparación de la actividad antimicrobiana.

Esta evaluación se realizó siguiendo el método de difusión en gel, para el cual se empleó agar MH inoculado, al 1% (v/v), con los microorganismos de control en su fase logarítmica de crecimiento. Los

orificios de 7.5 mm. de diámetro, fueron hechos con un sacabocados de acero inoxidable y las comparaciones de actividad se llevaron a cabo considerando los antibióticos (T, Cl, Am y K) como referencias de actividad (100%) para cada una de las benzoxazinas.

### III. RESULTADOS

#### 1. Sensibilidad de los microorganismos de control

En las tablas I, II y III se anotan las respuestas que manifestaron los diferentes microorganismos frente a las benzoxazinas en estudio y los antibióticos que sirvieron como referencias de comparación de la actividad, siguiendo la metodología y las condiciones anotadas en el aparte II.

Las convenciones empleadas en las tablas fueron las siguientes:

H : cepa de origen humano  
V: cepa de origen animal  
F: cepa de origen de suelos  
R: microorganismo resistente  
S: microorganismo sensible  
C: concentración mínima inhibitoria (CMI)  
2C: dos veces la CMI  
E: Siembra en estría  
M: siembra en mancha  
T: tetraciclina  
Cl: cloranfenicol  
Am: ampicilina  
K: kanamicina

#### 2. Comparación de la actividad antimicrobiana.

Los resultados obtenidos en la determinación de los porcentajes de actividad relativa de las benzoxazinas en relación a los antibióticos que se emplearon como referencias de actividad (100%) sobre los microorganismos de control, siguiendo la metodología anotada en el aparte II-5, se reportan en las tablas IV, V, VI y VII.

### IV. CONCLUSIONES

La sensibilidad que manifestaron los microorganismos de control a los antibióticos empleados como referencias de comparación se distribuyó en la proporción siguiente: De las cepas procedentes de muestras humanas, el 62.5% son sensibles a la Kanamicina, el 50% a la Ampicilina, el 44% al Cloranfenicol y el 25% a la Tetraciclina. De los procedentes de muestras animales, el 85% son sensibles a la kanamicina, el 65% a la Ampicilina, el 80% al Cloranfenicol y el 75% a la Tetraciclina. De las procedentes de muestras de suelos, el 80% son sensibles a la Kanamicina y el 100% a la Ampicilina, al Cloranfenicol y a la Tetraciclina.

TABLA I

SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS DE *E. coli* DE ORIGEN HUMANO A LOS ANTIMICROBIANOS EMPLEADOS EN EL ENSAYO.

Microorganismo de control y método de siembra.		RESPUESTAS A LOS ANTIBIOTICOS				RESPUESTAS A LAS BENZOXAZINAS							
		T	Am	Cl	K	A		B		C		D	
						C	2C	C	2C	C	2C	C	2C
1H	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
2H	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
3H	E	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
4H	E	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
5H	E	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
6H	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
7H	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
8H	E	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
9H	E	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
10H	E	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S
	M	R	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S
11H	E	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S
	M	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S
12H	E	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S
13H	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
14H	E	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S
	M	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S
15H	E	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
16H	E	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
	M	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S

TABLA II

ESTABILIDAD DE LAS CEPAS DE *E. coli* DE ORIGEN ANIMAL, A LOS ANTIMICROBIANOS EMPLEADOS EN EL ENSAYO.

Microorganismo de control y método de siembra.		RESPUESTAS A LOS ANTIBIOTICOS				RESPUESTAS A LAS BENZOXAZINAS							
		T	Am	Cl	K	A		B		C		D	
						C	2C	C	2C	C	2C	C	2C
1V	E	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
2V	E	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R
	M	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R
3V	E	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S
	M	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S
4V	E	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R
5V	E	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
6V	E	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
7V	E	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S
8V	E	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S
	M	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S
9V	E	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S
	M	S	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	S
10V	E	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S
	M	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S
11V	E	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S
	M	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S
12V	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S
13V	E	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
14V	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
15V	E	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S
16V	E	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S
17V	E	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	R	S	R	S	R	R	R	R	S	S
18V	E	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	S	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R
19V	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
20V	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R

TABLA III

SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS DE *E. coli* PROVCEDENTES DE TIERRAS, A LOS PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS EN EL ENSAYO

Microorganismo de control y método de siembra		RESPUESTAS A LOS ANTIBIOTICOS				RESPUESTAS A LAS BENZOXAZINAS							
		T	Am	Cl	K	A		B		C		D	
						C	2C	C	2C	C	2C	C	2C
1F	E	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S
	M	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S
2F	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
3F	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S
4F	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
5F	E	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R
	M	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R

TABLA IV

ACTIVIDAD RELATIVA DE LA BENZOXAZINA A  
SOBRE LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS  
DE CONTROL FRENTE A LA DE LOS  
ANTIBIOTICOS DE REFERENCIA.

Microorga nismos de control	Relación de actividad de la Benzoxazina A (multiplicada por 100)			
	T	Am	Cl	K
1H	46	39	71	74
2H	18	24	68	37
3H	779	1378	1225	121
4H	29	88	62	14
5H	809	446	146	36
6H	282	152	250	560
7H	253	62	63	102
8H	196	100	100	7
9H	289	100	11	12
10H	470	20	24	12
11H	1236	12	348	242
12H	45	45	107	128
13H	105	324	93	45
14H	2344	108	1742	65
15H	52	32	60	64
16H	300	5	186	48
1V	102	235	21	16
2V	108	69	102	22
3V	101	15	14	9
4V	27	177	37	52
5V	14	182	103	14
6V	17	352	33	22
7V	2702	577	66	140
8V	101	79	48	53
9V	37	141	172	45
10V	106	159	134	141
11V	14	21	21	19
12V	54	165	54	38
13V	166	138	60	154
14V	14	4	17	33
15V	18	13	88	10
16V	37	100	101	56
17V	20	14	74	23
18V	40	38	20	20
19V	38	47	21	17
20V	55	106	131	28
1F	130	102	283	3620
2F	73	31	89	104
3F	38	12	46	87
4F	75	41	85	118
5F	60	36	42	141

TABLA V

ACTIVIDAD DE LA BENZOXAZINA B SOBRE LOS  
DIFERENTES MICROORGANISMOS DE CONTROL  
FRENTE A LA DE LOS ANTIBIOTICOS  
DE REFERENCIA

Microorga nismos de control	Relación de actividad de la Benzoxazina B (multiplicada por 100)			
	T	Am	Cl	K
1H	8	6	10	6
2H	3	4	11	5
3H	9	14	12	2
4H	10	30	24	4
5H	43	60	13	2
6H	6	17	10	24
7H	63	37	16	31
8H	82	49	41	3
9H	122	51	5	5
10H	117	5	6	3
11H	30	3	9	6
12H	2	2	5	11
13H	13	9	2	1
14H	71	3	48	2
15H	4	18	12	12
16H	111	2	71	19
1V	90	90	9	6
2V	14	2	3	3
3V	34	6	5	3
4V	2	43	2	3
5V	1	42	12	1
6V	1	23	2	2
7V	15	71	2	4
8V	7	9	5	6
9V	1	58	8	1
10V	10	10	8	8
11V	3	4	4	4
12V	1	2	1	1
13V	11	9	4	10
14V	1	1	2	3
15V	5	4	25	3
16V	2	5	5	3
17V	5	5	16	3
18V	1	1	1	1
19V	5	5	3	2
20V	1	2	3	1
1F	1	1	2	22
2F	5	2	5	6
3F	4	2	5	10
4F	2	1	2	2
5F	4	2	3	9

TABLA VI

ACTIVIDAD RELATIVA DE LA BENZOXAZINA C  
SOBRE LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS DE  
CONTROL FRENTE A LA DE LOS ANTIBIOTICOS  
DE REFERENCIA

Microorga nismos de control	Relación de actividad de la Benzoxazina C (multiplicada por 100)			
	T	Am	Cl	K
1H	1	1	2	1
2H	2	2	7	3
3H	8	12	11	2
4H	8	24	20	4
5H	45	30	14	2
6H	7	9	12	31
7H	20	13	4	6
8H	38	32	22	2
9H	12	11	1	1
10H	18	1	1	1
11H	13	1	3	2
12H	2	2	4	3
13H	3	14	4	2
14H	41	1	17	1
15H	14	9	16	17
16H	28	1	20	6
1V	7	20	2	4
2V	8	3	3	1
3V	12	1	2	1
4V	1	19	2	2
5V	1	38	8	1
6V	1	13	1	1
7V	12	57	1	3
8V	1	2	1	1
9V	1	30	3	1
10V	2	1	1	2
11V	1	1	1	1
12V	1	1	1	1
13V	1	1	1	1
14V	1	1	1	3
15V	1	1	5	1
16V	1	1	1	1
17V	1	1	4	1
18V	1	1	1	1
19V	1	1	1	1
20V	1	2	3	1
1F	1	1	1	17
2F	3	1	4	4
3F	2	1	1	1
4F	2	1	1	1
5F	3	1	1	1

TABLA VII

ACTIVIDAD RELATIVA DE LA BENZOXAZINA D  
SOBRE LOS DIFERENTES MICROORGANISMOS DE  
CONTROL FRENTE A LA DE LOS ANTIBIOTICOS  
DE REFERENCIA

Microorga nismos de control	Relación de actividad de la Benzoxaxina D (multiplicada por 100)			
	T	Am	Cl	K
1H	32	27	46	25
2H	6	7	25	12
3H	28	46	40	6
4H	26	82	57	12
5H	135	103	37	5
6H	346	201	298	711
7H	170	140	43	81
8H	180	101	91	6
9H	144	109	11	12
10H	1488	56	67	31
11H	735	68	216	104
12H	35	34	82	106
13H	62	203	53	25
14H	1666	56	767	34
15H	142	105	167	178
16H	1580	22	1012	264
1V	83	207	17	13
2V	282	19	27	15
3V	346	69	60	39
4V	8	108	10	14
5V	5	107	103	5
6V	21	452	43	109
7V	309	1465	36	31
8V	107	80	47	52
9V	29	1230	198	36
10V	77	53	42	85
11V	28	44	44	40
12V	29	54	27	19
13V	123	102	45	108
14V	19	5	22	41
15V	71	51	126	42
16V	24	64	61	38
17V	47	37	108	55
18V	16	1386	8	7
19V	9	12	5	4
20V	19	37	46	10
1F	168	130	369	4380
2F	138	63	17	204
3F	45	25	52	101
4F	10	6	12	16
5F	14	8	12	34

Referente a las Benzoxazinas la mayor sensibilidad de los microorganismos de control se manifiesta frente a la "A"; son sensibles a 2CMI el 56% de las cepas procedentes de muestras humanas, el 90% de las procedentes de muestras animales y el 100% de las procedentes de muestras de suelos.

Frente a la Benzoxazina "D" solo son sensibles a 2CMI el 50% de las cepas procedentes de muestras humanas, el 65% de las animales y el 80% de las de los suelos.

Las Benzoxazinas "B" y "C" no manifestaron actividad alguna a 2CMI.

La Benzoxazina "A" es más activa que la Tetraciclina sobre el 68% de las cepas procedentes de muestras humanas, más activa que la Ampicilina y el Cloranfenicol sobre el 50% de las mismas cepas y más que la Kanamicina sobre 31% de los microorganismos con esta procedencia.

Referente a las cepas procedentes de muestras animales, la Benzoxazina "A" es más activa que la Ampicilina sobre el 55% de ellas; más activa que la Tetraciclina sobre un 35% de los mismos microorganismos; más que el Cloranfenicol sobre un 30% de esas cepas y más que la kanamicina sobre un 15% de los microorganismos con esta procedencia.

En relación a los microorganismos procedentes de muestras de suelos, la Benzoxazina "A" es más activa que la Kanamicina sobre el 80% de ellos y es

de mayor actividad que la Tetraciclina, el Cloranfenicol y la Ampicilina sobre un 20% de las mismas cepas.

La Benzoxazina "B" únicamente manifiesta una mayor actividad en relación a la Tetraciclina, sobre el 18% de las cepas procedentes de muestras humanas.

La Benzoxazina "C" no manifestó en caso alguno mayor actividad en relación a los antibióticos de comparación, sobre las diferentes cepas de control.

Sobre las cepas procedentes de muestras humanas la Benzaxina "D", es más activa que la Tetraciclina sobre el 62% de ellas; más activa que la Ampicilina sobre el 44% de las mismas cepas; más activa que el Cloranfenicol y la Kanamicina sobre el 31% de esos microorganismos de control.

Referente a las cepas procedentes de muestras animales la Benzoxazina "D" es más activa que la Tetraciclina sobre 25% de ellas; más activa que la Ampicilina sobre el 40% de las mismas cepas; más activa que el cloranfenicol sobre el 20% de esos microorganismos y presenta una actividad similar a la de la Kanamicina sobre el 10% de los gérmenes con este origen.

En relación a los microorganismos procedentes de muestras de suelos, la Benzoxozina "D" es más activa que la Tetraciclina y la Kanamicina sobre el 40% de ellos y más activa que la Ampicilina y el Cloranfenicol sobre el 20% de las mismas cepas.

## BIBLIOGRAFIA

1. ARTEAGA M., RINCON J., ROBAYO E. y MALDONADO M. "Síntesis de algunas benzoxazinas y estudio de su posible actividad antibacteriana". *Rev.Col.Cien. Quim.Farm.*, 3, 63 (1980)
2. ARTEAGA M., RINCON J., PEREZ H. y GOMEZ P. "Síntesis de cuatro benzoxazinas determinación de su espectro de actividad antimicrobiano" 4, 15 (1985).
3. BURK J., SMITH R. y WEATHERBEE C.; "N,N-Bis-(hydroxybenzyl)-amines: Synthesis from Phenols, Formaldehyde and Primary Amines". *Am.Chem.Soc.*, 74, 602 (1952)
4. CALDWELL and THOMPSON, J. *Am. Chem.Soc.* 67, 265 (1939)
5. BOERHINGER INGELHEIM. "N-Substituted 2H-1,3-benzoxazine-2,4(3H)-diones"; *Chem.Abst.*, 69, 1808-2845 (1968).
6. LACY G.H. and col. "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 (1979).
7. RUSSELL W. and col.; "2,4-Dihydroxy-7-Methoxy-2H-1,4-benzoxazin 3(4H)-one derivatives (DIMBOA)".; *J. Econ. Entomol.*, 68, 31-34 (1975).
8. MAKAMISHI and col.; "2,3-Dihydro-4-Oxo-1,3-benzoxazine derivatives"; *Chem.Abst.*, 60, 1809 (1968).
9. CHESTER F.; "Substituted Benzoxazines"; *Chem.Abst.*; 83, 10097 (1975).
10. LITTER M.; *Compendio de Farmacología*. Editorial Ateneo, 2a. ed., 509 (1978)

11. SHRIDAR D. and VAIDYIA N.K.; "Synthesis and Biological activity of some 3-(2-(Heteroaryl)vinyl)-2H-1,4-benzoxazin-2-ones".; *Medical Chemical*, 18, 251-253 (1979).
12. TURK C. and col.; "Synthesis and Central Nervous System activity of 2 arylidene-4-aminoalkyl-2H-1,4-benzoxazin 3(4H)-ones and related compounds".; *J. Med.Chem.*; 20, 729-732 (1977).
13. HOFFMANN J.; "1,4-Benzoxazine derivatives of Plants" *Biological Abstracts*, 14, 77-80 (1978).
14. HOFFMANN J.; "Antifungal substances of 1,4-benzoxazine group in rye plants".; *Biological Abstracts*, 62, 4478 (1976)
15. BERNARDI L. and col.; "Pharmacological properties of some derivatives of 1,3-benzoxazine".; *Chemical Abstracts*, 72, 175 (1970).
16. DRUKKER A.E. and GRODZCKIE.; "1,3-Benzoxazines. Bactericidal and Bacteriostatic Activity against *Salmonella typhosa*, *E. coli*".; *Chem. Abst.*, 67, 3094 c (1967).
17. WENFFEN, WAGNER, SINGER and HELMTH.; "2-Hydroxythiobenzamide and 2-hydroxythiobenzanilides, bacteriostatic properties of the compound".; *Chem.Abst.*, 65, 19028 (1966).