

(19) DANMARK



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(12) PATENTSKRIFT

(11) 167877 B1

(21) Patentansøgning nr.: 4243/88 (51) Int.Cl.5 C 07 H 17/08
(22) Indleveringsdag: 29 jul 1988 A 01 N 43/90
(41) Alm. tilgængelig: 01 feb 1989
(45) Patentets meddelelse bkg. den: 27 dec 1993
(86) International ansøgning nr.: -
(30) Prioritet: 31 jul 1987 US 080942

(73) Patenthaver: *Merck & Co., Inc.; Rahway; New Jersey, US
(72) Opfinder: Helmut *Mrozik; US

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) 4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin Bla, Blb eller en blanding heraf eller farmaceutisk acceptable syreditionsalte deraf, fremgangsmåde til fremstilling deraf, fremgangsmåde til udryddelse af insekter i landbruget og insekticide præparater indeholdende sådanne forbindelser

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

4243-88

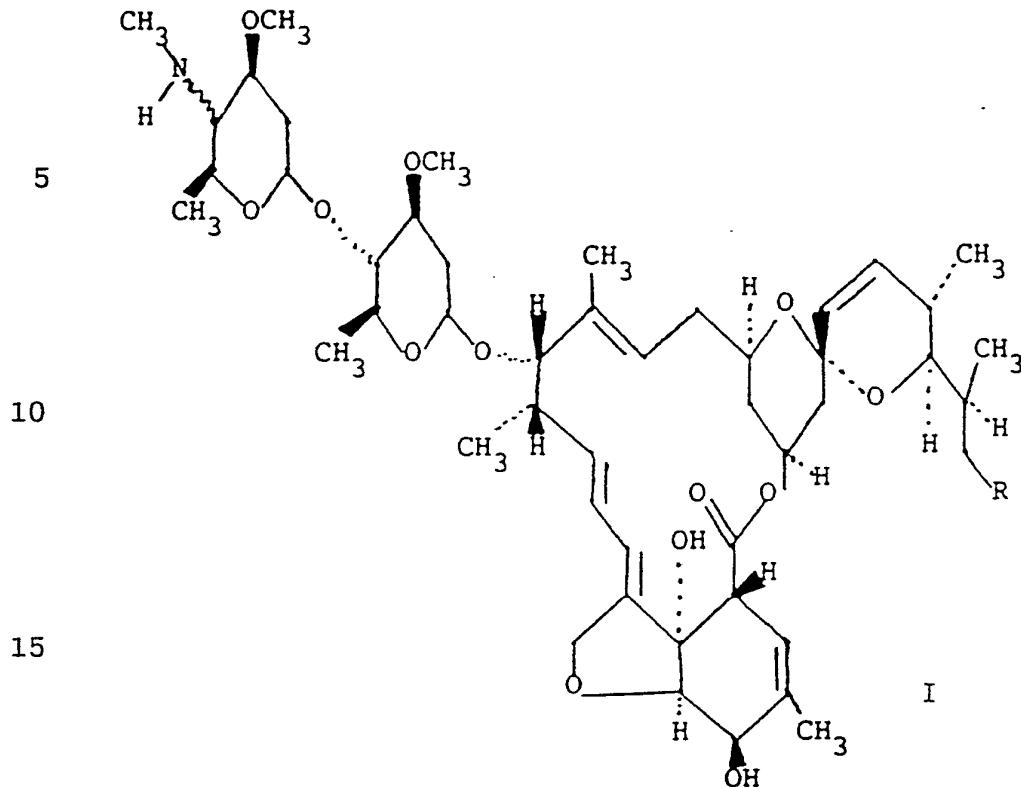
4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin Bla/Blb har vist sig at have uventede egenskaber, når det anvendes som insekticid inden for landbruget. Forbindelsen er specielt virksom over for sommerfuglearter med medfølgende lave toxicitetsniveauer for pattedyr og over for mindre dyr i vandmiljøet. Forbindelsen udviser således en meget stor sikkerhedsgrad over for mennesker, dyr og miljøet.

DK 167877 B1

USA-patentskrift nr. 4 427 663 beskriver 4"-amino-aver-
mectinforbindelser med forskellige substituentter på
aminogruppen, herunder dimethylaminoforbindelser, medens
monomethylforbindelser ikke er direkte beskrevet. Forbin-
5 delserne beskrives som anthelmintica og landbrugsmæssigt
anvendte insekticider. Det har nu overraskende vist sig,
at det hidtil ukendte 4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin
Bla eller Blb med den i krav 1 angivne formel eller en
blanding heraf og farmaceutisk acceptable syreadditions-
10 salte deraf har et signifikant højere aktivitetsniveau
som insekticid og udviser lavere toxicitet over for pat-
tedyr og ønskede vandorganismer end de kendte 4"-amino-
forbindelser og andre beslægtede avermectinforbindelser.

15 Opfindelsen angår således de før omtalte hidtil ukendte
Bla og Blb avermectinforbindelser og blandinger heraf og
farmaceutisk acceptable syreadditionssalte deraf, der
overraskende har vist høje aktivitetsniveauer som insek-
ticider og lave toxicitetsniveauer som nævnt ovenfor, når
20 de anvendes som insekticid inden for landbruget. Forbin-
delseerne er 4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin Bla, Blb
eller en blanding heraf og farmaceutisk acceptable syre-
additionssalte deraf. Herudover angår opfindelsen frem-
stillingen af forbindelserne eller en blanding deraf og
25 anvendelsen af forbindelserne som insekticider indenfor
landbruget. De uventede høje aktivitetsniveauer og den
uventede lave toxicitet overfor smådyr i vandmiljøet re-
sulterer i en meget bred sikkerhedsmargen for de omhand-
lede forbindelser eller blandinger heraf. Herudover angår
30 opfindelsen præparater indeholdende forbindelserne, der
skal anvendes som insekticider inden for landbruget.

De omhandlede forbindelser eller blandinger heraf beteg-
net 4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin Bla eller Blb kan
35 bedst angives med følgende formel:



20 hvor R betegner methyl, henholdsvis hydrogen.

Dersom R betegner en methylgruppe, er forbindelsen 4''-deoxy-4''-N-methylaminoavermectin Bla, og dersom R betegner hydrogen, er forbindelsen 4''-deoxy-4''-N-methylaminoavermectin Blb.

25

Farmaceutisk acceptable syreadditionssalte af forbindelserne falder også inden for den foreliggende opfindelsesrammer. Specielt mineralsaltene som hydrochloridet, nitrattet, sulfatet og fosfatet, og organiske salte som f.eks. tartratet og maleatet.

30

Sædvanligvis anvendes de omhandlede forbindelser som en blanding af de to forbindelser, da de strukturelle forskelle er meget små, og forskellen kun er en sec.-butylgruppe og en isopropylgruppe, og de to forbindelser udviser i det væsentlige samme kemiske reaktivitet og biolo-

35

giske aktiviteter. Af bekvemmelighedshensyn anvendes betegnelsen Bla, Blb for at angive de enkelte forbindelser og blandingen af disse forbindelser.

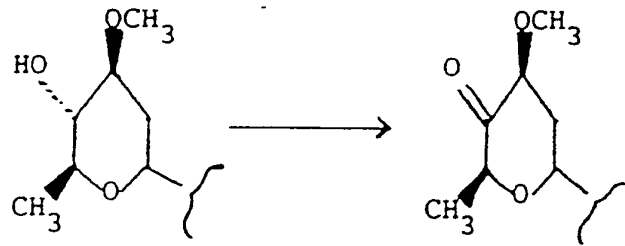
5 Ovennævnte forbindelser eksisterer i to stereokemiske former, hvor N-methylgruppen er under ringens plan (α) eller over ringens plan (β). Under fremstillingen af forbindelserne fremstilles β -forbindelsen i større mængde end α -forbindelsen. Ved at undersøge begge forbindelser
10 viser de sig imidlertid at have i det væsentlige samme aktivitet.

De omhandlede forbindelser fremstilles ud fra avermectin Bla, Blb, der er forbindelser med en hydroxygruppe ved
15 4"-stillingen. Disse forbindelser oxideres til ketonerne, der for deres vedkommende reductivt amineres med N-methylamin til dannelse af 4"-deoxy-4"-N-methylaminogruppen. Under processen omdannes α -konfigurationen af den oprindelige hydroxygruppe signifikant til β -stillingen,
20 hvilket således bevirker, at 4"-deoxy-4"-N-methylaminosubstituenten opnås i betydelig mindre mængde end hovedproduktet 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoavermectin Bla, Blb. Fremgangsmåden ifølge opfindelsen til fremstilling af de omhandlede forbindelser er ejendommelig ved det i
25 krav 2's kendetegnende del angivne. Omsætningen er illustreret i følgende reaktionsskema, hvor kun den endestillede α -L-oleandrosylmolekylgruppe er angivet. Resten af molekylet er, bortset fra 5-OH beskyttelsesgruppen, uforandret og er som angivet for formel I.

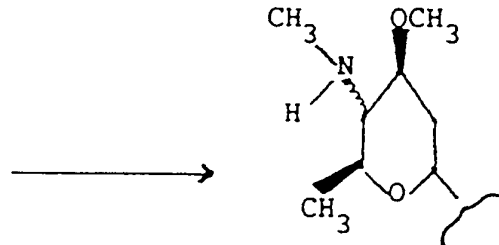
30

35

4



5



10

I det første trin af ovennævnte reaktionsskema oxideres beskyttet avermectin Bla, Blb til 4"-ketoforbindelsen. Under proceduren er 5-hydroxygruppen beskyttet med en tert.-butyl-dimethylsilylgruppe for at forhindre yderligere reaktioner. Ved oxidation af den således 5-O-beskyttede avermectin Bla, Blb kan oxalylchlorid, trifluoreddikesyreanhydrid i dimethylsulfoxid, N-chlorsuccinimid i dimethylsulfid og lignende anvendes. Omsætningen udføres sædvanligvis i et inert opløsningsmiddel, som f.eks. methylenchlorid fra -50 °C til -80 °C, og den er sædvanligvis løbet til ende i løbet af mindre end 2 timer. Forbindelsen isoleres under anvendelse af kendte metoder. I det næste trin amineres 4"-ketoforbindelsen med N-methylammoniumsalte, fortrinsvis N-methylammoniumacetat, til dannelse af 4"-N-methylaminosubstituenten. Omsætningen kan udføres ved ca. -25 °C til 10 °C i et inert opløsningsmiddel, som f.eks. en lavere alkanol. N-methylammoniumsaltkomplekset reduceres under anvendelse af natriumcyanborhydrid til dannelse af 4"-deoxy-4"-N-methylaminoforbindelsen. Herefter fjernes den beskyttende t-butyl-dimethylsilylgruppe ved syrehydrolyse med p-toluen-sulfonsyre. Forbindelsen isoleres under anvendelse af kendte metoder inden for fagområdet.

35

Det har vist sig, at ovennævnte 4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin Bla, Blb forbindelser og blandingen heraf er overraskende aktive over for skadedyr inden for landbru-

get, som f.eks. sommerfuglearter, specielt *Helipthis* spp., *Spodoptera* spp., *Trichoplusia* Ni og er overraskende mindre toksiske end nært beslægtede forbindelser over for dyr, man ikke ønsker at beskadige, og som kommer i kontakt med forbindelsen, som f.eks. organismer, der lever i vandet, herunder mikrokrebsdyr, som *Daphnia magna*, og fisk, som f.eks. klumpfisk og ørreder. Dette bevirker en særdeles forøget sikkerhedsmargen, da mindre mængder af en mindre toksisk forbindelse anvendes.

10

F.eks. har man udført forsøg, hvor de omhandlede forbindelser sammenlignedes med avermectin Bla, Blb (avermectin er udgangsmaterialet for de omhandlede forbindelser) og 4"-deoxy-4"-aminoavermectin Bla, Blb. I et LD₉₀-forsøg (dødelig dosis for 90% af insekterne) over for den sydlige hørorm og tobaksknoporm var henholdsvis >34,0 og >1,3 mikrogram/gram vægt af forsøgsinsektet nødvendig af avermectin Bla, Blb; for 4"-deoxy-4"-aminoavermectin Bla, Blb var henholdsvis 3,4 og 1,3 mikrogram/gram vægt af forsøgsinsektet nødvendig; og for 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoavermectin Bla, Blb var henholdsvis 0,542 og 0,4 mikrogram/gram vægt af forsøgsinsektet nødvendig. Udtrykt på en anden måde var 4"-deoxy-4"-aminoavermectin Bla, Blb 60% virksomt ved 0,5 mikrogram/gram vægt af forsøgsorganismen over for den sydlige hørorm, medens 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoavermectin Bla, Blb var 90% effektiv ved 0,125 mikrogram/gram vægt af forsøgsinsektet over for den samme parasit.

25

30

35

Med hensyn til den relative sikkerhed af de omhandlede forbindelser er det klart, at dersom kemiske forbindelser anvendes som sprøjtemidler inden for landbruget, er hovedproblemet, hvilken virkning sådanne forbindelser har på søer, vandløb og andre vandmiljøer, og på de dyr, der lever deri, da pesticider hyppigt finder vej til disse vandområder på grund af regn, afdræning eller på grund af den sprøjtetåge, der driver fra behandlede marker.

Ved den nedre ende af vandføddekæden findes det lille krebsdyr *Daphnia magna*, der er særdeles følsomt over for kemiske pesticider, og som, når det påvirkes på uheldig måde af disse pesticider, har stærkt uheldige virkninger på de højerestående dyr i vandet, der anvender *Daphnia* som den primære fødekilde. Specielt er mange avermectinforbindelser velkendt for at være kraftigt toksiske over for *Daphnia*.

I et forsøg med de omhandlede forbindelser (se eksempel 5) og nært beslægtede avermectinforbindelser over for *Daphnia magna*, beskrevet som et 48 timers LC_{50} forsøg, dvs. den koncentration af forbindelsen, der er dødelig for 50% af *Daphnia magna* i løbet af en 48 timers periode, fandt man, at avermectin Bla, Blb har en LC_{50} på 300 ppt (parts per trillion); og 4"-deoxy-4"-aminoavermectin Bla, Blb har en LC_{50} på 600 ppt. Dette skal sammenlignes med 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoavermectin Bla, Blb, der havde en LC_{50} på 2900 ppt, det vil sige, at de omhandlede forbindelser er næsten fem gange mindre toksiske over for denne vigtige vandføddekilde end 4"-aminoforbindelsen og næsten 10 gange mindre toksisk end avermectin Bla, Blb forbindelsen.

De omhandlede forbindelser kan også anvendes som et anti-parasitmiddel over for dyr, specielt som et insecticid middel.

Den observerede stigning i virkning over for sommerfugle-insekter og nedgang i toxicitet overfor bl.a. smådyr i vandføddekæden bevirker en udvidelse af sikkerhedsfaktoren for denne forbindelsestype, der er mange gange større, end hvad man tidligere har set.

Følgende eksempler beskriver opfindelsen nærmere.

EKSEMPEL 15-O-t-butyldimethylsilylavermectin Bla, Blb

5 En opløsning af 50 g avermectin Bla, Blb (a:b = 80:20)
blanding (tørret over P_2O_5 i højvakuum til konstant
vægt), 24 g imidazol og 24 g tert.-butyldimethylsilyl-
chlorid i 400 ml vandfrit N,N-dimethylformamid omrørtes
10 50 minutter ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen ud-
hældtes i 1,5 liter iskoldt vand, og den vandige fase
ekstraheredes 4 gange med 200 ml ether. Den organiske fa-
se vaskedes to gange med vand, vandig natriumchloridop-
løsning, tørredes med magnesiumsulfat og koncentreredes i
15 vakuum til et hvidt skum. Den urensede forbindelse rense-
des ved silicagelsøjlekromatografi med et methylenchlorid-ethylacetat 90:10 til 70:30 opløsningsmiddelsystem
til opnåelse af 46,5 g 5-O-t-butyldimethylsilylavermectin
Bla, Blb som et amorft skum, der karakteriseredes ved
hjælp af dets 1H -NMR- og massespektre.

20

5-O-t-butyldimethylsilyl-4"-oxoavermectin Bla, Blb

Til en opløsning indeholdende 9,1 ml oxalylchlorid i 230
ml tør methylenchlorid omrørt ved $-60\text{ }^\circ\text{C}$ sattes 15 ml tør
25 dimethylsulfoxid opløst i 120 ml tør methylenchlorid i
løbet af 15 minutter. Herefter tilsattes en opløsning af
46,5 g 5-O-t-butyldimethylsilylavermectin Bla, Blb opløst
i 230 ml tør methylenchlorid i løbet af 15 minutter, idet
temperaturen holdtes på $-60\text{ }^\circ\text{C}$. Reaktionsblandingen om-
30 rørtes ved denne temperatur i 30 minutter, hvorefter 65
ml tør triethylamin tilsattes. Blandingen omrørtes yder-
ligere 5 minutter ved $-60\text{ }^\circ\text{C}$, hvorefter kølebadet fjernede-
des, og reaktionsblandingen henstod, for at temperaturen
kunne stige til stuetemperatur. Efter tilsætning af vand
35 ekstraheredes reaktionsproduktet med methylenchlorid,
ekstrakten vaskedes med vand, tørredes og koncentreredes
i vakuum, hvorved der opnåedes 45,5 g af et gult skum.

Dette identificeredes ved hjælp af dets masse- og NMR-spektre som 5-O-t-butyldimethylsilyl-4"-oxoavermectin Bla, Blb, der anvendtes til yderligere kemisk omsætning uden rensning.

5

4"-deoxy-4"-epi-methylamino-5-O-t-butyldimethylsilylaver-
mectin Bla, Blb og 4"-deoxy-4"-methylamino-5-O-t-butyldi-
methylsilylavermectin Bla, Blb

10 En opløsning af 26 ml iseddikesyre i 300 ml methanol be-
handledes med methylamingas ved 0 °C, indtil opløsningens
pH nåede 9,0. Til denne sættes en opløsning indeholdende
44,5 g 5-O-t-butyldimethylsilyl-4"-oxoavermectin Bla, Blb
i 200 ml methanol, og reaktionsblandingen omrørtes 1 time
15 ved stuetemperatur, hvorefter en opløsning af 3,5 g na-
triumcyanborhydrid i 75 ml methanol tildryppedes i løbet
af 10 minutter. Efter 50 minutters forløb udhældtes reak-
tionsblandingen i 1,5 liter kold vandig natriumcarbonat-
opløsning, og forbindelsen ekstraheredes med ether. Eks-
20 trakten vaskedes med vand, der tørredes og koncentreredes
i vakuum til opnåelse af 44,8 g gult skum. Tyndtlagskro-
matografi (silicagel, methylenchlorid:ethylacetat 85:15)
af den urensede forbindelse viste på dette tidspunkt ad-
skillige pletter. Yderligere rensning ved hjælp af sili-
25 cagelsøjlekromatografi under anvendelse af ethylacetat-
opløsningsmiddelblandinger gav 4,7 g 5-O-t-butyldimethyl-
silyl-4"-epi-avermectin Bla, Blb, 1,2 g 4"-deoxy-N-
methylamino-5-O-t-butyldimethylsilyl-avermectin Bla, Blb
og 14 g 4"-deoxy-4"-epi-N-methylamino-5-O-t-butyldime-
30 thylsilyl-avermectin Bla, Blb som lyse skum, der karakte-
riseredes ved hjælp af deres massespektrum og deres ^1H -
og ^{13}C -NMR-spektre.

35

4"-deoxy-4"-epi-methylaminoavermectin Bla, Blb

En opløsning af 14 g 4"-deoxy-4"-epi-methylamino-5-O-t-butyl-
dimethylsilylvermectin Bla, Blb i 200 ml methylen-
chlorid og en opløsning af 7 g p-toluensulfonsyre-monohy-
drat i 500 ml methylenchlorid blandedes og omrørtes 45
minutter ved stuetemperatur og udhældtes derefter i for-
tyndet vandig natriumcarbonatopløsning. Forbindelsen eks-
traheredes med EtOAc, der vaskedes med vand og tørredes
over magnesiumsulfat, koncentreredes i vakuum og rensedes
ved præparativ silicagel-søjlekromatografi med methylen-
chlorid-methanol 95:5 opløsningsmiddelblanding til opnå-
else af 6,7 g 4"-deoxy-4"-epi-methylaminoavermectin Bla,
Blb, der identificeredes ved NMR- og massespektre.

Ved at arbejde som beskrevet ovenfor under anvendelse af
forbindelsen 4"-deoxy-N-methylamino-5-O-t-butyl-
dimethylsilylvermectin Bla, Blb fremstilledes 4"-deoxy-N-methyl-
aminoavermectin Bla, Blb.

20

EKSEMPEL 2

Insekt-toxiciteten af 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoaver-
mectin Bla, Blb demonstreredes i følgende forsøg.

25

I en toxicitetsundersøgelse over for *Spodotera eridania*
larver, der fodredes med blade, var 4"-deoxy-4"-epi-me-
thylaminoavermectin Bla, Blb 1166 gange mere toksisk end
avermectin Bla, Blb målt ved et LC₉₀ forsøg (dødelig kon-
centration for 90% af insekterne). LC₉₀-værdien for 4"-
deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb var 0,05 ppm i
modsatning til 5,83 ppm for avermectin Bla, Blb.

30

I en toxicitetsundersøgelse med *Heliothis virescens* lar-
ver, der fodredes med blade, var 4"-deoxy-4"-epimethyl-
aminoavermectin Bla, Blb 43 gange mere toksisk end aver-
mectin Bla, Blb målt ved en LC₉₀ bedømmelse. LC₉₀-værdien

35

for 4"-deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb var 0,003 ppm i modsætning til 0,128 ppm for avermectin Bla, Blb.

5 I en toxicitetsundersøgelse over for *Heliothis zea* larver, der fodredes med blade, var 4"-deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb 105 gange mere toxisk end avermectin Bla, Blb målt ved en LC_{90} bedømmelse. LC_{90} -værdien for 4"-deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb var 10 0,02 ppm i modsætning til 0,21 ppm for avermectin Bla, Blb.

I et kontakt-toxicitetsforsøg over for *Spodoptera eridania* larver var 4"-deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb 4 gange mere toxisk end 4"-deoxy-4"-epiaminoavermectin Bla, Blb målt ved 96 timer i mikrogram pr. gram legemsvægt. 15

I en kontakt-toxicitetsundersøgelse over for *Heliothis virescens* larver observeredes 100% dødelighed ved 0,4 mikrogram/gram legemsvægt og 25% dødelighed ved 0,1 mikrogram/gram legemsvægt med 4"-deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb i modsætning til 30% dødelighed og 5% dødelighed ved disse doser for 4"-deoxy-4"-epiaminoavermectin Bla, Blb. 25

I en kontakt-toxicitetsundersøgelse over for *Heliothis zea* larver observeredes 100% dødelighed ved 96 timer med 4,0 mikrogram/gram legemsvægt, 100% dødelighed ved 0,4 mikrogram/gram legemsvægt og 20% dødelighed ved 0,04 mikrogram/gram legemsvægt for 4"-deoxy-4"-epimethylaminoavermectin Bla, Blb. Ved den samme undersøgelse observeredes 100% dødelighed ved 4,0 mikrogram pr. gram legemsvægt, 90% ved 0,4 mikrogram pr. gram legemsvægt og 0% ved 35 0,04 mikrogram pr. gram legemsvægt for 4"-deoxy-4"-epiaminoavermectin Bla, Blb.

EKSEMPEL 3Akut toxicitet overfor Daphnia magna

5 Ti Daphnia magna (første stadie mindre end 24 timer gamle) anbragtes i et 250 ml glasmålebæger indeholdende 200 ml af en vandig opløsning af forsøgsforbindelsen i koncentrationer fra 1,0 til 10 mikrogram/liter (ppb). Forsøgsforbindelserne opløses i ringe rumfang acetone til
 10 fortynding med vand. Opløsningsmiddelkontrollen indeholdt 0,010 ml acetone, der svarer til den højeste forsøgskoncentration. En kontrol og opløsningsmiddelkontrol sættes til forsøget, der udførtes i to replika. Alle koncentrationer undersøgte en gang ved 24 og 48 timer for dødelighed og unormale virkninger, som f.eks. at daphnerne
 15 søgte til overfladen eller klumpede sammen, eller at daphnerne lå på bunden af bægerglassene.

TABEL 1

20 Dødelighed af Daphnia magna overfor vandige opløsninger af 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoavermectin Bla, Blb

25	Nominel koncentration mikrogram/liter	Procent dødelighed	
		24 timer	48 timer
	Kontrol	0	0
	Opløsningsmiddelkontrol	0	0
	1,0	0	0
30	1,8	0	0
	3,2	20	70
	5,6	30	95
	10,0	90	100

35

TABEL 2Akut toxicitet overfor *Daphnia magna*

5	Forbindelse	LC ₅₀ (mikrogram/liter) 48 timer
10	4"-deoxy-4"-epi-N-methyl- aminoavermectin Bla, Blb	2,9
	4"-deoxy-4"-aminoaver- mectin Bla, Blb	0,6
15	avermectin Bla, Blb	0,34

EKSEMPEL 4Akut toxicitet overfor regnbueørred (*Salmo gairdneri*)

- 20 Det statistiske fiskebioforsøg udførtes i ca. 20 liters glasbeholdere indeholdende 15 liter blødt rekonstitueret vand bestående af følgende forbindelser i de mængder, der er angivet, pr. liter afioniseret vand:
- 25 48 mg NaHCO₃
30 mg CaSO₄ · 2H₂O
30 mg MgSO₄
2 mg KCl
- 30 Dette rekonstituerede vand fremstilledes til opnåelse af en hårdhed på 40-48 mg/liter som CaCO₃, en total alkalinitet på 20-30 mg/liter som CaCO₃ og en begyndelses pH på 7,2 til 7,6. De 0-timers målte kontrol vandparametre af dette rekonstituerede vand var: opløst oxygen 9,7 mg/-
- 35 liter og pH 7.4.

Forsøgsbeholdere anbragtes i et vandbad ved 12 °C. Forsøgsfiskene akklimatiseredes til det rekonstituerede vand og forsøgstemperaturen og holdtes uden foder i 48-96 timer inden undersøgelsen.

5

Baseret på resultaterne af foreløbige forsøg udvalgte seks koncentrationer af forsøgsforbindelsen med ti fisk pr. koncentration til det definitive bioforsøg. De definitive forsøgs-koncentrationer blev opnået ved at overføre passende prøver af en arbejdsstandard direkte til forsøgskamrene. Udgangsstandard var fremstillet i dimethylformamid (DMF). Inkluderet var yderligere et rekonstitueret-vandkontrol- og et opløsningsmiddelkontrolkammer.

15

Fisken sættes til forsøgskammeret ved hjælp af randomiseret udvælgelse inden for 30 minutter efter tilsætning af forsøgsmaterialet. Alle forsøgsorganismer observeredes en gang pr. 24 timer for dødelighed og unormale (sub-lethale) virkninger. Eventuelle døde fisk fjernedes fra kammeret efter hver 24 timers observation. Den LC_{50} statistiske værdi og dens 95% konfidensgrænser beregnedes ved at anvende et computer-standardprogram.

25

30

35

TABEL 3

5 Dødelighed af regnbueørred (*Salmo gairdneri*) over for vandige opløsninger af 4"-deoxy-4"-epi-N-methylaminoavermectin Bla, Blb

	Nominel koncentration (mg/liter)	Procent dødelighed		
		24 timer	48 timer	96 timer
10	Kontrol	0	0	0
	Opløsnings-			
	middelkontrol	0	0	0
	0,056	0	0	0
	0,10	0	0	0
15	0,18	0	0	0
	0,32	0	0	0
	0,56	0	0	20
	1,0	0	0	100

20

TABEL 4

Akut toxicitet af regnbueørred (*Salmo gairdneri*)

	Forbindelse	LC ₅₀ i milligram/liter (ppm)		
		24 timer	48 timer	96 timer
25	4"-deoxy-4"-epi-N-methyl-aminoavermectin Bla, Blb	>1,0	>1,0	0,67
30	avermectin Bla, Blb	>0,006	0,0046	0,0032

35

EKSEMPEL 5Akut toxicitet over for Bluegill klumpfisk (Lepomis macrochirus)

5

Samme forsøgsmodel anvendtes som beskrevet i eksempel 4, bortset fra at Bluegill klumpfisk anvendtes, og at forsøgsbeholderne holdtes i et vandbad ved 22 °C.

10

TABEL 5

Dødelighed af Bluegill klumpfisk (Lepomis macrochirus) over for vandige opløsninger af 4"-deoxy-4"-epi-N-methyl-aminoavermectin Bla, Blb

15

Nominel koncentration (mg/liter)	Procent dødelighed		
	24 timer	48 timer	96 timer
Kontrol	0	0	0
Opløsnings-			
middelkontrol	0	0	0
0,056	0	0	0
0,10	0	0	0
0,18	0	0	0
0,32	0	0	100
0,56	0	90	100
1,0	100	100	100

30

35

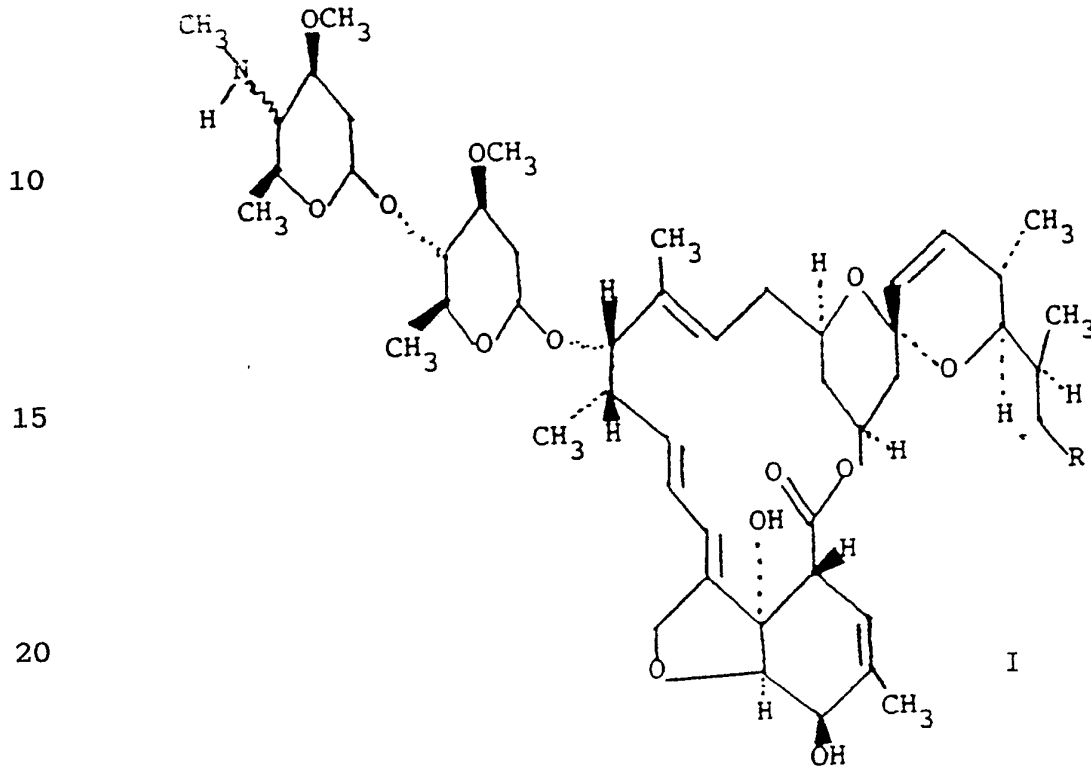
TABEL 6

Akut toxicitet af Bluegill klumpfisk (*Lepomis machochirus*)

5 Forbindelse	LC ₅₀ i milligram/liter (ppm)		
	24 timer	48 timer	96 timer
10 4"-deoxy-4"-epi-N-methyl-aminoavermectin Bla, Blb	0,75	0,45	0,24
15 avermectin Bla, Blb	0,029	0,019	0,0096
20			
25			
30			
35			

P a t e n t k r a v :

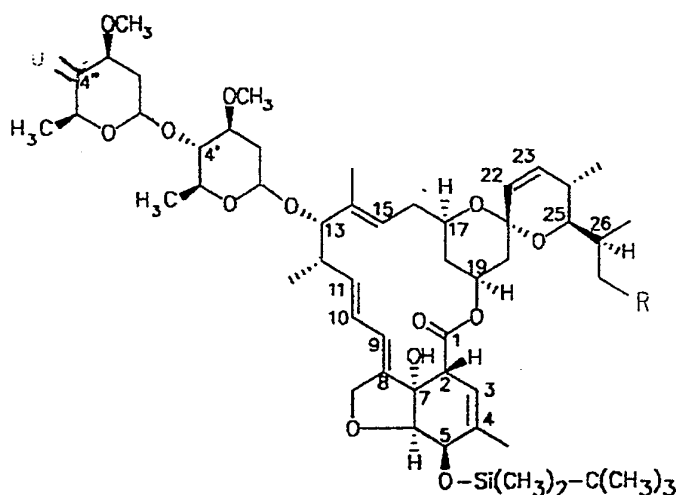
1. 4"-deoxy-4"-N-methylaminoavermectin Bla eller Blb med
5 formlen I



- 25 hvor R betegner methyl, henholdsvis hydrogen, eller en
blanding heraf og farmaceutisk acceptable syreadditions-
salte deraf.

2. Fremgangsmåde til fremstilling af 4"-deoxy-4"-N-me-
30 thylaminoavermectin Bla, Blb eller en blanding heraf
ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at man behand-
ler t-butyldimethylsilylbeskyttet 4"-oxoavermectin Bla
eller Blb med formelen

35



5

10

hvor R har den i krav 1 angivne betydning, eller en blanding heraf med NaCNBH₃ i nærværelse af et N-methylammoniums salt, hvorefter den beskyttende gruppe fjernes ved hydrolyse med p-toluensulfonsyremonohydrat til opnåelse af den/de ønskede forbindelser.

15

3. Fremgangsmåde ifølge krav 2, kendetegnet ved, at N-methylammoniums saltet er N-methylammoniumacetat.

20

4. Fremgangsmåde til udryddelse af insekter i landbruget, kendetegnet ved, at man påfører et areal, der er inficeret med insekter inden for landbruget, en effektiv mængde af forbindelsen Bla, Blb eller en blanding heraf ifølge krav 1.

25

5. Fremgangsmåde ifølge krav 4, kendetegnet ved, at insektet fra landbruget er et sommerfugleinsekt.

30

6. Præparat til anvendelse som et insekticid inden for landbruget, kendetegnet ved, at det består af et inert bærestof og en forbindelse Bla, Blb eller en blanding heraf ifølge krav 1.

35

7. Præparat til anvendelse som et insekticid til dyr, kendetegnet ved, at det indeholder en effektiv mængde af forbindelsen Bla, Blb eller en blanding heraf ifølge krav 1.