

403185



403185

P.- 51.041

U.S. Appln. Serial
No 147.247

F.c. 25-8-75

MEMORIA DESCRIPTIVA

Int. Cl.:	C07c; A01n

para solicitar PATENTE DE INVENCION EN ESPAÑA por 20 años

a nombre de UNIVERSITY OF ILLINOIS FOUNDATION

entidad norteamericana

establecida en 224 Illini Union, Urbana, Illinois, Estados Unidos de América

por: "UN METODO DE PROPORCIONAR UN INSECTICIDA SELECTIVAMENTE BIODEGRADABLE"

(Clase Internacional A01n, C07c)

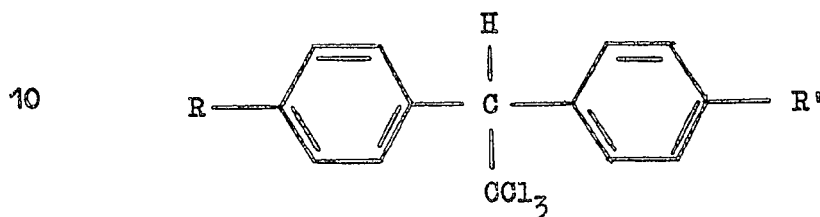
=====

16.6.72.

403185



La presente invención se refiere a insecti-
cidas mejorados. En general, se refiere a composiciones
altamente insecticidas pero biodegradables, que muestran
baja toxicidad para los mamíferos. Más particularmente,
5 se refiere a los insecticidas biodegradables, asimétricos,
que tienen la fórmula:



donde R y R' son diferentes y R se selecciona del grupo
que consta de -CH₃, -CH₃O, -C₂H₅O, -C₃H₇O, y R' se selec-
15 ciona del grupo que consta de -SCH₃ y -CH₃. La invención
se refiere también a métodos para proporcionar y contro-
lar de modo selectivo la biodegradabilidad de insecticidas
análogos al DDT.

20 Fundamentos de la invención

A pesar de la enorme utilidad del DDT, ó
1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano como insecticida,
su utilidad está en entredicho por su estabilidad ambien-
tal y su bajo grado de biodegradabilidad. Hay una preocu-
pación creciente acerca de la liberación continua de gran
25
16.6.72.

403185

des cantidades de DDT en el medio ambiente. Las mismas
cualidades que hacen al DDT un insecticida residual o de
contacto tan eficaz (su estabilidad, muy baja solubili-
dad en agua y alta solubilidad en lípidos) dan como re-
sultado su acumulación en los tejidos grasos o lípidos de
los animales, y son responsables de su multiplicación eco-
lógica en los animales carnívoros, en los extremos supe-
riores de las cadenas alimenticias. Los problemas de la
acumulación biológica del DDT son intensificados por su
conversión metabólica enzimática en el producto aún más
estable de deshidrocloración, el DDE, ó 1,1-dicloro-2,2-
-bis-(p-clorofenil)etileno, que es un contaminante ambien-
tal importante.

Se sabe que las enzimas oxidasas multifun-
cionales (OMF) o metabolizantes de drogas juegan un papel
predominante en la determinación de la toxicidad absoluta
de los insecticidas, tanto para los insectos como para
los animales superiores. El DDT y sus derivados metabóli-
cos, DDE y DDD (ó TDE), 1,1-dicloro-2,2-bis-(p-clorofenil)
etano, son todos altamente resistentes a la desintoxica-
ción por enzimas OMF, y este factor aislado explica su al-
macenamiento y acumulación en los tejidos animales, espe-
cialmente en los extremos superiores de las cadenas ali-
menticias. Por el contrario, ciertos análogos simétricos
del DDT conocidos, tales como el metoxiclor, 1,1,1-tri-
16.6.72.

403185



cloro-2,2-bis-(p-metoxifenil)etano, y el metioclor,
1,1,1-tricloro-2,2-bis-(p-metiofenil)etano, son atacados
fácilmente por las enzimas OMF, que convierten metabólica
mente o biodegradan tales compuestos análogos en produc-
5 tos aceptables para el medio ambiente, eliminados rápida-
mente por los animales. Así, el metoxiclor es un ejemplo
de un insecticida persistente pero biodegradable, que en
general no se acumula en los tejidos animales y es una
elección más prudente que el DDT para una variedad de usos
10 en los que la contaminación ambiental es un factor impor-
tante. Sin embargo, el metoxiclor y otros análogos simé-
tricos del DDT conocidos (por ej. el metilclor, 1,1,1-tri-
cloro-2,2-bis-(p-metilfenil)etano o el metioclor), aun
cuando muestran una actividad insecticida satisfactoria
15 hacia ciertas especies de insectos, exhiben una actividad
insecticida considerablemente menor que el DDT para otras
especies de insectos. Así pues, existe la necesidad de in-
secticidas persistentes mejorados, que muestren niveles
de actividad insecticida aproximadamente comparables al
20 DDT, pero que puedan ser también biodegradados metabólica
mente, para evitar su acumulación en animales, particu-
larmente en los vertebrados, por ej. aves, peces y mamí-
feros.

Descripción de la invención

25
16.6.72.

Se ha encontrado, a partir de estudios meta

403185

22



bólicos en insectos, ratones, y en un sistema ecológico modelo con varias cadenas alimenticias, que ciertos análogos asimétricos del DDT, con ciertos grupos sustituyentes fácilmente atacables por las enzimas oxidasas multifuncionales (OMF), son sustancialmente biodegradables, y no parecen ser almacenados fácilmente en los tejidos animales ni concentrados en las cadenas alimenticias. Los estudios de actividad insecticida que implicaban a moscas y mosquitos han indicado también que los análogos del DDT de esta invención son insecticidas biodegradables persistentes, y de muy baja toxicidad para los mamíferos. Así pues, la presente invención proporciona composiciones que son insecticidas eficaces y persistentes en situaciones inanimadas; además, cuando tales composiciones son absorbidas en organismos vivos, contienen uno o más puntos fácilmente susceptibles al ataque por las enzimas OMF, que favorece una rápida desintoxicación del insecticida. Estas composiciones tienen muchas ventajas como insecticidas residuales seguros, relativamente estables y potencialmente baratos. Tal como se emplean en la presente Memoria, las expresiones "análogo del DDT" ó "de tipo DDT" se usan como sinónimos para indicar insecticidas que comprenden diaril-tricloroetanos sustituidos en p-p'. Los análogos de DDT asimétricos de la presente invención contienen al menos un grupo sustituyente en posición p-, tal como metoxi

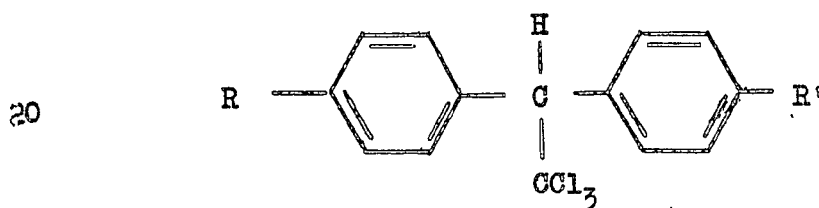
5
10
15
20
25
16.6.72.

403-185



(-CH₃O), metiltio (-SCH₃) o metilo (-CH₃), que en presencia de enzimas OMF actúan como substrato para estas enzimas OMF, y por lo cual biodegradan o convierten metabólicamente estos análogos en productos aceptables para el medio ambiente. Las composiciones contienen también un segundo grupo sustituyente en posición p- diferente, que al menos en parte contribuye a la actividad insecticida y/o a la toxicidad relativamente baja para los mamíferos mostrada por las composiciones de la presente invención, y pueden contribuir también a su biodegradabilidad.

Se ha encontrado también que los análogos asimétricos del DDT que tienen la fórmula que se indica a continuación, y que se cree que son nuevas composiciones, son altamente insecticidas, pero biodegradables cuando se ponen en contacto con las enzimas OMF, y por lo tanto son de baja toxicidad para los mamíferos:



en donde R y R' son diferentes, y R se selecciona del grupo que consta de -CH₃, -CH₃O, -C₂H₅O, -C₃H₇O, y R' se selecciona del grupo que consta de -SCH₃ y -CH₃.

25
16.6.72.

403185



La preparación o síntesis de los análogos asimétricos del DDT de la presente invención puede efectuarse por reacciones de condensación de Bayer o Friedel Crafts entre cloral y bencenos adecuadamente sustituidos, por ejemplo tolueno, tioanisol, alcoxibencenos, etc. El Ejemplo I siguiente ilustra la preparación del 2-(p-metoxifenil)-2-(p-metiltiofenil)-1,1,1-tricloroetano.

EJEMPLO I

A 100 ml. de cloroformo en un matraz Erlenmeyer, enfriados a 4°C, se añadieron 5,32 g. (0,04 moles) de $AlCl_3$ anhidro. El contenido del matraz fue agitado durante 10 minutos, y se añadió, gota a gota y durante 10 minutos, una mezcla de 10,2 g. de p-metoxifenil-1,1,1-triclorometil-carbinol (Patente de EE.UU. No 719.865, 4 de oct. 1955), 7,5 g. de tioanisol y 25 ml. de cloroformo. El contenido fue agitado durante 5 minutos más, se dejó alcanzar la temperatura ambiente, y se agitó durante la noche. La mezcla fue vertida después sobre una mezcla de hielo y HCl, destilada por arrastre con vapor de agua durante una hora para separar el cloroformo y el tioanisol sin reaccionar, extraída con éter dietílico, y secada sobre Na_2SO_4 anhidro. La evaporación del éter dio 14,5 g. (rendimiento de 95%) de 2-(p-metoxifenil)-2-(p-metiltiofenil)-1,1,1-tricloroetano, que después de dos recristalizaciones a partir de metanol hirviendo dio cristales.

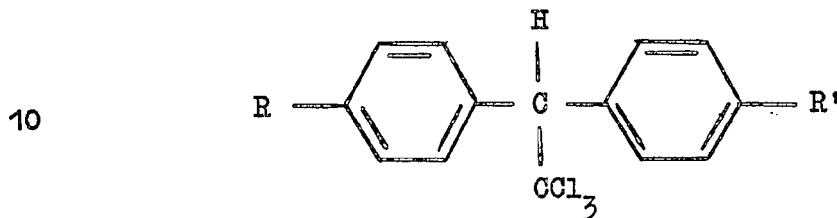
16.6.72.

403185



les blancos de olor agradable, de p. de f. 94°C. La RMN (resonancia magnética nuclear) mostró protones de CH₂S en 7,55T., protones de CH₂O a 6,20T, -H a 5,02T, confirmando plenamente la estructura. Usando técnicas similares a las empleadas en el Ejemplo I, se prepararon las demás composiciones mostradas en la Tabla I.

TABLA I



Ejemplo	R	R'	p. de f. °C
I	-CH ₃ O	-SCH ₃	94
15 II	-C ₂ H ₅ O	-SCH ₃	103-104
III	-CH ₃ O	-CH ₃	80
IV	-C ₂ H ₅ O	-CH ₃	96
V	-C ₃ H ₇ O	-CH ₃	77
VI	-C ₂ H ₅	-CH ₃	líquido

20 Las composiciones de la presente invención fueron ensayadas para evaluar las actividades insecticidas, determinadas por métodos normalizados, y comparadas con las actividades del DDT y otros análogos simétricos del DDT, por ej. el metoxiclor. En estos ensayos, 25 unas moscas domésticas hembras, Musca domestica, bajo 16.6.72.

403185



anestesia por CO₂, se trataron con aplicación tónica de gotas de 1 microlito de disoluciones peso/volumen de los insecticidas en acetona. Tres duplicados de 20 moscas de 2-4 días de edad fueron tratados en el pronotum a cada

5 dosis, y se usaron al menos 5 dosis para establecer la curva de la mortalidad en función de la dosis. Las mortalidades se determinaron manteniendo las moscas a 22°C con disolución de sacarosa al 40% como alimento. Se hicieron aplicaciones tónicas, tanto las razas susceptibles

10 (SNAIDM) como a las resistentes al DDT (Rsp) exactamente de la misma manera. Los resultados de estas evaluaciones se indican en la Tabla II, como valores DL₅₀ (dosis letal al 50%) en µg. de agente tónico por gramo de insecto, tomando como 20 mg. el peso medio de la mosca doméstica.

15 Se hicieron evaluaciones de la toxicidad de las mismas composiciones para las larvas de los mosquitos Culex pipiens quinquefasciatus y Anopheles albimanus, como se describe por WHO (VBC/1968) y los resultados se muestran también en la Tabla II.

16.6.72.

16.6.72.

TABLA II - Comparación de la toxicidad de los nuevos análogos asimétricos del DDT con la del DDT y el Metoxiclor

Compuesto	DL ₅₀ tópica en moscas hembra susceptibles, µg/g	Resistentes al DDT	CL ₅₀ ppm. en larvas de mosquito	
			Culex pipiens quinquefasciatus	Anopheles albimanus
DDT	14,0	170	0,07	0,016
Metoxiclor	45,0	48	0,067	0,18
Ejemplo I	23,5	80	0,11	0,044
Ejemplo II	32,0	85	0,07	0,054
Ejemplo III	23,5	62,5	0,085	0,12
Ejemplo IV	9,0	27,0	0,13	0,11
Ejemplo V	20,0	55,0	0,04	0,20
Ejemplo VI	11,0	28,0	0,08	0,23

* CL₅₀ = Concentración letal (al 50%).

403185

22



403185



Los resultados mostrados en la Tabla II indican que las composiciones ilustradas de la presente invención son todas más activas que el metoxiclor con respecto a moscas domésticas susceptibles, y que todas las composiciones citadas son considerablemente más activas que el DDT con respecto a las moscas domésticas resistentes al DDT. Además, las composiciones de la presente invención son en general, como se muestra, comparables al DDT y/o al metoxiclor, o más activas que ellos, con respecto a las larvas de mosquitos.

Los estudios de toxicidad para los mamíferos de las composiciones de la presente invención se efectuaron con ratones suizos hembras, de seis a ocho semanas de edad. En estos estudios, las composiciones se disolvieron en aceite de oliva al 5 a 10% en peso/volumen, y la dosis requerida se administró por vía oral por medio de una jeringa Hamilton movida por un micrómetro. Se observaron los ratones para determinar síntomas de intoxicación y la mortalidad, durante un período de una semana. Los resultados de estos estudios se muestran en la Tabla III.

16.6.72.

403185



TABLA III - TOXICIDAD PARA LOS RATONES

	<u>Compuesto</u>	<u>DL₅₀ oral, mg/g.</u>
	DDT	200
	Ejemplo I	1000
5	Ejemplo II	1000
	Ejemplo III	1000
	Ejemplo IV	1000
	Ejemplo V	500

Los resultados de la Tabla III indican
 10 que las composiciones ilustradas de la presente inven-
 ción son menos tóxicas que el DDT con respecto a su admi-
 nistración por vía oral a los ratones. Estos estudios in-
 dicaron además que las composiciones que contienen un só-
 lo grupo metoxi, metilo o metiltio son de baja toxicidad
 15 para los mamíferos, pero no obstante altamente insectici-
 das, haciendo a estas composiciones selectivamente insec-
 ticidas. Se cree que esta actividad insecticida selectiva
 es un resultado de la concentración generalmente más alta
 de enzimas OMF encontrada en los mamíferos en comparación
 20 con los insectos.

Sistema ecológico modelo

Se desarrolló un sistema ecológico modelo
 con varias cadenas alimenticias, y puede usarse para eva-
 luar la biodegradabilidad de los pesticidas. El modelo
 25 consiste en un acuario de vidrio de 25,4 X 30,5 X 45,7 cm.
 16.6.72.

403185



que contiene una plataforma de 15 kg. de arena de cuarzo blanca lavada que está moldeada en forma de una superficie de separación inclinada de tierra-aire-agua. La parte inferior está cubierta por 12 litros de "agua de referencia normalizada", que proporciona una nutrición mineral satisfactoria para el desarrollo de Sorghum halpense sobre la parte aérea, y las algas Oedogonium cardiacum en la parte acuática. Esta última está sembrada de un complemento de plancton, y contiene caracoles Daphnia magna y Physa. El acuario está provisto de aireación y se mantiene en una cámara ambiental de desarrollo de plantas a 26°C, con una exposición de 12 horas de luz diurna a 53.800 lux.

En el funcionamiento, se plantan las semillas de Sorghum y se deja que el acuario se equilibre durante 20 días hasta que las plantas de Sorghum son de una altura aproximada de 15,2 cm. Las hojas se tratan entonces con 5,0 mg. del compuesto pesticida que interese, marcado radiactivamente, en acetona, aplicado por medio de una micropipeta, de modo que sólo se contamina la superficie de la planta. Se colocan en la cámara diez larvas grandes de Estigmene acrea, y se deja que se alimenten hasta que las plantas son consumidas. Los materiales fecales marcados radiactivamente contaminan en toda su masa la parte acuosa y se incorporan en las varias cadenas alimenticias. Al cabo de 26 días, se añaden 300 larvas de

16.6.72.

403185



mosquito Culex quinquefasciatus a la cámara, y al cabo de 30 días se añaden peces Gambusia affinis. El experimento se termina después de 33 días, momento en que se recogen muestras pesadas de peces, caracoles, larvas de mosquitos, algas y agua, y se analizan para determinar su radiactividad total. Estas muestras son homogeneizadas y extraídas con éter dietílico, y tanto la capa de agua como la de éter se examinan por CCD (cromatografía de capa delgada) para determinar la naturaleza cuantitativa y cualitativa de los productos de degradación presentes, usando la radioautografía y recuento de centelleos consecutivos de las áreas que contienen radioautografía. Los resultados del examen total del sistema ecológico modelo proporcionan una evidencia de la biodegradabilidad relativa del pesticida. Usando este sistema ecológico modelo con DDT como pesticida se confirma que el DDT no es biodegradable, sino que, por el contrario, manifiesta una sustancial multiplicación de la concentración en los organismos de la cadena alimenticia. Por el contrario, cuando se evalúan en el modelo insecticidas de diaril-tricloroetano disustituido en las posiciones p-p', que contienen al menos un grupo sustituyente en posición p- fácilmente susceptible al ataque por las enzimas OMF (por ej. $-CH_3$, $-CH_3O$, $-SCH_3$), se encuentra que son biodegradables porque hay poca o ninguna multiplicación de la concentración de estos

5

10

15

20

25

16.6.72.

403185



insecticidas en los organismos de la cadena alimenticia.

Las composiciones de la presente invención pueden formularse en composiciones insecticidas formuladas usando técnicas conocidas en este campo, por ejemplo para formular insecticidas de DDT. Así, pueden formularse polvos, dispersiones en agua, emulsiones y/o soluciones, siempre que el vehículo o disolvente sea compatible e inerte, en el sentido de que no reacciona o interfiere con las características insecticidas y biodegradables.

Aunque la presente invención ha sido descrita haciendo referencia a ejemplos ilustrativos, para los expertos en la técnica serán evidentes diversas modificaciones, y se pretende que cualquiera de estas modificaciones esté dentro del espíritu y alcance de la invención, tal como se define en las reivindicaciones anexas.

La presente solicitud que corresponde a la presentada en los Estados Unidos de América, el 26 de Mayo de 1971, bajo el Nº 147.247, se acoge a los beneficios del artículo 51 del vigente Estatuto sobre Propiedad Industrial.

REIVINDICACIONES

21
16.6.72.

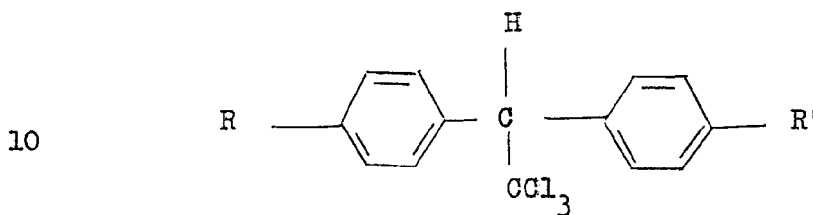
Los puntos de invención propia y nueva que

403185

10 2 JUN 1975

se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los siguientes:

5 1ª.- Un método de proporcionar un insecticida selectivamente biodegradable de diaril-tricloroetano disustituído en las posiciones p-p' de la fórmula:



15 en la que R y R' son diferentes, y R se selecciona del grupo que consta de $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_3\text{O}$, $-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$, $-\text{C}_3\text{H}_7\text{O}$, y R' se selecciona del grupo que consta de $-\text{SHC}_3$ y $-\text{CH}_3$, que comprende hacer reaccionar cloral y un benceno sustituido entre sí en presencia de un agente de condensación.

2ª.- Un método de proporcionar un insecticida selectivamente biodegradable.

20 Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede y para los fines que se han especificado.

Esta Memoria consta de dieciseis hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, =2 JUN. 1975

P.A.

25

ME

29.5.75

DBF.

Alberto de Eizaburu
Por Orden