



(19) Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer: AT 000 359 U1

(12)

GEBRAUCHSMUSTER SCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 456/94

(51) Int.Cl.⁶ : A01N 43/90
A01N 43/48, 43/64

(22) Anmeldetag: 28.11.1994

(42) Beginn der Schutzdauer: 15. 8.1995

(45) Ausgabetag: 25. 9.1995

(73) Gebrauchsmusterinhaber:

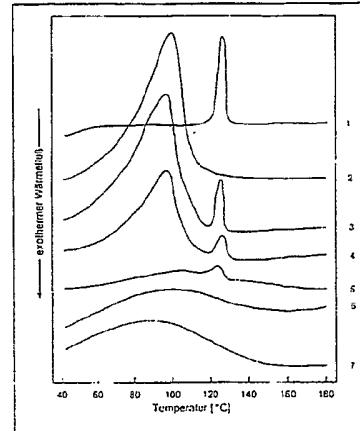
F. JOH. KWIZDA GESELLSCHAFT M.B.H.
A-1160 WIEN (AT).

(72) Erfinder:

VIERNSTEIN HELMUT DR.
WIEN (AT).
ZSIFKOVITZ WILHELM
LEOBENDORF, NIEDERÖSTERREICH (AT).

(54) NEUE KOMPLEXE AUS CONAZOL-FUNGIZIDEN UND CYCLODEXTRINEN

(57) Es werden neue Komplexe beschrieben, welche Conazol-Fungizide und Cyclodextrine umfassen, sowie Präparationen, welche auf Basis von einem oder mehreren dieser Komplexe zusammengesetzt sind. Weiters werden Verfahren zur Herstellung dieser Präparationen beschrieben.



AT 000 359 U1

Die Erfindung betrifft neue Komplexe aus Conazol-Fungiziden und Cyclodextrinen.

Cyclodextrine (CD) sind ringförmige Oligomere, die aus einer unterschiedlichen Zahl von α (1-4) verknüpften Glucopyranoseeinheiten zusammengesetzt sind. Die natürlich vorkommenden, als α , β und γ Cyclodextrine bezeichneten Moleküle, bestehen aus 6, 7 beziehungsweise 8 Einheiten (SAENGER, Angew.Chem.92 (1980), 343-361). Sie sind aufgrund ihrer Molekülstruktur befähigt, mit einer Vielzahl von festen, flüssigen oder gasförmigen Substanzen Clathrate zu bilden (CRAMER und HENGLEIN, Angew.Chem.68 (1956), 649) und dadurch physikalische sowie chemische Eigenschaften der Gastkomponenten zu verändern. Durch Komplexierung konnte in vielen Fällen sowohl eine Erhöhung der chemischen Stabilität der eingeschlossenen Verbindung als auch der Wasserlöslichkeit - und eine damit verbundene verbesserte Verfügbarkeit - erzielt werden (SZEJTLI, "Cyclodextrin Technology, Kluver Acad. Publ. (1981); DUCHENE ET AL., STP Pharma 1 (1985), 37-43).

Conazol-Fungizide werden meist in suspendierter Form als Beizmittel in der Landwirtschaft eingesetzt. Um eine hohe biologische Wirksamkeit zu erzielen, liegt der Wirkstoff im Beizmittel in mikronisierter Form vor. Damit wird aber immer noch nicht das optimale Wirkungsvermögen von Conazol-Fungiziden ausgenutzt, weshalb bei der Anwendung erhöhte Mengen verbraucht werden. Damit geht auch eine Belastung der Umwelt einher.

Zu den Conazol-Fungiziden gehören beispielsweise die systemischen Fungizide Diclobutrazol, Flusilazol, Flutriafol, Penconazol, Triadimefon oder Triflumizol als bekannteste Vertreter.

Diclobutrazol ((2RS, 3RS)-1-(2,4-Dichlorphenyl)-4,4-dimethyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)pentan-3-ol) ist ein breit wirksames Fungizid vorwiegend gegen Echten Mehltau und Rostkrankheiten im Getreide- und Kaffeebau.

Flusilazol (1-((Bis(4-fluorphenyl)methylsilyl)methyl)-1H-1,2,4-triazol) ist ein Fungizid mit protektiver und kurativer Wirkung gegen echten Mehltau und ander pilzliche Krankheiten im Getreide-, Kern- und Steinobst-, Wein-, Rüben-, Gemüse-, Erdnuß-, und Reisbau.

Flutriafol ((RS)-1-(2-Fluorphenyl)-1-(4-fluorphenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-ethanol) ist ein breit wirksames Fungizid, welches als Spritzmittel gegen Blattkrankheiten im Getreide- und Rübenbau oder als Beizmittel gegen samen- und bodenbürtige Krankheiten im Getreidebau angewendet wird.

Auch bei Penconazol (1-(2,4-Dichlor- β -propylphenethyl)-1H-1,2,4-triazol) handelt es sich um ein Fungizid mit protektiver und kurativer Wirkung gegen Ascomyceten, Basidiomyceten und Deuteromyceten im Wein-, Kürbis-, Kernobst-, Zierpflanzen- und Gemüsebau.

Triadimefon (1-(4-Chlorphenoxy)-3,3-dimethyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-2-butanon) weist als Fungizid protektive und kurative Wirkung vor allem gegen Echte Mehltaupilze und Rostkrankheiten im Getreide-, Kaffee-, Hopfen-, Obst-, Gemüse- und Zierpflanzenbau auf.

Triflumizol ((E)-4-Chlor-N-(1-imidazol-1-yl-2-propoxyethyliden)-2-trifluormethylanilin) weist gegen zahlreiche pilzliche Krankheitserreger im Obst-, Wein-, Getreide-, Tabak-, Zierpflanzen-, Tee- und Gemüsebau sowie an Kürbisgewächsen eine protektive und kurative Wirkung auf.

Die vorliegende Erfindung hat sich zur Aufgabe gestellt, die Effektivität der Anwendung von Conazol-Fungiziden zu verbessern. Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst, indem die Conazol-Fungizide mit Cyclodextrinen komplexiert werden.

Durch die Komplexierung der Conazol-Fungizide mit Cyclodextrinen können weit größere Mengen dieser Stoffe in Lösung gebracht werden, womit auch eine effizientere Verabreichung an die Pflanzen gewährleistet wird. Dies ermöglicht eine kostengünstigere und

gleichzeitig umweltschonendere Anwendung der Fungizide.

Besonders bevorzugt sind dabei Komplexe mit Triflumizol oder Flutriafol als Fungiziden.

Insbesondere Triflumizol ist bei ausgezeichneter Wirkung absolut untoxisch für Pflanzen, weshalb auch die Möglichkeit einer Anwendung als Getreidebeizmittel gegeben ist. Aufgrund des hohen Materialpreises von Triflumizol kam es bisher allerdings nicht in dieser Form zum Einsatz. Bei verringertem Substanzbedarf infolge der Verarbeitung mit dem preisgünstigen β -CD erscheinen jedoch auch Entwicklungen in Richtung Saatgutbehandlungsmittel interessant.

Ein für die Industrie interessanter Aspekt ist der, daß Triflumizol in seiner mit CD, insbesondere mit β -CD verarbeiteten Form aufgrund des weit geringeren Kostenaufwandes und der Abwesenheit phytotoxischer Eigenschaften auch zur Saatgutbeizung herangezogen werden kann.

Als Komplexpartner wird bevorzugt reines β -CD eingesetzt, da es kostengünstig und selbst fungistatisch wirksam ist (SZEJTLI, 1988). Weiters konnte ein positiver Einfluß auf die Keimung stärkehaltiger Samen und eine geringe Antidotwirkung gegen bestimmte phytotoxische Substanzen nachgewiesen werden (SZEJTLI ET AL., Acta Agron.Acad.Sci.Hung.32 (1983), 74-78).

Gemäß einem weiteren Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung ein Präparat, welches auf Basis von einem oder mehreren der erfindungsgemäßen Komplexe aus CD und Conazol-Fungiziden zusammengesetzt ist. Gegebenenfalls kann die Präparation auch noch weitere bekannte Zusatzstoffe enthalten, welche zur Verabreichung an Pflanzen geeignet sind.

Ein anderer Aspekt der vorliegenden Erfindung liegt in einem Verfahren zum Herstellen eines Fungizid-Präparates auf Basis von Conazol-Fungiziden und Cyclodextrin, bei welchem ein oder mehrere Conazol-Fungizid(e) und ein oder mehrere Cyclodextrin(e) in Kontakt miteinander gebracht und sodann durch Lyophilisieren,

Suspendieren, Präzipitieren, Verreiben, Kneten und/oder physikalisches Mischen vereinigt bzw. komplexiert werden.

Besonders bevorzugt ist dabei ein Verfahren, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß es eine Kombination der Verfahrensschritte Suspendieren und Kneten umfaßt. Dieses Verfahren ermöglicht eine einfache aber wirkungsvolle Vereinigung der beiden Komponenten und erleichtert das Komplexieren der beiden Komponenten.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform dieses Verfahrens wird eine Cyclodextrin-Suspension mit einer Lösung eines Conazol-Fungizides, welche Lösung vorzugsweise ein organisches Lösungsmittel umfaßt, gemischt, die erhaltene Suspension geknetet, bis ein verreibbares Produkt entstanden ist, und das entstandene, verreibbare Produkt verrieben und getrocknet. Diese spezielle Verfahrensform ist optimal auf die Eigenschaften des Cyclodextrins und des Conazol-Fungizids abgestimmt, sodaß mit dem erhaltenen Produkt ein hoher Wirkungsgrad erzielt werden kann.

In diesem Verfahren werden vorzugsweise Triflumizol als Conazol-Fungizid und β -Cyclodextrin als Cyclodextrin eingesetzt. Diese beiden Komponenten sind aufgrund ihres Preis/Wirkungsverhältnisses sowohl bei der Herstellung als auch bei der Anwendung besonders geeignet.

Die Erfindung wird anhand der nachstehenden Beispiele und unter Bezugnahme auf die Zeichnung, auf die sie jedoch nicht beschränkt sein soll, noch weiter erläutert.

Es zeigen: Fig.1 in einem Diagramm die Löslichkeitsverbesserung von Flutriafol durch abgestufte Mengen β -CD; Fig.2 DSC-Diagramme von Flutriafol, β -CD und verschiedene Mischsysteme davon; Fig.3 die Wirkstofffreisetzung aus Flutriafol/ β -CD-Systemen; Fig.4 den Lageplan für den Freilandversuch mit Triflumizol/ β -CD im ersten Jahr; und Fig 5 den Lageplan für den Freilandversuch mit Triflumizol/ β -CD im zweiten Jahr.

Beispiele:

1. Flutriafol:

Es wurden unterschiedliche Methoden zur Herstellung von Clathraten verglichen und eine Charakterisierung von Flutriafol/ β -CD-Komplexen sowohl in Lösung als auch in fester Form vorgenommen.

Darüber hinaus wurde das durch Präzipitation gewonnene Clathrat hinsichtlich seiner fungiziden Eigenschaften gegen den Steinbrand des Sommerweizens geprüft. Zu den Erregern dieser Krankheit zählen die Basidiomyceten *Tilletia Garies* und *Tilletia foetida*. Diese Steinbrandpilze können in jedem Korn bis zu 4 Millionen Sporen ausbilden, wodurch das Korn zur Brandbutte wird. Während des Dreschvorganges werden die Sporen freigesetzt und heften sich an gesunde Körner. Mit der erneuten Aussaat gelangen sie wieder in den Boden, keimen mit dem Saatkorn und infizieren den Keimling. Der Pilz dringt in die Ährenanlagen ein, wächst mit und führt später wieder zu Brandähren.

Weizensteinbrand kann sehr gut durch Saatgutbeizung bekämpft werden. Von einem entsprechenden Produkt wird eine 100%ige Wirksamkeit erwartet. Die Wirkung von Flutriafol gegen Weizensteinbrand ist bekannt, es sollte aber untersucht werden, ob durch Komplexierung mit β -CD auch bei reduzierter Dosis der gleiche fungizide Effekt auftritt.

Da einige Conazol-Fungizide phytotoxisch wirken, bestand ein weiterer Teil der Untersuchung darin, eine allenfalls vorhandene Beeinflussung der Phytotoxizität durch Verkapselung des Wirkstoffes nachzuweisen.

Zur Untersuchung der Löslichkeitsverbesserung von Flutriafol (ICI Agrochemicals, Fernhurst, UK) durch Zugabe von β -CD (Roquette, Lestrem, F) sowie zur Bestimmung der Komplexbindungsconstante wurden entsprechend der Löslichkeitsmethode nach HIGUCHI und CONNORS, Adv.Anal.Chem.Instr.4 (1965), 117-212, $3,5 \times 10^{-1}$ mol Flutriafol in 100 ml unterschiedlich konzentrierte wäßrige Lösungen des potentiellen Komplexbildners β -CD (1 bis 8×10^{-1}

mol) eingebracht und am Schüttelwasserbad bei einer konstanten Temperatur von 25°C äquilibriert (48 Stunden). Davon wurden 2 ml zentrifugiert (Sigma 202M, 5.000 U/min) und von der erhaltenen klaren Lösung UV-spektrophotometrisch (263 nm) der Gesamtgehalt des in Lösung gegangenen Wirkstoffes ermittelt.

Zur Herstellung fester Flutriafol/β-CD-Systeme in Form von Clathraten und physikalischen Mischungen zusätzlich (Molverhältnisse 1:1 und 1:2), gelangten die im folgenden beschriebenen Methoden zur Anwendung:

Lyophilisate: Für die Herstellung gefriergetrockneter Clathrate wurden jeweils 1.000 ml einer klaren, wässrigen Lösung von Flutriafol und β-CD zubereitet. Unter Berücksichtigung eines 14%igen Kristallwasseranteils von β-CD betrugen die Einwaagen 130,1 mg Wirkstoff und 569,8 bzw. 1.139,6 mg β-CD. Die Lösungen wurden gleichmäßig auf 6 Birnenkolben verteilt und diese 45 min lang einem "shell-freezing" unterzogen. Die Lyophilisation (Gerät: Christ Beta A) erfolgte mit einem Trockenrechen bei einem Vakuum von 0,05 mbar.

Präzipitate: Jeweils 1.000 ml einer wässrigen Flutriafol/β-CD-Lösung wurden am Rotationsverdampfer bei 40°C zur Trockene gebracht.

Verreibungen: Definierte Mengen Flutriafol und β-CD wurden gemischt und anschließend in einer Reibschale 15 min lang verrieben.

Knetprodukte: Die Herstellung erfolgte nach einer von RAJAGOPALAN ET AL., Int.J.Pharm.29 (1986), 161-168, beschriebenen Methode in der Reibschale. Es wurde vorerst eine wässrige Aufschlämmung von β-CD hergestellt, die mit Flutriafol und soviel Wasser versetzt wurde, bis eine pastöse Masse entstand. Diese wurde 15 min lang gleichmäßig geknetet und anschließend 24 Stunden lang im Exsiccator nachgetrocknet.

Physikalische Mischungen: Das Mischen der komplexbildenden Komponenten erfolgte unter Zuhilfenahme eines Kubusmischers

AT 000 359 U1

(Erweka, Mischdauer 20 min, 60 U/min).

Zum Nachweis der Komplexbildung wurde das Verfahren der Differential-Scanning-Calorimetrie (DSC) herangezogen (Gerät: Perkin Elmer DSC 7, Heizrate = 5 K min^{-1} , Probenmenge: 1-1,5 mg).

Die Prüfung der Wirkstofffreisetzung wurde an allen beschriebenen festen Flutriafol/ β -CD-Systemen vorgenommen, wobei jeweils 5 getrennt hergestellte Muster gleicher Zusammensetzung (Partikelgröße <50 μm) zum Einsatz gelangten. Die Untersuchungen erfolgten unter Verwendung eines Schüttelwasserbades (GFL 1083) bei $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$. 450 mg der zu untersuchenden Flutriafol/ β -CD-Systeme, bei deren Herstellung die molaren Ansatzverhältnisse 1:2 betragen, wurden in 100,0 ml Aqua purificata eingebracht und geschüttelt. Nach 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten wurden jeweils 2 ml Probe entnommen und zentrifugiert (Gerät: Sigma 202 M, 7 min., 10.000 U/min). Die Quantifizierung des in Lösung gegangenen Wirkstoffes erfolgte UV-spektrophotometrisch (Gerät: Beckman DU-SO, 263 nm).

Die Prüfung der fungiziden Wirksamkeit von Flutriafol/ β -CD-Präzipitaten wurde an infiziertem Sommerweizen vorgenommen. Als Infektionsmaterial kamen Brandsporen, die von allen im Österreichischen Zuchtbuch angeführten Sorten stammen, zum Einsatz (Österreichisches Zuchtbuch, Bundesanstalt für Pflanzenbau und Samenprüfung, Wien). Die Gewinnung erfolgte durch Mahlen der Brandbutten mittels Schlagkreuzmühle und anschließendem Sieben durch ein Sporensieb (200 μm). Die Untersuchungen wurden an den Sommerweizensorten "Turbo" und "Kadett" durchgeführt, die mit 0,5% (m/m) Sporen infiziert waren. Als Beizmittel diente eine 8%ige (m/v) Aufschlämmung des Flutriafol/ β -CD-Präzipitates (Molverhältnis 1:2) in Wasser; die Aufwandmenge betrug 5 g Flutriafol (active ingredient, AI) pro 100 kg Saatgut. Zu Vergleichszwecken wurden sowohl abgestufte Mengen (5 und 10 g AI pro 100 kg Saatgut) einer 5%igen (m/v) Standardformulierung als auch eine Mischung aus Flutriafol und Thiabendazol (2-(Thiazol-4-yl)benzimidazol; 1+1; Code Nr. K-548-2), entsprechend einer Aufwandmenge von jeweils 5 g AI pro 100 kg Saatgut, eingesetzt. Sämtliche Beizvorgänge wurden in einem HEGE-11-Labor-Beizergerät

durchgeführt. Für die Untersuchungen zur Phytotoxizität des Flutriafol/ β -CD-Präzipitates wurden die Wintergerstensorten (WG) "Viola" und "Judith" sowie die Winterweizensorte (WW) "Perlo" verwendet. Die Lagerung des geheizten Saatgutes fand über einen Zeitraum von 5 Monaten bei Temperaturen von 10 und 20°C statt. Das Ausbringen des Saatgutes wurde in Kleinparzellen mit einer Fläche von 1 m² in dreifacher Wiederholung vorgenommen. Die Ermittlung der Anzahl befallener Ähren erfolgte am Stand, wobei dreimal bonitiert wurde. Die befallenen Ähren wurden geschnitten und sofort ausgezählt, die gesunden hingegen am Ende der Vegetationsperiode mit Hilfe eines Parzellenmähdreschers geschnitten, gebündelt und gemeinsam ausgezählt.

Die Wechselwirkungen zwischen Flutriafol und β -CD können aus dem in Fig.1 wiedergegebenen Löslichkeitsdiagramm abgeleitet werden. Die Menge an gelöstem Flutriafol steigt stetig mit der β -CD-Konzentration an, wodurch Aussagen über die Clathratstabilität möglich sind. Unter der Annahme der Bildung eines 1:1-Komplexes wurde die Stabilitätskonstante berechnet; sie beträgt 897 M⁻¹.

Zum Nachweis von Flutriafol/ β -CD-Komplexen in fester Form kamen weder IR- noch UV-spektroskopische Methoden in Betracht, da sich die Spektren von freiem Flutriafol und der Komplexe voneinander nicht unterscheiden. Als einzige brauchbare Methode erwies sich jene der Thermoanalyse, da eine molekulare Verkapselung von Flutriafol durch Verschwinden des charakteristischen Schmelzpeaks nachweisbar war (Fig. 2; 1: Flutriafol, 2: β -CD, 3: physikalische Mischung, 4: Verreibung, 5: Knetprodukt, 6: Präzipitat, 7: Lyophilisat). Mit Hilfe eines Rechenprogrammes (Perkin Elmer) konnte aus dem Kurvenverlauf des Thermogramms von Flutriafol der Schmelzpunkt mit 125,7°C ermittelt werden, wobei dieser Wert definitionsgemäß durch Schneiden der Wendetangente mit der Basislinie berechnet wird. Aus dem Thermogramm von reinem β -CD geht hervor, daß bei Erhitzen des Oligomers ein allmähliches Verdampfen des Kristallwassers stattfindet (Peakmaximum 98°C). Alle Thermogramme jener Produkte, die in einem Molverhältnis von 1:1 hergestellt wurden, wiesen den charakteristischen Flutriafolschmelzpeak auf, was auf eine unvollständige Komplexierung des Wirkstoffes durch β -CD zurückgeführt werden

kann; sie wurden daher in die weiteren Untersuchungen nicht einbezogen. Bei einem Ansatzverhältnis von 1:2 hingegen wurde durch Anwendung der Lyophilisation sowie der Präzipitation eine vollständige Verkapselung erzielt.

Wie aus Fig. 3 (jeweils Mittelwerte aus Fünffachbestimmungen) hervorgeht, konnte bei allen untersuchten Flutriafol/β-CD-Systemen eine signifikante Verbesserung der Wirkstofflöslichkeit nachgewiesen werden. Im Vergleich zur Löslichkeit des reinen Wirkstoffes waren sowohl bei dem lyophilisierten Produkt als auch dem Präzipitat gleichermaßen Steigerungen auf etwa das Vierfache zu verzeichnen. Darüberhinaus wurde auch eine ausgeprägte Erhöhung der Lösungsgeschwindigkeit festgestellt. Bei Vorliegen von Verreibungen beziehungsweise Knetprodukten ergab sich innerhalb eines Untersuchungszeitraumes von 3 Stunden eine bedeutend geringere Löslichkeitsverbesserung, die, bezogen auf die Löslichkeit des reinen Wirkstoffes etwa 200% betrug.

In Hinblick auf eine einfache und kostengünstige Herstellungstechnik und aufgrund der vorliegenden Ergebnisse von in-vitro-Untersuchungen zum Dissolutionsverhalten der Clathrate, wurde das Präzipitat zur Prüfung der fungiziden Wirksamkeit ausgewählt.

Wie aus den Tabellen 1 (erstes Versuchsjahr) und 2 (zweites Versuchsjahr) zu ersehen ist, wurde nach Beizung mit Flutriafol/β-CD-Präzipitaten bei einer auf 25 % reduzierten Wirkstoffmenge die gleich gute Wirkung gegen den Steinbrand des Weizens erreicht, wie mit der gebräuchlichen Wirkstoffmenge in einer Standardformulierung sowie einer Mischung aus Flutriafol und Thiabendazol. Bei Anwendung der Standardformulierung in geringerer Dosis kam es zu einem deutlichen Befall des Getreides. Daraus geht hervor, daß durch Komplexierung von Flutriafol mit β-CD die fungizide Wirksamkeit des Biozides erhöht werden kann.

AT 000 359 U1

	1. WH		2. WH		3. WH		Durchschnitt		
Variante	kr.	ges.	kr.	ges.	kr.	ges.	kr.	ges.	%krank
A	26	497	29	464	25	483	26,7	481	5,26
B	0	490	0	517	0	510	0	506	0
C	11	486	17	499	10	503	12,7	496	2,50
D	0	493	0	515	0	514	0	507	0

Tabelle 1: Bekämpfung des Weizensteinbrandes an Sommerweizen durch Beizung mit unterschiedlichen Flutriafol-hältigen Formulierungen (1. Versuchsjahr).

Angabe der Anzahl erkrankter und gesunder Ähren pro m².

- A unbehandelte Kontrolle
- B K 548-2 (Flutriafol/Thiabendazol, 1+1)
- C Suspensionskonzentrat von Flutriafol, 5 g AI/100 kg Saatgut
- D Flutuafol/β-CD-Präzipitat, 5 g AI/100 kg Saatgut.

Variante	TURBO								
	1. WH		2. WH		3. WH		Durchschnitt		
	kr.	ges.	kr.	ges.	kr.	ges.	kr.	ges.	%krank
A	17	411	15	313	8	413	13,3	379	3,40
B	0	275	0	345	0	329	0	316	0
C	2	359	5	265	3	428	3,3	351	0,93
D	0	304	0	258	0	303	0	288	0

Variante	KADETT								
	1. WH		2. WH		3. WH		Durchschnitt		
	kr.	ges.	kr.	ges.	kr.	ges.	kr.	ges.	%krank
A	9	406	10	431	8	431	9,0	423	2,08
B	0	398	0	422	0	422	0	414	0
C	2	318	1	405	1	405	1,3	376	0,35
D	1	298	0	299	0	299	0,3	299	0,10

Tabelle. 2: Bekämpfung des Weizensteinbrandes an den Sommerweizensorten "Turbo" und "Kadett" durch Beizung mit unterschiedlichen Flutriafol-hältigen Formulierungen (2. Versuchsjahr).

Angabe der Anzahl erkrankter und gesunder Ähren pro m².

- A unbehandelte Kontrolle
- B Flutriafol/β-CD-Präzipitat, 5 g AI/100 kg Saatgut
- C Suspensionskonzentrat von Flutriafol, 5 g AI/100 kg Saatgut
- D Suspensionskonzentrat von Flutriafol, 20 g AI/100 kg Saatgut.

Die Phytotoxizität des Fungizids wurde, wie Tabelle 3 zeigt, nicht verstärkt; durch den Einsatz geringerer Aufwandmengen ist es daher möglich, eine indirekte Reduzierung der keimschädigenden Wirkung zu erzielen.

Kultur	Sorte	Variante	Lagertemperatur: 10°C			Lagertemperatur: 20°C		
			% KF	% abn.	% tot	% KF	% abn.	% tot
WG	Viola	A	95	4	1	94	4	2
		B	92	7	1	85	10	5
		C	96	3	1	94	3	3
		D	93	7	-	92	7	1
		E	95	5	-	93	5	2
WG	Judith	A	95	4	1	95	3	2
		B	93	5	2	93	5	2
		C	95	4	1	93	5	2
		D	95	4	1	92	7	1
WW	Perlo	A	95	2	3	95	3	2
		B	96	3	1	94	3	3
		C	96	3	1	94	4	2
		D	96	2	2	96	3	1

Tabelle 3: Prüfung der Keimfähigkeit von Wintergerste (WG) und Winterweizen (WW) nach Beizung mit Flutriafol-hältigen Produkten und anschließend 5 Monaten Lagerung bei 10 und 20°C.

(% KF = % Keimfähigkeit, % abn. = % abnorm.).

A unbehandelte Kontrolle

- B Suspensionskonzentrat, 20 g AI/100 kg Saatgut
- C Suspensionskonzentrat, 10 g AI/100 kg Saatgut
- D Flutriafol/ β -CD-Präzipitat, 20 g AI/100 kg Saatgut
- E Flutriafol/ β -CD-Präzipitat, 10 g AI/100 kg Saatgut.

Wie die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen, entfaltet komplexgebundenes Flutriafol in Form von β -CD-Präzipitaten eine höhere fungizide Aktivität als der freie, mikronisierte Wirkstoff. Aufgrund einer dadurch ermöglichten Dosisreduktion auf etwa ein Viertel der üblichen Aufwandmenge kann eine nicht unbedeutende Verringerung der Belastungen von Agrarflächen erreicht werden.

2.: Triflumizol:

2.1.: Herstellung der Triflumizol/Cyclodextrin-Komplexe

Triflumizol wurde mit verschiedenen Cyclodextrinen verarbeitet. Hierfür standen α -Cyclodextrin (α -CD), β -Cyclodextrin (β -CD), Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HP- β -CD) und Dimethyl- β -Cyclodextrin (DM- β -CD) zu Verfügung. Als Herstellungsmethode für Komplexe in fester Form wurde in Hinblick auf die großtechnische Einsatzmöglichkeit eine Variante des Knetverfahrens herangezogen. Aufgrund der Erkenntnisse aus den Molecular Modeling-Untersuchungen (siehe Kapitel 5) wurde ein Ansatzverhältnis von 1:2 (1 Mol Wirkstoff und 2 Mol CD) gewählt, da Molekülberechnungen der Energieinhalte von 1:2 Assoziaten verhältnismäßig niedrigere Werte ergaben als 1:1 Komplexe und 1:2 Stöchiometrien daher bei der Komplexbildung bevorzugt sein dürften.

Als Vergleichsprodukte für die analytischen Bestimmungen dienten physikalische Mischungen der Fungizide mit den jeweiligen Cyclodextrinen. Weiters wurde aus verfahrenstechnischem Interesse versucht, Triflumizol und β -CD durch Lyophilisation zu komplexieren.

2.1.1.: Komplexherstellung in fester Form

Der Begriff Komplexstabilität bezieht sich auf die

AT 000 359 U1

Dissoziations/Assoziationskonstante von Host und Guest in Lösung.
Es besteht jedoch keine direkte Beziehung zwischen
Komplexstabilität in Lösung und Komplexlöslichkeit

Die Stabilitätskonstante wird berechnet vom Anfangsabschnitt der Löslichkeitsisotherme (Wirkstofflöslichkeit als Funktion der CD-Konzentration nach Gleichgewichtseinstellung). Plateaubildung der Löslichkeitsisotherme entspricht dem Erreichen der Löslichkeitsgrenze des Komplexes.

Es existieren keine universellen Herstellungsmethoden. Verfahren müssen für Gastmolekül und produktionsmäßige Anforderungen maßgeschneidert sein.

Die Wahl der Methode zur Herstellung von Cyclodextrin-Wirkstoff-Komplexen muß einerseits auf die Eigenschaften des Gastmoleküls abgestimmt sein und sich andererseits nach dem Produktionsmaßstab richten.

Nach Austestung verschiedener in der Literatur beschriebener Komplexierungsverfahren, wurde eine Methode erarbeitet, die als eine Kombination des Suspensions- und des Knetverfahrens angesehen werden kann.

Anforderungen, die an die Herstellmethode gestellt wurden, waren die Gewährleistung guter Ausbeuten, geringer Lösungsmittel- bzw. Wasserverbrauch und eine einfache, auf industriellen Maßstab übertragbare Technologie.

Aufgrund der Ergebnisse aus Molecular Modeling-Experimenten und infolge der Erfahrungen aus früheren Arbeiten mit Fungiziden und Cyclodextrinen wurde für Komplexe in fester Form ein molares Ansatzverhältnis von 1:2 bezogen auf den jeweiligen fungiziden Wirkstoff und Cyclodextrin gewählt. Lediglich für IR-spektroskopische Untersuchungen wurden auch Komplexe im Verhältnis 1:1 und 1:1,5 hergestellt.

Einer hochviskosen wässrigen Suspension von Cyclodextrin wurde unter Rühren ein entsprechendes Volumen einer 10 %igen

Lösung von Triflumizol in Chloroform zugetropft und die pastöse Masse bis zum vollständigen Verdunsten der Flüssigkeit "geknetet". Anschließend wurde das entstandene Produkt verrieben und im Exsikkator bis zu Gewichtskonstanz getrocknet.

Mengen bis zu 100 g wurden unter Verwendung von Reibschale und Pistill hergestellt, für größere Ansätze, die auch längere Knetzeiten erforderlich machten, wurde eine elektrische Mörsermühle (Retsch, Typ RM 0) herangezogen.

Lyophilisationsverfahren zur Herstellung von CD-Einschlußverbindungen erfolgen im allgemeinen derart, daß wässrige Lösungen von Gastkomponente und Cyclodextrin zur Komplexausbildung gerührt und danach lyophilisiert werden.

Rein wässrige Lösungen von Triflumizol und β -CD im Verhältnis 1:2 würden aufgrund der geringen Löslichkeit von Triflumizol Lösungsmittelmengen von 1 für 10 g Produkt erforderlich machen. Um mit geringeren Volumina das Auslangen zu finden, wurde Ethanol als Hilfsphase herangezogen und jenes Verhältnis von Wasser und Ethanol bestimmt, in dem sowohl die erforderliche Menge an Fungizid als auch die entsprechende Menge an Cyclodextrin in klarer Lösung vorlagen. Für Triflumizole/ β -CD im molaren Ansatz 1+2 betrug dieses Mischungsverhältnis 1:1,2 bezogen auf Volumsteile der Lösungsmittel.

500 ml einer 0,25 %igen Lösung von Triflumizol in Ethanol wurden mit 420 ml 2,1 % β -CD in Wasser vereinigt und die entstandene klare Lösung 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Da das verwendete Lösungsmittelgemisch bei Atmosphärendruck einen niedrigeren Erstarrungspunkt hatte als die maximal erreichbaren Kühlbadtemperaturen üblicher Lyophilisationsanlagen, wurde die gesamte Lösung durch Eintropfen in flüssigen Stickstoff schockgefroren und sofort in den Eiskondensatorraum der Lyophilisationsanlage (Fa. Christ, BETA 1-8K, LCML/LCM-2) eingebracht. Die Haupttrocknung erfolgte über 60 Stunden bis zu Trockene des Produktes. Anschließend wurde zur Desorption des Wassers 6 Stunden nachgetrocknet.

Zur Herstellung physikalischer Mischungen wurden entsprechende Einwaagen der jeweiligen Fungizide und Cyclodextrine im molaren Ansatzverhältnis von 1:2 unter Zuhilfenahme eines Rotationsmischers 15 Minuten lang gemischt

Bei dieser Art der Verarbeitung von Cyclodextrinen und Wirkstoffen entstehen im allgemeinen keine Einschlußverbindungen, sondern lediglich Wirkstoffanlagerungen an der Oberfläche des CD-Makrozyklus, sodaß sich diese Produkte in ihren Eigenschaften von echten CD/Wirkstoffkomplexen unterscheiden und zu Vergleichszwecken herangezogen werden können.

2.2.: Freilandversuche an Obstbaumkulturen

Freilandversuchen kommt in der Entwicklung und Optimierung von Pflanzenschutzmitteln eine entscheidende Bedeutung zu, da sie konkrete Aussagen über die Effektivität der Formulierungen zulassen und Untersuchungen über Wechselwirkungen mit den ökologischen Gegebenheiten sowie der Beeinflussung durch Umweltbedingungen ermöglichen. Derartige Untersuchungsreihen sind aufgrund der hohen Ansprüche in bezug auf Zeit- und Arbeitsaufwand stark von ökonomischen Überlegungen geprägt. Es ist verständlich, daß ausnahmslos Wirkstoffe, die hinsichtlich ihrer Aktualität und ihrer günstigen Substanzeigenschaften den großen Versuchsaufwand gerechtfertigt erscheinen lassen, einer praktischen Anwendungsprüfung als Endpunkt in der Entwicklung von Pflanzenschutzmitteln zugeführt werden.

Unter diesen Gesichtspunkten wurde ein entsprechender β -CD-Komplex mit Triflumizol für die Austestung im Freiland gewählt. Die Austestung der biologischen Wirksamkeit des Triflumizol/ β -CD-Assoziates wurde in zwei Vegetationsperioden (erstes und zweites Jahr) an Obstbäumen durchgeführt.

Ein Haupteinsatzgebiet von Triflumizol liegt in der Bekämpfung von Schorf und Mehltau im Obst- und Weinbau. Aus Gründen der leichteren Handhabung, der Überschaubarkeit sowie der klaren Beurteilungs- und Auswertemöglichkeit wurden für die Freilandtests jedoch nicht Weinreben, sondern Apfelkulturen als Versuchsobjekte

ausgewählt. Es handelte sich dabei um je 15 Vertreter der gängigen Apfelbaumsorten Jonagold, Gold Delicius, Arlet und Empire (Mc Intosh), die sich im ersten Versuchsjahr im vierten Standjahr befanden.

Die Obstkultur war derart angelegt, daß jeweils 15 Vertreter einer Baumsorte eine Reihe bildeten. Der Reihenabstand betrug 3,5 m, der Abstand zwischen den einzelnen Bäumen einer Reihe je 1,4 m, sodaß für jeden Baum 4,9 m² Bodenfläche zur Verfügung standen. Der Reihenkomplex wurde in Sektoren zu vier bzw. drei Apfelbäumen unterteilt, denen eine bestimmte Prüfformulierung zugeteilt wurde.

Die zu testende Versuchspräparation des Triflumizol/β-CD-Komplexes wurde auf die beschriebene Weise hergestellt und vor der Anwendung zur einfacheren Dosierung durch Zumischen von reinem β-CD auf 10,0 % eingestellt. Für den hier beschriebenen Feldversuch wurden 10 g Triflumizol/β-CD-Komplex in 10 l Wasser unter 0,025 %igen Zusatz eines Alkylarylglycolethers als Netzmittel suspendiert und auf diese Weise eine Prüfformulierung mit 0,01 % Triflumizol erhalten.

Als Vergleichsprodukt wurde das Triflumizol-hältige Handelsprodukt Condor® in Kombination mit Novit® flüssig eingesetzt. Dieses Belagsfungizid, das den Wirkstoff Dodine (n-Dodecylguanidinacetat) zu 45 % in wäßriger Suspension enthält, wirkt protektiv gegen Schorf und Sprühfleckenkrankheit in Obstkulturen. In der landwirtschaftlichen Praxis werden derartige Wirkstoffkombinationen alternierend zu Monopräparaten eingesetzt, um theoretisch mögliche Resistenzentwicklungen zu verhindern. Die Condor®-Novit®-Vergleichszusammensetzung enthielt 0,0125 % Triflumizol und 0,0225 % Dodine und wurde durch Mischen von 10 ml Novit® flüssig und 2,5 ml Condor® pro 10 Liter Wasser hergestellt.

Im ersten Jahr wurden orientierende Vorversuche an 24 Apfelbäumen unterschiedlicher Sorten vorgenommen, wobei drei Bäume als Kontrollgruppe unbehandelt blieben. An 3 Gruppen zu je 4 Bäumen der Sorten Jonagold, Gold Delicius, Arlet und Empire wurde die Kombinationszubereitung aus Condor und Novit® angewendet und drei Gruppen zu je drei Bäumen wurden mit der Versuchspräparation des Triflumizol/β-CD-Komplexes behandelt (Fig.4).

Für den im zweiten Jahr in größerem Umfang durchgeföhrten Anwendungstest wurde der aus 60 Bäumen bestehende Reihenkomplex in vier Sektoren zu vier mal vier bzw. drei mal vier Apfelbäumen unterteilt, die innerhalb einer Sorte nach dem Zufallsprinzip einer bestimmten Prüfformulierung zugeteilt wurden (Fig.5). Dieser Versuchsgang war ohne behandlungsfreie Referenzgruppe konzipiert, dafür wurde zusätzlich zur Wirkstoffkombination Triflumizol-Dodine das Monopräparat Condor® zu Vergleichszwecken eingesetzt. Eine Übersicht der Prüf- und Vergleichsformulierungen für das erste und das zweite Jahr ist in den Tabellen 4 und 5 wiedergegeben.

Präparat	Konzentration in der währ. Spritzbrühe	Wirkstoffgehalt/ 100 ml Spritzbrühe	Applikationsmenge/ Baum (durchschnittl.)	Baumgruppenzuteilung		
Triflumizol/ β-CD-Komplex	0,1 %	10 mg Triflu.	0,6 l	204	304	404
Condor® + Novit® fl.	0,025 % + 0,05 %	12,5 mg Triflu. + 22,5 mg Dodine	0,6 l	203	301	402
Unbehandelte Kontrollgruppe	—	—	—	104		

Tabelle 4: Prüfformulierungen für den Freilandversuch des 1. Jahres

Präparat	Konzentration in der währ. Spritzbrühe	Wirkstoffgehalt/ 100 ml Spritzbrühe	Applikationsmenge/ Baum (durchschnittl.)	Baumgruppenzuteilung			
Triflumizol/ β-CD-Komplex	0,1 %	10 mg Triflu.	0,6 l	102	201	301	402
Condor®	0,02 %	10 mg Triflu.	0,6 l	103	204	304	403
Condor®	0,025 %	2,5 mg Triflu.	0,6 l	101	202	302	401
Condor® + Novit® fl.	0,025 % + 0,05 %	12,5 mg Triflu. + 22,5 mg Dodine	0,6 l	104	203	303	404

Tabelle 5: Prüfformulierungen für den Freilandversuch des 2. Jahres

Die Applikation der Spritzbrühen erfolgte während der Vegetationsperiode zwischen 15. April und 8. Juli mittels einer 20 l fassenden Motorrückenspritze in den Abendstunden zwischen 18.30 und 20.00, wobei pro Baum je nach Belaubungsdichte 0,5- 0,7 l auf

die Blattkrone aufgebracht wurden. Zwischen den insgesamt sechs Spritzungen wurde ein zeitlicher Abstand von durchschnittlich 14 Tagen eingehalten, der je nach Luftfeuchtigkeit, Niederschlagsmenge oder Trockenheit zwischen 9 und 20 Tagen schwankte. Während der gesamten Versuchsdauer von drei Monaten wurden Niederschläge bzw. Bewässerungsmaßnahmen bezüglich Menge und Qualität registriert und an Tagen, an denen Fungizidspritzungen erfolgten, wurden zusätzlich die Parameter Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit, Windstärke-/richtung, Bewölkung und etwaige zusätzliche Insektizidbehandlungen protokolliert. Nach der letzten Spritzung Ende der ersten Juliwoche unterblieben jegliche weitere Behandlungsmaßnahmen der Obstbäume. Die Ernte wurde Anfang September eingebracht, wobei die Gesamtmenge an Äpfel pro Baum gewogen, ausgezählt und anschließend makroskopisch einer Befallsbeurteilung unterzogen wurde. Als Kriterium für einen Befall wurden Schorfflecken ab einer Größe von 5 mm Durchmesser gerechnet.

In der Auswertung der Ergebnisse des ersten Jahres wurde die Anzahl der befallenen Äpfel mit der Gesamtstückzahl pro Sektor verglichen und die unbehandelte Kontrollgruppe einem Befall von 100 % bzw. einer Wirkung von 0 % gleichgesetzt (Tabelle 6).

Bei der im ersten Jahr ebenfalls durchgeführten Prüfung auf Blattschorf wurden zur Erntezeit pro Baum je 75 Blätter, entsprechend 300 Stück pro Behandlungsgruppe, aus unterschiedlicher Höhe gepflückt und mittels einer Stereolupe auf schorfbedingte Schadstellen und Sporenlager untersucht. Die befallene Blattfläche wurde in Relation zur durchschnittlichen Gesamtblattfläche gesetzt und die Gegebenheiten bei der Kontrollgruppe gleich 100 % Befall bzw. 0 % Wirkung gesetzt (Tabelle 7).

AT 000 359 U1

	Triflumizol/ β -CD-Komplex (0,01 % Wirkstoff)	Condor®+ Novit® fl. (0,035 % Wirkstoff)	Unbehandelte Kontrollgruppe
	Gruppe 204	Gruppe 203	Gruppe 104
Anzahl der Früchte	98	30	352
Anzahl der bef. Früchte	2	0	67
Befall in [%]	2,04	0	19,03
Wirkung in [%]	89,3	100,0	0,0
	Gruppe 304	Gruppe 301	
Anzahl der Früchte	164	120	
Anzahl der bef. Früchte	1	1	
Befall in [%]	0,61	0,83	
Wirkung in [%]	96,8	95,7	
	Gruppe 404	Gruppe 402	
Anzahl der Früchte	233	358	
Anzahl der bef. Früchte	4	0	
Befall in [%]	1,72	0,0	
Wirkung in [%]	91,0	100,0	
	Gesamtergebnis		
Anzahl der Früchte	495	508	352
Anzahl der bef. Fr.	7	1	67
Befall in [%]	1,41	0,20	19,03
Wirkung in [%]	92,6	98,6	0,0

Tabelle 6: Auswertung der Fruchtschorfzüchtung an Äpfeln, 1. Jahr

Die Wirkung Triflumizol als β -CD-Komplex ist trotz der geringen Dosierung von 0,01 % nur um 6 Prozentpunkte geringer als die Kombination von 0,0125 % Triflumizol und 0,0225 % Dodine in der Mischformulierung Condor®-Novit®.

AT 000 359 U1

	Triflumizol/β-CD-Komplex (0,01% Wirkstoff)	Condor® (0,0125% Wirkstoff)	Condor®+Novit® fl. (0,035% Wirkstoff)	
	Gruppe 102	Gruppe 101	Gruppe 104	Reihe 1: Arlat
Anzahl der Früchte	661	531	459	
Anzahl der bef. Früchte	9	20	1	
Befall in [%]	1,36	3,77	0,22	
	Gruppe 201	Gruppe 202	Gruppe 203	Reihe 2: Gold.D
Anzahl der Früchte	680	702	672	
Anzahl der bef. Früchte	8	12	4	
Befall in [%]	1,18	1,71	0,60	
	Gruppe 301	Gruppe 302	Gruppe 303	Reihe 3: Jonag.
Anzahl der Früchte	677	703	496	
Anzahl der bef. Früchte	10	21	0	
Befall in [%]	1,48	2,99	0	
	Gruppe 402	Gruppe 401	Gruppe 404	Reihe 4: Empire
Anzahl der Früchte	551	449	361	
Anzahl der bef. Früchte	7	0	6	
Befall in [%]	1,27	0	1,66	
	Gesamtergebnis			
Anzahl der Früchte	2569	2385	1988	
Anzahl der bef. Fr.	34	53	11	
Befall in [%]	1,32	2,22	0,55	

Tabelle 7: Auswertung der Fruchtschorfprüfung an Äpfeln, 2. Jahr

Den Ergebnissen der Versuchsreihe aus dem zweiten Jahr lagen Vergleiche der Wirkung von Triflumizol/β-CD-Komplex 0,1 %, Condor® 0,025 % und Condor®-Novit® fl. 0,025 % + 0,05 % zugrunde. Die aus Tabelle 6 ersichtlichen Resultate lassen erkennen, daß Triflumizol als Komplex mit β-CD in einer Konzentration von 0,01 % eine weit bessere Wirkung aufweist, als das entsprechende Handelsprodukt in einer um 25 % höheren Konzentration.

Um die gleiche Wirkung zu erzielen, die mit 0,0125 % Wirkstoff in der Formulierung des Handelsproduktes Condor® zu erreichen ist, würden statt 0,01 % lediglich 0,0074 % Triflumizol in der β-CD-

AT 000 359 U1

Formulierung ausreichen.

Für die gleiche Wirkung von 0,01 % Triflumizol als β -CD-Komplex wären 0,0135 % Triflumizol des Condor®-Präparates nötig.

Triflumizol zeigt in der β -CD-Formulierung eine um 34,55 % oder eine um den Faktor 1,3455 höhere Wirkung als im Handelsprodukt Condor®.

Im Vergleich zur Kombinationsformulierung Condor®-Novit®, die insgesamt 0,035 % fungizide Wirkstoffe enthält, ist Triflumizol als β -CD-Komplex um den Faktor 1,46 stärker wirksam.

Bei der Blattapplikation von Triflumizol in Form seines β -CD-Komplexes könnten mehr als ein Drittel an Substanz eingespart werden, was sowohl vom ökologischen wie vom ökonomischen Standpunkt aus ein sehr zufriedenstellendes Ergebnis ist.

Ansprüche:

1. Komplex, umfassend ein Conazol-Fungizid und ein Cyclodextrin.
2. Komplex nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Conazol-Fungizid Flutriafol ist.
3. Komplex nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Conazol-Fungizid Triflumizol ist.
4. Komplex nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Cyclodextrin β -Cyclodextrin ist.
5. Präparation, dadurch gekennzeichnet, daß sie auf Basis von einem oder mehreren der Komplexe gemäß den Ansprüchen 1 bis 4 zusammengesetzt ist.
6. Verfahren zum Herstellen eines Fungizid-Präparates auf Basis von Conazol-Fungiziden und Cyclodextrin, dadurch gekennzeichnet, daß ein oder mehrere Conazol-Fungizid(e) und ein oder mehrere Cyclodextrin(e) in Kontakt miteinander gebracht und sodann durch Lyophilisieren, Suspendieren, Präzipitieren, Verreiben, Kneten und/oder physikalisches Mischen vereinigt bzw. komplexiert werden.
7. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Kombination der Verfahrensschritte Suspendieren und Kneten umfaßt.
8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß eine Cyclodextrin-Suspension mit einer Lösung eines Conazol-Fungizides, welche Lösung vorzugsweise ein organisches Lösungsmittel umfaßt, gemischt wird, die erhaltene Suspension geknetet wird, bis ein verreibbares Produkt entstanden ist, und das entstandene, verreibbare Produkt verrieben und getrocknet wird.

AT 000 359 U1

- ✓ 8. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß Triflumizol als Conazol-Fungizid eingesetzt wird.
- ✓ 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß β -Cyclodextrin als Cyclodextrin eingesetzt wird.

AT 000 359 U1

1/5

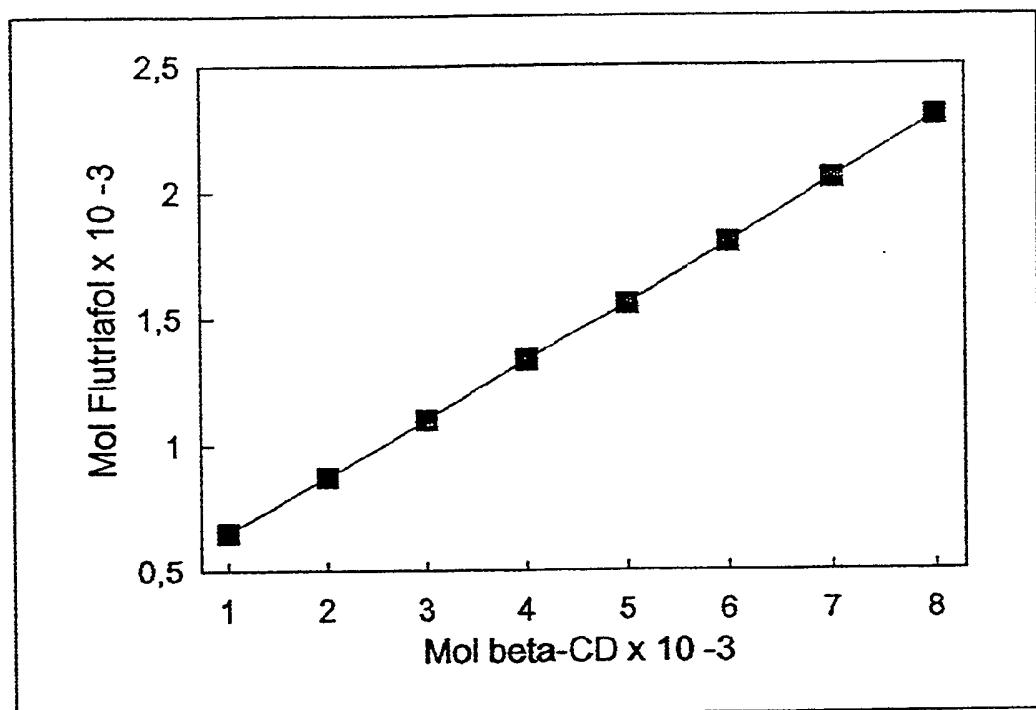


Fig.1

2/5

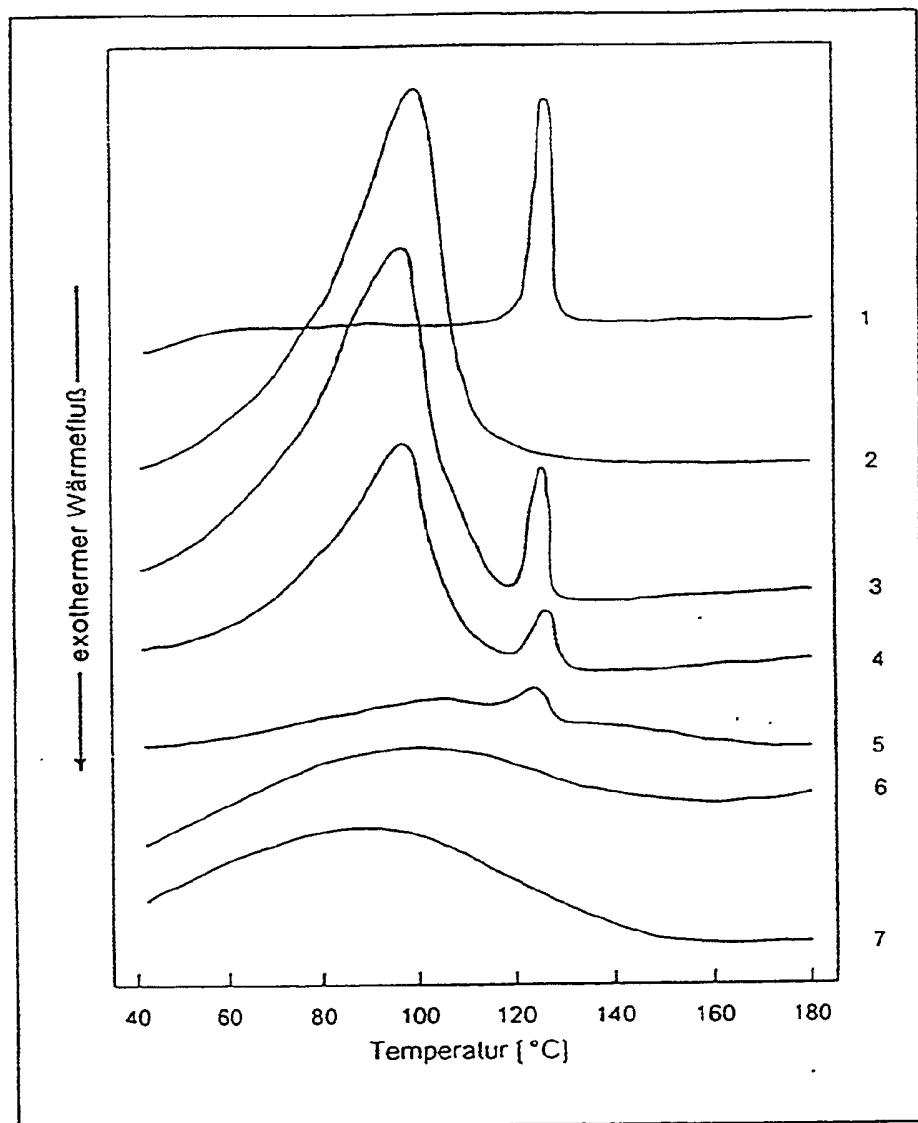


Fig.2

3 / 5

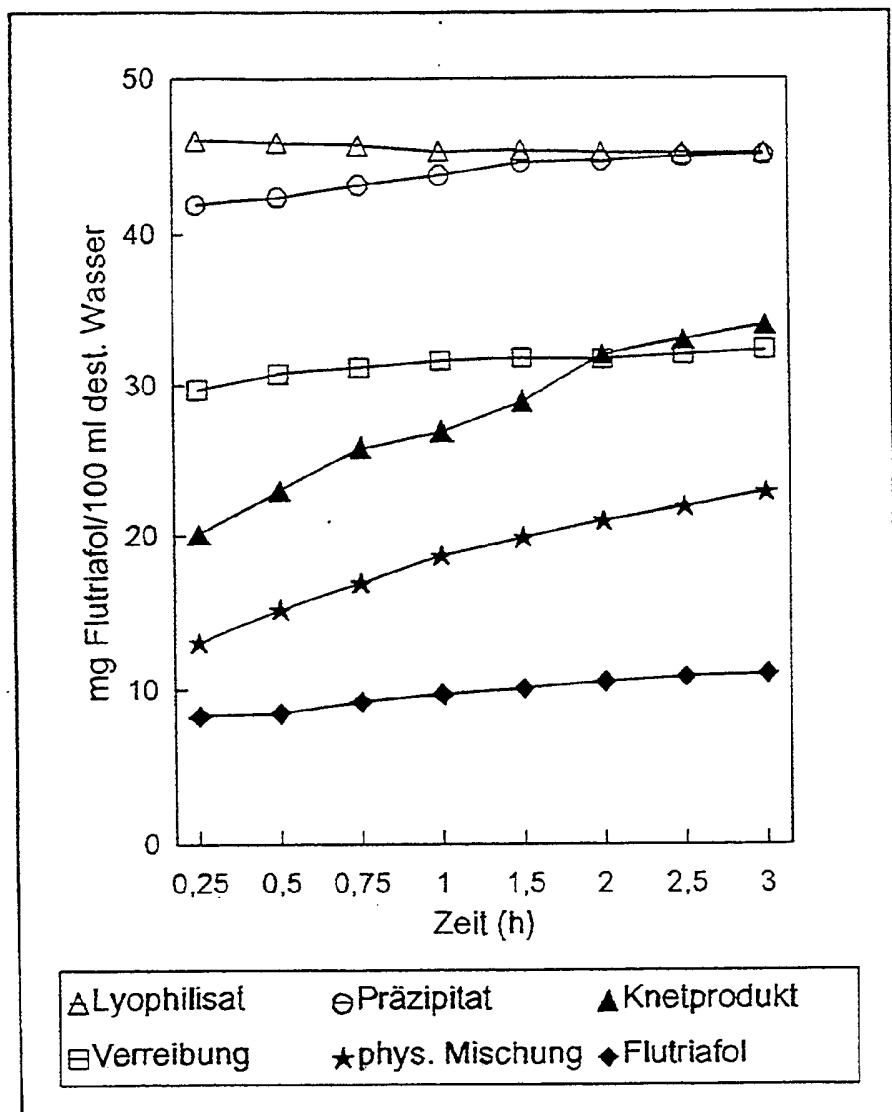


Fig.3

4 / 5

*...Obstbaum

Reihe 1: Sorte *Arlet*

				*	*	*
Gruppe 104						

Reihe 2: Sorte *Golden Delicius*

*	*	*	*	*	*	*
Gruppe 203				Gruppe 204		

Reihe 3: Sorte *Jonagold*

*	*	*	*	*	*	*
Gruppe 301				Gruppe 304		

Reihe 4: Sorte *Empire*

*	*	*	*	*	*	*
Gruppe 402				Gruppe 404		

Fig. 4.

*...Obstbaum

Reihe 1: Sorte Arlet

Reihe 2: Sorte *Golden Delicious*

Reihe 3: Sorte Jonagold

	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			
	Gruppe 301										Gruppe 302				Gruppe 303				Gruppe 304			

Reihe 4: Sorte Empire

Fig. 5



ÖSTERREICHISCHES PATENTAMT
Kohlmarkt 8-10
A-1014 Wien
Telefaxnr. (0043) 1-53424-520

AT 000 359 U1

Anmeldenummer:
GM 456/94

RECHERCHENBERICHT

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

A 01 N 43/90, 43/48, 43/64

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC)⁶

B. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 208 757 B1 (CHINOIN) 3. Juli 1991 (03.07.91) Siehe die Patentansprüche.	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.12, Nr. 312 (C-523) (3159) 1988 JP 63-83003 A (KAO CORP).	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.10, Nr. 63 (C-332) (2120) 1986 JP 60-202804 (SUMITOMO KAGAKU KOGYO K.K.).	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.8, Nr. 279 (C-257) (1716) 1984 JP 59-148708 A (KIYUUSHIYUU SANKIYOU K.K.).	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.8, Nr. 145 (C-232) (1582) 1984 JP 59-53401 A (HOKKO KAGAKU KOGYO K.K.).	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.7, Nr. 268 (C-197) (1413) JP 58-150577 A (TAKEDA YAKUHIN KOGYO K.K.).	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.7, Nr. 248 (C-193) (1393) JP 58-134004 A (KIYUUSHIYUU SANKIYOU K.K.).	1,3
A	Patent Abstracts of Japan, Bd.5, Nr. 24 (C-43) (696) JP 55-149204 A (BIHOU SHIYOUKAI K.K.).	1,3

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

" A " Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als bedeutsam anzusehen ist

" X " Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung bzw. der angeführte Teil kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

" Y " Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung bzw. der angeführte Teil kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

" & " Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Recherche

28. April 1995

Referent

Dr. Schnass e.h.