

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 N° de publication : **3 045 048**

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **15 62221**

⑤1 Int Cl⁸ : **C 07 D 335/06** (2016.01), A 01 N 43/18, A 01 P 11/00

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤4 STEREO-ISOMERE DE CONFIGURATION DE LA DIFETHIALONE, COMPOSITION ET APPAT RODONTICIDE LE COMPRENANT ET PROCEDE DE LUTTE CONTRE DES RON-GEURS CIBLES NUISIBLES.

②2 Date de dépôt : 11.12.15.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la demande : 16.06.17 Bulletin 17/24.

④5 Date de la mise à disposition du public du brevet d'invention : 05.04.19 Bulletin 19/14.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

○ Demande(s) d'extension : Polynésie-Fr

⑦1 Demandeur(s) : LIPHATECH Société par actions simplifiée —FR et

⑦2 Inventeur(s) : CARUEL HERVE, BENOIT ETIENNE, FOUREL ISABELLE et LATTARD VIRGINIE.

⑦3 Titulaire(s) : LIPHATECH Société par actions simplifiée, INSTITUT ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET RECHERCHE EN ALIMENTATION SANTE ANIMALE SCIENCES AGRONOMIQUES ET ENVIRONNEMENT (VET AGRO SUP).

⑦4 Mandataire(s) : CABINET BARRE LAFORGUE & ASSOCIES.

FR 3 045 048 - B1



STÉRÉO-ISOMÈRE DE CONFIGURATION DE LA DIFÉTHIALONE,
COMPOSITION ET APPÂT RODONTICIDE LE COMPRENANT ET
PROCÉDÉ DE LUTTE CONTRE DES RONGEURS CIBLES NUISIBLES

L'invention concerne un stéréo-isomère de configuration de
5 la diféthialone comme composé isolé, une composition et un appât rodenticide
comprenant un tel stéréo-isomère de configuration et un procédé de lutte contre
des rongeurs cibles nuisibles. L'invention concerne donc le domaine technique
de la lutte contre des populations de rongeurs cibles nuisibles.

Il est connu d'utiliser des poisons sous forme d'appâts
10 rodenticides contre des rongeurs cibles nuisibles. On sait de EP 2 090 164 que la
diféthialone est un anticoagulant de deuxième génération agissant à simple dose.
US 2005/181003 décrit un appât rodenticide sous forme de gel comprenant de la
diféthialone en proportion massique de 25 ppm.

Un tel appât est susceptible d'être consommé par des
15 animaux autres que des rongeurs cibles nuisibles lorsqu'il est mis à la disposition
de rongeurs cibles nuisibles. Il peut être consommé directement (consommation
primaire) par des animaux domestiques ou des animaux de compagnie. Il peut
aussi être consommé accidentellement par des humains. Une telle consommation
peut produire chez ces animaux domestiques, chez ces animaux de compagnie ou
20 chez des humains un empoisonnement qui peut être léthal.

En outre, une fraction de la diféthialone de ces appâts
rodenticides peut être ingérée (consommation secondaire) par des animaux
-notamment par des oiseaux- prédateurs de rongeurs nuisibles affaiblis ayant
consommé un tel appât rodenticide ou par des animaux charognards de rongeurs
25 nuisibles morts d'avoir consommé un tel appât rodenticide. Cette consommation
secondaire est susceptible d'entraîner à terme la mort de ces animaux prédateurs
ou charognards qui peuvent être des animaux -notamment des oiseaux-
appartenant à des espèces protégées.

L'invention vise donc à pallier ces inconvénients en
30 proposant un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, une composition
et un appât rodenticide comprenant un tel stéréo-isomère de configuration et un

procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles qui sont en même temps efficaces pour contrôler les populations de rongeurs cibles nuisibles et qui permettent aussi de limiter les risques d'empoisonnement d'animaux non-cibles -notamment des animaux domestiques ou d'élevage, des animaux de compagnie
5 ou des humains- consommant accidentellement un tel appât rodenticide.

L'invention vise donc à pallier ces inconvénients en proposant un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, une composition et un appât rodenticide comprenant un tel stéréo-isomère de configuration et un
10 procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles qui sont en même temps efficaces pour contrôler les populations de rongeurs cibles nuisibles et qui permettent aussi de limiter les risques d'empoisonnement secondaire d'animaux - par exemple de renards ou d'oiseaux- sauvages prédateurs de rongeurs cibles nuisibles affaiblis ayant consommé de l'appât rodenticide ou d'animaux sauvages charognards de rongeurs cibles nuisibles morts empoisonnés.

L'invention vise aussi à proposer un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, une composition et un appât rodenticide comprenant un tel stéréo-isomère de configuration et un procédé de lutte contre
15 des rongeurs cibles nuisibles dont la mise en œuvre est en accord avec les règles de bon usage -notamment vis à vis de la protection des oiseaux, et en particulier des rapaces-.

L'invention vise aussi à proposer un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, une composition et un appât rodenticide comprenant un tel stéréo-isomère de configuration et un procédé de lutte contre
20 des rongeurs cibles nuisibles qui ne nécessitent pas, pour contrôler une population de rongeur cibles nuisibles, d'utiliser un agent rodenticide à forte dose et qui sont respectueux de l'environnement, de la santé humaine et des animaux non cibles -notamment des oiseaux-.

L'invention vise aussi à proposer un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, une composition et un appât rodenticide
30 comprenant un tel stéréo-isomère de configuration et un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles qui sont susceptibles d'être utilisés pour lutter

contre des rongeurs cibles nuisibles résistants à des appâts connus de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles.

L'invention vise donc à proposer une alternative à des appâts rodenticides connus.

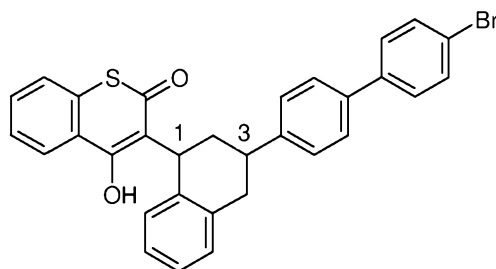
5 Pour ce faire, l'invention concerne un énantiomère dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue.

10

Dans tout le texte :

- le terme « diféthialone » désigne le composé 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène ou 3-[3-[4-(4-bromophényl)phenyl]-1-tétraliny]-2-hydroxy-4-thiochroménone ou 3-[3-(4'-bromo[1,1'-biphényl]-4-yl)-1,2,3,4-tétrahydro-1-naphthalényl]-4-hydroxy-2H-1-benzothiopyran-2-one de formule (I) ci-après :

15



(I) ;

dans laquelle sont présentés les numéros des carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène ;

20 - le terme « stéréo-isomères » désigne des isomères de même formule semi-développée, mais dont la position relative des atomes diffère dans l'espace. L'expression « stéréo-isomères de configuration » désigne des stéréo-isomères dont la conversion de l'un en l'autre de ces stéréo-isomères de configuration nécessite une rupture/reformation d'une liaison covalente interatomique. Ainsi,

25 l'expression « stéréo-isomères de configuration » désigne des stéréo-isomères qui ne sont pas des isomères de conformation (ou « rotamères », dont la conversion de l'un en l'autre des isomères de conformation s'accompagne uniquement d'une

rotation d'une partie de la molécule selon l'axe d'une liaison σ (sigma) formée par recouvrement axial d'orbitales) ;

5 - le terme « hétéro-stéréo-isomère » de la diféthialone désigne le stéréoisomère de configuration de la diféthialone de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit hétéro-stéréoisomère sont de configurations absolues distinctes (c'est-à-dire 1S-3R et 1R-3S), les configurations absolues étant déterminées selon les règles séquentielles de priorité et la nomenclature de Cahn, Ingold et Prelog (CIP) ;

10 - le terme « homo-stéréo-isomère » de la diféthialone désigne le stéréoisomère de configuration de la diféthialone de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréoisomère sont de même configuration absolue (c'est-à-dire 1S-3S et 1R-3R) ;

15 - le terme « quantité » s'entend d'une quantité molaire, d'une quantité massique ou d'une quantité volumique. Les proportions sont donc des proportions d'une quantité molaire rapportée à une quantité molaire, d'une quantité massique rapportée à une quantité massique, ou d'une quantité volumique rapportée à une quantité volumique ;

20 - le terme « sensiblement » indique, de façon habituelle, qu'une caractéristique structurelle ou fonctionnelle ne doit pas être prise comme marquant une discontinuité abrupte, qui n'aurait pas de sens physique, mais couvre non seulement cette structure ou cette fonction, mais également des variations légères de cette structure ou de cette fonction qui produisent, dans le
25 contexte technique considéré, un effet de même nature, sinon de même degré ;

- les expressions « chromatographie liquide à haute pression » ou « chromatographie liquide à haute performance » (« CLHP ») désignent la chromatographie « HPLC » ou « *High Performance Liquid Chromatography* », et ;

- l'expression « temps de rétention » désigne la durée, mesurée au sommet du pic de chromatogramme, pendant laquelle un composé est retenu sur une colonne de chromatographie.

L'invention concerne l'énantiomère dextrogyre dudit
5 homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Elle concerne l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone à l'état isolé et en particulier séparé de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et des énantiomères lévogyre et dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la
10 groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène sont de configurations absolues distinctes.

Les inventeurs ont découvert qu'il est possible de séparer les énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et les énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit hétéro-stéréo-
15 isomère de la diféthialone par chromatographie liquide à haute pression en mode isocratique et dans des conditions particulières en utilisant une colonne de chromatographie comprenant une phase stationnaire chirale. Il n'était en effet pas connu au jour de l'invention de pouvoir séparer les stéréo-isomères de configuration de la diféthialone et notamment l'énantiomère lévogyre et
20 l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

Les inventeurs ont réussi à réaliser cette séparation en choisissant une colonne pour chromatographie particulière HPLC LUX[®] Cellulose-3 (phenomenex, Le Pecq, France) de dimension 150 x 2 mm et comprenant une phase stationnaire chirale constituée de particules poreuses de
25 cellulose tris(4-méthylbenzoate), d'une granulométrie de 3 µm et d'une porosité de 1000 Å. Ils ont utilisé, à titre de phase mobile, un éluant formé d'un mélange d'acétonitrile (A) et d'eau comprenant de l'acide formique en proportion volumique de 0,1% dans l'eau (B) avec un rapport volumique A/B de 80/20. Le débit de la phase mobile dans la colonne est maintenu à une valeur de 0,25
30 mL/min et la séparation est réalisée à la température 23,2°C. La composition à analyser est à une concentration de 1 µg de diféthialone par millilitre dans

l'acétonitrile et le volume injecté sur la colonne est de 1 μ L. La détection peut être effectuée par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). La détection peut aussi être effectuée par photométrie ou par spectrophotométrie en ajustant la concentration en diféthialone et le volume d'injection aux fins d'obtenir une

5 détection optimale et en mesurant la valeur de l'aire sous le pic de chaque stéréoisomère de configuration.

Dans ces conditions expérimentales, la valeur du temps de rétention (t_4) de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréoisomère selon l'invention peut varier selon les conditions opératoires -notamment selon les

10 conditions de température de la colonne- et être comprise entre 14,0 min et 14,4 min. La valeur du temps de rétention (t_1) de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréoisomère peut varier selon les conditions opératoires -notamment selon les conditions de température de la colonne- et être comprise entre 7,8 min et 8,2 min, de sorte que les énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréoisomère peuvent être séparés par chromatographie liquide à haute pression sur

15 une colonne chirale.

Dans ces mêmes conditions expérimentales, la valeur du temps de rétention (t_3) de l'énantiomère dextrogyre dudit hétéro-stéréoisomère de la diféthialone peut varier selon les conditions opératoires -notamment selon

20 les conditions de température de la colonne- et être comprise entre 11,3 min et 11,8 min. La valeur du temps de rétention (t_2) de l'énantiomère lévogyre dudit hétéro-stéréoisomère de la diféthialone peut varier selon les conditions opératoires -notamment selon les conditions de température de la colonne- et être comprise entre 9,0 min et 9,5 min.

Ainsi, dans ces conditions analytiques, l'ordre d'élution des stéréoisomères de configuration de la diféthialone est tel que $t_1 < t_2 < t_3 < t_4$. Les valeurs des temps de rétention t_1 , t_2 , t_3 et t_4 sont susceptibles de varier, notamment avec la température de la colonne de chromatographie. Cependant, dans ces conditions chromatographiques, l'ordre d'élution des stéréoisomères de

25 configuration de la diféthialone reste inchangé.

30

L'invention concerne donc l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone à l'état isolé et présentant la propriété de pouvoir être élué, dans les conditions de chromatographie décrites ci-dessus, le dernier parmi les quatre stéréo-isomères de configuration de la diféthialone.

5 L'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone isolé à l'état pur selon l'invention, mis en solution dans du méthanol à une concentration de 0,96 g/L et placé dans une cuve en quartz pour spectrophotomètre, présente un spectre de dichroïsme circulaire réalisé à 25°C de valeurs de dichroïsme circulaire positives entre 220 nm et 300 nm.

10 L'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone isolé à l'état pur selon l'invention, en solution dans le chloroforme (CHCl_3) présente un pouvoir rotatoire spécifique $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25^\circ\text{C}}$ mesuré à 25°C et sur la raie D du sodium (589 nm) d'une valeur de +19,9°.

L'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la
15 diféthialone isolé à l'état pur selon l'invention présente en spectroscopie par résonance magnétique ($^1\text{H-RMN}$) du proton à 500 MHz dans CDCl_3 un multiplet présentant un déplacement chimique (δ) compris entre 4,9 ppm et 5,1 ppm correspondant au proton porté par le carbone 1 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

20 On distingue ledit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone et ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par leurs spectres RMN du proton. Sur le spectre RMN du proton réalisé dans CDCl_3 , le déplacement chimique du proton porté par le carbone 1 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone est de l'ordre
25 de 5,3 ppm.

L'invention concerne aussi une composition comprenant de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone selon l'invention, à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, c'est-à-dire d'un mélange
30 optiquement inactif de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la

diféthialone.

L'invention concerne donc aussi une composition comprenant un énantiomère dextrogyre du stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-
5 (4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue, à l'exclusion d'un mélange dans lequel l'énantiomère dextrogyre et l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone sont en même quantité.

10 Avantageusement et selon l'invention, ledit homo-stéréo-isomère est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre.

Dans tout le texte, l'expression « ledit homo-stéréo-isomère est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre » signifie que la quantité (massique, molaire ou volumique) d'énantiomère dextrogyre dudit
15 homo-stéréo-isomère de la diféthialone est majoritaire -supérieure à 50 %- dans la totalité dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone présente dans la composition (sous toutes ses formes énantiomères dextrogyre et lévogyre), c'est-à-dire que la quantité (massique, molaire ou volumique) d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition est
20 telle que le rapport de cette quantité sur la quantité (totale) dudit homo-stéréo-isomère dans la composition est supérieur à 50%.

En particulier, dans une composition selon l'invention :

- le rapport de la quantité d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone sur la somme des quantités de chacun des
25 énantiomères (dextrogyre et lévogyre) dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est supérieur à 0,5 (supérieur à 50 %) ;

- le rapport de la concentration d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone sur la somme des concentrations de chacun des énantiomères (dextrogyre et lévogyre) dudit homo-stéréo-isomère de la
30 diféthialone est supérieur à 0,5 (supérieur à 50 %), et ;

- la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition est supérieure à la proportion de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

Avantageusement et selon l'invention, la composition
5 comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité totale dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition est supérieur à 50%, notamment supérieur à 60%, en particulier supérieur à 70%, plus particulièrement supérieur à 80%, de préférence supérieur à 90%, plus
10 préférentiellement supérieur à 95%, particulièrement préférentiellement supérieur à 98%, encore plus préférentiellement supérieur à 99% ou de l'ordre de 100%. Avantageusement, elle comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité totale dudit homo-stéréo-isomère de la
15 diféthialone dans la composition est compris entre 85 % et 100 %, plus préférentiellement compris entre 90 % et 98 %. Avantageusement, elle comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité totale dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition
20 est compris entre 98 % et 100 %.

Avantageusement, la composition peut aussi comprendre de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, mais avec une proportion dans la composition qui est inférieure à 50 % -notamment inférieure à 25 %, préférentiellement comprise entre 0 % et 25 %, en particulier
25 inférieure à 10 %- par rapport à l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

Avantageusement et selon l'invention, la diféthialone est majoritairement sous forme de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. La composition comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la
30 composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de chacun des énantiomères (dudit hétéro-stéréo-isomère et dudit homo-stéréo-isomère) de la

diféthialone est supérieur à 25%.

Avantageusement, dans une composition selon l'invention :

- le rapport de la quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone sur la somme des quantités de chacun des
5 énantiomères dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et de chacun des énantiomères dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone est supérieure à 0,25 (supérieur à 25 %) ;

- le rapport de la concentration de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone rapportée à la somme des concentrations de
10 chacun des énantiomères dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et de chacun des énantiomères dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone est supérieure à 0,25 (supérieur à 25 %), et ;

- la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition est supérieure à la proportion de chacun des
15 énantiomères dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone. Dans une composition selon l'invention, la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est de plus de 25 % par rapport à la diféthialone (totale).

Avantageusement et selon l'invention, la composition
20 comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone totale dans la composition est supérieur à 25% -notamment supérieur à 50%, en particulier supérieur à 70%, plus particulièrement supérieur à 80%, de préférence supérieur à 90%,
25 particulièrement préférentiellement supérieur à 95%, plus préférentiellement supérieur à 98%, encore plus préférentiellement supérieur à 99% ou de l'ordre de 100%-. Une composition selon l'invention, comprend donc de la diféthialone majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

30 Avantageusement, la composition comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone telle

que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone totale est supérieur à 70 %, de préférence compris entre 80 % et 100 %, plus préférentiellement compris entre 90 % et 100 %. Avantageusement, la composition comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-
5 stéréo-isomère de la diféthialone telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone totale est compris entre 95 % et 99 %. Avantageusement, elle comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone totale est compris entre 98% et 100 %.
10 Avantageusement, la composition comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone totale est sensiblement de l'ordre de 100 %.

Avantageusement et selon l'invention, la composition
15 comprend une quantité de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone totale dans la composition est supérieur à 97%.

Une composition selon l'invention peut être sensiblement exempte d'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, c'est à dire que l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la
20 diféthialone peut être présent dans la composition mais uniquement à l'état de traces. Elle peut aussi être sensiblement exempte dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone c'est à dire que ledit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone peut être présent dans la composition mais uniquement à l'état de traces.

Avantageusement et selon l'invention, la composition est à
25 l'état liquide et comprend un solvant liquide de la diféthialone. Il peut s'agir d'une solution de diféthialone dans un solvant de la diféthialone, à l'exclusion d'un mélange racémique desdits énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Il peut aussi s'agir d'une solution
30 comprenant de la diféthialone dans un solvant de la diféthialone et dans laquelle ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est majoritairement sous forme

diféthialone. Le rongeur cible nuisible mort ou vif ayant ingéré l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est donc peu toxique vis-à-vis de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux consommant le rongeur cible nuisible -mort ou vif- et en particulier vis-à-vis de prédateurs (notamment de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux) qui consomment préférentiellement les viscères de leurs proies et en particulier leur foie.

Les inventeurs ont aussi observé que l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, bien que présentant une faible rémanence hépatique chez des rongeurs cibles nuisibles, permet en fait, et de façon totalement surprenante à ce jour, de lutter efficacement contre des rongeurs cibles nuisibles.

Avantageusement et selon l'invention, l'appât rodenticide comprend une quantité massique de diféthialone telle que le rapport (proportion massique) de cette quantité massique de diféthialone sur la quantité massique d'appât rodenticide est inférieur à 200 ppm -c'est-à-dire inférieur à 200 mg de diféthialone par kilogramme d'appât-. Avantageusement, la proportion massique de la diféthialone dans l'appât rodenticide est comprise entre 1 ppm et 100 ppm (1 mg à 100 mg de diféthialone par kilogramme d'appât rodenticide), notamment comprise entre 5 ppm et 100 ppm (5 mg à 100 mg de diféthialone par kilogramme d'appât rodenticide), de préférence comprise entre 5 ppm et 50 ppm (5 mg à 50 mg de diféthialone par kilogramme d'appât rodenticide), plus préférentiellement comprise entre 10 ppm et 50 ppm (10 mg à 50 mg de diféthialone par kilogramme d'appât rodenticide), encore plus préférentiellement comprise entre 15 ppm et 50 ppm (15 mg à 50 mg de diféthialone par kilogramme d'appât rodenticide), par exemple de l'ordre de 15 ppm (15 mg de diféthialone par kilogramme d'appât).

Avantageusement et selon l'invention, l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des graines de céréale -notamment des graines de céréale décortiquées-, des moutures de graines de céréale, des farines de graines de céréale, des flocons de graines de céréale, du son de céréales et des graines non céréalières, par exemple des

d'arachides, huile de maïs, huile de palme), des graisses animales et des huiles animales (beurre, saindoux, huile de poisson).

Avantageusement, l'aliment est choisi dans le groupe formé des protéines d'origine végétale et des protéines d'origine animale. À titre
 5 d'exemple, on peut citer par exemple le lait en poudre -notamment le lait écrémé en poudre-, les œufs -notamment les œufs en poudre-, les hydrolysats de protéines d'origine animale et les hydrolysats de protéines d'origine végétale.

L'excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles est choisi pour permettre une consommation de l'appât par des rongeurs cibles
 10 nuisibles. Avantageusement et selon l'invention, chaque excipient comestible est non létal pour des rongeurs cibles nuisibles. L'excipient comestible n'est pas rodenticide en lui-même.

Avantageusement et selon l'invention, l'appât rodenticide est choisi dans le groupe formé des appâts solides comprenant de la diféthialone
 15 et un excipient comestible solide. Avantageusement, l'appât rodenticide est un solide à l'état divisé, par exemple sous forme de boulettes ou de granulés. Avantageusement, l'appât rodenticide peut être un solide sous forme de bloc ou de pâte susceptibles d'être consommés par les rongeurs cibles nuisibles ou d'un matériau solide susceptible d'être rongé par les rongeurs cibles nuisibles.
 20 Avantageusement, l'appât rodenticide solide selon l'invention peut se présenter sous forme d'un bloc rigide, d'un bloc semi-rigide, d'une mousse, d'une poudre ou d'un gel.

Avantageusement, l'appât rodenticide se présentant sous forme d'une poudre, sous forme d'une mousse ou sous forme d'un gel est adapté
 25 pour pouvoir souiller la fourrure du(de) rongeur(s) cible(s) nuisible(s) et pour pouvoir être ingérée par celui(ceux)-ci lors de son(leur) toilettage.

Il peut s'agir d'un appât rodenticide solide comprenant de la diféthialone, à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Il peut aussi s'agir d'un
 30 appât rodenticide solide comprenant de la diféthialone et dans lequel ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère

dextrogyre. Il peut aussi s'agir d'un appât rodenticide solide comprenant de la diféthialone dans lequel la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

Avantageusement et selon l'invention, l'appât rodenticide
5 est choisi dans le groupe formé des appâts liquides comprenant de la diféthialone et un excipient comestible liquide. L'appât rodenticide est alors une boisson pour des rongeurs cibles nuisibles.

Avantageusement et selon l'invention, l'appât rodenticide
est choisi dans le groupe formé des appâts liquides comprenant de la diféthialone
10 et un excipient comestible liquide. L'appât rodenticide est alors une boisson pour des rongeurs cibles nuisibles. Il peut s'agir d'une solution de diféthialone dans un solvant de la diféthialone, à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Il peut aussi s'agir d'une solution de diféthialone dans un solvant de la diféthialone et dans
15 laquelle ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre. Il peut aussi s'agir d'une solution de diféthialone dans un solvant de la diféthialone et dans laquelle la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Il peut aussi s'agir d'une suspension ou d'une
20 émulsion de diféthialone dans un milieu liquide.

L'invention concerne donc aussi un appât rodenticide dans lequel la diféthialone est optiquement active. Il n'est cependant pas exclu que la diféthialone de l'appât rodenticide selon l'invention soit optiquement inactive.

Avantageusement, l'appât rodenticide comprend au moins
25 un colorant. Un tel colorant permet en particulier de donner audit appât rodenticide une couleur aisément détectable et identifiable par une personne manipulant l'appât rodenticide.

Avantageusement, l'appât rodenticide comprend au moins un conservateur apte à assurer sa conservation lors de son stockage.
30 Avantageusement, l'appât rodenticide comprend au moins un composé amérisant de type benzoate de dénatonium, aussi connu sous le nom de « Bitrex[®] » destiné

à réduire les risques de consommation accidentelle par des organismes non cibles.

Avantageusement, dans une variante particulière, la composition et l'appât rodenticide selon l'invention comprennent exclusivement de la diféthialone -dans laquelle l'homo-stéréo-isomère n'est pas un mélange racémique- à titre de substance rodenticide. En particulier, la composition et l'appât rodenticide selon l'invention sont exempts de toute autre substance anticoagulante à usage rodenticide. Cependant, dans cette variante selon l'invention, la composition et l'appât rodenticide peuvent comprendre toute substance anti-nuisible autre qu'un rodenticide, telle qu'une substance insecticide et/ou acaricide.

Avantageusement, dans une autre variante particulière, la composition et l'appât rodenticide selon l'invention comprennent de la diféthialone à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère et au moins une autre substance distincte de la diféthialone à titre de substance rodenticide. Cette autre substance rodenticide distincte de la diféthialone peut être une autre substance anticoagulante -notamment du type anti-vitamine K ou non- ou une autre substance rodenticide non anticoagulante.

L'invention concerne aussi un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles dans lequel on dissémine une quantité d'appât rodenticide comprenant :

- au moins un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles, et ;
 - de l'énantiomère dextrogyre du stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue ;
- à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

L'invention concerne aussi un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles dans lequel on dissémine une quantité d'appât rodenticide selon l'invention, ladite quantité d'appât étant suffisante pour être rodenticide.

5 On dissémine donc une quantité d'appât rodenticide comprenant dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre, présentant une rémanence hépatique diminuée chez le rongeur cible nuisible et, de façon surprenante, une efficacité rodenticide au moins maintenue. Le procédé selon l'invention permet donc de limiter
10 l'empoisonnement secondaire de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux susceptibles de s'alimenter avec des rongeurs empoisonnés morts ou vifs mais comprenant une quantité réduite -et notamment une quantité non létale- de diféthialone. Le procédé selon l'invention permet aussi de limiter un tel empoisonnement secondaire de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux
15 susceptibles de consommer préférentiellement les viscères -en particulier le foie- desdits rongeurs empoisonnés morts ou vifs.

Avantageusement et selon l'invention, ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre. Avantageusement et selon l'invention la diféthialone est
20 majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

Avantageusement et en variante selon l'invention, on choisit en combinaison :

- l'excipient comestible ;
- 25 - une proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;
- une proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à la diféthialone ;
- une proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât
30 rodenticide, et ;
- une quantité d'appât disséminé ;

de façon que des rongeurs cibles nuisibles consomment une quantité de diféthialone suffisante pour être létale pour lesdits rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât au cours d'une période unique de 24 heures consécutives.

5 Un appât rodenticide selon cette variante de l'invention est un appât mortel en une seule prise ou « *one-shot* » en anglais. Avantageusement et selon cette variante de l'invention, la proportion massique de diféthialone dans l'appât rodenticide est comprise entre 2 ppm et 200 ppm, notamment comprise entre 5 ppm et 100 ppm, de préférence comprise entre 10 ppm et 50 ppm, plus
10 préférentiellement comprise entre 15 ppm et 50 ppm.

Avantageusement et dans une autre variante selon l'invention, on choisit en combinaison :

- l'excipient comestible ;
- une proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère
15 de la diféthialone par rapport à l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;
- une proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât rodenticide, et ;
- une quantité d'appât disséminé ;

de façon que des rongeurs cibles nuisibles consomment une quantité de
20 diféthialone ;

- non létale pour des rongeurs cibles nuisibles, c'est-à-dire généralement non létale pour les rongeurs cibles nuisibles, consommant dudit appât pendant une période de 24 heures consécutives, et ;
- suffisante pour être létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant
25 dudit appât pendant plusieurs périodes de 24 heures.

Avantageusement, les périodes de 24 heures sont consécutives.

Cette autre variante de l'invention vise donc aussi un
procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles dans lequel on dissémine
30 une quantité d'appât rodenticide létale pour les rongeurs cibles nuisibles consommant durablement cet appât rodenticide et non létale pour des rongeurs

ou des animaux non cibles consommant accidentellement cet appât rodenticide. On parle alors d'un procédé de lutte « multi-doses » ou, en anglais, « *multi-feeding* ». Dans un tel procédé selon l'invention, la consommation d'appât rodenticide par un rongeur cible nuisible pendant une durée de 24 heures est
5 généralement insuffisante pour entraîner la mort dudit rongeur, alors qu'une consommation répétée d'appât rodenticide pendant au moins deux jours permet d'entraîner la mort du rongeur cible nuisible.

L'invention vise donc un procédé de lutte contre une population de rongeurs cibles nuisibles dans lequel on met à disposition des
10 rongeurs cibles nuisibles une quantité d'appât rodenticide susceptible d'être ingérée par les rongeurs cibles nuisibles, ladite quantité d'appât rodenticide étant suffisante pour tuer des rongeurs cibles nuisibles consommant ledit appât rodenticide pendant plusieurs jours.

Avantageusement, dans cette autre variante de l'invention,
15 on dissémine une quantité d'appât rodenticide de façon que des rongeurs cibles nuisibles consomment une quantité de diféthialone suffisante pour être létale pour lesdits rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât pendant plusieurs périodes de 24 heures, lesdites périodes étant consécutives.

Avantageusement et dans cette autre variante selon
20 l'invention la proportion massique de diféthialone est comprise entre 5 ppm et 50 ppm, notamment comprise entre 5 ppm et 30 ppm -notamment de l'ordre de 15 ppm- par rapport à l'appât rodenticide.

Avantageusement, on adapte la quantité d'appât rodenticide disséminé, la proportion massique de diféthialone par rapport à
25 l'appât rodenticide et la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréoisomère de la diféthialone par rapport à la diféthialone pour que la consommation de l'appât rodenticide soit létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant quotidiennement de l'appât pendant au moins 2 périodes de 24 heures -notamment de 3 à 7 périodes-, au moins deux -notamment toutes les- périodes
30 étant consécutives.

Avantageusement, dans cette autre variante d'un procédé selon l'invention, la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone étant supérieure à 95% -notamment de l'ordre de 100%- par rapport à la diféthialone, la proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât rodenticide est comprise entre 5 ppm et 50 ppm -notamment de l'ordre de 15 ppm-.

Dans un procédé selon l'invention, on met à disposition des rongeurs cibles nuisibles une quantité d'appât rodenticide suffisante pour satisfaire quotidiennement l'appétit des rongeurs cibles nuisibles, ledit appât rodenticide comprenant une proportion majoritaire d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

Dans un procédé selon l'invention, on adapte la quantité d'appât rodenticide disséminé, la proportion de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à la diféthialone et la proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât rodenticide de façon à permettre une consommation d'appât rodenticide pendant plusieurs jours par des rongeurs cibles nuisibles, tout en limitant :

- les risques d'intoxication primaire de mammifères et oiseaux non cibles susceptibles de ne consommer qu'occasionnellement et accidentellement un tel appât rodenticide ;

- les risques d'intoxication secondaire, par exemple des prédateurs des rongeurs cibles, susceptibles de consommer des rongeurs -morts ou vifs- cibles ayant ingéré une quantité dudit appât.

Avantageusement et selon l'invention, on adapte la quantité d'appât disséminé, la proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât et la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone pour limiter la quantité de diféthialone (totale) dans le foie des rongeurs morts par consommation dudit appât.

L'invention concerne aussi un procédé chromatographique d'obtention d'un énantiomère dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl)-4-

yl)-1-(4-hydroxythio coumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue, procédé dans lequel :

5 - on choisit une colonne pour chromatographie liquide à haute pression de dimensions 150 x 2 mm, et comprenant une phase stationnaire chirale constituée de particules de cellulose tris(4-méthylbenzoate), lesdites particules étant d'une taille moyenne de 3 μm et présentant une taille moyenne de pores de 1000 Å ;

10 - on choisit, à titre de phase mobile liquide, un mélange formé d'acétonitrile (A) et d'eau comprenant 0,1% en volume d'acide formique (B), avec un rapport volumique A/B de 80/20 et avec un débit de la phase mobile liquide dans la colonne de chromatographie de 0,25 mL/min ;

- on réalise une séparation des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone à température ambiante lors de laquelle ;

15 - on introduit en tête de la colonne pour chromatographie une composition liquide comprenant dudit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, puis ;

20 - on entraîne la composition liquide avec la phase mobile dans la colonne pour chromatographie dans des conditions propres à séparer les stéréo-isomères de configuration de la diféthialone, et ;

25 - on collecte une fraction de la phase mobile comprenant ledit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone avec un temps de rétention t_4 de valeur telle que $t_1 < t_2 < t_3 < t_4$; t_1 , t_2 et t_3 représentant les temps de rétention de chacun des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone distincts de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, séparément d'un énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone de temps de rétention t_1 et séparément des énantiomères lévogyre et dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit hétéro-stéréo-isomère, dans lequel les carbones 1 et 3 du
30 groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit hétéro-stéréo-isomère sont de configurations absolues distinctes, et de temps de rétention t_2 et t_3 , puis ;

- on élimine la phase mobile liquide de ladite fraction de façon à obtenir ledit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

L'invention concerne aussi ledit énantiomère dextrogyre
5 dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone obtenu par un procédé selon l'invention.

L'invention concerne également un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, un procédé d'obtention d'un tel stéréo-isomère de configuration, une composition comprenant un tel stéréo-isomère de
10 configuration, un appât rodenticide et un procédé de lutte contre les rongeurs cibles nuisibles caractérisés en combinaison par tout ou partie des caractéristiques mentionnées ci-dessus ou ci-après.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description suivante et des exemples donnés à titre
15 uniquement non limitatif et qui se réfèrent aux figures annexées, dans lesquelles :

- la figure 1 est un chromatogramme d'analyse par chromatographie liquide à haute pression sur une colonne chirale de la diféthialone (haut) et de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone purifié (bas) ;
- 20 - la figure 2 est un spectre de RMN du proton à 300 MHz dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;
- la figure 3 est un spectre de RMN du proton à 300 MHz dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone ;
- la figure 4 est un spectre de RMN du proton à 500 MHz de
25 l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone selon l'invention ;
- la figure 5 est un spectre de RMN du carbone ^{13}C à 500 MHz de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;
- la figure 6 est une analyse par spectroscopie de corrélation en RMN
30 du proton (^1H -RMN) à 500 MHz de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;

– la figure 7 est un spectre de dichroïsme circulaire de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;

– la figure 8 est une représentation graphique de l'évolution temporelle de la concentration hépatique chez des rats (mâles et femelles) de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone (●) et de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone (○) ;

– la figure 9 est une représentation graphique de l'évolution temporelle de la concentration hépatique chez des rats (mâles et femelles) de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone (●), dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone (□) et dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone (■), et ;

– la figure 10 est une représentation graphique de l'évolution temporelle de la concentration hépatique moyenne chez des rats de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone (●) et de la diféthialone totale (△).

A. Purification de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone isolé

A.1. Identification dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone

On identifie l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone par spectroscopie par résonance magnétique ($^1\text{H-RMN}$) du proton. L'homo-stéréo-isomère de la diféthialone en solution dans CDCl_3 présente un multiplet à un déplacement chimique (δ) compris entre 4,9 ppm et 5,1 ppm et correspondant au proton porté par le carbone 1 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène de la diféthialone comme illustré en figure 2.

Il est possible de distinguer l'hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone et l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone par leurs spectres RMN du proton. Sur le spectre RMN du proton réalisé dans CDCl_3 , le déplacement chimique du proton porté par le carbone 1 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone (figure 3) est compris entre 5,2 ppm et 5,4 ppm.

A.2. Séparation des énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par chromatographie liquide à haute pression sur une colonne chirale

Les inventeurs ont résolu le problème complexe et non résolu à ce jour de la séparation des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone et en particulier des énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Ils sont parvenus à réaliser une séparation des énantiomères dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par chromatographie liquide à haute pression (haute performance) sur une colonne LUX[®] Cellulose-3 (Phenomenex, Le Pecq, France) de dimension 150 x 2 mm et comprenant une phase stationnaire chirale constituée de particules poreuses de cellulose tris(4-méthylbenzoate), d'une granulométrie de 3 µm et d'une porosité de 1000 Å et en utilisant, à titre de phase mobile, un mélange formé de d'acétonitrile (A) et d'eau comprenant de l'acide formique en proportion volumique de 0,1% (B), la proportion volumique A/B étant de 80/20. Le débit de la phase mobile dans la colonne est de 0,25 mL/min et la séparation est réalisée à la température de 23,2°C. La solution contenant l'échantillon à analyser est à une concentration de 1 µg de diféthialone par millilitre dans l'acétonitrile et est filtrée sur une membrane de cellulose régénérée de seuil de coupure de 0,2 µm. Le volume de solution contenant l'échantillon à analyser injecté sur la colonne est de 1 µL.

Dans un procédé de séparation des énantiomères dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, il est possible de détecter lesdits énantiomères en sortie de colonne de chromatographie liquide à haute pression par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) en mode d'ionisation négative par électro-nébulisation (ESI, « *ElectroSpray Ionization* »). La température du gaz nébuliseur est de 350°C et son débit est de 8 L/min. La pression du gaz nébuliseur est portée à 2700 hPa. En particulier, on détecte les transitions MRM (« *Multiple Reaction Monitoring* » m/z 537,1 → 151,0 et m/z 537,1 → 78,9 correspondants aux signaux de la diféthialone. La figure 1 représente les

chromatogrammes de la diféthialone (haut) et de l'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone (bas) isolé.

Dans ces conditions expérimentales, la valeur du temps de rétention (t_4) dudit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère selon l'invention est de l'ordre de 14,4 min comme décrit figure 1. À titre de comparaison, la valeur du temps de rétention (t_1) de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère est de l'ordre de 8,1 min comme décrit figure 1, de sorte que les énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère peuvent être efficacement séparés par chromatographie liquide à haute pression sur une colonne chirale.

La valeur du temps de rétention (t_3) de l'énantiomère dextrogyre dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone est de l'ordre de 11,7 min et la valeur du temps de rétention (t_2) de l'énantiomère lévogyre dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone est de l'ordre de 9,4 min. Ainsi, dans ces conditions expérimentales, l'ordre d'éluion des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone est tel que $t_1 < t_2 < t_3 < t_4$.

Il est possible de réaliser dans ces conditions expérimentales (phase stationnaire, phase mobile, température) une séparation préparative des énantiomères lévogyre et dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone en utilisant une phase stationnaire similaire et de granulométrie supérieure à 3 μm , et une colonne chromatographique de plus grandes dimensions, notamment d'un diamètre de 20 mm.

B. Caractérisation structurelle de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone

25 B.1. Spectroscopie UV

Le spectre UV de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone en solution dans le chloroforme (CHCl_3) présente des pics d'absorbance centrés à 238,2 nm et 259,5 nm.

B.2. Pouvoir rotatoire

30 Les inventeurs ont caractérisé l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone à l'état isolé par son pouvoir

rotatoire (aussi appelé activité optique ou biréfringence circulaire), c'est-à-dire par sa propriété à dévier le plan de polarisation d'une lumière polarisée. Une déviation du plan de polarisation de la lumière polarisée dans le sens horaire de rotation en faisant face au faisceau de lumière polarisée caractérise une solution dextrogyre, et une déviation du plan de polarisation de la lumière polarisée dans le sens antihoraire de rotation en faisant face au faisceau de lumière polarisée caractérise une solution et un composé lévogyre.

On mesure le pouvoir rotatoire d'une solution d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans le chloroforme (CHCl_3) à une concentration de 11,6 g/L. On mesure le pouvoir rotatoire de cette solution au moyen d'un polarimètre digital P 2000 (JASCO, Bouguenais, France) opérant avec une lumière excitatrice de longueur d'onde de 589 nm. Le pouvoir rotatoire α moyen obtenu sur deux séries de 10 mesures est de $2,308^\circ$. Le pouvoir rotatoire spécifique à 25°C $[\alpha]_{589\text{nm}}^{25^\circ\text{C}}$ de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone en solution dans le chloroforme, mesuré sur la raie D du sodium (589 nm) est de $+19,9^\circ$.

B.3. Dichroïsme circulaire

Le spectre de dichroïsme circulaire de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone isolé traduit la différence d'absorbance ($\Delta A = A_G - A_D$) des deux ondes de polarisation circulaire gauche (PCG) d'intensité A_G et de polarisation circulaire droite (PCD) d'intensité A_D . Il permet de distinguer les énantiomères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. On mesure cette différence d'absorbance des deux ondes de polarisation circulaire dans un spectromètre de dichroïsme circulaire J-815 (JASCO, Bouguenais, France). On prépare 2 mL de solution d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans du méthanol ($\text{CH}_3\text{-OH}$) à une concentration de 0,96 mg/mL. On transfère la solution dans une cuvette en quartz pour spectrophotomètre. On mesure à 25°C le spectre de dichroïsme circulaire de la solution entre 210 nm et 400 nm. Le spectre de dichroïsme circulaire de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone mesuré dans ces conditions est représenté en figure 7. La valeur

de dichroïsme circulaire est positive entre les longueurs d'onde comprises entre 220 nm et 300 nm.

B.4. Résonance Magnétique Nucléaire

Les figures 2 et 3 représentent respectivement un spectre de
5 résonance magnétique nucléaire du proton (^1H -RMN) à 300 MHz de l'homo-
stéréo-isomère de la diféthialone dans CDCl_3 (figure 2) et un spectre de
résonance magnétique nucléaire du proton à 300 MHz dans CDCl_3 de l'hétéro-
stéréo-isomère de la diféthialone dans CDCl_3 (figure 3). Ledit homo-stéréo-
isomère de la diféthialone présente (figure 2) un multiplet dont le déplacement
10 chimique (δ) est compris entre 4,9 ppm et 5,1 ppm correspondant au carbone 1
du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère de la
diféthialone. Ledit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone présente (figure 3) un
multiplet dont le déplacement chimique (δ) est compris entre 5,2 ppm et 5,4 ppm.

La figure 4 représente un spectre de RMN du proton à 500
15 MHz de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone
dans CDCl_3 . Les spectres RMN du proton des énantiomères dextrogyre et
lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone ne sont pas distinguables
l'un de l'autre.

La figure 6 est un spectre (^1H -RMN 2D) RMN du proton
20 en deux dimensions obtenu par spectroscopie de corrélation de l'énantiomère
dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone en solution dans CDCl_3
à une concentration de 40 mg/mL réalisé sur un spectromètre Bruker AVANCE
III HD (500 MHz) équipé d'une cryosonde directe multi-noyaux motorisée
PRODIGY. Il permet une identification du couplage du proton porté par le
25 carbone 1 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-
isomère de la diféthialone (5,1 ppm) avec les protons portés par le carbone 2 du
groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène à 2,4 ppm.

La figure 5 est un spectre RMN du ^{13}C de l'énantiomère
dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone en solution dans CDCl_3
30 à une concentration de 40 mg/mL réalisé sur un spectromètre Bruker AVANCE
III HD (500 MHz) équipé d'une cryosonde directe multi-noyaux motorisée

PRODIGY. Il permet une identification des 31 atomes de carbone de la diféthialone. Le spectre en ^{13}C -RMN de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone ne se distingue pas du spectre en ^{13}C -RMN de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone. Cependant, 5 ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone présente un signal compris entre 34 ppm et 38 ppm caractéristique et distinctif dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone.

C. Extraction de la diféthialone de foies de rats traités à la diféthialone en vue de l'analyse des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone

10 C.1. Homogénéisation de l'échantillon de foie

On pèse avec précision de l'ordre de 0,525 g ($\pm 0,025$ g) de foie de rat que l'on place dans un tube en polypropylène de 50 mL. On ajoute 10 mL d'acétone et on soumet la suspension à une homogénéisation au moyen d'un homogénéisateur/disperseur Ultra-Turrax[®] pendant une durée de l'ordre de 30 15 sec. On rince la tige de l'homogénéisateur/disperseur à l'eau chaude puis 2 fois avec 20 mL d'acétone dans un tube en polypropylène. On centrifuge l'homogénat pendant 5 min à une vitesse de centrifugation de 3000 rpm (rotation par minute). On collecte et on transvase le surnageant dans un tube à essai. On soumet l'échantillon à une évaporation sous un flux d'azote (N_2) à la température 20 de 40°C de façon à former un extrait sec.

C.2. Élimination des lipides

Dans le tube contenant l'extrait sec, on ajoute 1 mL d'acétonitrile de façon à solubiliser l'extrait sec. On lave la solution d'acétonitrile 2 fois successivement avec 1 mL d'hexane. L'extrait débarrassé 25 des lipides est séché sous un flux d'azote (N_2) à la température de 40°C, puis repris avec 0,5 mL de méthanol et solubilisé par agitation sous vortex. On ajoute ensuite 0,5 mL d'eau ultra-pure (Milli-Q). L'échantillon est homogénéisé sous vortex.

C.3. Extraction de la diféthialone sur phase solide (« SPE, Solid Phase Extraction »)

On fait passer 1 mL de dichlorométhane (CH_2Cl_2), puis 1 mL de méthanol (CH_3OH), puis 1 mL d'eau ultra-pure (Milli-Q) sur une cartouche Oasis HLB 1cc (WAT094225, Waters). On dépose ensuite l'extrait de foie débarrassé des lipides (1mL MeOH/H₂O Milli-Q) et contenant la diféthialone en tête de la cartouche préalablement conditionnée. L'extrait de foie pénètre dans la cartouche par gravité au contact de la phase solide de la cartouche. On dépose en tête de cartouche 1 mL de solution de lavage formée de méthanol et d'eau ultra-pure en proportion volumique de 90/10. On sèche la cartouche par aspiration sous vide connectée en partie basse de la cartouche. On dépose ensuite en tête de cartouche 1 mL de solution d'élution formée de dichlorométhane et de méthanol en proportion volumique de 90/10 et on collecte en bas de cartouche un éluat comprenant la diféthialone. On évapore le solvant de l'éluat sous un flux d'azote (N_2) à la température de 40°C. On reprend l'échantillon dans avec 0,5 mL d'acétonitrile et on filtre la solution d'acétonitrile contenant la diféthialone sur filtre 0,2 μm .

C.4. Analyse

On analyse la solution d'acétonitrile contenant la diféthialone par chromatographie liquide à haute pression sur une colonne chirale (150 x 2 mm, granulométrie de 3 μm) LUX[®] Cellulose-3 (phenomenex, Le Pecq, France) comme décrit au point A2) ci-dessus.

D. Étude de la rémanence hépatique des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone chez le rat

On administre par gavage ("per os") à des rats (*Rattus norvegicus* mâles et femelles) sensibles au coumafène, âgés de 8 semaines et pesant de l'ordre de 200 g, une solution d'un mélange d'homo-stéréo-isomère (DFN-Homo-SI) et d'hétéro-stéréo-isomère (DFN-Hétéro-SI) de la diféthialone dans un mélange d'huile végétale et de DMSO à 5 %. La proportion molaire d'homo-stéréo-isomère est de 40% et la proportion molaire d'hétéro-stéréo-isomère est de 60%. Chaque stéréo-isomère de configuration de la diféthialone

est formé d'un mélange racémique des deux énantiomères dudit stéréo-isomère de configuration correspondant.

À J0, on administre aux rats de la solution de gavage de façon que la quantité de diféthialone ingérée par chaque rat soit de l'ordre de 3,4 mg par kilogramme de rat. Pour éviter l'hémorragie, les rats gavés sont traités quotidiennement par administration par voie sous cutanée d'une dose de vitamine K1 (à titre d'antidote vis-à-vis de l'hémorragie) à raison de 0,1U pour 200g de poids de rat vif.

À 4 heures (H+4), 9 heures (H+9), 24 heures (H+24), 120 heures (H+120), 168 heures (H+168) et 216 heures (H+216) après le gavage, on euthanasie 3 rats mâles et 3 rats femelles préalablement anesthésiés à l'isoflurane, on prélève le foie des rats euthanasiés puis on extrait la diféthialone du foie et on dose la quantité de chacun des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone, on mesure de l'aire sous les pics du chromatogramme obtenu et on quantifie chaque stéréo-isomère de configuration par comparaison avec une courbe d'étalonnage. On dose :

- l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère;
 - l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère ;
 - l'énantiomère dextrogyre dudit hétéro-stéréo-isomère ;
 - l'énantiomère lévogyre dudit hétéro-stéréo-isomère ;
- présents dans le foie des rats gavés.

Les résultats sont représentés en figure 8, 9 et 10, dans lesquelles la teneur dudit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone exprimée en nano-gramme d'énantiomère par gramme de foie (ng/g) est donnée en fonction du temps (en heures) après le gavage des rats.

En figure 8, la teneur de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans le foie (moyenne des teneurs mesurées sur 6 rats exprimée en nano-gramme dudit énantiomère par gramme de foie (ng/g)) est représentée par des cercles pleins (●) et la teneur de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans le foie (moyenne des teneurs mesurées sur 6 rats exprimée en nano-gramme dudit

énantiomère par gramme de foie (ng/g)) est représentée par des cercles ouverts (○). La teneur hépatique de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone décroît plus rapidement que la teneur hépatique de l'énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, alors que la proportion initiale des deux énantiomères ingérés par les rats est identique (20%). Les valeurs des teneurs hépatiques mesurées sont données au tableau 1

5 la proportion initiale des deux énantiomères ingérés par les rats est identique (20%). Les valeurs des teneurs hépatiques mesurées sont données au tableau 1

10 suivant dans lequel « DFN-Homo-SI » représente ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, « DFN-Homo-dextro » représente l'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone selon l'invention, « DFN-Homo-lévo » représente l'énantiomère lévogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone, « DFN-Hétéro-SI » représente ledit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone, « DFN-Hétéro-lévo » représente l'énantiomère lévogyre de l'hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone et « DFN-Hétéro-dextro » représente l'énantiomère dextrogyre de l'hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone.

Délai après gavage, heures	Teneur hépatique, ng/g			
	Diféthialone totale			
	DFN-Homo-SI		DFN-Hétéro-SI	
	DFN-Homo-dextro	DFN-Homo-lévo	DFN-Hétéro-dextro	DFN-Hétéro-lévo
4	4566	5692,5	10589,5	5380,5
9	4692,5	7141	12155,5	5869,5
24	1243,5	4403,5	8102	3613,5
48	720,5	3874	7974,5	2804
120	192,5	2087	5431,5	1211
168	129	878,5	3011	392,5
216	77,5	1224	4030,5	545

15

Tableau 1

En figure 9, la teneur relative de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans le foie (moyenne des teneurs mesurées sur 6 rats) exprimée en unités arbitraires à titre de comparaison est représentée par des cercles pleins (●), la teneur relative dudit homo-stéréo-

isomère est représentée par des carrés ouverts (\square) et la teneur relative dudit hétéro-stéréo-isomère est représentée par des carrés pleins (\blacksquare). La teneur hépatique de l'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone selon l'invention décroît plus rapidement que la teneur hépatique dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone et que la teneur hépatique dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone. En outre, la teneur hépatique dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone décroît plus rapidement que la teneur hépatique dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone. La représentation en figure 9 tient compte du fait que l'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone compte pour 20% de la diféthialone ingérée par les rats et que chacun dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone (DFN-Homo-SI) et dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone (DFN-Hétéro-SI) compte pour respectivement 40% et 60% de la diféthialone ingérée par les rats. Les valeurs de teneur hépatique sont rapportées au pourcentage de chaque stéréo-isomère de configuration dans la composition ingérée par les rats.

En figure 10, l'évolution dans le temps de la teneur d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans le foie (moyenne des teneurs mesurées sur 6 rats exprimées en nano-gramme d'énantiomère par gramme de foie (ng/g)) est représentée (échelle de gauche) par des cercles pleins (\bullet) et l'évolution dans le temps de la teneur de la diféthialone totale est représentée (échelle de droite) par des triangles ouverts (\triangle). La teneur hépatique de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone selon l'invention décroît plus rapidement que la teneur hépatique de la diféthialone totale. La représentation en figure 10 tient compte du fait que l'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone compte pour 20% de la diféthialone ingérée par les rats et la diféthialone totale compte pour 100% de la diféthialone ingérée par les rats.

L'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone présente une rémanence hépatique significativement plus faible par rapport à tous les autres stéréo-isomères de configuration de la diféthialone chez les rats.

E. Appât rodenticide comprenant une proportion massique de 14,7 ppm de diféthialone

On réalise un appât rodenticide pâteux selon l'invention par dispersion d'une quantité de diféthialone dans un excipient comestible
 5 comprenant de la graisse végétale et de la farine de céréale. La proportion mesurée de diféthialone par rapport à l'appât est de 14,7 ppm (14,65 mg d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par kilogramme d'appât) et la proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère par rapport à la diféthialone est de 99,7%. L'appât comprend en
 10 outre une proportion massique de 0,3% d'énantiomère lévogyre dudit hétéro-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à la diféthialone.

À J0, on place 10 rats Sprague Dawley (SD, 5 rats mâles et 5 rats femelles) sensibles au coumafène dans des cages individuelles avec une alimentation de référence exempte de rodenticide. À J3, on réalise une pesée de
 15 chaque rat puis on place à disposition de chaque rat 50 g d'appât rodenticide tel que décrit ci-dessus. On renouvelle quotidiennement cette mise à disposition de 50 g d'appât rodenticide. L'appât consommé par les rats est complété à 50 g d'appât à J4, J5 et J6. À compter de J7, on élimine les appâts rodenticides résiduels et on fournit une alimentation exempte de rodenticide à tous les rats.
 20 On prévoit une surveillance des rats pendant 3 semaines.

Les quantités moyennes d'appât consommé quotidiennement par un rat à J4, J5, J6 et J7 exprimées en gramme par jour sont données au tableau 2 ci-après.

Appât consommé, g	Moyenne	Écart-type
J4	17,8	5,7
J5	16,0	4,7
J6	14,2	4,1
J7	9,4	3,8

Tableau 2

25 Il est à noter qu'aucun rat n'a consommé une quantité quotidienne d'appât inférieure à 1 g/jour. Tous les rats (100%) meurent entre J9

et J10. La mortalité est de 100% à J10. La consommation moyenne d'appât, exprimée en gramme d'appât par kilogramme de rat est de 50,5 g d'appât.

On mesure la teneur hépatique de l'énantiomère dextrogyre de l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone (« DFN-Homo-dextro ») selon l'invention de chacun des rats morts entre J9 et J10 par analyse en chromatographie liquide à haute pression sur une colonne chirale. Les valeurs, exprimées en micro-gramme de « DFN-Homo-dextro » et diféthialone par gramme de foie sont données au tableau 3 ci-après. La quantité moyenne d'énantiomère « DFN-Homo-dextro » retenu dans le foie de chaque rongeur (mâles et femelles) à leur mort correspond à 4,7% de la quantité de diféthialone ingérée par chaque rongeur.

Teneur hépatique, µg/g	DFN-Homo-dextro	Diféthialone totale
Moyenne	6,1	6,1
Écart-type	4,5	4,5

Tableau 3

À titre comparatif, la teneur en diféthialone retenue dans le foie de rats ayant consommé un appât contenant 15 ppm de diféthialone de l'état de la technique est de l'ordre de 110 µg/gramme.

L'appât dosé à 14,7 ppm de diféthialone permet l'obtention d'un taux de mortalité de 100% en minimisant les risques d'intoxication secondaire d'animaux -notamment d'oiseaux- prédateurs ou charognards de rongeurs cibles nuisibles affaiblis ayant consommé un appât rodenticide.

Il va de soi que l'invention peut faire l'objet de nombreuses variantes de réalisation et applications. En particulier, une composition, un appât rodenticide et un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles sont sujets à des infinités de variantes tant dans la formulation de l'appât que dans les modes de mise en œuvre du procédé.

REVENDEICATIONS

1/ - Énantionère dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue.

2/ - Composition comprenant de l'énantionère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone selon la revendication 1, à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantionères dextrogyre et lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

3/ - Composition selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit homo-stéréo-isomère est majoritairement sous forme d'énantionère dextrogyre.

4/ - Composition selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisée en ce que la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantionère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

5/ - Composition selon l'une des revendications 2 à 4, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité d'énantionère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone dans la composition est supérieur à 25%.

6/ - Composition selon l'une des revendications 2 à 5, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité de l'énantionère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone dans la composition telle que le rapport de cette quantité sur la quantité de la diféthialone dans la composition est supérieur à 97%.

7/ - Appât rodenticide comprenant une composition selon l'une des revendications 2 à 6, et au moins un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles.

8/ - Appât selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des graines de céréale, des moutures de graines de céréale, des farines de graines de céréale, des flocons de graines de céréale, du son de céréales et des
5 graines non céréalières.

9/ - Appât selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce qu'il comprend une quantité massique de diféthialone telle que le rapport de cette quantité massique de diféthialone sur la quantité massique d'appât rodenticide est inférieur à 200 ppm.

10/ - Procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles, dans lequel on dissémine une quantité d'appât comprenant :

- au moins un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles, et ;

- de l'énantiomère dextrogyre du stéréo-isomère de configuration de la
15 diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-hydroxythiocoumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue ;

à l'exclusion d'un mélange racémique d'énantiomères dextrogyre et lévogyre
20 dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

11/ - Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que ledit homo-stéréo-isomère de la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre.

12/ - Procédé selon l'une des revendications 10 ou 11,
25 caractérisé en ce que la diféthialone est majoritairement sous forme d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

13/ - Procédé selon l'une des revendications 10 à 12, caractérisé en ce qu'on choisit en combinaison :

- l'excipient comestible ;

- une proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone ;

5 - une proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à la diféthialone ;

- une proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât rodenticide, et ;

- une quantité d'appât disséminé ;

de façon que des rongeurs cibles nuisibles consomment une quantité de
10 diféthialone suffisante pour être létale pour lesdits rongeurs cibles nuisibles
consommant dudit appât au cours d'une période unique de 24 heures
consécutives.

14/ - Procédé selon l'une des revendications 10 à 12, caractérisé en ce qu'on choisit en combinaison :

15 - l'excipient comestible ;

- une proportion d'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone par rapport à l'homo-stéréo-isomère de la diféthialone, et ;

- une proportion massique de diféthialone par rapport à l'appât rodenticide ;

20 de façon que des rongeurs cibles nuisibles consomment une quantité de diféthialone ;

○ non létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât pendant une période de 24 heures consécutives, et ;

25 ○ suffisante pour être létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât pendant plusieurs périodes de 24 heures, lesdites périodes étant consécutives.

15/ - Procédé chromatographique d'obtention d'un énantiomère dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-1-(4-
30 hydroxythio coumarin-3-yl)-1,2,3,4-tétrahydronaphtalène, dans lequel les

carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit homo-stéréo-isomère sont de même configuration absolue, procédé dans lequel :

5 - on choisit une colonne pour chromatographie liquide à haute pression de dimensions 150 x 2 mm, et comprenant une phase stationnaire chirale constituée de particules de cellulose tris(4-méthylbenzoate), lesdites particules étant d'une taille moyenne de 3 μm et présentant une taille moyenne de pores de 1000 Å ;

10 - on choisit, à titre de phase mobile liquide, un mélange formé d'acétonitrile (A) et d'eau comprenant 0,1% en volume d'acide formique (B), avec un rapport volumique A/B de 80/20 et avec un débit de la phase mobile liquide dans la colonne de chromatographie de 0,25 mL/min ;

- on réalise une séparation des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone à température ambiante lors de laquelle ;

15 - on introduit en tête de la colonne pour chromatographie une composition liquide comprenant dudit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone, puis ;

- on entraîne la composition liquide avec la phase mobile dans la colonne pour chromatographie dans des conditions propres à séparer les stéréo-isomères de configuration de la diféthialone, et ;

20 - on collecte une fraction de la phase mobile comprenant ledit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone avec un temps de rétention t_4 de valeur telle que $t_1 < t_2 < t_3 < t_4$; t_1 , t_2 et t_3 représentant les temps de rétention de chacun des stéréo-isomères de configuration de la diféthialone distincts de l'énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de
25 la diféthialone, séparément d'un énantiomère lévogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone de temps de rétention t_1 et séparément des énantiomères lévogyre et dextrogyre d'un stéréo-isomère de configuration de la diféthialone, dit hétéro-stéréo-isomère, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 1,2,3,4-tétrahydronaphtalène dudit hétéro-stéréo-isomère sont de
30 configurations absolues distinctes, et de temps de rétention t_2 et t_3 , puis ;

- on élimine la phase mobile liquide de ladite fraction de façon à obtenir ledit énantiomère dextrogyre dudit homo-stéréo-isomère de la diféthialone.

1 / 5

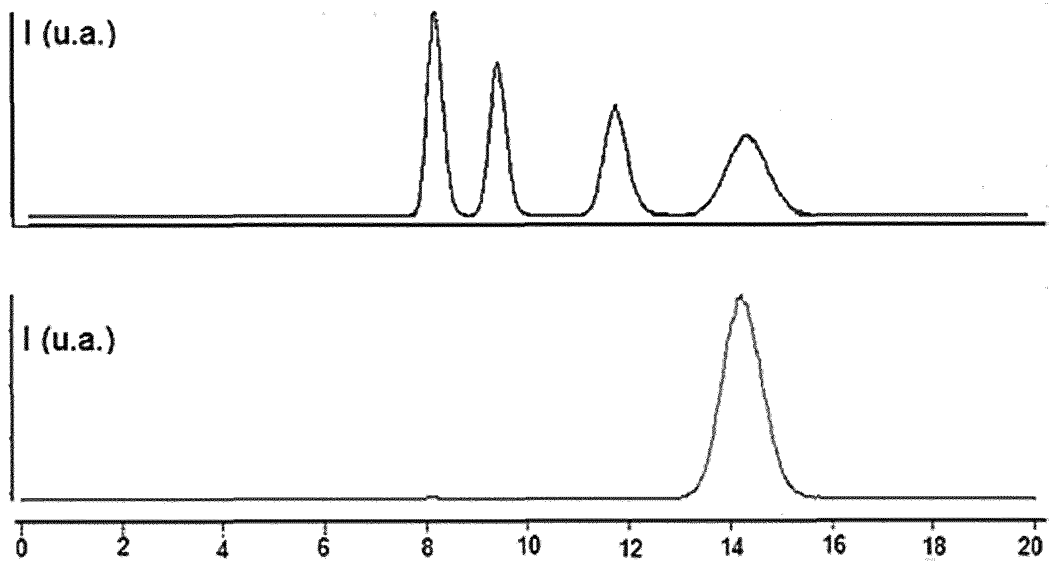


Fig 1

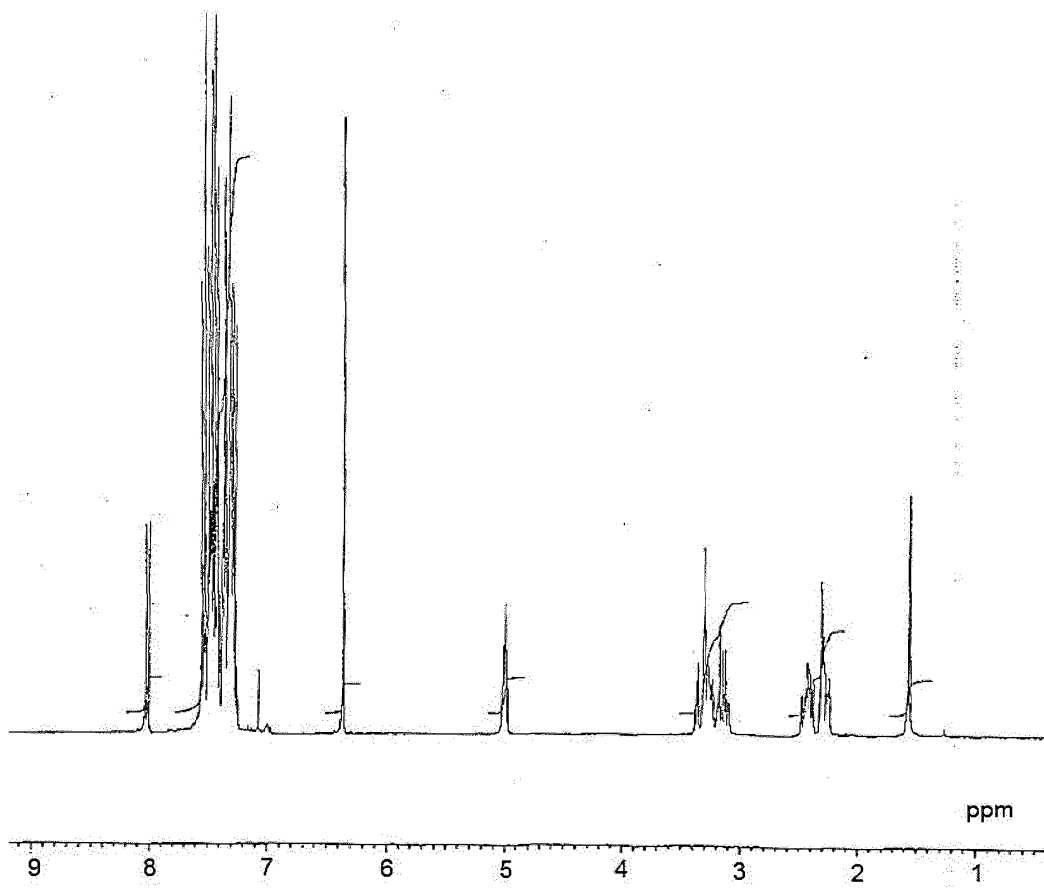


Fig 2

2 / 5

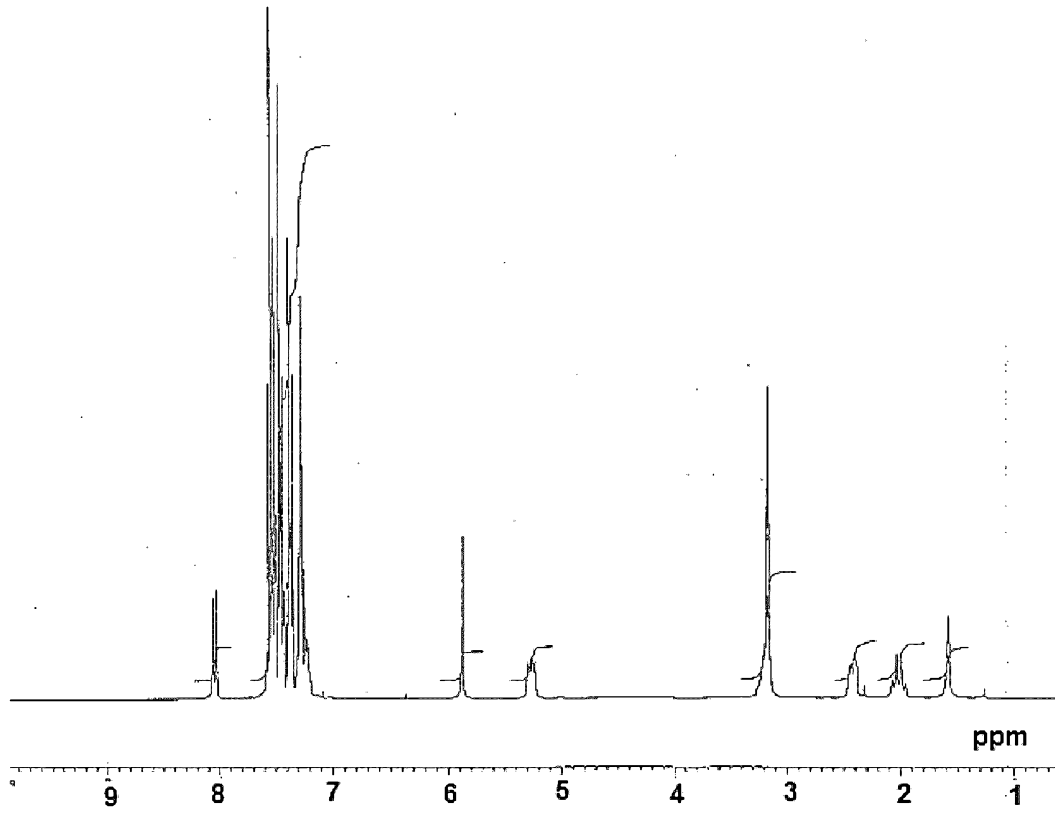


Fig 3

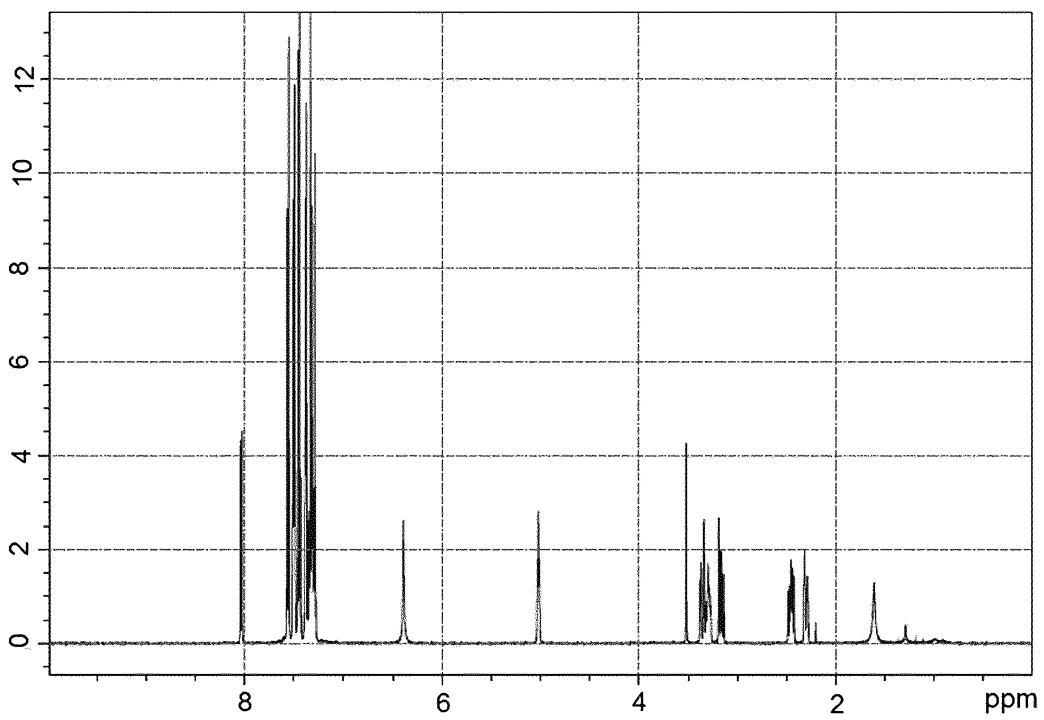


Fig 4

3 / 5

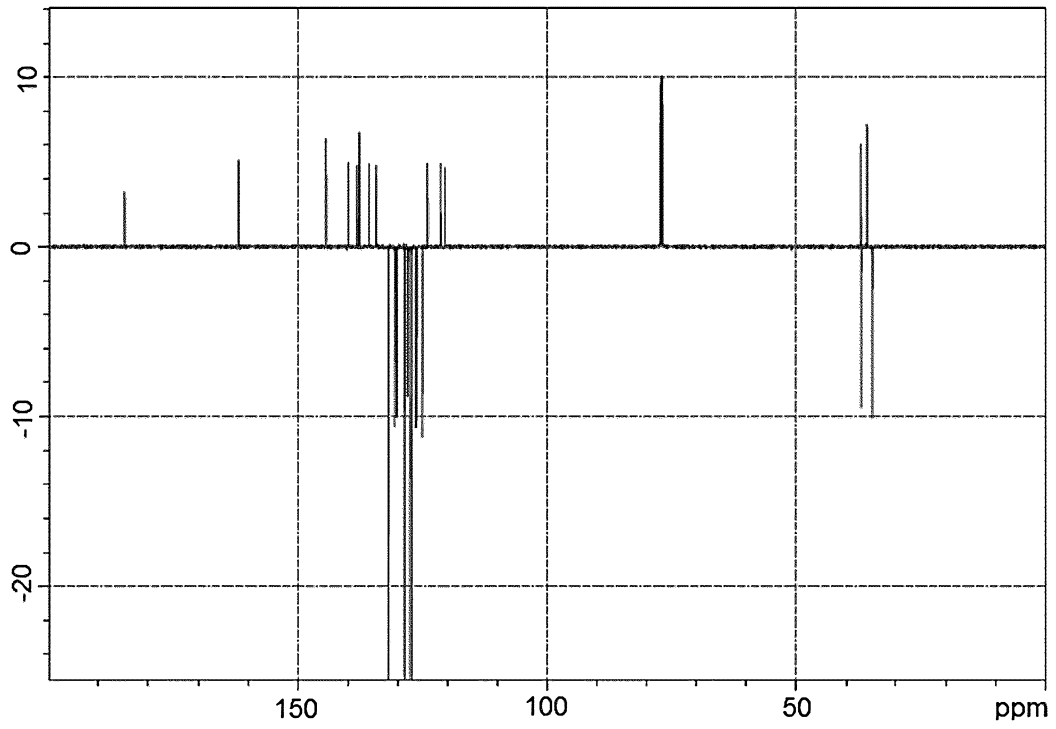


Fig 5

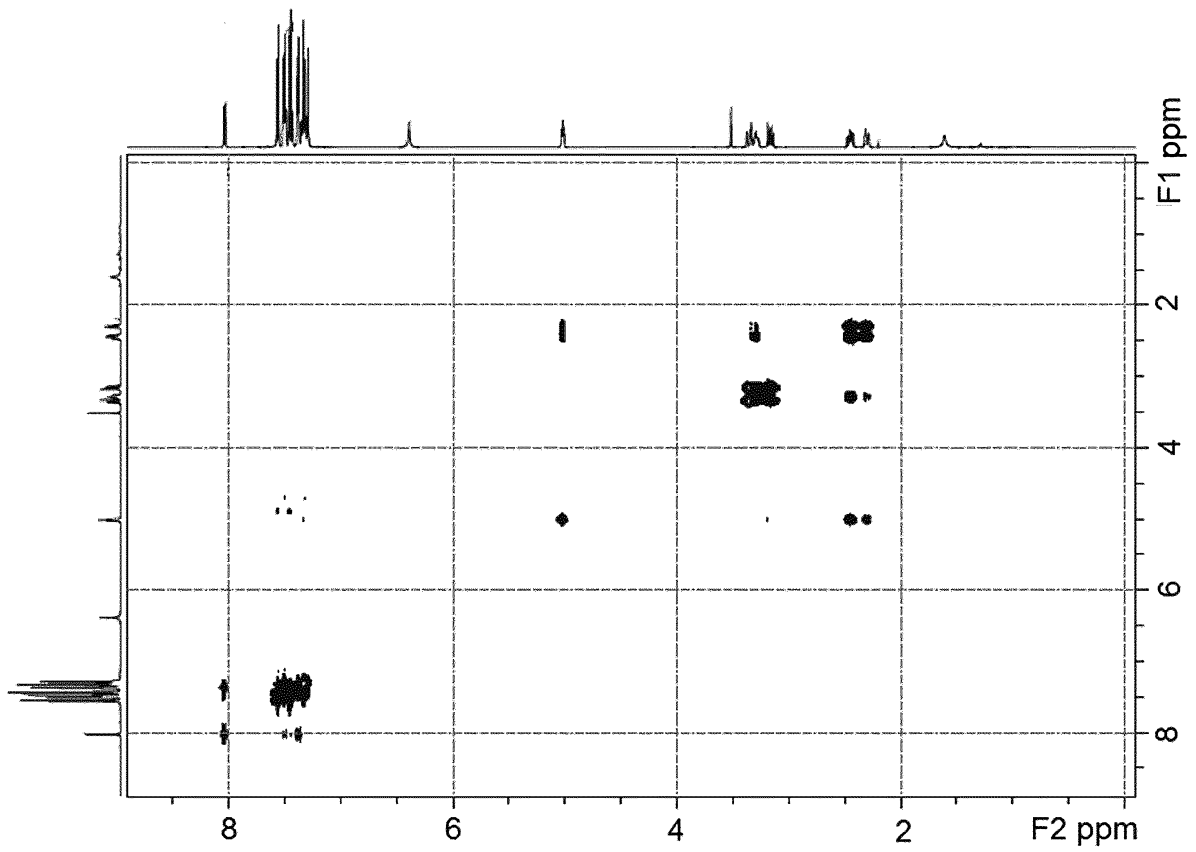


Fig 6

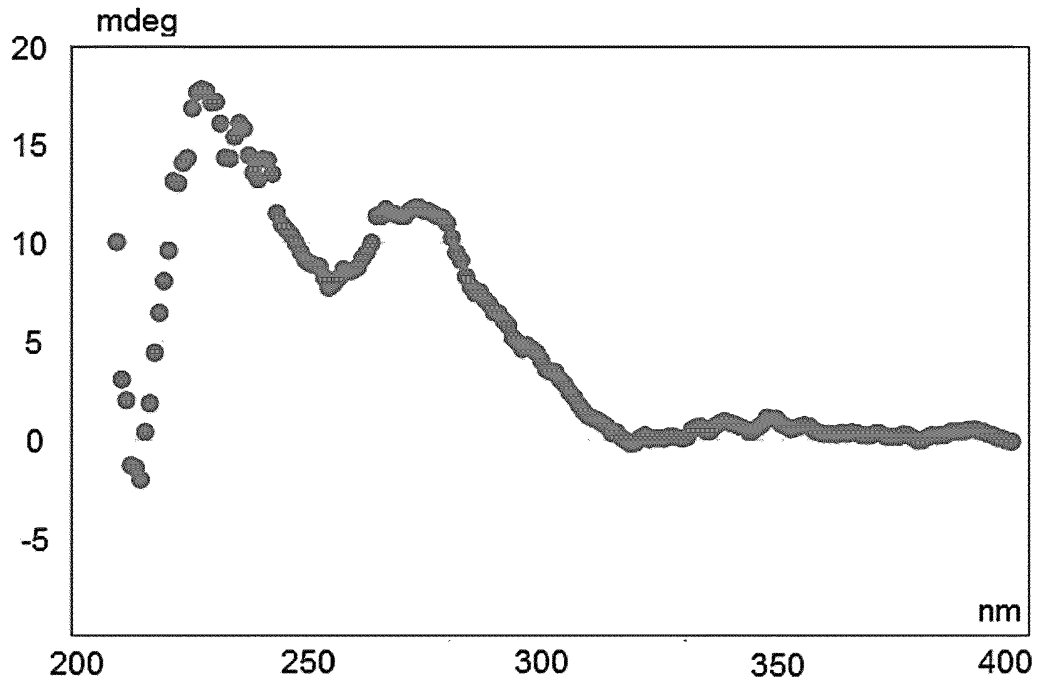


Fig 7

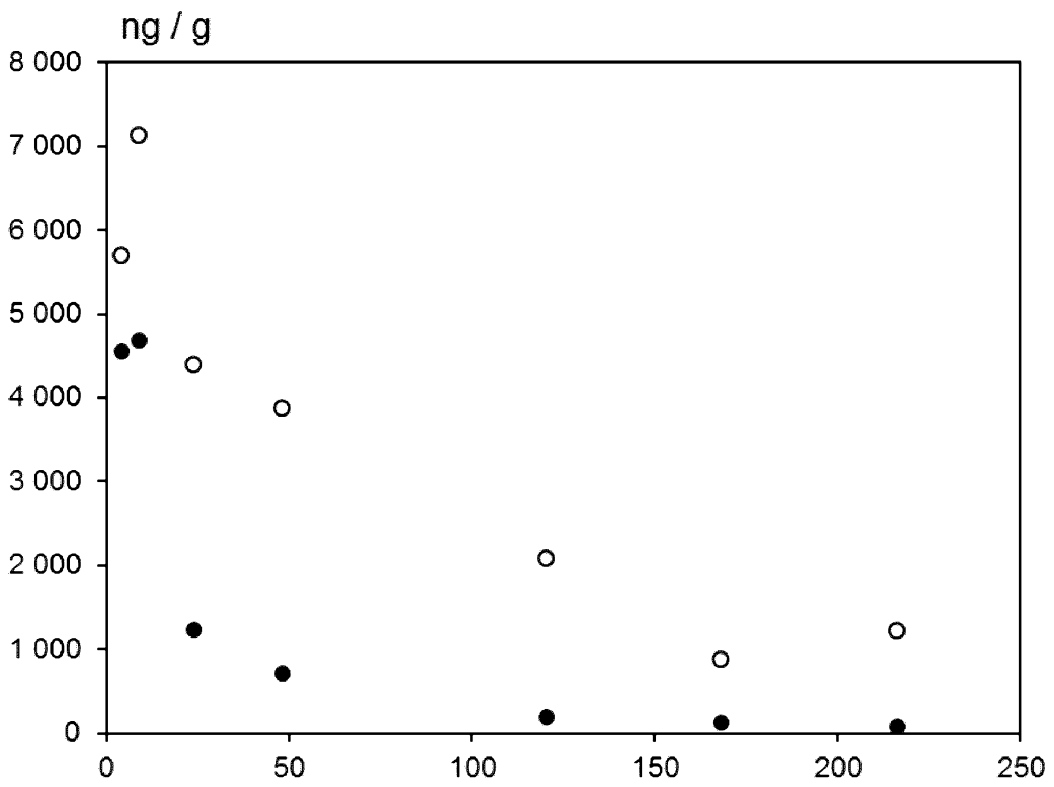


Fig 8

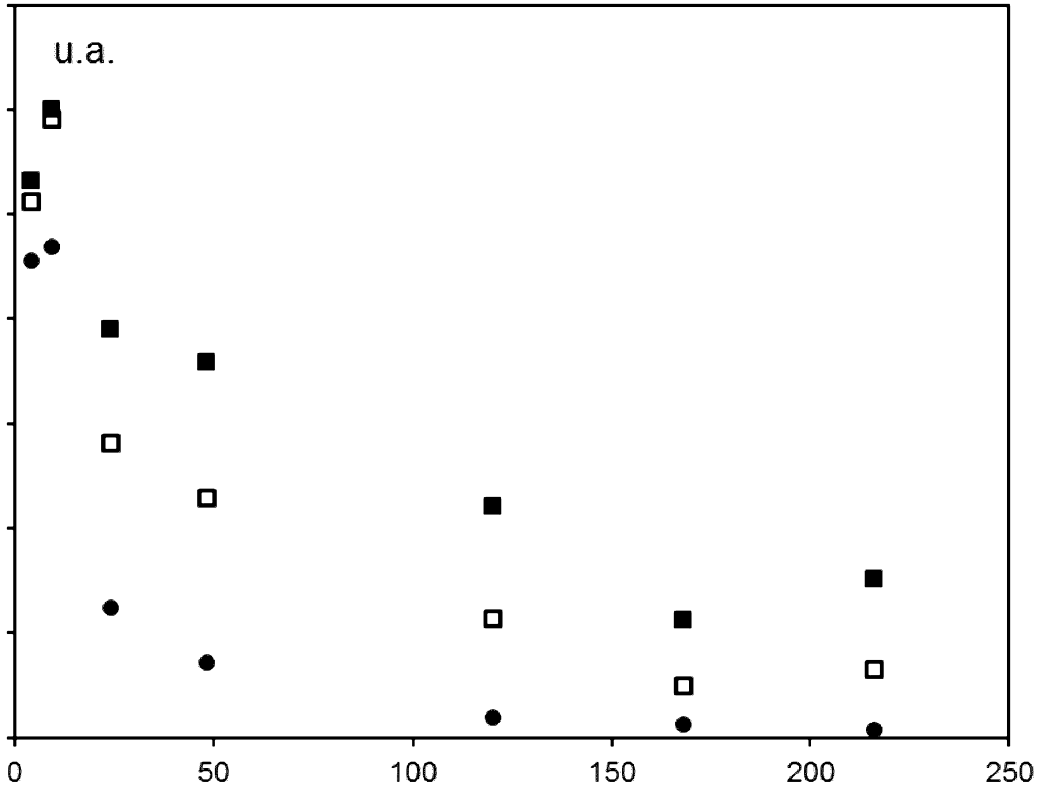


Fig 9

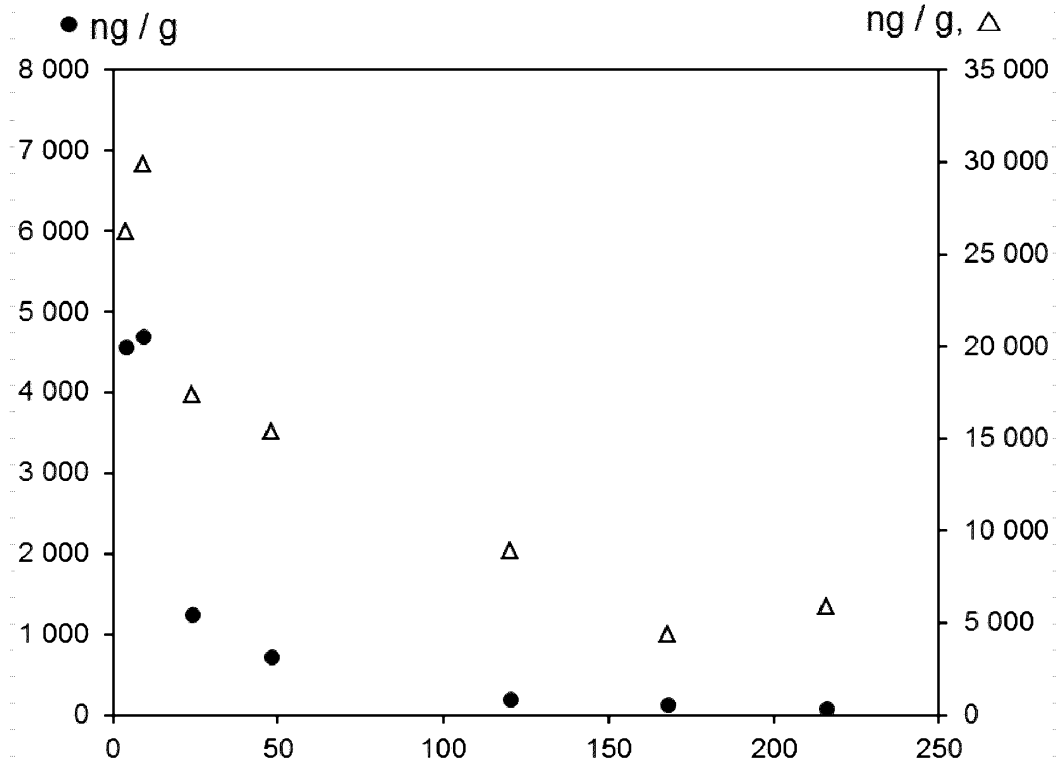


Fig 10

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

EP 0 147 052 A2 (ICI PLC [GB]) 3 juillet 1985 (1985-07-03)

EP 0 161 163 A1 (LIPHA [FR]) 13 novembre 1985 (1985-11-13)

KOUBEK KG ET AL: "High pressure liquid chromatographic determination of the rodenticide brodifacoum in rat tissue", JOURNAL OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, THE ASSOCIATION, ARLINGTON, VA, US, vol. 62, no. 6, 1 janvier 1979 (1979-01-01), pages 1297-1301, XP009188625, ISSN: 0004-5756

WO 2015/189320 A1 (LIPHATECH [FR]) 17 décembre 2015 (2015-12-17)

2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN TECHNOLOGIQUE GENERAL

NEANT

3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND DE LA VALIDITE DES PRIORITES

NEANT