(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 860233 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 860233

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification (IPC^4)
C07D493/22

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **17.01.1986**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **17.01.1986**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **23.07.1986**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **12.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

22.01.1985 CH 278/85-8

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **CIBA-GEIGY AG,** TOWN UNKNOWN, SVEITSI, (CH)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Frei, Bruno,** Switzerland, SVEITSI, (CH)
2 • **O'Sullivan, Anthony Cornelius,** Switzerland, SVEITSI, (CH)
3 • **Gehret, Jean-Claude,** Switzerland, SVEITSI, (CH)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Oy Jalo Ant-Wuorinen Ab, Iso Roobertinkatu 4 - 6 A, 00120 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

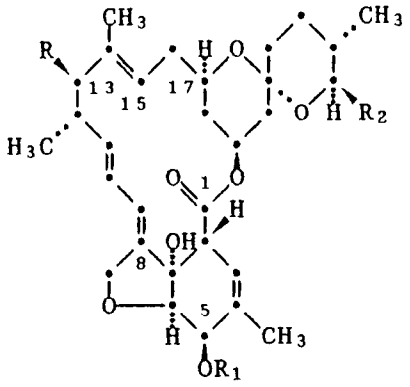
13 -alkyyli-milbemysiinijohdannaiset eläin- ja kasviloisen torjuntaan.

13 -alkyl-milbemycinderivat för bekämpning av parasiter hos djur och växter.

13β-alkyyli-milbemysiinijohdannaiset eläin- ja kasviloisten torjumiseksi -
13β-alkyl-milbemycinderivat för bekämpning av parasiter hos djur och växter

Tämä keksintö koskee uusia 13β-alkyyli-milbemysiinijohdannaisia, joilla on jäljempänä esitetty kaava (I), niiden valmistamista sekä niiden käyttöä tuholaisten, kuten eläinten ulko- ja sisäloisten ja kasviloisten torjumiseksi.

Keksinnön mukaiset yhdisteet ovat 13 -alkyyli-milbemysiinejä, joilla on yleinen kaava (I)



(I)

jossa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä; R_1 tarkoittaa vetyä, silyyliryhmää tai sokerotähdettä ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyylia tai sek.-butyyliä.

Kaava (I) edustaa siten milbemysiini-johdannaisia, jotka sisältävät 13β-alkyyliryhmän ja 5-asemassa joko vapaan OH-ryhmän, silyyliryhmän tai sokeritähteen, erityisesti mono-, di- tai trisakkaridin, jossa makrolidiin liittymiskohdan vieressä on OH-ryhmä, joka puolestaan mieluimmin on johdannaisen muodossa.

Käsitteellä alkyyli pelkästään tai jonkin toisen substituentin osana on ymmärrettävä, riippuen aina ilmoitettujen hiiliatomien lukumäärästä, tarkoitettavan metyyliä, etyyliä, propyyliä, butyyliä, pentyyliä, heksyyliä, heptyyliä, oktyyliä, nonyyliä, dekyyliä, jne., sekä iso-

meereja, kuten esim. isopropyyliä, isobutyyliä, tert.-butyyliä, isopentyyliä, jne.

Sopivina slyyliryhminä R_1 tulevat kysymykseen tähde $-Si(R_5)(R_6)(R_7)$, jolloin R_5, R_6 ja R_7 tarkoittavat mieluimmin toisistaan riippumatta, C_1-C_4-alkyyliä, bentsyyliä tai fenyyliä ja muodostavat esimerkiksi jonkin ryhmistä trimetyylisilyyli, tris(tert.-butyyli)silyyli, difenyyli-tert.-butyylisilyyli, bis(isopropyyli)metyylisilyyli, trifenyylisilyyli jne. ja erityisesti ne muodostavat tert.-butyyli-dimetyylisilyylin. 5-OH-ryhmä voi olla myös bentsyylieetterinä tai metoksietoksimetyylieetterinä.

Sokeritähteellä on tämän keksinnön puitteissa ymmärrettävä tarkoitettavan mieluimmin hiilihydraattiryhmää $-A-(B)_k-(C)_m$, jossa A tarkoittaa 1'-asemassa kytkeytynyttä hiilihydraattitähdettä, jonka 2'-asemassa on helposti poislohkaistavissa oleva, happiatomien välityksellä sitoutunut ryhmä tai hydroksiryhmä, ja joka voi olla glykosidisesti kytkeytyneenä toiseen tai kolmanteen hiilihydraattimolekyyliin B ja/tai C mielivaltaisessa konfiguraatiossa, jolloin k ja m ovat toisistaan riippumatta 0 tai 1.

Sokeritähteinä, jotka voivat olla 2'-asemassa substituoituja edellä esitetyllä tavalla, tulevat kysymykseen furanosyylimuodossa tai pyranosyylimuodossa olevat, esim. seuraavat tähteet:

<u>monosakkaridit</u>: glukoosi, fruktoosi, altroosi, mannoosi, sorboosi, glukoosi, idoosi, alloosi, galaktoosi, riboosi, arabinoosi, ksyloosi, lyksoosi, erytroosi, treoosi, taloosi, sekä näiden vastaavat johdannaiset, kuten metyyliglukoosi, trimetyyliglukoosi ja tetra-asetyyligluukoosi sekä yksinkertaisesti tai moninkertaisesti asetyloidut sokerit,

<u>disakkaridit</u>: laktoosi, maltoosi, sellobioosi, melibioosi, gentiobioosi sekä näiden vastaavat johdannaiset.

Edelleen lasketaan kaavassa (I) mainittuihin hiilihydraatteihin sakkaridit, jotka sisältävät lisäksi aminotähteen, tiolitähteen, kahdesta vierekkäisestä OH-ryhmästä ja aldehydistä tai ketonista muodostuneen syklisen asetaalitähteen.

Sakkaridin kytkeytyminen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden 5-asemaan voi tapahtua α-anomeereina tai β-anomeereina. Tämä keksintö koskee molempia sitoutumismuotoja.

Sokeritähteen 2'-asemaan happiatomin välityksellä sitoutuneita helposti poislohkastavissa olevia ryhmiä ovat metyyli, bentsyyli, substituoimaton tai halogeenisubstituoitu C_1-C_6-alifaattinen asyyliryhmä, bentsoyyliryhmä tai C_1-C_6-alkoksikarbonyyliryhmä.

Edellä mainituissa määritelmissä halogeeni tarkoittaa ennen muuta fluoria, klooria tai bromia.

Syklisen asetaalin muodostamiseen sokerimolekyylissä sopivat yksinkertaiset aldehydit, kuten asetaalialdehydi, propionialdehydi, butyyrialdehydi, bentsaldehydi tai ketonit, kuten asetofenoni, syklopentanoni, sykloheksanoni, sykloheptanoni, fluorenoni, metyylietyyliketoni, ennen muuta kuitenkin asetoni muodostaen vastaavan asetonidin.

Yhdisteen, joissa R_2 tarkoittaa sek.-butyyliä, tullaan tässä ja jäljempänä laskemaan myös milbemysiinijohdannaisiin, vaikka ne yleisen systematiikan mukaisesti eivät näihin kuulu, vaan US-patenttijulkaisun 4,173,571 mukaan ovat johdettuja avermektiinijohdannaisia.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R_1 tarkoittaa silyyliryhmää tai sokeritähdettä, voidaan muuttaa tämän funktion yksinkertaisella, esim. hydrolyyttisellä poislohkaisulla erittäin aktiivisiksi, vapaiksi 5-hydroksijohdannaisiksi (R_1 = H), ja näin ollen nämä yhdisteet ovat luonteeltaan välituotteita. Yleensä näiden yhdisteiden biologista tehoa eivät suojaryhmät periaatteessa vähennä.

Luonnollisesti esiintyvissä milbemysiineissä (R_1 = H; R_2 = CH_3, C_2H_5 tai iso-C_3H_7) substituentit R 13-asemassa tarkoittavat aina vetyä. Avermektiineiss sitä vastoin on 13-asemassa α-L-oleandrosyyli-α-L-oleandroosi-tähde, joka sitoutuu makrolidimolekyyliin happiatomin välityksellä α-konfiguraatiossa. Lisäksi avermektiinit eroavat rakenteellisesti milbemysiinistä 23-OH-ryhmän tai $\Delta^{22,23}$-kaksoissidoksen suhteen ja yleensä substituentin R_2 = sek.-C_4H_9 suhteen. Avermektiinin sokeritähteen hydrolyysillä saadaan helposti vastaavat avermektiini-aglykonit, joissa on allyylinen 13α-hydroksiryhmä. Tässä hakemuksessa avermektiini-johdannaisilla on $\Delta^{22,23}$-kaksoissidos aina hydratussa muodossa.

Seuraavat, kaavan (I) mukaisten yhdisteiden alaryhmät ovat niiden huomattavat parasitisidisen ja insektisidisen vaikutuksen johdosta, erityisen edullisia:

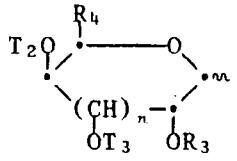
Ryhmä Ia: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä; R_1 ryhmää -Si(R_5)(R_6)(R_7), jolloin R_5, R_6 ja R_7 tarkoittavat, toisistaan riippumatta, C_1-C_4-alkyyliä, bentsyyliä tai fenyyliä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

Ryhmä Ib: Ne alaryhmän (Ia) mukaisista yhdisteistä, joissa R tarkoittaa C_1-C_4-alkyyliä; R_1 trimetyylisilyyliä, tris(tert.-butyyli)silyyliä, difenyyli-tert.-butyylisilyyliä, bis(isopropyyli)metyylisilyyliä, trifenyylisilyyliä tai tert.-butyyli-dimetyylisilyyliä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

Ryhmä Ic: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä; R_1 vetyä, silyyliryhmää tai hiilihydraattiryhmää -A-$(B)_k$-$(C)_m$, jolloin A tarkoittaa 1'-asemassa kytkeytynyttä hiilihydraattitähdettä, joka 2'-asemassa sisältää happiatomin välityksellään sitoutuneen helposti poislohkastavissa olevan ryhmän tai hydrok-

siryhmän, ja joka voi olla glykosidisesti mielivltaisessa konfiguraatiossa sitoutunut toiseen tai kolmanteen hiilihydraattimolekyyliin B ja/tai C, jolloin k ja m ovat toisistaan riippumatta 0 tai 1, ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

Ryhmä Id: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä, R_1 tarkoittaa sokeritähdettä, jolla on kaava



mukaan luettuna sen paikkaisomeerit, jolloin n on 0 tai 1; R_3 tarkottaa vetyä, metyyliä tai $-CH_2-O-T_1$ ja R_4, T_1, T_2 ja T_3 tarkoittavat, toisistaan riippumatta, vetyä, metyyliä, bentsyyliä, substituoimatonta tai halogeenisubstituoitua C_1-C_6-alifaattista asyliryhmää, bentsoyyliryhmää tai C_1-C_6-alkoksikarbonyyliryhmää, tai jolloin T_1 ja T_2 yhdessä alifaattisen tai aromaattisen, korkeintaan 13 hiiliatomia sisältävä aldehydin tai ketonin karbonyylihiiliatomin kanssa muodostavat syklisen asetaalin.

Ryhmä Ie: ne kaavan (Ic) mukaisen alarynmän yhdisteet, joissa R_1 tarkoittaa C_1-C_4-alkyyliä; R_3 tarkoittaa metyyliä, bentsyyliä, bentsoyyliä, substituoimatonta tai fluorilla substituoitua propionyyliä, asetyyliä, metoksikarbonyyliä tai etoksikarbonyyliä, ja R_2, R_4, T_2 ja T_3 tarkoittavat samaa kuin kaavassa (Ic).

Ryhmä If: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä; R_1 tarkoittaa vetyä; ja R_2 metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä, ovat erityisen edullisia.

Ryhmä Ig: kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa C_1-C_6-alkyyliä; R_1 vetyä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

Ryhmä Ih: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa C_1-C_4-alkyyliä; R_1 vetyä; ja R_2 trkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

Ryhmä Ii: Kaavan (I) mukaiset yhdisteet, joissa R tarkoittaa metyyliä, etyyliä, n-propyyliä tai isopropyyliä; R_1 vetyä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä tai isopropyyliä.

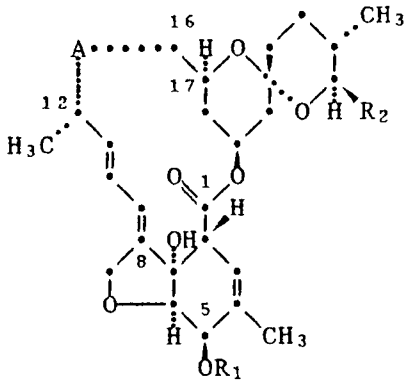
Erityisen edullisia kaavan (I) mukaisia yksittäisiä yhdisteitä ovat esim.:

13β-n-heksyyli-milbemysiini D,
13β-metyyli-milbemysiini D,
13β-etyyli-mibemysiini D,
13β-n-propyyli-milbemysiini A_4,
13β-isopropyyli-milbemysiini A_4,
13β-metyyli-milbemysiini A_3,
13β-etyyli-milbemysiini A_3,
13β-metyyli-milbemysiini A_4,
13β-etyyli-milbemysiini A_4,
13β-isobutyyli-milbemysiini A_4,
13β-n-butyyli-milbemysiini A_4.

Tämä keksintö ei koske ainoastaan kaavan (I) mukaisia yhdisteitä, vaan samalla myös uutta menetelmää niiden valmistamiseksi. On nimittäin havaittu, että saattamalla trialkyylialuminiumyhdisteet, joilla on kaava $Al(R)_3$, reagoimaan jäljempänä nääriteltyjen, kaavan (II) mukaisten allyyliestereiden kanssa, joissa allyylinen OR_8-ryhmä on molekyylin 15-asemassa, voidaan nämä muuttaa kaavan (I) mukaisiksi yhdisteiksi niin, että liitettävä substituentti r tulee stereospesifisesti molekyylin 13β-asemaan ja ainoastaan toissijaisesti vapautuu sivutuotteita, jotka ovat substituoituja 15-asemass. Tähteinä R_8 tulevat kysymykseen asyyliryhmät, kuten esim. formyyli, asetyyli, bentsoyyli, etoksikarbonyyli tai $P(=O)(Oalkyyli)_2$, kuten $P(=O)(OEt)_2$, alkyylisulfonyylitähteet, mieluimmin alempialkyylisulfonyyli, erityisesti mesyyli ja tietyissä tapauksissa myös terahydropyranyyli.

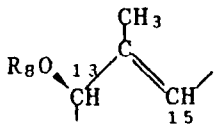
On myös havaittu, että kaavan (II) mukaisista yhdisteistä, jotka sisältävät 13β-OR_8-ryhmän, voidaan saada kaavan (I) mukaisia yhdisteitä 13β-suuntautumisen säilyessä. Keksinnön mukainen menetelmä muodostaa siten mahdollisuuden, jossa juuri milbemysiini- tai 13-deoksi-22,23-dihydro-avermektiini-aglykonijohdannaisten 13β-asemaan liitetään alkyyliryhmä R ja siten saadaan erittäin aktiivisia, uusia kaavan (I) mukaisia parasitisideja ja insektisideja, joita samanaikaisesti voidaan käyttää myös edelleen johdannaisten valmistamiseksi.

Tämän keksinnön eräänä toisena kohteena on näin ollen kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistus, joka perustuu siihen, että kaavan (II) mukainen allyyliesteri



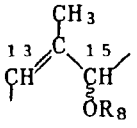
(II)

jossa A tarkoittaa ryhmää a tai b



(a)

[= 13β-esteri-$\Delta^{14,15}$]



(b)

[= $\Delta^{13,14}$-15-esteri]

R_8 tarkoittaa asyyliryhmää, R_1 vetyä tai mieluimmin silyyliryhmää ja R_2 tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), käsitellään kaavan (III) mukaisella trialkyylialuminium-yhdisteellä

$Al(R)_3$ (III)

jossa R tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), jonka jälkeen R_1-silyyliryhmä, mikäli halutaan vapaita 5-hydroksi-yhdisteitä, lohkaistaan pois hydrolyyttisesti ja sokeritähteen R_1 liittämiseksi kaavan (I) mukainen 5-hydroksi-yhdiste saatetaan reagoimaan sopivan sokerijohdannaisen kanssa tämän ryhmän liittämiseksi.

Menetelmä suoritetaan yleensä reaktioinertissä liuottimsessa. Sopivia liuottimia ovat esim. eetterit ja eetterimäiset yhdisteet, kuten dialkyylieetterit (dietyylieetteri-di-isopropyylieetteri, tert.-butyylimetyylieetteri, dimetoksietaani, dioksaani, tetrahydrofuraani, anisoli, jne.); halogenoidut hiilivedyt, kuten klooribentseeni, metyleenikloridi, etyleenikloridi, jne.; tai sulfoksidit, kuten dimetyylisulfoksidi, jolloin voidaan käyttää myös aromattisia tai alifaattisia hiilivetyjä, kuten bentseeniä, tolueenia, ksyleeniä, petrolieetteriä, ligroiinia, sykloheksaania, jne. Voi olla edullista, jos reaktio tai sen osa suoritetaan suojakaasuatmosfäärissä (esim. argon-, helium-, typpiatmosfäärissä, jne.) ja/tai absoluuttisissa liuottimissa. Haluttaessa voidaan välituotteet eristää reaktioväliaineesta ja, haluttaessa, ennen reaktion jatkamista, ne voidaan tavanomaisella tavalla puhdistaa, esim. pesemällä, sulattamalla, uuttamalla, kiteyttämällä uudestaan, kromatografoimalla, jne. Tällaiset puhdistusvaiheet voidaan kuitenkin jättää tekemättä ja suorittaa vasta vastaaville lopputuotteille.

13β-alkyyliryhmän liittämiseksi sopivia trialkyylialuminiumyhdisteitä ovat $(C_1-C_{10}$-alkyyli$)_3$aluminiumyhdisteet, kuten esim. trimetyylialuminium, trietyylialuminium, tri-isopropyylialuminium, triheksyylialuminium, jne. Reaktio suoritetaan yleensä lämpötiloissa, jotka ovat -100°C - +100°C, mieluimmin -20°C - +60°C:ssa. Tällöin kaavan (III) mukainen trialkyyli-aluminiumyhdiste

lisätään sellaisenaan tai reaktioinertissä liuottimessa, kuten esim. heksaanissa, tolueenissa tai bentseenissä ainakin ekvimolaarisena määränä kaavan (II) mukaisen yhdisteen liuokseen.

Tapahtuneen reaktion jälkeen silyylisuojaryhmä lohkaistaan pois käsittelemällä tarkoituksenmukaisella tavalla kaavan (I) mukaiset yhdisteet laimealla hapolla, kuten esim. 1%:isella p-tolueenisulfonihapolla metanolissa tai vesipitoisella HF-liuoksella asetonitriilissä, lämpötilassa, joka on -20°C - +50°C, mieluimmin 0°C - +30°C tai pyridiniumfluoridilla pyridiinissä.

Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden, joilla on 5-aseman happiatomiin sitoutuneena hiilihydraattitähde, valmistaminen tapahtuu siten, että hyvin reaktiokykyisestä 5-hydroksiryhmästä 13β-alkyyli-milbemysiinissä muodostetaan johdannainen sopivalla hiilihydraattimolekyylillä, ja johdannaisen muodostus suoritetaan jonkin sokerikemiassa käytetyn kytkeytymismenetelmän, esim. Koenigs-Knorr-synteesin, Ag-triflat-prosessin, niin sanotun ortoesterimenetelmän, fenyylitiosynteesin tai 2-pyridyylitio-synteesin mukaisesti.

A) Käytettäessa Koenigs-Knorr-synteesiä tai hopea-triflat-prosessia, annetaan 13β-alkyyli-milbemysiinin (R_1 = OH) reagoida hopeasuolan tai elohopeasuolan läsnäollessa, jotka toimivat kondensaatioaineena, liitettävän sokeritähteen, hiilihydraatin A tai $A-(B)_k-(C)_m$ kanssa, joissa A, B, C, k ja m tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I) ja joissa kaikki OH-ryhmät ovat suojatut, lukuunottamatta kloorilla tai bromilla substituoitua 1-OH-ryhmää, lämpötialssa, joka on -30°C - + 60°C, mieluimmin -5°C - +30°C, ja valolta suojaten. Toivottu hiilihydraatti voi, mikäli 5-asemaan tulisi liittyä tähteen $A-(B)_k-(C)_m$, sitoutua vaiheittain 13β-alkyyli-milbemysiiniin, tai se voi kytkeytyä mieluimmin jo valmiiksi etykäteen muodostettuna glykosidina yhdessä reaktiovaiheessa 13β-alkyyli-milbe-

mysiiniin.

Hopeasuolana voidaan käyttää juuri saostettua Ag_2O:ta, mieluimmin kuitenkin Ag_2CO_3:a tai CF_3COOAg:tä. erityisen edullinen on hopea-trifluorimetaanisulfonaatti (Ag-triflat = CF_3-SO_3Ag), jonka läsnäollessa glykosidin muodostuminen tapahtuu nopeasti jo nolla alapuolella. 13β-alkyyli-milbemysiinin 5-OH-ryhmän aktivoimiseksi ja mahdollisesti muodostuvan CF_3-SO_3H:n tai CF_3-COOH:n neutraloimiseksi lisätään tarkoituksenmukaisesti tert.-amiinia (mm. trietyyliamiinia, di-siopropyylietyyliamiinia, diatsabisykloundekaania) reaktioliuokseen.

Mikäli halutaan, voidaan suojaryhmät lopuksi lohkaista pois lievillä saippuoinneilla (esim. NH_3/CH_3OH). Liuottimina tulevat kysymykseen tässä vaiheessa erityisesti vedettömät, aproottiset liuottimet, kuten dikloorimetaani, asetonitriili, bentseeni, tolueeni, nitrometaani, dioksaani, THF, etyleeniglykolidimetyylieetteri; erityisen edullinen on dietyylieetteri.

Suojattua 1-kloori- tai 1-bromi-hiilihydraattia lisätään ekvimolaarinen määrä kaavan (I) mukaiseen 13 -alkyyli-milbemysiiniin, mieluimmin kuitenkin käytetään 1,5 - 3-kertaista ylimäärää. Reaktioaika on, tyydyttävän saannon saavuttamiseksi, 5-72 tuntia.

Hopeasuolan sijasta voidaan käyttää myös Hg-syanidia tai HgO:n kombinaatioa valinnaisesti Hg-kloridin tai Hg-bromidin kanssa (Helferich-synteesi).

Erään toisen muunnoksen mukaan glykosidisesti kytkeytyvän hiilihydraatin, jonka muut OH-ryhmät täytyy olla suojatut, 1'-aseman reaktiokykyä voidaan nostaa muuttamalla yhdiste aluksi 1'-fenyylitio-johdannaiseksi, jonka jälkeen tämä saatetaan reagoimaan DAST:n (=dietyyliaminorikkitrifluoridin) kanssa absoluuttisen kuivassa dikloorimetanissa (molekyyliseula) +5°C - -30°C:ssa, 1'-fluorijohdannaisen muodostamiseksi. Reaktiivisempi kuin vastaava, Koenigs-Knorr-synteesissä käytetty 1'-kloori- tai

1'-bromi-johdannainen, voidaan saada siten, että hiilihydraatti-reagenssin 1'-fluorijohdannainen kytketään kaavan (I) mukaiseen 13β-alkyyli-milbemysiiniin $SnCl_2$:n ja $AGClO_4$:n läsnäollessa kuivassa, aproottisessa liuottimessa, kuten dietyylieetterissä suojakaasuä, kuten argon-atmosfäärissä +5°C - -30°C:ssa (J.Am.Soc. 1984, 106, 4189-4192).

B) Parempi reaktio saavutetaan, kun 1'-asemassa aktivoitava, samalla tavalla suojattu hiilihydraatti muutetaan 2,2'-ditiopyridiinillä kuivassa dikloorimetaanissa noin 0°C:ssa ja argon-atmosfäärissä 1'-S-(2-pyridyyli)-hiilidydraatiksi, joka reagoi 13β-alkyyli-milbemysiinin vapaan 5-OH-ryhmän kanssa kondensaatioaineen $Pb(ClO_4)$ tai $AgClO_4$ läsnäollessa huoneen lämpötilass, liuottimena tetrahydrofuraani (THF), glykosidisen sidoksen syntyessä helposti (J.Orj.Chem. 1983, 48, 3489-3493).

C) glykosidiset kytkeytymiset voidaan suorittaa myös Lewis-happojen, kuten $AlCl_3$, $AlBr_3$, $SnCl_4$, $ZnCl_2$, BF_3 (sekä ennen kaikkea eteraatin) läsnäollessa, jolloin erityisesti asetyloidut sokerit ovat erittäin sopivia. (Chimia 21, 1967, s. 537-538).

D) Niin sanotun ortoesteri-menetelmän mukaan voidaan muodostaa glykosidiset sidokset myös saattamalla 13β-alkyyli-milbemysiini reagoimaan kytkeytyvän, OH-suojatun sokerin kanssa alempialkoholin ortoesterin läsnäollessa, joka on sokeri-reagenssin alkoholi-komponentti.

Menetelmälle 13β-alkyyli-milbemysiini-johdannaisten valmistamiseksi, joilla on kaavan, jossa R_1, R_2, A, B, C, k ja m tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I), on tunnusomaista ahtaammassa merkityksessä, että saatetaan kaavan (I) mukainen 13β-alkyyli-5-hydroksi-milbemysiini reagoimaan

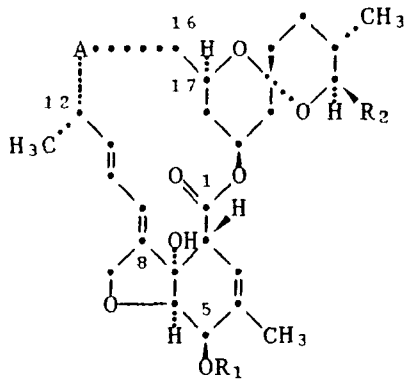
a) hopeasuolan tai elohopeasuolan, jotka ovat kondensaatioaineita, läsnäollessa liitettävän hiilihydraatin A tai $A-(B)_k-(C)_m$ kanssa, joissa A, B, C, k ja m tarkoitta-

vat samaa kuin kaavassa (I) ja joissa kaikki OH-ryhmät ovat suojatut, lukuunottamatta 1-asemassa kloorilla tai bromilla substituoitua anomeerista 1-OH-ryhmää, valolta suojaten lämpötilassa, joka on -30°C - +60°C, mieluimmin -5°C - +30°C; tai

b) $SnCl_2$:n ja $AgClO_4$:n, jotka ovat kondensaatioaineita, läsnäollessa liitettävän hiilihydraatin A tai $A-(B)_k-(C)_m$ kanssa, joissa kaikki OH-ryhmät ovat suojatut, lukuunottamatta 1-asemassa fluorilla substituoitua anomeerista 1-OH-ryhmää valolta suojaten +5°C - -30°C:ssa; ja mikäli halutaa hydroksyyli-suojaryhmät saippuoidaan lievästi.

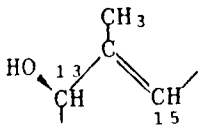
Kaavan (III) mukaiset trialkyylialuminium-yhdisteet ovat yleisesti tunnettuja tai niitä voidaan valmistaa samoin kuin tunnettuja yhdisteitä.

Lähtöaineina käytetyt, kaavan (II) mukaiset esterit voidaan valmistaa alun perin kaavan (IV) mukaisista allyylialkoholeista



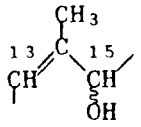
(IV)

joissa A tarkoittaa ryhmää a tai b



(a)

[= 13β-hydroksi-$\Delta^{14,15}$]

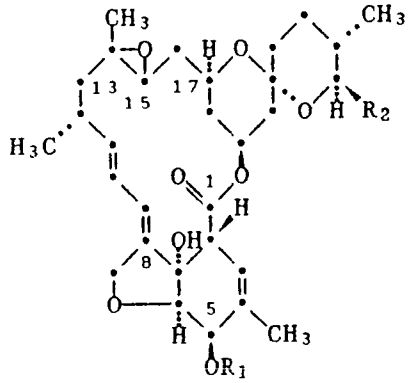


(b)

[= $\Delta^{13,14}$-15-hydroksi]

R_2 tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I) ja R_1 tarkoittaa vetyä tai jotain kaavassa (I) mainittua silyyliryhmää; käyttäen tavallisia, kirjallisuudesta tunnettuja asylointimenetelmiä, kuten esim. reaktioita happokloridien (R_8COCl) tai happoanhydridien $(R_8CO)_2O$ kanssa, joiss R_8 tarkoittaa samaa kuin kaavassa (II), emäksen (trietyyliamiinin, pyridiinin, N,N-dimetyyliaminopyridiinin, jne.) läsnäollessa jossain edellä mainitussa, inertissä liuottimessa, esim. dikloorimetaanissa, kloroformissa, jne., lämpötilassa, joka on -20°C - 100°C, mieluimmin 0°C - 70°C:ssa.

Kaavan (IVb) [=$\Delta_b^{13,14}$-15-hydroksi] mukaiset yhdisteet voidaan saada 14,15-epoksi-milbemysiineistä, joilla on kaavan V, jossa R_1 ja R_2 tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I)



(V)

kompleksisen reagenssin $[HN_3]_x/[Al(etyyli)_3]_y$ avulla, jossa x ja y tarkoittavat, toisistaan riippumatta, lukua 1 tai 2 tai lukuarvoa välillä 1 ja 2, inertissä, kuivassa

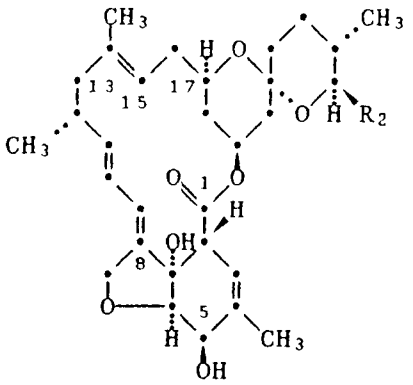
liuottimessa lämpötilassa, joka on -20°C - +150°C, mieluimmin +20°C - +80°C.

Inertteinä liuottimina tulevat kysymykseen alifaattiset ja aromaattiset hiilivedyt, kuten bentseeni, tolueeni, ksyleeni, petrolieetteri; eetterit, kuten dietyylieetteri, tert.-butyylimetyylieetteri, tetrahydrofuraani, dioksaani, anisoli.

Reaktio suoritetaan mieluimmin suojakaasu-, kuten typpi- tai argonatmosfäärissä.

Typpivetyhappo HN_3 voidaan, sen syntyessä, muuttaa $[HN_3]_x/[Al(Et)_3]_y$-kompleksiksi siten, että etukäteen kuivattuun liuottimeen tai liuotinseokseen suspendoidaan Na-atsidi ja tästä vahvemmalla hapolla, esim. H_2SO_4:llä (mieluimmin oleumilla, absoluuttisesti kuivien reaktio-olosuhteiden takaamiseksi) vapautetaan HN_3 liuokseen. $Al(Et)_3$:n tulee olla jo valmiina liuoksessa tai se lisätään siihen pian. Reaktioon tarkoitettu epoksi-yhdiste voi samalla tavalla olla jo valmiina tai se voidaan lisätä liuokseen sopivalla hetkellä.

Kaavan (IVb) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi käytetyt, kaavan (V) mukaiset lähtöaineet voidaan valmistaa helposti epoksidoimalla US-patentista 3,950,360 tunnetut ja alunperin "antibiootteina B-41-A", myöhemmin "milbemysiini-A-"-yhdisteinä tunnetut ja US-patentista 4,346,171 tunnetut ja "B-41-D"- tai "milbemysiini-D"-yhdisteinä merkityt yhdisteet, sekä US-patentista 4,173,571 tunnetut 13-deoksi-22,23-dihydro-avermektiinit (R_2 = sek.-butyyli), joilla on seuraavassa esitetty kaava (VI)



(VI)

R_2 = CH_3 milbemysiini A_3

R_2 = C_2H_5 milbemysiini A_4

R_2 = $isoC_3H_7$ milbemysiini D

R_2 = sek.C_4H_9 13-deoksi-22,23-dihydro-C-076-Bla-aglykoni.

Epoksidointi suoritetaan liuotinfaasissa lämpötilassa, joka on -10°C - +20°C, mieluimmin -5°C - +5°C:ssa.

Epoksidointi suoritetaan perhapoilla, kuten peretikkahapolla, trifluoriperetikkahapolla, perbentsoehapolla, klooriperbentsoehapolla.

Kaavan (IVa) mukaiset 13β-hydroksi-$\Delta^{14,15}$-yhdisteet voidaan valmistaa kaavan (IIb) mukaisista yhdisteistä, joissa R_1 tarkoittaa suojaryhmää, reaktiolla pyridiniumdikromaatin kanssa [=($Pyr_2Cr_2O_7$]. Tällöin työskennellään dimetyyliformamidissa ja lämpötila on noin -10°C - +60°C. suojaryhmä R_1 lohkaistaan pois, haluttaessa, suorittamalla lopussa hydrolyyttinen poislohkaisu.

Asyloimalla tai silyloimalla 5-OH-ryhmä valmistetaan jokainen kaavojen (I) - (VI) mukainen johdannainen, joissa R_1 tarkoittaa muuta kuin vetyä (R_1 = OH-suojaryhmä). Silylointiin käytetään tarkoituksenmukaisesti kaavan Y-Si(R_5)(R_6)(R_7) mukaista silaania, jossa R_5, R_6 ja R_7 tarkoittavat jotain edellä mainituista tähteistä ja jossa Y tarkoittaa silyylipoistoryhmää. Silyylipoistoryhmiin Y luetaan kuuluviksi esimerkiksi bromidi, kloridi, syanidi, atsidi, asetamidi, trifluoriasetaatti, trifluorimetaani-

sulfonaatti. Tämä luettelo ei aseta minkäänlaisia rajoituksia, alan ammattimies tuntee muita tyypillisiä silyylipoistoryhmiä.

5-O-silyloinnit suoritetaan vedettömässä väliaineessa, mieluimmin inerteissä liuottimissa ja erityisen edullisesti aproottisissa liuottimissa. Reaktio tapahtuu edullisesti lämpötilassa, joka on 0°C - +80°C, mieluimmin -10°C - +40°C. Mieluimmin lisätään jotain orgaanista emästä. Tällaisina tulevat kysymykseen esimerkiksi tertiääriset amiinit, kuten trietyyliamiini, trietyyleenidiamiini, triatsoli ja erityisesti pyridiini, imidatsoli tai 1,8-diatsabisyklo[5.4.0]undek-7-eeni (DBU).

Tällaisen silyylitähteen R_1 poistaminen 5-asemasta tapahtuu selektiivisillä, lievillä hydrolyyseillä (->R_1 = H), esim. aryylisulfonihapolla alkoholisessa liuoksessa tai jonkin muun, alan ammattimiehen tunteman menetelmän mukaisesti.

Kuvattu menetelmä kaavan (I) mukaisten yhdisteiden valmistamiseksi on kaikin osin osa tätä keksintlöä.

Tämän keksinnön kohteena on edelleen tuholaisten torjunta-aineet ulko- ja sisäloisia sekä vahingollisia hyönteisiä vastaan, jotka torjunta-aineet sisältävät tavallisten kantoaineiden ja/tai dispergoimisaineiden lisäksi aktiiviaineena ainakin yhden kaavan (I) mukaisen yhdisteen.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet sopivat erinomaisesti tuholaisten torjumiseksi eläimillä ja kasveilla, kuten eläimillä esiintyvien ulkoloisten torjumiseksi. Viimeksi mainittuihin kuuluvat Acrina-lahkosta erityisesti tuholaiset, jotka kuuluvat sukuihin Ixodidae, Dermanyssidae, Sarcoptidae, Psoroptidae; lahkot Mallophaga; Siphonaptera, Anoplura, (esim. Haemotopinidae-suku); Diptera-lahkosta erityisesti tuholaiset, jotka kuuluvat sukuihin Muscidae, Calliphoridae, Oestridae, Tabanidae, Hippoboscidae, Gastrophilidae.

Kaavan (I) mukaiset yhdistet ovat myös käyttökelpoisia terveyttä vaarantavia tuholaisia vastaan, erityisesti Diptera-lahkon sukuja Sarcophagidae, Anophilidae, Culicidae vastaan; lahkoa Orthoptera, lahkoa Dictyoptera (esim. Blattidae-sukua) ja lahkoa Hymenoptera (esim. Formicidae-sukua) vastaan.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet omaavat myös kestävän vaikutuksen kasviparasitäärisillä punkeilla ja hyönteisillä. Acarina-lahkon kehruupunkeilla ne ovat tehokkaita Tetranychidae'n (Tetranychus spp. ja Panonychys ssp.) munia, nuoruusasteita ja täysikasvuisia vastaan.

Niillä on suuri aktiivisuus imevillä hyönteisillä, jotka kuuluvat Homptera-lahkoon, erityisesti sukujen Aphididae, Delphacidae, Cicadellidae, Psyllidae, Loccidae, Diaspididae ja eriophydidae tuholaisia vastaan (esim. ruostepunkki sitrushedelmillä); tai lahkoihin Hemiptera, Heterptera ja Thysanoptera kuuluvilla hyönteisillä; sekä kasveja syövillä hyönteisillä, jotka kuuluvat lahkoihin Lepidoptera; Coleoptera; Diptera ja Orthoptera.

Ne ovat myös maaperainsektisideinä sopivia maaperän tuholaisia vastaan.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat täten tehokkaita imevien ja syövien hyönteisten kaikkia kehitysvaiheita vastaan viljelmillä, kuten viljoilla, puuvillalla, riisillä, maissilla, soijalla, perunalla, vihanneksilla, hedelmillä, tupakalla, humalalla, sitrushedelmillä, avokaadoilla ja muilla.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat tehokkaita myös kasvisukkulamatoja, kuten Meloidygne, Heterodera, Pratylenchus, Ditylenchus, Radopholus, Rizoglyphus, ja muita vastaan.

Erityisen tehokkaita yhdisteet ovat kuitenkin sisälmysmatoja vastaan, joista endoparasitääriset sukkulamadot voivat olla syynä vaikeisiin sairauksiin imettäväisillä ja linnuilla, esim. lampailla, sioilla, vuohilla, nau-

doilla, hevosilla, aaseilla, koirilla, kissoilla, marsuilla, häkkilinnuilla. Näiden indikaatioiden tyypillisiä nematodeja ovat: Haemonchus, Trichostrongylys, Ostertagia, Nematodirus, Cooperia, Ascaris, Bunostonum, Oesophagostonum, Charbertia, Trichuris, Strongylys, Trichonema, Dictyocaulus, Capillaria, Heterakis, Toxocara, Ascaridia, Oxyuris, Ancylostoma, Uncinaria, Toxascaris ja Parascaris. Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden erityisenä etuna on niiden tehokkuus sellaisia loisia (parasiitteja) vastaan, jotka ovat resistenttejä bentsimidatsoli-perustaisille aktiiviaineille.

Lajien Nematodirus, Cooperia ja Oesophagostonum tietyt erikoiskannat tarttuvat isäntäeläimen intestinaalialueelle (mahasuolialueelle), kun taas toiset lajien Haemonchus ja Ostertagia kannat tarttuvat mahaan ja on sellaisia Dictyocaulus-kantoja, jotka ovat loisina keuhkokudoksessa. Sukujen Filariidae ja Setariidae loiset ovat sisäisissä solukudoksissa ja elimissä, esim. sydämessä, verenkierrossa, imunesteessä ja ihonalaisessa (subkutaanisessa) kudoksessa. Näistä on mainittava ennen muuta koiran sydänkuume, Dirofilaria immitis. Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat erittäin aktiivisia näitä loisia vastaan.

Ne soveltuvat myös ihmisellä patogeenisten loisien torjumiseksi, joista tyypillisinä, ruoansulatusalueella esiintyvinä esimerkkeinä voidaan mainita sellaiset lajit, kuten Ancylostoma, Necator, Ascaris, Strongyloides, Trichinella, Capillaria, Trichuris ja Enterobius. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat tehokkaita myös loisia vastaan, jotka kuuluvat Filariidae-suvun lajeihin Wuchereria, Brugia, Onchocerca ja Loa, jotka esiintyvät veressä, kudoksissa ja erilaisissa elimissä, ne ovat tehokkaita myös Dracunculusta ja lajien Strongyloides ja Trichinella loisia vastaan, jotka infektoivat erityisesti gastro-intestinaalikanavan (maha-suoli-kanavan).

Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä käytetään muuttamattomassa muodossa tai mieluimmin yhdessä formulointi(valmistus)-tekniikassa tavallisesti käytettyjen apuaineiden kanssa ja ne valmistetaan näin ollen esim. emulsiokonsentraateiksi, suoraan sumutettaviksi tai laimennettaviksi liuoksisksi, laimeiksi emulsioiksi, sirotejauheiksi, liukoisiksi jauheiksi, pölytteiksi, granulaateiksi, ne myös kapseloidaan esim. polymeerisiin aineisiin tunnetulla tavalla. Käyttömenetelmä, kuten sumutus, suihkutus, pölytys, sirotus tai sively valitaan samoin kuin aine, ottaen vastaavasti huomioon päämäärä, johon pyritään ja annetut olosuhteet.

Kaavan (I) mukaisia yhdisteitä käytetään lämminverisillä määrin, jotka ovat 0,01 - 10 mg/kehon painokilo, suljetuilla viljelyailoilla, navetoissa, talleissa tai tällaisissa tiloissa 10 g:sta - 1000 g:aan/hehtaari.

Formulointi, t.s. kaavan (I) mukaisen aktiiviaineen sisältävien aineiden, valmisteiden tai koostumusten valmistaminen tapahtuu sinänsä tunnetulla tavalla, esim. sekoittamalla ja/tai jauhamalla aktiiviaine hyvin täyteaineiden, kuten esim. liuottimien, kiinteiden kantoaineiden ja mahdollisesti pinta-aktiivisten yhdisteiden (tensidien) kanssa.

Liuottimina tulevat kysymyksen: aromaattiset hiilivedyt, mieluimmin fraktiot C_8 - C_{12}, kuten esim. ksyleeniseokset tai substituoidut naftaliinit, ftaalihappoesterit, kuten dibutyyli- tai dioktyyliftalaatti, alifaattiset hiilivedyt, kuten sykloheksaani tai paraffiini, alkoholit ja glykolit sekä niiden eetterit ja esterit, kuten etanoli, etyleeniglykoli, etyleeniglykolimonometyyli- tai -etyylieetteri, ketonit, kuten sykloheksanoni, voimakkaasti plaariset liuottimet, kuten N-metyyli-2-pyrrolidoni, dimetyylisulfoksidi tai dimetyyliformamidi sekä mahdollisesti epoksidoidut kasviöljyt kuten epoksidoitu kookospähkinäöljy tai soijaöljy; tai vesi.

Kiinteinä kantoaineina, esim. pölytteisiin ja dispergoitaviin jauheisiin, käytetään yleensä luonnollisia kivijauheita, kuten kalsiittia, talkkia, kaoliinia, montmorilloniittia tai attapulgiittia. fysikaalisten ominaisuuksien parantamiseksi voidaan lisätä myös korkeadisperssiä piihappoa tai korkeadisperssiä, imukykyistä polymeraattia. Rakeisena, adsorptiivisena granulaattikantoaineena tulevat kysymykseen huokoiset lajit, kuten esim. hohkakivi, tiilimurska, sepioliitti tai bentoniitti, ei-sorptisina kantoaineina esim. kalsiitti tai santa. Tämän lisäksi voidaan käyttää lukuisia valmiiksi granuloituja aineita, jotka ovat luonteeltaan epäorgaanisia tai orgaanisia, kuten erityisesti dolomiittia tai rouhittuja kasvijäännöksiä.

Pinta-aktiivisina yhdisteinä tulevat kysymykseen, riippuen aina formuloitavasta aktiiviaineesta, ei-ioniset, kationi- ja/tai anioni-aktiiviset tensidit, joilla on hyvät emulgoivat, dispergoivat ja kostuttavat ominaisuudet. Tensideillä tarkoitetaan myös tensidiseoksia.

Sopivia anionisia tensidejä voivat olla sekä niin sanotut vesiliukoiset saippuat että myös vesiliukoiset, synteettiset, pinta-aktiiviset yhdisteet.

Saippuoina voidaan mainita korkeampien rasvahappojen (C_{10} - C_{12}) alkali-, maa-alkali- tai mahdollisesti substituoidut ammoniumsuolat, kuten esim. öljy- tai steariinihapon Na- tai K-suolat tai luonnollisten rasvahapposeosten, jotka voidaan saada esim. kookospähkinä- tai taliöljystä, Na- tai K-suolat. Edelleen on mainittava myös rasvahappo-metyyli-tauriinisuolat.

Nykyään käytetään kuitenkin niin sanottuja synteettisiä tensidejä, erityisesti rasvasulfonatteja, rasvasulfaatteja, sulfonoituja bentsimidatsolijohdannaisia tai alkyyliaryylisulfonaatteja.

Rasvasulfonaatit tai -sulfaatit esiintyvät yleensa alkali-, maa-alkali- tai mahdollisesti substituoituina

ammoniumsuoloina ja sisältävät 8-22 C-atomia käsittävän alkyylitähteen, jolloin alkyyli sisältää myö asyylitähteen alkyyliosan, esim. lgniinisulfonihapon, dodekyylirikkihappoesterin tai jostain luonnollisesta rasvahaposta valmistetun rasva-alkoholisulfaattiseoksen Na- tai Ca-suola. Näihin kuuluvat myös rasva-alkoholi-etyleenioksidi-adduktien rikkihappoestereiden ja sulfonihappojen suolat. Sulfonoidut bentsimidatsolijohdannaiset sisältävät mieluimmin 2-sulfonihapporyhmät ja 8-22 C-atomia sisältävän rasvahappotähteen. Alkyyliaryylisulfonaatteja ovat esim. dodekyylibentseenisulfonihapon, dibutyylinaftaliinisulfonihapon tai naftaliinisulfonihappo-formaldehydikondensaatiotuotteen Na-, Ca- tai trietanoliamiinisuolat.

Edelleen kysymykseen tulevat vastaavat fosfaatit, kuten esim. p-nonyylifenoli-(4-14)-etyleenioksidi-adduktin fosforihappoesterin suolat tai fosfolipidit.

Formulointitekniikassa käyttökelpoisia tensidejä on kuvattu mm. seuraavassa julkaisussa:

"Mc Cutcheon's Detergents and Emusifiers Annual"
MC Publishin Corp., ridgewood, New Jersey, 1982.

Pestisidivalmisteet sisältävät yleensä 0,01 - 95%, erityisesti 0,1 - 80% kaavan (I) mukaista aktiiviainetta, 5 - 99,99% kiinteää tai nestemäistä lisäainetta, ja 0 - 25% erityisesti 0,1 - 25% tensidiä.

Kauppatavaroina ovat edullisia ennen muuta konsentroidut aineet, kuluttaja käyttää yleensä laimennettua ainetta, jonka aktiiviainepitoisuus on 1 - 10 000 ppm.

Tämän keksinnön eräänä kohteena ovat näin ollen tuholaisten torjunta-aineet, jotka sisältävät tavanomaisten kantoaineiden ja/tai dispergoivien aineiden lisäksi aktiiviaineena ainakin yhden kaavan (I) mukaisen yhdisteen.

Aineet voivat lisäksi sisältää muita lisäaineita, kuten stabilisaattoreita, vaahdonestoaineita, viskositeettia sääteleviä aineita, sideaineita kiinnitysaineita sekä lannoitteita tai muita aktiiviaineita tiettyjen vaikutusten saavuttamiseksi.

Valmistusesimerkit

Lähtöaineiden ja välituotteiden valmistus

Esimerkki A1: 14,15-epoksi-milbemysiini D:n (kaava V) valmistus

Liuokseen, jossa on 550 mg milbemysiuini D:tä 5 ml:ssa dikloorimetaania, lisätään, samalla jäillä jäähdyttäen, liuos, jossa on 170 mg klooriperbentsoehappoa 5 ml:ssa dikloorimetaania. Hämmennetään 1 tuntia 0°C - +5°C:ssa, jonka jälkeen lisätään vielä 170 mg hapetusainetta ja hämmennetään edelleen 30 minuuttia. Kun reaktio on loppunut, liuos kaadetaan jääkylmään natriumsulfiittiliuokseen ja uutetaan etikkahappoetyyliesterillä. Yhdistetyt uutteet pestään kerran vedellä, kuivataan ja haihdutetaan tyhjössä. Raakatuote puhdistetaan kromatografoimalla piihappogeeli-pylväässä (eluointiaineena n-heksaani/etikkahappoetyyliesteri, 20:15). Saadaan 450 mg 14,15--epoksi-milbemysiini D:tä amorfisena, valkoisena aineena.

Esimerkki A2: 15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-ilbemysiini D:n (kaava Vb) valmistus

Liuokseen, jossa on 2,1 ml (1,75 g; 15,3 mmoolia) trietyylialuminiumia 8,5 ml:ssa abs.dietyyliesteriä, lisätään -20°C:ssa 9,5 ml (0,41 g; 9,53 mmoolia) HN_3:n 6,69%:ista liuosta dietyylieetterissä, sen jälkeen tämä lisätään -10°C:ssa voimakkaasti eksotermisen reaktion tapahtuessa, 1,8 g:aan (3,15 mmollia) 14,15-epoksi-milbemysiini D:tä (sellaisenaan). Yhden tunnin kuluttua huoneen lämpötilassa, lisätään 4 ml absoluuttista eetteriä ja tätä hyytelömäistä reaktioseosta hammennetään voimakkaasti. 4 tunnin kuluttua työskentelyä jatketaan esimerkin A1 mukaisesti ja kromatografoimalla 70 g:lla piihappogeeliä (CH_2Cl_2/asetoni, 10:1) saadaan 200 mg (10%) 14-atsido-15-hydroksi-milbemysiini D:tä ja 820 g (45%) 15-hydroksi-

-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä, sul.p. 151 - 153°C (metanolista).

Esimerkki A3: 5-O-tert.-butyylidimdetyylisilyyli-14,15-epoksi-milbemysiini D:n (kaava V) valmistus

Liuosta, jossa on 2,21 g (3,86 mmoolia) 14,15-epoksi-milbemysiini D:tä, 757 mg (5,02 mmoolia) tert.-butyylidimetyylikloorisilaania ja 342 mg (5,02 mmoolia) imidatsolia 4 ml:ssa DMF:ää, hämmennetään huoneen lämpötilassa 90 minuuttia. Sen jälkeen lisätään 80 ml dietyylieetteriä ja seos suodatetaan 20 g:lla piihappogeeliä ja haihdutetaan. Saadaan 2,65 g (100%) 5-O-tert.-butyylidimetyyli-14,15-epoksi-milbemysiini D:tä.

^{1}H-NMR (300 Mhz, liuottimena $CDCl_3$, vertailuarvot δ laskettu perustuen $Si(CH_3)_4$ = TMS).

0,12 ppm (s) ($(CH_3)_2Si$-O-)

0,92 ppm (s) ((tert.-C_4H_9)Si-O-)

1,23 ppm (leveä s) $C_{14}CH_3$, t.s. 14-asemassa olevan CH_3-ryhmän signaali;

2,56 ppm (d; J = 9) ($C_{15}H$, t.s. 15-asemassa olevan prutonin signaali).

Samalla tavalla voidaan reaktiolla trimetyylisilyylitrifluorimetaanisulfonaatin kanssa valmistaa vastaava 5-O-trimetyylisilyyli-14,15-epoksi-milbemysiini D, sul.p. 92 - 97°C.

Esimerkki A4: 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:n (kaava IVb) valmistus

Liuos, jossa on HN_3/Et_3Al-kompleksi-reagenssi (valmistetaan liuoksesta, jossa on 4,97 ml trietyylialuminiumia 7 ml:ssa abs. tetrahydrofuraania (THF) ja 0,15 ml HN_3:n 2,39 M-liuosta (21,9 mmoolia) abs. dietyylieetterissä) lisätään argonatmosfäärissä liuokseen, jossa on 5,0 g (7,29 mmoolia) 5-O-butyylidimetyylisilyyli-14,15-

epoksi-milbemysiini D:tä noin 20 ml:ssa abs. THF:ää, ja seosta kuumennetaan 15 tuntia palautusjäähdyttäen. Sen jälkeen lisätään huoneen lämpötilassa 250 ml eetteriä, 2 ml metanolia ja lopuksi seos, jossa on 10 g $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$:ta ja 10 g Celiteä. Seos suodatetaan, haihdutetaan ja raakatuote kromatografoidaan 160 g:lla piihappogeeliä (0 - 30% etikkahappoetyyliesteriä heksaanissa), saadaan 2,37 g (47%) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä.

^{1}H-NMR (300 Mhz, $CDCl_3$):

1,59 ppm (d; J = 1 Hz), ($C_{14}CH_3$);

4,06 ppm (dd; J_1 = 11 Hz; J_2 = 4) ($C_{15}H$);

5,15 ppm (d; J = 8 Hz) ($C_{13}H$):

Lisäksi saadaan 109 mg (2%) 13β-atsido-5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-milbemysiini D:tä.

Esimerkki A5: 14,15-epoksi-milbemysiini A_4:n ($R_2 = C_2H_5$) (kaava VII) valmistus

Liuokseen, jossa on 5,7 g (10,5 mmoolia) milbemysiini A_4:ää 140 ml:ssa dikloorimetaania ja 120 ml:ssa 0,5 M $NaHCO_3$-liuosta, lisätään tipoittain huoneen lämpötilassa liuos, jossa on 2,43 g (14,08 mmoolia) m-klooribentsoeperhappoa 70 ml:ssa dikloorimetaania. Seosta hämmennetään voimakkaasti 1 tunti huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen se laimennetaan 300 ml:lla dikloorimetaania. Orgaaninen faasi pestään vesipitoisella $NaHCO_3$-liuoksella, kuivataan Na_2SO_4:llä ja haihdutetaan. Saadaan 5,7 g epoksidia raakatuotteena.

Esimerkki A6: 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-14,15-epoksi-milbemysiini A_4:n (kaava V) valmistus

5,7 g 14,15-epoksi-milbemysiini A_4:ää liuotetaan 10 ml:aan kuivaa dimetyyliformamidia (DMF). Huoneen lämpötilassa lisätään 0,63 g (9,16 mmoolia) imidatsolia ja

1,4 g (9,34 mmoolia) tert.-butyylidimetyylikloorisilaania. Seosta hämmennetään 1 tunti huoneen lämpötilassa ja kromatografoidaan 150 g:lla piihappogeeliä (heksaani/eetteri, 4:1), jolloin saadaan 2,84 g (40% teoreettisesta saannosta laskettuna milbemysiini A_4:stä) silyloitua epoksijohdannaista.

Esimerkki A7: 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi- $13,14$-milbemysiini A_4:n (kaava IVb) valmistus

Kompleksi-reagenssi $HN_3/Al(etyyli)_3$ valmistetaan seuraavalla tavalla: 2,8 ml:aan (12,2 mmoolia) $Al(C_2H_5)_3$:a 4 ml:ssa abs. THF:ää lisätään argonatmosfäärissä noin -20°C:ssa hitaasti 5,28 ml (20,4 mmoolia) HN_3:n 10%:ista liuosta abs. dietyylieetterissä. Tähän liuokseen lisätään argonatmosfäärissä liuos, jossa on 2,84 g (4,25 mmoolia) esimerkissä A6 saatua yhdistettä, ja näin saatua seosta kuumennetaan palautusjäähdyttäen 4 tuntia. Huoneen lämpötilassa lisätään 500 ml dietyylieetteriä, 10 g $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$:ta ja 10 g Celiteä, ja seos suodatetaan ja haihdutetaan. Raakatuote kromatografoidaan 100 g:lla piihappogeeliä (heksaani/dietyylieetteri, 7:2), saadaan 1,72 g (60% teor.) otsikossa mainittua yhdistettä.
^1H-NMR (300 Mhz, $CDCl_3$; TMS):
1,59 ppm (br. s) ($C_{14}CH_3$;
4,05 ppm (br. s) ($C_{15}H$);
5,15 ppm (d; J = 6 Hz) ($C_{13}H$).

Lisäksi saadaan 0,1 g 13β-atsido-5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-milbemysiini A_4:ää.

Esimerkki A8: 15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_4:n (kaava IVb) valmistus

Hydrolysoimalla esimerkissä A7 mainittu yhdiste p-tolueenisulfonihapon 1%:isella liuoksella metanolissa ja jatkamalla työskentelyä dietyylieetterissä 5%:isella Na-

vetykarbonaattiliuoksella, saadaan otsikossa mainittu yhdiste.

Esimerkki A9: 14,15-epoksi-milbemysiini A_3:n ($R_2 = CH_3$) valmistus (kaava V)

Esimerkin A1 mukaisesti 220 mg:sta milbemysiini A_3:a 5 ml:ssa dikloorimetaania ja 75 mg:sta klooriperbentsoehappoa 5 ml:ssa dikloorimetaania, saadaan -2°C - +5°C:ssa 1,5 tunnin kuluessa ja piihappogeelipylväällä puhdistamalla 190 mg 14,15-epoksi-milbemysiini A_3:a.

Esimerkki A10: 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-14,15-epoksi-milbemysiini A_3:n (kaava V) valmistus

Esimerkin A3 mukaisesti 190 mg.sta 14,15-epoksi-milbemysiini A_3:a ja 120 mg:sta tert.-butyylidimetyylikloorisilaania saadaan imidatsolin läsnäollessa 217 mg otsikossa mainittua yhdistettä.

Esimerkki A11: 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_3:n (kaava IVb) valmistus

Analogisesti esimerkin A7 epoksidi-poislohkaisun kanssa, saadaan 210 mg:sta 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-14,15-epoksi-milbemysiini A_3:a absoluuttisessa dietyylieetterissä kompleksisen HN_3/Et_3Al:n avulla argonatmosfäärissä, lopuksi suoritetun puhdistuksen jälkeen, 203 mg otsikossa mainittua yhdistettä.

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$; TMS):

1,58 ppm (br. s) ($C_{14}CH_3$);

4,05 ppm (br. s) ($C_{15}H$);

5,15 ppm (d; J = 6 Hz) ($C_{13}H$).

Esimerkki A12:15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_3:n (kaava IVb) valmistus

Analogisesti esimerkin A1 kanssa valmistetaan juuri ennen käyttöä reagenssi $HN_3/Al(C_2H_5)_3$ ja -10°C:ssa lisätään tipoittain liuokseen, jossa on 830 mg (3,05 mmoolia) 14,15-epoksi-milbemysiini A_3:a 7 ml:ssa kuivaa dietyylieetteriä. Jatkotyöskentelyn jälkeen saadaan 385 mg 15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_3:a ja 92 mg 14-atsido-15-hydroksi-milbemysiini A_3:a.

Esimerkki A13:13-deoksi-14,15-epoksi-22,23-dihydro-avermektiini-Bla-aglykonin (R_2 = sek.-C_4H_9) (kaava V) valmistus

Analogisesti esimerkin A5 kanssa 520 mg:sta 13-deoksi-22,23-dihydro-avermektiini-Bla-aglykonia [Tehtrahedron Letters, vol. 24, nro 148, sivut 5333-5336 (1983)] ja 210 mg:sta m-klooribentoseperhappoa 20 ml:ssa dikloorimetaania saadaan 510 mg otsikossa mainittua yhdistettä.

Esimerkki A14:5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13-deoksi-14,15-epoksi-22,23-dihydro-avermektiini-Bla-aglykonin (kaava V) valmistus

Analogisesti esimerkin A5 kanssa 220 mg:sta esimerkin 14 mukaista yhdistettä ja 55 mg:sta tert.-butyylidimetyylikloorisilaania saadaan 25 mg:n imidatsolia läsnäollessa 5 ml:ssa kuivaa DMF:ää 108 mg otsikossa mainittua yhdistettä.

Esimerkki A15:13-deoksi-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-22,23-dihydro-avermektiini-Bla-aglykonin (kaava IVb) valmistus

Analogisesti esimerkin a2 kanssa 220 mg:sta esimerkin A14 mukaista yhdistettä saadaan kompleksisen reagenssin kanssa, joka muodostuu 320 mg:sta $Al(C_2H_5)_3$:a ja 110 mg : sta HN_3:n 6,96%:ista liuosta kaikkiaan 16 ml:ssa kuivaa

dietyylieetteriä, 112 mg otsikossa mainittua yhdistettä. Lisäksi saadaan 61 mg 13-deoksi-14-atsido-15-hydroksi-22,23-dihydro-avermektiini-Bla-aglykonia.

Esimerkki A16: a) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-hydroksi-milbemysiini D:n ja 13β-hydroksi-milbemysiini D:n (kaava IVa) valmistus

Liuosta, jossa on 286 mg (0,41 mmoolia) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä ja 209 mg (0,56 mmoolia) pyridiniumdikromaattia (PDC) 3 ml:ssa dimetyyliformamidia (DMF), hämmennetään 30 minuuttia huoneen lämpötilassa. Sen jälkeen lisätään 1 ml isopropanolia, hämmennetään edelleen 5 minuuttia, jonka jälkeen laimennetaan 50 ml:lla eetteriä. Seos suodatetaan 10 minuutin kuluttua piihappogeelin läpi ja haihdutetaan. Kromatografoimalla raakatuote 20 g:lla piihappogeeliä (eetteri/heksaani, 1:2) saadaan 165 mg (57%) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-hydroksi-milbemysiini D:tä.
^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):
1,59 ppm (br. s) ($C_{14}CH_3$)
3,70 ppm (d; J = 10 Hz) ($C_{13}H$).

105 mg (0,153 mmoolia näin saatua yhdistettä hämmennetään 1 ml:n kanssa p-tolueenisulfonihapon 1%:ista liuosta metanolissa 1 tunnin ajan. Seos laimennetaan 20 ml:lla eetteriä, suodatetaan piihappogeelin läpi, haihdutetaan ja jäännös kromatografoidaan noin 10 g:lla piihappogeeliä (asetoni/dikloorimetaani, 1:4), jolloin saadaan 73 mg (83%) 13β-hydroksi-milbemysiini D:tä.
^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):
1,58 ppm (br. s) ($C_{14}CH_3$)
3,71 ppm (d; J = 10 Hz) ($C_{13}H$).

b) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-hydroksi-milbemysiini A_4:n valmistus

Käyttämällä analogisesti kohdan a) menetelmässä lähtöaineena 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_4:ää, saadaan otsikossa mainittu yhdiste, jolla on seuraavat fysikaaliset arvot:
^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):
3,05 ppm (t; J = 9 Hz) ($C_{25}H$)
3,71 ppm (dd; J = 3 ja 10 Hz) ($C_{13}H$)
Massaspektri (FD) m/e: 672 (M^+; $C_{38}H_{60}O_8Si$).

Esimerkki A17: a) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-asetoksi-milbemysiini D:n valmistus

Liuosta, jossa on 200 mg (0,29 mmoolia) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-hydroksi-milbemysiini D:tä ja 1 ml pyridiiniä 2 ml:ssa etikkahappoanhydridiä, hämmennetään 2 tuntia huoneen lämpötilassa. Jatkamalla työskentelyä dietyylieetterissä, saadaan 212 mg 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-asetoksi-molbemysiini D:tä amorfisena jauheena.

b) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-asetoksi-milbemysiini A_4:n:valmistus

Käyttämällä analogisesti kohdan a) menetelmässä lähtöaineena 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_4:ää, saadaan otsikossa mainittu yhdiste, jolla on seuraavat fysikaaliset arvot:
^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):
1,53 ppm (s) ($C_{14}CH_3$)
2,03 ppm (s) (CH_3COO)
4,94 ppm (d; J = 10 Hz) ($C_{13}H$)
Massaspektri (FD) m/e: 714 (M^+; $C_{40}H_{62}O_9Si$).

Esimerkki A18: a) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-asetoksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:n valmistus

Liuosta, jossa on 627 mg (0,914 mmoolia) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä 2 ml:ssa etikkahappoanhydridiä ja 2 ml:ssa pyridiiniä, hämmennetään 0,5 tuntia huoneen lämpötilassa. Jatakamalla työskentelyä dietyylieetterissä 5%:isella vesipitoisella $NaHCO_3$-liuoksella ja 1 M HCl:llä ja suodattamalla piihappogeelin läpi saadaan 624 mg (94%) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-asetoksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä.

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

1,58 ppm (br. s) ($C_{14}CH_3$)

1,79 ppm (br. s) (C_4CH_3)

2,02 ppm (s) (CH_3COO)

5,12 - 5,26 ppm (m) ($C_{10}H$; $C_{13}H$; $C_{15}H$)

b) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-asetoksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_4:n valmistus

Käyttämällä kohdan a) menetelmässä lähtöaineena 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_4:ää, saadaan otsikossa mainittu yhdiste, jolla on seuraavat fysikaaliset arvot:

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

1,59 ppm (s) ($C_{14}CH_3$)

2,03 ppm (s) (CH_3COO)

3,02 ppm (t; J = 8 Hz) ($C_{25}H$)

3,88 ppm (d; J = 6 Hz) (C_6H)

Massaspektri m/e: 714 (M^+; $C_{40}H_{62}O_9si$), 639, 579, 497, 472, 437, 413, 394, 349.

c) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-asetoksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_3:n valmistus

Valmistus tapahtuu täysin analogisesti kohdan a) ja b) kanssa, lähtemällä kuitenkin 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-hydroksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini A_3:sta.

Kaavan (I) mukaisten lopputuotteiden valmistus

Esimerkki H1: 13β-metyyli-milbemysiini D:n valmistus

Liuokseen, jossa on 203 mg (0,28 mmoolia) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-asetoksi- ^{13,14}-milbemysiini D:tä 2 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin tipoittain, samalla hämmentäen argonatmosfäärissä 0°C:ssa 1,2 ml trimetyylialuminiumin 17%:ista liuosta tolueenissa. Liuosta hämmennettiin 2 tuntia huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen lisättiin 0,3 ml metanolia tipoittain ja seos laimennettiin dietyylieetterillä ja hämmennettiin Celiten kanssa. Suodattamalla piihappogeelin läpi (ajoliuoksena dietyylieetteri) saatiin 177 mg 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-metyyli-milbemysiini D:tä.

Liuosta, jossa oli tämä aine 0,5 ml:ssa dikloorimetaania, hämmennettiin 1 tuntia yhdessä 1 ml:n kanssa HF:n 40%:ista vesipitoista liuosta asetonitriilissä (5:95) huoneen lämpötilassa. Työskentelyä jatkettiin dietyylieetterillä ja suodatettiin piihappogeelin läpi. Raakatuotteen (154 mg) HPLC (SiO_2; 0,5% metanolia dikloorimetaanissa; paine 50 baaria) tuotti 116 mg (57%) 13β-metyyli-milbemysiini D:tä.

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

1,01 ppm (d, J = 6,7 Hz) ($C_{13}CH_3$)

5,03 ppm (dd; J = 10,5 ja 4,6 Hz) ($C_{15}H$)

Massaspektri m/e: 570 (M^+; $C_{34}H_{50}O_7$, 442, 292, 273, 263, 210, 209, 181, 163, 152, 151.

Esimerkki H2: a) 13β-etyyli-milbemysiini D:n ja 15-etyyli-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:n valmistus

Liuokseen, jossa on 340 mg (0,47 mmoolia) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-15-asetoksi-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä 2 ml:ssa dikloorimetaania, lisättiin tipoittain samalla hämmentäen argonatmosfäärissä 0°C:ssa 0,75 ml (0,63 g; 5,5 mmoolia) trietyylialuminiumia. Liuosta hämmennettiin 1 tunti huoneen lämpötilassa, jonka jälkeen laimennettiin dietyylieetterillä, seokseen lisättiin Celite/ $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$ (1:1) ja hämmennettiin 1 tunti. suodattamalla piihappogeelin läpi (ajoliuoksena dietyylieetteri) saatiin 258 mg seosta, joka liuotettiin 0,5 ml:aan dikloorimetaania ja hämmennettiin yhdessä 1 ml:n kanssa HF:n 4%:ista vesipitoista liuosta asetonitriilissä (5:95) 1 tunti huoneen lämpötilassa. työskentelyä jatkettiin dietyylieetterissä, suodattamalla piihappogeelin läpi (ajoliuoksena dietyylieetteri) ja raakatuotteen (183 mg) HPLC:llä (Reversed Phase: vesi/metanoli, 1:9, paine 50 mbaaria), saatiin 88 mg (32%) 13β-etyyli-milbemysiini D:tä.

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

0,73 ppm (t, J = 7,2 Hz) ($C_{13}CH_2\underline{CH_3}$)

5,03 ppm (dd; J = 10,5 ja 4,4 Hz) ($C_{15}H$)

Massaspektri m/e: 584 ($M]^+$; $C_{35}H_{52}O_7$), 456, 287, 276, 210, 209, 181, 163, 151.

ja 57 mg (21%) 15-etyyli-$\Delta^{13,14}$-milbemysiini D:tä.

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,03 ppm (m) ($C_{12}H$)

4,93 ppm (dd; J = 8,7 ja 1,2 Hz) ($C_{13}H$)

Massaspektri m/e: 584 (M^+; $C_{35}H_{52}O_7$), 456, 438, 277, 276, 206, 181, 171, 163, 151, 150, 149.

Analogisesti menetelmän H2 a) kanssa saadaan vastaavien trialkyyliyhdisteiden reaktioilla seuraavat esimerkissä H2 b) - H2 h) mainitut, kaavan (I) mukaiset milbemysiinit:

H2 b) 13β-metyyli-milbemysiini A_4

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,07 ppm (dt; J = 12 ja 10 Hz) ($C_{25}H$)

5,05 ppm (dd; J = 10 ja 5 Hz) ($C_{15}H$)

massaspektri (FD) m/e: 556 (M^+; $C_{33}H_{48}O_7$).

H2 c) 13β-etyyli-milbemysiini A_4

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,03 ppm (leveä t; J = 10 Hz) ($C_{25}H$)

5,02 ppm (dd; J = 10 ja 7 Hz) ($C_{15}H$)

massaspektri (FD) m/e: 570 (M^+; $C_{34}H_{50}O_7$).

H2 d) 13β-n-heksyyli-milbemysiini D

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,08 ppm (d; J = 8 Hz) ($C_{25}H$)

5,00 ppm (leveä t; J = 8 Hz) ($C_{15}H$)

massaspektri (FD) m/e: &$= ($M^+$; $C_{39}H_{60}O_7$).

H2 e) 13β-n-butyyli-milbemysiini A_4

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,03 ppm (leveä t; J = 10 Hz) ($C_{25}H$)

5,02 ppm (leveä t; J = 10 Hz) ($C_{15}H$)

massapektri (FD) m/e: 598 (M^+;$C_{36}H_{54}O_7$).

H2 f) 13β-isobutyyli-milbemysiini A_4

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,09 ppm (leveä t; J = 10 Hz) ($C_{25}H$)

5,05 ppm (dd; J = 10 ja 7 Hz) ($C_{15}H$)

massaspektri (FD) m/e: 598 (M^+; $C_{36}H_{54}O_7$).

H2 g) 13β-metyyli-milbemysiini A_3

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,27 ppm (m) ($C_{25}H$)

5,06 ppm (dd; J = 10 ja 6 Hz) ($C_{15}H$)

massaspektri (FD) m/e: 542 (M^+; $C_{32}H_{46}I_7$).

H2 h) 13β-etyyli-milbemysiini A_3

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,25 ppm (m) ($C_{25}H$)

5,06 ppm (dd; J = 10 ja 6 Hz) ($C_{15}H$)

massaspektri (FD) m/e: 556($M^?$; $C_{33}H_{48}O_7$).

Esimerkki H3: 13β-metyyli-milbemysiini D:n valmistus 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-asetoksi-milbemysiini D:stä

Liuokseen, jossa on 14 mg (0,019 mmoolia) 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-asetoksi-milbemysiini D:tä 0,5 ml:ssa dikloorimetaania, lisätään tipoittain samalla hämmentäen argonatmosfäärissä 0°C:ssa 0,5 ml trimetyyli-aluminiumin 17%:ista liuosta tolueenissa. Liuosta hämmennetään yön yli 5°C:ssa. Jatkamalla työskentelyä esimerkin H1 mukaisesti saadaan 10 mg 5-O-tert.-butyylidimetyylisilyyli-13β-metyyli-milbemysiini D:tä.

Liuosta, jossa on tämä aine 0,5 ml:ssa dikloorimetaania, hämmennetään yhdessä 1 ml:n kanssa HF:n 40%:ista vesipitoista liuosta asetonitriilissä (5:95) 1 tunti huoneen lämpötilassa. Seos käsitellään edelleen dietyylieetterillä ja suodatetaan piihappogeelin läpi, jolloin saadaan 8 mg 13β-metyyli-milbemysiini D:tä.

Esimerkki H4: 13β-metyyli-5-O-(2,3,4,6-tetra-O-asetyyli-1-O-asetyyli-1-O-glukopyranosyyli)-milbemysiini A_4:n valmistus

Liuokseen, jossa on 49 mg (0,088 mmoolia) 13β-metyyli-milbemysiini A_4:ää, 300 mg (0,72 mmoolia) 1-bromi-2,3,4,6-tetra-O-asetyyliglukoosia ja 140 mg (1,1 mmoolia) di-isopropyylietyyliamiinia 30 ml:ssa absoluuttista dietyylieetteriä, lisätään huoneen lämpötilassa 185 mg (0,72 mmoolia) Ag-triflat'ia. Hämmennetään 15 tuntia valolta suojaten, jonka jälkeen vaaleanruskea sakka suodatetaan. Suodos laimennetaan 100 ml:lla dietyylieetteriä,

pestään kaksi kertaa, kummallakin kertaa 15 ml:lla 1 N $NaHCO_3$-liuosta ja sen jälkeen kaksi kertaa, kummallakin kertaa 15 ml:lla vettä. Kuivataan natriumsulfaatilla, jonka jälkeen liuos haihdutetaan ja puhdistetaan piihappogeelillä (ajoliuoksena dikloorimetaani/dietyylieetteri, 7:1). Jäähdytyskuivauksen jälkeen saadaan 74 mg (95% teor.) valkoista, amorfista jauhetta.

^{1}H-NMR (250 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,10 ppm (leveä t; J = 10 Hz) ($C_{25}H$)

2,08 ppm (s) (4 CH_3COO)

massaspektri (kenttä-desorptiospektri): m/e 886 (M^+ $C_{47}H_{66}O_{16}$)

Esimerkki H5: 13β-metyyli-5-O-(2,3,4,6-tetra-O-asetyyli-1-O-galaktopyranosyyli)-milbemysiini A_4:n valmistus

Liuokseen, jossa on 50 mg (0,088 mmoolia) 13β-metyyli-milbemysiini A_4:ää, 300 mg (0,72 mmoolia) 1-bromi-2,3,4,6-tetra-O-asetyyligalaktoosia ja 140 mg (1,1 mmoolia) di-isopropyylietyyliamiinia 50 ml:ssa absoluuttista dietyylieetteriä, lisätään huoneen lämpötilassa 185 mg (0,72 mmoolia) Ag-triflat'ia. Hämmennetään 20 tuntia valolta suojaten, jonka jälkeen kiinteä, väritön sakka suodatetaan. Suodos laimennetaan 100 ml:lla dietyylieetteriä, pestään kaksi kertaa, kummallakin kertaa 15 ml:lla 1 N $NaHCO_3$-liuosta, ja sen jälkeen kaksi kertaa, kummallakin kertaa 25 ml:lla vettä. Kuivataan magnesiumsulfaatilla, jonka jälkeen liuos haihdutetaan ja puhdistetaan piihappogeelillä (ajoliuoksena dikloorimetaani/dietyylieetteri, 7.1). Jäähdytyskuivauksen jälkeen saadaan 77 mg (95% teor.) valkoista, amorfista jauhetta.

^{1}H-NMR (300 Mhz; $CDCl_3$; TMS):

3,10 ppm (dt; J = 2 ja 10 Hz)

2,05 ppm (s) (3 CH_3COO)

2,10 ppm (s) (1 CH_3COO)

massaspektri (kenttä-desorptiospektri): m/e 886 (M^+; $C_{47}H_{66}O_{16}$)

Analogisesti kuvattujen työskentelymenetelmien kanssa valmistetaan myös seuraavassa mainitut, kaavan (I) mukaiset yhdisteet: seuraavassa esitetyt taulukot eivät kuitenkaan ole luonteeltaan millään tapaa rajoittavia:

Taulukko 1: Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden tyypillisiä esimerkkejä, joissa R_1 tarkoittaa vetyä

Yhdiste no	R_2	R
1.1	CH_3	CH_3
1.2	CH_3	C_2H_5
1.3	CH_3	C_3H_7-n
1.4	CH_3	C_3H_7-iso
1.5	CH_3	C_4H_9-n
1.6	CH_3	C_4H_9-sek
1.7	CH_3	C_4H_9-iso
1.8	CH_3	C_5H_{11}-n
1.9	CH_3	C_6H_{13}-n
1.10	CH_3	C_7H_{15}-n
1.11	CH_3	C_8H_{17}-n
1.12	CH_3	C_9H_{18}-n
1.13	CH_3	$C_{10}H_{21}$-n
1.14	C_2H_5	CH_3
1.15	C_2H_5	C_2H_5
1.16	C_2H_5	C_3H_7-iso
1.17	C_2H_5	C_4H_9-n
1.18	C_2H_5	C_4H_9-sek
1.19	C_2H_5	C_4H_9-iso
1.20	C_2H_5	C_5H_{11}-n
1.21	C_2H_5	C_6H_{13}-n
1.22	C_3H_7-iso	CH_3
1.23	C_3H_7-iso	C_2H_5
1.24	C_3H_7-iso	C_3H_7-n
1.25	C_3H_7-iso	C_3H_7-iso
1.26	C_3H_7-iso	C_4H_9-n
1.27	C_3H_7-iso	C_4H_9-sek
1.28	C_3H_7-iso	C_4H_9-iso
1.29	C_4H_9-sek	CH_3
1.30	C_4H_9-sek	C_2H_5

Taulukko 1: (jatkuu)

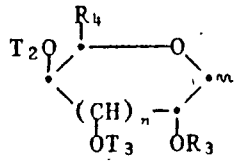
Yhdiste no.	R_2	R
1.31	C_4H_9-sek	C_3H_7-n
1.32	C_4H_9-sek	C_3H_7-iso
1.33	C_4H_9-sek	C_4H_9-n
1.34	C_4H_9-sek	C_4H_9-sek
1.35	C_4H_9-sek	C_4H_9-tert
1.36	C_4H_9-sek	C_4H_9-iso
1.37	C_3H_7-iso	C_6H_{13}-n
1.38	C_3H_7-iso	C_5H_{11}-n
1.39	C_2H_5	C_3H_7-n

Taulukko 2: Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden tyypillisiä esimerkkejä, joissa R_1 tarkoittaa silyyliryhmää

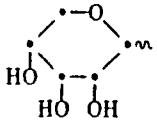
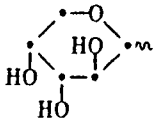
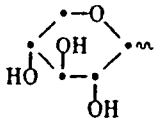
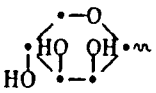
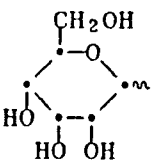
Yhdiste no.	R_2	R	R_1
2.1	CH_3	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.2	CH_3	C_2H_5	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.3	CH_3	C_3H_7-n	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.4	CH_3	C_3H_7-iso	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.5	CH_3	C_4H_9-n	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.6	CH_3	C_4H_9-sek	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.7	CH_3	C_4H_9-tert	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.8	C_2H_5	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.9	C_3H_7	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.10	C_3H_7-iso	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.11	C_4H_9-n	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.12	C_4H_9-sek	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.13	C_4H_9-iso	CH_3	tert.-butyylidimetyylisilyyli
2.14	CH_3	CH_3	trimetyylisilyyli
2.15	CH_3	CH_3	tris(tert.-butyyli)silyyli
2.16	CH_3	CH_3	difenyyli-tert.-butyylisilyyli
2.17	CH_3	CH_3	bis(isopropyyli)metyylisilyyli

Yhdiste no.	R_2	R	R_1
2.18	CH_3	CH_3	Trifenyylisilyyli

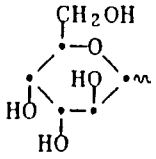
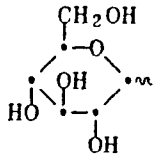
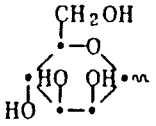
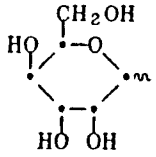
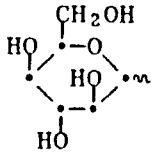
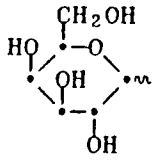
Taulukko 3: Kaavan (I) mukaisten yhdisteiden tyypillisiä esimerkkejä, joissa R_1 tarkoittaa ryhmää



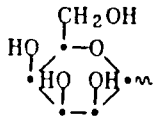
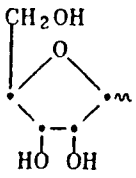
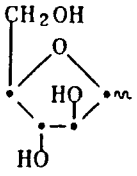
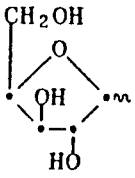
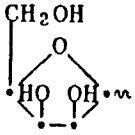
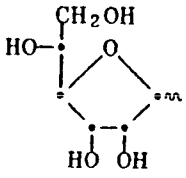
ja R_2 ja R tarkoittavat metyyliä. (Tapauksissa, joissa R_2 ja R tarkoittavat jotain muuta, on tämä erikseen merkitty):

Yhdiste no.	R_1
3.1	 C_5-D-riboosi
3.2	 C_5-D-arabinoosi
3.3	 C_5-D-ksyloosi
3.4	 C_5-D-lyksoosi
3.5	 C_6-D-alloosi

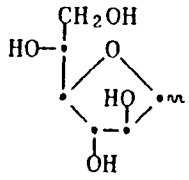
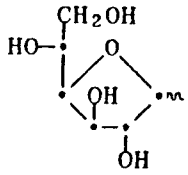
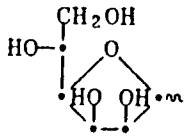
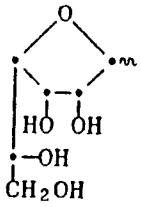
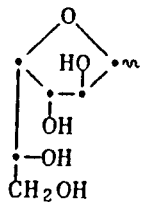
Taulukko 3 (jatkuu)

Yhdiste no.	R_1
3.6	 C_6-D-altroosi
3.7	 C_6-D- glukoosi
3.8	 C_6-D- mannoosi
3.9	 C_6-D- guloosi
3.10	 C_6-D- idoosi
3.11	 C_6-D- galaktoosi

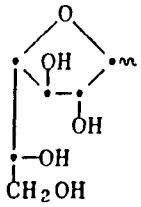
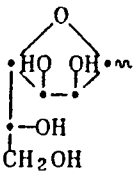
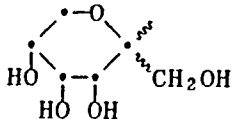
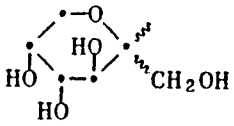
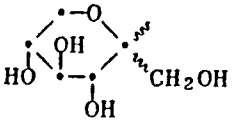
Taulukko 3 (jatkuu

Yhdiste no.	R_1
3.12	 C_6-D-taloosi
3.13	 C_5-D-riboosi
3.14	 C_5-D-arabinoosi
3.15	 C_5-D-ksyloosi
3.16	 C_5-D-lyksoosi
3.17	 C_6-D-alloosi

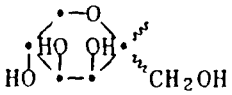
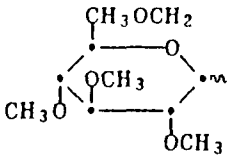
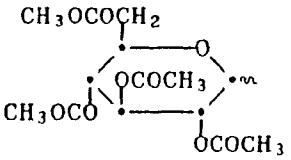
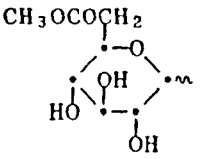
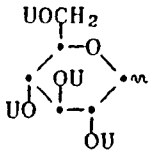
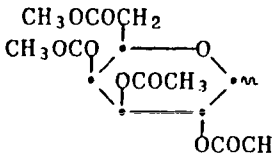
Taulukko 3 (jatkuu)

Yhdiste no.	R_1
3.18	 C_6-D-altroosi
3.19	 C_6-D-glukoosi
3.20	 C_6-D-mannoosi
3.21	 C_6-D-guloosi
3.22	 C_6-D-idoosi

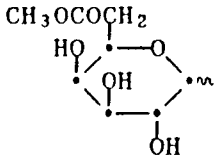
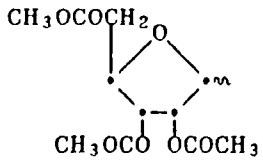
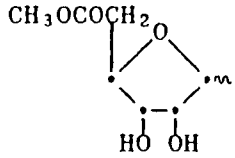
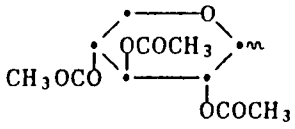
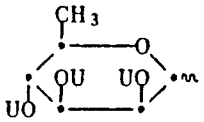
Taulukko 3 (jatkuu)

Yhdiste no.	R_1
3.23	
	C_6-D-galaktoosi
3.24	
	C_6-D-taloosi
3.25	
	C_6-D-psikoosi
3.26	
	C_6-D-fruktoosi
3.27	
	C_6-D-sorboosi

Taulukko 3 (jatkuu)

Yhdiste no.	R_1	R_2
3.28		
	C_6-D-tagatoosi	
3.29		
	2,3,4,6-tetra-O-metyyli(C_6-D-glukoosi)	
3.30		C_2H_5
	2,3,4,6-tetra-O-asetyyli-(C_6-D-glukoosi)	
3.31		
	6-O-asetyyli-(C_6-D-glukoosi)	
3.32		U:n kanssa = bentsoyyli
	2,3,4,6-tetra-O-bentsoyyli-(C_6-D-glukoosi)	
3.33		C_2H_5
	2,3,4,5-tetra-O-asetyyli-(C_6-D-galaktoosi)	

Taulukko 3 (jatkuu)

Yhdiste no.	R_1
3.34	 6-O-asetyyli-(C_6-D-galaktoosi)
3.35	 2,3,5-tri-O-asetyyli-(C_6-D-riboosi)
3.36	 5-O-asetyyli-(C_5-D-riboosi)
3.37	 2,3,4-tri-O-asetyyli-(C_5-D-ksyloosi)
3.38	 U:n kanssa = asetyyli 2,3,4-tri-O-asetyyli-(C_6-D-rammoosi)

Valmiste-esimerkit kaavan (I) mukaiselle aktiiviaineelle
(% = painoprosentti)

Sirotejauheet	a)	b)	c)
aktiiviainetta (taulukoissa esitettyä	25%	50%	75%
Na-ligniinisulfonaattia	5%	5%	-
Na-lauryylisulfaattia	3%	-	5%
Na-di-isobutyylinaftaliini-sulfonaattia	-	6%	10%
oktyylifenolipolyetyleeni-glykolieetteriä (7-8 moolia AeO)	-	2%	-
korkeadisperssiä piihappoa	5%	10%	10%
kaoliinia	62%	27%	-

Aktiiviaine sekoitetaan hyvin lisäaineiden kanssa ja jauhetaan hyvin sopivassa myllyssä. Saadaan sirotejauheet, joka voidaan laimentaa vedellä kulloinkin toivotun konsentraation omaaviksi suspensioiksi.

Emulsiokonsentraatti

aktiiviainetta (taulukoissa esitettyä)	10%
oktyylifenolipolyetyleeniglykolieetteriä (4-5 moolia AeO)	3%
Ca-dodekyylibentseenisulfonaattia	3%
risiiniöljypolyglykolieetteriä (36 moolia AeO)	4%
sykloheksanonia	30%
ksyleeniseosta	50%

Tästä konsentraatista voidaan vedellä laimentamalla valmistaa kulloinkin toivotun konsentraation omaavia emulsioita.

Pölytteet

	a)	b)
aktiiviainetta (taulukoissa esitettyä)	5%	8%
talkkia	95%	-
kaoliinia	-	92%

Saadaan käyttövalmiit pölytteet siten, että aktiiviaine sekoitetaan kantoaineen kanssa ja jauhetaan sopivalla myllyllä.

Ekstrudoitu granulaatti

aktiiviainetta (taulukoissa esitettyä)	10%
Na-ligniinisulfonaattia	2%
karboksimetyyliselluloosaa	1%
kaoliinia	87%

Aktiiviaine sekoitetaan lisäaineiden kanssa, jauhetaan ja kostutetaan vedellä. Tämä seos ekstrudoidaan ja lopuksi kuivataan ilmavirrassa.

Tabletit tai pillerit (Bolus)

I	aktiiviainetta (taulukossa esitettyä)	33,0%
	metyyliselluloosaa	0,80%
	piihappoa korkeadispersioista	0,80%
	maissitärkkelystä	8,40%

Metyyliselluloosa sekoitetaan veteen ja annetaan turvota; piihappo sekoitetaan turvonneeseen seokseen ja seos suspendoidaan homogeeniseksi. Aktiiviaine ja maissitärkkelys sekoitetaan. Tähän seokseen lisätään vesipitoista suspensiota ja valmistetaan taikina. Tämä massa granuloidaan seulalla (seulakoko 12 M), jonka jälkeen kuivataan.

II	maitosokeria, kit.	22,50%
	maissitärkkelystä	17,00%
	mikrokit. selluloosaa	16,50%
	magnesiumstearaattia	1,00%

Kaikki 4 apuainetta sekoitetaan hyvin.

Faasit I ja II sekoitetaan ja puristetaan tableteiksi tai pillereiksi.

Kun kaavan (I) mukaisia yhdisteitä tai vastaavia aineita käytetään sisäloisina esiintyvien sukkulamatojen (Nematoden), heisimatojen (Cestoden) ja imumatojen (Trematoden) torjumiseksi koti- ja hyötyeläimillä, kuten naudoilla, lampailla, vuohilla, kissoilla ja koirilla, voidaan yhdisteet annostaa eläimille sekä kerta-annoksena että myös toistuvina annoksina, jolloin yksittäiset annokset ovat, riippuen aina eläinlajista, mieluimmin 0,1 - 10 mg per kehonpainokilo. Pitkitetyllä annostuksella saavutetaan monissa tapauksissa paarennettu vaikutus tai voidaan käyttää vähäisempiä kokonaisannoksia. Aktiiviaine tai sen sisältävät aineet voidaan lisätä myös rehuun tai juomaan. Valmisrehu sisältää aktiiviainekombinaation, jonka konsentraatio on mieluimmin 0,005 - 0,1 paino-%. Aineet voidaan antaa eläimille peroraalisesti liuoksina, emulsioina, suspensioina, jauheina, tabletteina, pillereinä tai kapseleina. Mikäli liuosten tai emulsioiden fysikaaliset ja toksikologiset ominaisuudet sallivat, kaavan (I) mukaiset yhdisteet tai niitä sisältävät aineet voidaan annostaa eläimille myös esimerkiksi subkutaanisesti injektoimalla, annostamalla pötsiin (intraruminal) tai eläimen keholle käyttäen "pour-on menetelmää". Edelleen on aktiiviaineen annostaminen eläimille mahdollista myös nuolukivien (suolat) tai hiekkakivien avulla.

Biologiset esimerkit

B-1: Insektisidinen syöntituhojen estävä vaikutus Spodoptera littoralis'lla

Purkiin istutetut 5-lehti-vaiheessa olevat puuvillantaimenet sumutetaan asetoni/vesitestiliuoksella, joka sisältää 3, 12,5 tai 50 ppm testattavaa yhdistettä.

Kun sumute on kuivunut, kasveille laitetaan noin 30 Spodoptera littoralis-toukkaa (L_1-vaihe). Testattavaa yhdistettä ja testattavaa lajia kohden käytetään kaksi kasvia. Testi suoritetaan noin 24°C:ssa ja 60% suhteellisessa ilmankosteudessa. Kuolleiden eläinte, kasvun ja toukkien ja syöntivahinkojen lopputarkastelu ja välitarkastelu tapahtuu 24 tunnin, 48 tunnin ja 72 tunnin kuluttua.

taulukoissa esitetyillä, kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä saavutettiin jo 3 ppm:n aktiiviainekonsentraatiossa täydellinen kuolleisuus 24 tunnin kuluttua, esim. yhdisteillä nro 1.14, 1.17, 1.22 ja 1.23.

B-2: Vaikutus kasveille vahingollisia punkkeja (Akariden) vastaan OP-herkillä Tetranychus urticae'lla

Papujen (Phaseolus vulgaris) sirkkalehdet infektoidaan 16 tuntia ennen testiä T. urticae-punkeilla laittamalla kasveille massaviljelmästä peräisin oleva lehtikappale. Näin kaikilla punkin kehitysasteilla infektoidut kasvit, sen jälkeen kun lehtikappale on poistettu, sumutetaan likomäriksi testattavalla liuoksella, joka sisältää valinnaisesti 0,4 ppm tai 1,6 ppm testattavaa yhdistettä. Lämpötila kasvihuoneessa on noin 25°C.

Seitsemän päivän kuluttua tarkastellaan mikroskoopissa liikkuvien vaiheiden (täysikasvuiset ja nuoruusvaiheet) prosenttiosuus ja esiintyvät munat).

Taulukoissa esiintyvillä, kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä, esim. yhdisteillä nro 1.22 ja 1.23 saavutetaan

jo 0,4 ppm:n aktiiviainekonsentraatiossa täydellinen kuolleisuus.

B-3: Vaikutus Lucilia sericata'n L_1-toukkia vastaan

1 ml testattavan aktiiviaineen vesipitoista suspensiota sekoitetaan 3 ml:n kanssa erityistä toukkakasvualustaa noin 50°C:ssa siten, että muodostuu joko 250 ppm tai 125 ppm aktiiviainetta sisältävä homogenisaatti. Jokaiseen koeputkinäytteeseen laitetaan noin 30 Lucilia-toukkaa (L_1). 4 päivän kuluttua määritellään kuolleisuusaste. Taulukoissa esiintyvillä, kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä, kuten esim. yhdisteillä nro 1.14, 1.15, 1.17, 1.22 ja 1,23 saavutetaan 100 ppm:n konsentraatiolla 100% vaikutus.

B-4: Akarisidinen vaikutus Boophilus microplus-punkkeja vastaan (Biarra-kanta)

PVC-levylle kiinnitetään vaakasuoraan liimanauha, johon 10 verta itsensä täyteen imenyttä Boophilus microplus (Biarra-kanta) punkkinaarasta voidaan kiinnittää seläs-tään vierekkäin riviin. Jokaiseen punkkiin injektoidaan injektioneulalla 1 µl nestettä, joka on polyetyleeniglykolin ja asetonin 1:1-seosta ja johon on liuotettu tietty aktiiviainemäärä, joka valinnaisesti on 1, 0,1 tai 0,01 µg per punkki. Kontrollieläimet saavat aktiiviainetta sisältämättömän injektion. Käsittelyn jälkeen eläimiä pidetään normaaliolosuhteissa hyönteiskarvatuslaatikossa noin 28°C:ssa ja 80% suhteellisessa ilmankosteudessa, kunnes tapahtuu muniminen ja kontrollieläinten munista ovat toukat kuoriutuneet.

Testattavan aineen aktiivisuus määritetään IR_{90}-arvona, t.s. määritetään jokainen aktiiviaineannos, jossa vielä 30 päivän kuluttua yhdeksän kymmenestä punkkinaaraasta (= 90%) munii munia, jotka eivät pysty kuoriutumaan.

Taulukoissa esitetyillä, kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä, kuten esim. yhdisteillä nro 1.14, 1.15, 1.22 ja 1.23 saavutetaan IR_{90}-arvo konsentraatiolla 0,1 µg.

B-5: Koe sukkulmadoilla (Haemochus concortus ja Trichostrongylus colubriformis) infektoiduilla lampailla

Aktiiviaine annetaan suspensioksi valmistettuna mahasondilla tai injektiolla lampaan pötsiin, joka on keinotekoisesti infektoitu Haemochus concortus- ja Trychostrongylys colubriformis-sukkulamadoilla. Yhtä annosta kohden käytetään 1-3 eläintä. Jokainen lammas käsitellään ainoastaan kerran yhdellä kerta-annoksella ja valinnaisesti joko 0,5 mg tai 0,2 mg/kg kehonpainoa. Tarkastelu tapahtuu vertaamalla lampaan ulosteessa ennen käsittelyä ja sen jälkeen esiintyviä madonmunia.

Samanaikaisesti ja samalla tavalla infektoidut mutta käsittelemättömät lampaat toimivat kontrolleina. Lampailla, jotka oli käsitelty jollain kaavan (I) mukaisella yhdisteellä, kuten esim. yhdisteillä nro 1.14, 1.15, 1.17, 1.22, 1.23 tai 3,30 0,2 mg/kg, ei havaittu minkäänlaista sukkulamatotartuntaa (= madonmunien täydellinen häviäminen ulosteesta), verrattaessa käsittelemättömiin, mutta kuitenkin infektoituihin vertailuryhmiin.

B-6: Kontaktivaikutus Aphis craccivora-täillä

Hernealkiot, jotka on infektoitu täin kaikilla kehitysvaiheilla, sumutetaan emulsiokonsentraatista valmistetulla aktiiviaineliuoksella, joka sisältää valinnaisesti 50 ppm, 25 ppm tai 12,5 ppm aktiiviainetta. 3 päivän kuluttua todetaan yli 80%:in lehtitäistä kuolleen tai pudonneen. Ainoastaan näin suurella vaikutuksella katsotaan valmiste tehokkaaksi.

Taulukoissa esitetyllä, kaavan (I) mukaisilla yhdisteillä, kuten esim. yhdisteillä nro 1.14, 1.15, 1.17, 1.22, 1.23 ja 3.30 saavutetaan 12,5 ppm:n konsentraatiossa täydellinen kuolleisuus (= 100%).

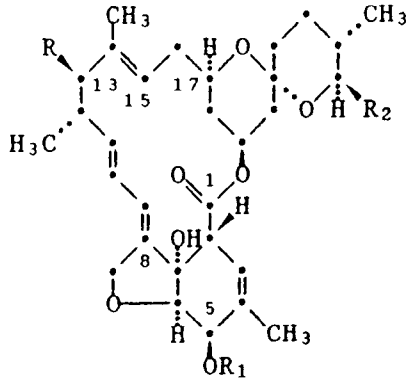
B-7: Larvisidivaikutus Aedes aegypt-toukkaa vastaan

Astiaan laitetaan 150 ml vettä, jonka pinnalle pipetoidaan niin paljon aktiiviaineen 0,1%:ista asetonipitoista liuosta, että konsentraatioksi saadaan valinnaisesti 10 ppm, 3,3 ppm ja 1,6 ppm. Asetonin haihduttua laitetaan astiaan noin 30-40 3 päivää vanhaa Aedes-toukkaa. Kuolleisuus testataan 1, 2 ja 5 päivän kuluttua.

Taulukoissa esitetyt, kaavan (I) mukaiset yhdisteet, kuten esim. yhdisteet nro 1.14, 1.15, 1.17, 1.22, 1.23 ja 3.30 vaikuttavat tässä testissä 1,6 ppm:n konsentraatiossa jo yhden päivän kuluttua siten, että kaikki toukat täydellisesti kuolevat.

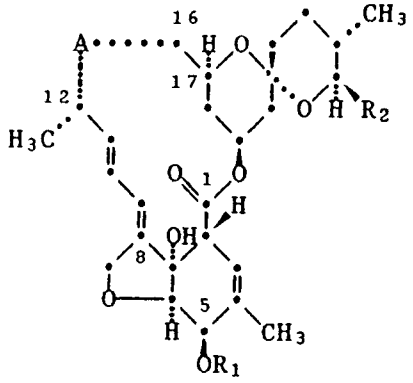
Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä yhdisteiden valmistamiseksi, joilla on kaava (I)



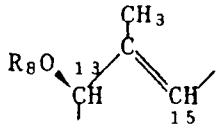
(I)

jossa
R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä;
R_1 tarkoittaa vetyä, silyyliryhmää tai sokeritähdettä, ja
R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä, t u n n e t t u siitä, että kaavan (II) mukainen allyyliesteri



(II)

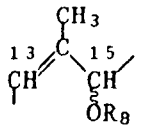
jossa A tarkoitta ryhmää a) tai b)



(a)

[= 13β-esteri-$\Delta^{14,15}$]

tai



(b)

[= $\Delta^{13,14}$-15-esteri]

R_8 tarkoittaa asyyliryhmää, R_1 vetyä tai silyyliryhmää ja R_2 samaa kuin kaavassa (I), käsitellään kaavan (III) mukaisella trialkyylialuminiumyhdisteellä

$$Al(R)_3 \qquad (III)$$

jossa R tarkoittaa samaa kuin kaavassa (I), jonka jälkeen R_1-silyyliryhmä, mikäli halutaan saada vapaat 5-hydroksiyhdisteet, lohkaistaan hydrolyyttisesti pois ja sokeritähteen R_1 liittämiseksi kaavan (I) mukainen hydroksiyhdiste saatetaan reagoimaan tämän ryhmän liittämiseen sopivan sokerijohdannaisen kanssa.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että kaavojen (II) ja (III) mukaisten yhdisteiden välinen reaktio suoritetaan reaktioinertissä liuottimessa, lämpötilassa, joka on -100°C - +100°C, mieluimmin -20°C - +60°C.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä kaavan (I) mukaisten 13β-milbemysiinijohdannaisten valmistamiseksi, jossa kaavassa R ja R_2 tarkoittavat samaa kuin patenttivaatimuksessa 1, ja R_1 tarkoittaa ryhmää $-A-(B)_k-(C)_m$, jossa A tarkoittaa 1'-asemaan kytkeytynyttä hiilihydraattitähdettä, jolla 2'-asemassa on helposti poislohkaistavissa oleva, happiatomin välityksellä sitoutunut ryhmä tai hydroksiryhmä ja joka voi olla glykosidisesti kytkeytyneenä toiseen tai kolmanteen hiilihydraattimolekyyliin b ja/tai C mielivaltaisessa konfiguraatios-

sa, jolloin k ja m ovat, toisistaan riippumatta, 0 tai 1, t u n n e t t u siitä, että kaavan (I) mukainen 13β-alkyyli-5-hydroksi-milbemysiini saatetaan reagoimaan

a) hopeasuolan tai elohopeasuolan, jotka toimivat kondensaatioaineina, läsnäollessa liittyvän hiilihydraatin A tai $A-(B)_k-(C)_m$ kanssa, joissa A, B, C, k ja m tarkoittavat samaa kuin kaavassa (I) ja joissa kaikki OH-ryhmät ovat suojatut, lukuunottamatta 1-asemassa kloorilla tai bromilla substituoitua, anomeerista OH-ryhmää, valolta suojaten lämpötilassa, joka on -30°C - +60°C, mieluimmin -5°C - +3+°C; tai

b) $SnCl_2$:n ja $AgClO_4$:n, jotka toimivat kondensaatioaineina, läsnäollessa liittyvän hiilihydraatin A tai $A-(B)_k-(C)_m$ kanssa, joissa kaikki OH-ryhmät ovat suojatut, lukuunottamatta 1-asemassa fluorilla substituoitua anomeerista 1-OH-ryhmää, valolta suojaten +5°C - -30°C:ssa;

ja haluttaessa, hydroksyylisuojaryhmät saippuioidaan lievästi.

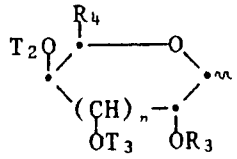
4. Jonkin patenttivaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä; R_1 tarkoittaa vetyä, silyyliryhmää tai hiilihydraattiryhmää $-A-(B)_k-(C)_m$, jossa A tarkoittaa 1'-asemassa kytkeytynyttä hiilihydraattitähdettä, jolla 2'-asemassa on helposti poislohkaistavissa oleva, happiatomin välityksellä sitoutunut ryhmä tai hydroksiryhmä ja joka voi olla kytkeytyneenä glykosidisesti toiseen tai kolmanteen hiilihydraattimolekyyliin B ja/tai C mielivaltaisessa konfiguraatiossa, jolloin k ja m ovat, toisistaan riippumatta, 0 tai 1, ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

5. Jonkin patenttivaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tar-

koittaa C_1-C_{10}-alkyyliä, R_1 tarkoittaa ryhmää -Si(R_5)(R_6)(R_7), jossa R_5, R_6 ja R_7 tarkoittavat, toisistaan riippumatta, C_1-C_4-alkyyliä, bentsyyliä tai fenyyliä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa r tarkoittaa C_1-C_4-alkyyliä; R_1 tarkoittaa trimetyylisilyyliä, tris-(tert.-butyyli)silyyliä, difenyyli-tert.-butyylisilyyliä, bis(isopropyyli)metyylisilyyliä, trifenyylisilyyliä tai tert.-butyyli-dimetyylisilyyliä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

7. Jonkin patenttivaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tarkoittaa C_1-C_{10}-alkyyliä; R_1 tarkoittaa sokeritähdettä, jonka kaava on



mukaan lukien sen paikkaisomeerit, jossa kaavassa n tarkoittaa lukua 0 tai 1; R_3 tarkoittaa vetyä, metyyliä tai ryhmää -CH_2-O-R_1, ja R_4, T_1 ja T_2 ja T_3 tarkoittavat, toisistaan riippumatta, vetyä, metyyliä, bentsyyliä, substituoimatonta tai halogeenisubstituoitua C_1-C_6-alifaattista asyyliryhmää, bentsoyyliryhmää tai C_1-C_6-alkoksikarbonyyliryhmää, tai jossa T_1 ja T_2 yhdessä alifaattisen tai aromaattisen, korkeintaan 13 hiiliatomia sisältävän aldehydin tai ketonin karbonyyli-hiiliatomin kanssa muodostavat syklisen asetaalin.

8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymyk-

seen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R_1 tarkoittaa C_1-C_4-alkyyliä; R_3 tarkoittaa metyyliä, bentsyyliä, bentsoyyliä, substituoimatonta tai fluorilla substituoitua propionyyliä, asetyyliä, metoksikarbonyyliä tai etoksikarbonyyliä; ja R_2, R_4, T_2 ja T_3 tarkoittavat samaa kuin patenttivaatimuksessa 4.

9. Jonkin patenttivaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tarkoittaa C_1-C_{10} -alkyyliä; R_1 tarkoittaa vetyä,; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tarkoittaa C_1-C_6-alkyyliä; R_1 tarkoittaa vetyä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

11. Patenttivaatimuksen 10 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tarkoittaa C_1-C_4-alkyyliä, R_1 tarkoittaa vetyä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä, isopropyyliä tai sek.-butyyliä.

12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, jossa R tarkoittaa metyyliä, etyyliä, n-propyyliä tai isopropyyliä; R_1 tarkoittaa vetyä; ja R_2 tarkoittaa metyyliä, etyyliä tai isopropyyliä.

13. Jonkin patenttivaatimuksista 1-3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että menetelmätuotteena tulee kysymykseen kaavan (I) mukainen yhdiste, joka on:
13β-n-heksyyli-milbemysiini D,
13β-metyyli-milbemysiini D,
13β-etyyli-milbemysiini D,
13β-n-propyyli-milbemysiini A_4,

13β-isopropyyli-milbemysiini A_4,
13β-metyyli-milbemysiini A_3,
13β-etyyli-milbemysiini A_3,
13β-metyyli-milbemysiini A_4,
13β-etyyli-milbemysiini A_4,
13β-isobutyyli-milbemysiini A_4 tai
13β-n-butyyli-milbemysiini A_4.