



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤① Int. Cl.³: C 07 D 493/22
C 12 P 17/08
A 61 K 31/71
A 01 N 43/90

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ PATENTSCHRIFT A5

⑪

645 899

⑳ Gesuchsnummer: 6366/80

⑦③ Inhaber:
Sankyo Company Limited, Chuo-ku/Tokyo (JP)

㉒ Anmeldungsdatum: 22.08.1980

③⑦ Priorität(en): 23.08.1979 JP 54-107550

⑦② Erfinder:
Yo, Takiguchi, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)
Hiroshi, Mishima, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)
Shinjiro, Yamamoto, Yasu-gun/Shiga-ken (JP)
Michiya, Terao, Shinagawa-ku/Tokyo (JP)

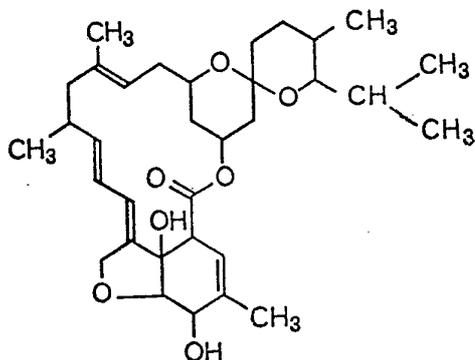
㉔ Patent erteilt: 31.10.1984

④⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 31.10.1984

⑦④ Vertreter:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,
Patentanwälte, Basel

⑤④ Verbindung mit anthelminthischer und akarizider Wirkung.

⑤⑦ Die neue Verbindung entspricht der Formel:



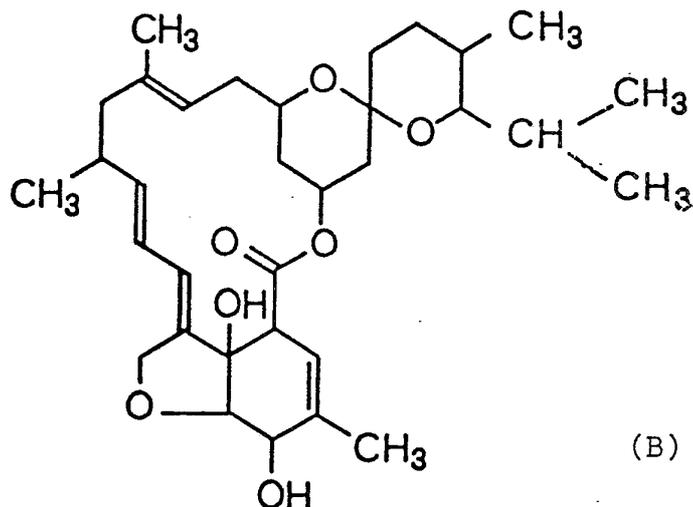
und hat wertvolle akarizide und anthelminthische Aktivitäten.

Zur Herstellung der neuen Verbindung wird

- (a) ein die neue Verbindung erzeugender Mikroorganismus der Gattung Streptomyces in einem Nährboden gezüchtet und
- (b) die so erzeugte neue Verbindung aus dem Nährboden abgetrennt. Vorzugsweise verwendet man Streptomyces Stamm FERM P-1438.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verbindung der Formel:



2. Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel B, dadurch gekennzeichnet, dass man einen die Verbindung der Formel B erzeugenden Mikroorganismus der Gattung Streptomyces in einem Nährboden dafür züchtet und die so erzeugte Verbindung von dem Nährboden abtrennt.

3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man als Mikroorganismus Streptomyces Stamm FERM P-1438 verwendet.

4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Nährboden als Kohlenstoffquelle Glucose enthält, vorzugsweise in einer Menge von bis zu 8% (Gew./Vol.), insbesondere in einer Menge von 6 bis 8% (Gew./Vol.).

5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass der Nährboden zusätzlich 0,5 bis 2% (Gew./Vol.) Lactose und/oder Maltose und/oder Maisstärke enthält.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Nährboden als Stickstoffquelle Sojabohnenmehl und Magermilch enthält, vorzugsweise 0,5 bis 1% (Gew./Vol.) Sojabohnenmehl und 1 bis 2% (Gew./Vol.) Magermilch, bezogen auf den Nährboden.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass man die Züchtung bei einer Temperatur von 22 bis 30°C, vorzugsweise ca. 28°C, ausführt.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 2 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass man den Nährboden reinigt, um praktisch reine Verbindung der Formel B zu erzeugen.

9. Präparat mit anthelminthischer und akarizider Wirkung, dadurch gekennzeichnet, dass es als Wirkstoffkomponente die Verbindung der Formel B enthält.

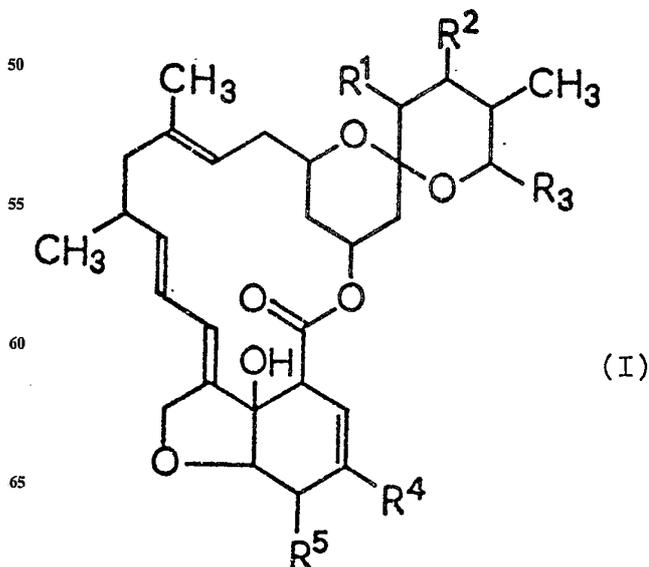
Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine neue Verbindung der Formel B, die im folgenden als Verbindung B-41D bezeichnet wird; sie wird durch Züchtung eines die Verbindung der Formel B erzeugenden Mikroorganismus der Gattung Streptomyces in einem Nährboden dafür und Abtrennen der so erzeugten Verbindung von dem Nährboden hergestellt und hat wertvolle akarizide und anthelminthische Aktivitäten.

Aus der GB-PS Nr. 1 390 336 der Patentinhaberin ist bekannt, dass Mikroorganismen der Gattung Streptomyces, insbesondere Streptomyces Stamm B-41-146 (FERM P-1438), eine antibiotische Substanz B-41 zu erzeugen vermögen, die in neun verschiedene Bestandteile aufgetrennt werden kann, die in der genannten Patentschrift als A₁, A₂,

A₃, A₄, B₁, B₂, B₃, C₁ und C₂ bezeichnet werden. Nachträglich wurde festgestellt, dass durch Züchtung des gleichen Stammes von Streptomyces vier andere Verbindungen mit 25 ähnlicher Struktur erhalten werden konnten. Die Struktur und die Eigenschaften aller dreizehn Verbindungen sind unter anderem in J. Antibiotics 29 (3), Seiten 76-14 bis 76-16 und 29 (6), Seiten 76-35 bis 76-42 beschrieben.

In der GB-PS Nr. 1 390 336 wurde angegeben, dass der 30 Komplex der Substanzen B-41 zusammen und die einzelnen Substanzen für sich insektizide und akarizide Eigenschaften hatten. Anschliessend wurde in der US-PS Nr. 4 144 352 offenbart, dass diese und verwandte Substanzen auch anthelminthische Aktivität hatten. In der US-PS Nr. 4 144 352 35 wurden die B-41-Substanzen als «Milbemycine» bezeichnet. Aus Gründen der Klarheit werden die bekannten Verbindungen auch in dieser Patentschrift als «Milbemycine» bezeichnet, obgleich ersichtlich ist, dass bestimmte dieser Verbindungen mit denjenigen Verbindungen identisch sind, 40 aus denen die Substanz B-41 zusammengesetzt ist, wie aus der GB-PS Nr. 1 390 336 bekannt. Verschiedene Milbemycinderivate sind aus den US-PS Nr. 4 093 629 und 4 134 973 bekannt.

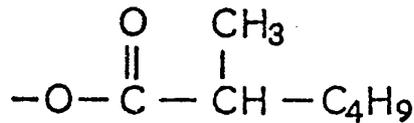
Die dreizehn Milbemycinverbindungen, die durch Züchtung von Streptomyces B-41-146 erzeugt werden können, ent- 45 sprechen der Formel I, II bzw. III. Die Struktur der Milbemycine α₁₋₁₀ wird durch die Formel:



wiedergegeben. Die Definitionen der Symbole R¹, R², R³, R⁴ und R⁵ sind in der folgenden Tabelle I angegeben; diese enthält auch, sofern vorhanden, die entsprechende B-41-Bezeichnung, wie sie in der GB-PS Nr. 1 390 336 angewandt wird. Von den durch Streptomyces Stamm B-41-146 erzeugten dreizehn bekannten Verbindungen sind die Milbemycine α₁₋₁₀ hinsichtlich der Struktur der erfindungsgemässen neuen Verbindung B-41D am ähnlichsten, und die Definitionen der Symbole R¹, R², R³, R⁴ und R⁵ die für die Verbindung B-41D zutreffen, sind ebenfalls in der Tabelle I angegeben.

In dieser Tabelle werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

MH bedeutet eine 2-Methylhexanoyloxygruppe der Formel:



PC bedeutet eine 2-Pyrrolylcarbonyloxymethylgruppe der Formel:

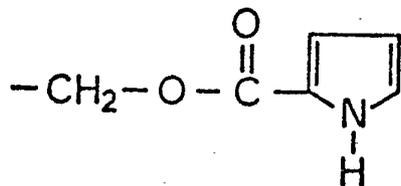
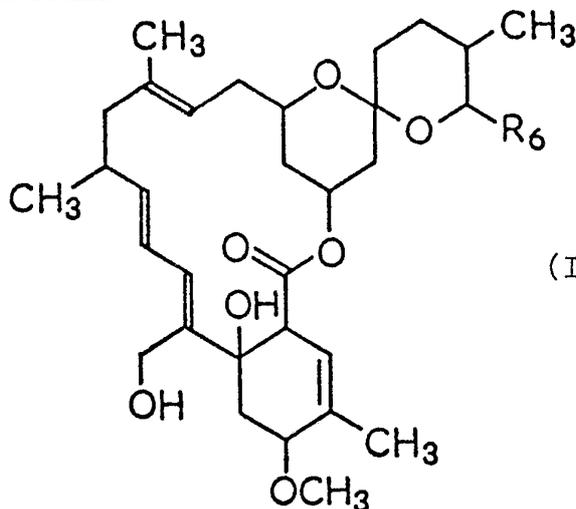


Tabelle I

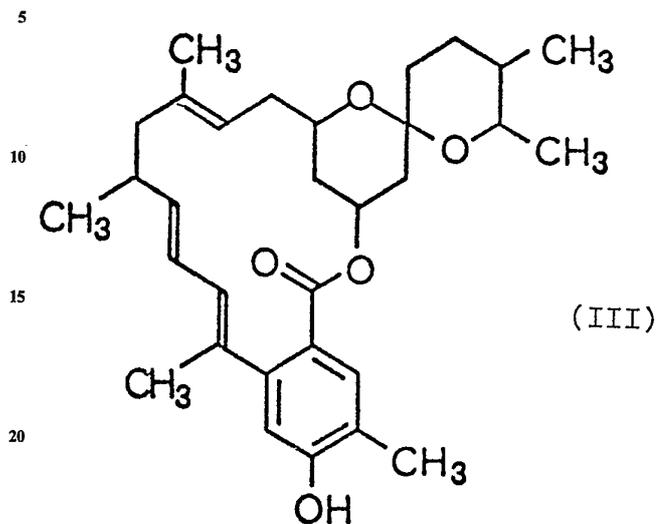
Milbemycin	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	B-41
α ₁	H	H	CH ₃	CH ₃	OH	A ₃
α ₂	H	H	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	B ₂
α ₃	H	H	C ₂ H ₅	CH ₃	OH	A ₄
α ₄	H	H	C ₂ H ₅	CH ₃	OCH ₃	B ₃
α ₅	OH	MH	CH ₃	CH ₃	OH	A ₂
α ₆	OH	MH	CH ₃	CH ₃	OCH ₃	B ₁
α ₇	OH	MH	C ₂ H ₅	CH ₃	OH	-
α ₈	OH	MH	C ₂ H ₅	CH ₃	OCH ₃	-
α ₉	H	H	CH ₃	PC	OH	C ₁
α ₁₀	H	H	C ₂ H ₅	PC	OH	C ₂
-	H	H	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	OH	D

Die Strukturen der Milbemycine β₁ und β₂ werden durch die Formel:



wiedergegeben, worin R⁶ für Milbemycin β₁ Methyl und für Milbemycin β₂ Äthyl bedeutet. Milbemycin β₁ entspricht der Verbindung B-41A₁ aus der GB-PS Nr. 1 390 336.

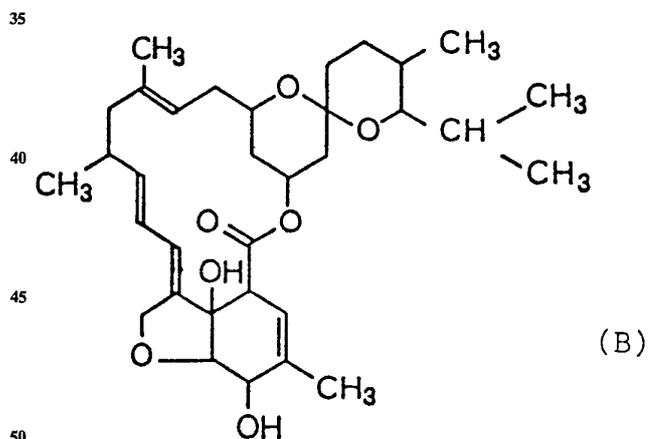
Die Struktur von Milbemycin β₃ wird durch die Formel:



wiedergegeben.

Es wurde nun, wie oben bereits erwähnt, eine neue Verbindung gefunden, die durch das gleiche Fermentationsverfahren erhältlich ist, wie es zur Herstellung der Milbemycine verwendet wird, die aber eine bessere akarizide und anthelminthische Aktivität hat.

Somit bezieht sich die vorliegende Erfindung, wie erwähnt, auf die Verbindung der Formel B, auch Verbindung B-41D genannt, die der Formel:



entspricht.

Die Erfindung bezieht sich auch auf ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung B-41D durch Züchtung eines die Verbindung B-41D erzeugenden Mikroorganismus der Gattung Streptomyces in einem Nährboden dafür und Abtrennung der Verbindung B-41D von dem Nährboden.

Die Verbindung B-41D hat die oben angegebene Formel und die folgenden physikalischen und chemischen Eigenschaften:

(1) Aussehen: amorphes Pulver oder Kristalle.

(2) Elementaranalyse für C₃₃H₄₇O₇:

Ber.: C 71,09%; H 8,80%; O 20,11%.

Gef.: C 71,40%; H 8,82%; O 20,22%.

(3) Molekulargewicht: 556.

(4) Ultravioletabsorptionsspektrum:

ist in Fig. 1 der beiliegenden Zeichnung dargestellt. Absorptionsmaxima bei 237 nm (Schulter, $\epsilon = 29\,400$) und 243 nm ($\epsilon = 30\,500$).

(5) Infrarotabsorptionsspektrum (Kaliumbromidtablette):

ist in Fig. 2 der beiliegenden Zeichnung dargestellt.

(6) Magnetisches Resonanzspektrum bei 100 MHz in CDCI₃ unter Verwendung von Tetramethylsilan als innerer Standard: ist in Fig. 3 der beiliegenden Zeichnung dargestellt.

(7) Löslichkeit: Leicht löslich in Äthylacetat, Aceton, Äthanol und Methanol.

Kaum löslich in Wasser.

(8) Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel (Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck Co.), entwickelt mit einem Gemisch aus Dioxan und Tetrachlorkohlenstoff im Volumenverhältnis 18:82: Rf-Wert = 0,40.

Die Verbindung B-41D wird hergestellt, indem man einen Mikroorganismus der Gattung Streptomyces, aber insbesondere Streptomyces Stamm FERM P-1438, auch Stamm B-41-146 genannt, züchtet. Die morphologischen, Kultur- und physiologischen Merkmale und taxonomischen Eigenschaften des Stammes B-41-146 sind im einzelnen in der GB-PS Nr. 1 390 336 beschrieben. Dieser Stamm wurde am 26. April 1972 beim Fermentation Research Institute, Agency of Industrial Science and Technology, Ministry of International Trade and Industry, 1-3, Higashi 1-chome, Yatabe-machi Tsubuka-gun, Ibaraki-ken 305-JP hinterlegt und kann dort unter der Ordnungsnummer FERM P-1438 (auch als «Bikoken-kinki 1438» bezeichnet) bezogen werden.

Bekanntlich neigen Mikroorganismen der Gattung Streptomyces dazu, sowohl unter natürlichen Bedingungen als auch bei Anwendung von künstlichen Operationen, wie beispielsweise ultraviolette Strahlung, ionisierende Strahlung oder chemische Behandlung, zu mutieren. Dies trifft auch für den im erfindungsgemässen Verfahren verwendeten Stamm B-41-146 zu. Demzufolge kann jede die Verbindung B-41D erzeugende Mutante des beschriebenen Streptomyces-Stammes B-41-146 verwendet werden, um die erfindungsgemässe Verbindung herzustellen.

Die erfindungsgemässe Verbindung kann erhalten werden, indem man Streptomyces Stamm B-41-146 in einem geeigneten Nährboden züchtet und dann die resultierende Verbindung aus der Fermentierungsflüssigkeit gewinnt. Beliebige bekannte Nährstoffe, die bisher schon für die Züchtung von Mikroorganismen der Gattung Streptomyces verwendet worden sind, können verwendet werden. Im allgemeinen sollte ein solcher Nährboden bekanntlich mindestens eine oder mehrere Quellen von assimilierbarem Kohlenstoff und eine oder mehrere Quellen von assimilierbarem Stickstoff enthalten. Zu den geeigneten Kohlenstoffquellen gehören Glucose, Saccharose, Stärke, Glycerin, Malzextrakt, Melasse und Sojabohnenöl. Eine besonders bevorzugte Kohlenstoffquelle ist Glucose, vorzugsweise in einer Menge von bis zu 8% (Gew./Vol.), insbesondere von 6 bis 8% (Gew./Vol.), bezogen auf den Nährboden. Es wird bevorzugt, nicht nur Glucose, sondern als zusätzliche Kohlenstoffquelle ausserdem Lactose und/oder Maltose und/oder Maisstärke, vorzugsweise in einer Menge von 0,5 bis 2,0% (Gew./Vol.), zu

verwenden. Um einen konstanten pH-Wert aufrechtzuerhalten, setzt man vorzugsweise während der ganzen Züchtung zusätzliche Glucose zu.

Zu den geeigneten Stickstoffquellen gehören Sojabohnenmehl, Weizenkeime, Fleischextrakt, Pepton, frische Hefe, Maisquellwasser, Ammoniumsulfat und Ammoniumnitrat. Eine besonders bevorzugte Stickstoffquelle ist eine Kombination von Sojabohnenmehl und Magermilch, vorzugsweise 0,5 bis 1,0% (Gew./Vol.) Sojabohnenmehl und 1,0 bis 2,0% (Gew./Vol.) Magermilch. Gewünschtenfalls kann in den Nährboden auch eine Aminosäure (z.B. Glycin oder Arginin) einverleibt werden.

Gewünschtenfalls können anorganische Salze, wie Calciumcarbonat, Natriumchlorid, Kaliumchlorid oder Phosphate, zugesetzt werden; auch andere organische oder anorganische Substanzen, die dazu bestimmt sind, das Wachstum der Mikroorganismen zu unterstützen und die Erzeugung der gewünschten Verbindung zu begünstigen, können zugesetzt werden.

Überraschend gute Ausbeuten an der Verbindung B-41D können erhalten werden, wenn man einen Nährboden verwendet, der 6 bis 8% (Gew./Vol.) Glucose, 0,5 bis 2% (Gew./Vol.) Lactose und/oder Maltose und/oder Maisstärke, 0,5 bis 1,0% (Gew./Vol.) Sojabohnenmehl und 1,0 bis 2,0% (Gew./Vol.) Magermilch enthält.

Obleich ein beliebiges bekanntes Verfahren zur Züchtung von Streptomyces Stamm B-41-146 angewandt werden kann, ist wie im Falle der Fermentierung zur Herstellung anderer biologisch aktiver Substanzen die Flüssigkeitskultur, insbesondere die submerse Kultur, das geeignetste Verfahren. Die Züchtung wird vorzugsweise aerob und bei einer Temperatur, die innerhalb eines weiten Bereiches liegen kann, zweckmässig bei 22 bis 30°C, vorzugsweise bei ca. 28°C, ausgeführt. Die Erzeugung der gewünschten Verbindung B-41D erreicht nach 5- bis 10tätiger Züchtung entweder unter Schütteln oder in einem Tank ein Maximum.

Die Bestimmung der Verbindung B-41D in der Kulturflüssigkeit kann folgendermassen ausgeführt werden: Eine bekannte Menge, z.B. 3 g, der Kulturflüssigkeit wird in ein kleines Reagenzglas gegeben; dann werden 10 ml Aceton zugesetzt, worauf das Gemisch durch Schütteln extrahiert und dann zentrifugiert wird. Die so erhaltene überstehende Flüssigkeit wird mit Aceton auf ein Gesamtvolumen von 10 ml aufgefüllt. Die resultierende Lösung wird an einer vorbestimmten Stelle auf eine Dünnschichtchromatographieplatte (Kieselgel, z.B. Kieselgel 60 F₂₅₄, erhältlich von E. Merck) in einer Menge von z.B. 10 bis 20 μ l aufgebracht. Die Platte wird dann 4 Stunden lang mit einem Gemisch aus Dioxan und Tetrachlorkohlenstoff im Volumenverhältnis 18:82 entwickelt. Darauf wird die Probe mit Hilfe eines bei zwei Wellenlängen messenden Dünnschichtchromatographieabtastrgerätes bei einer Wellenlänge von 245 nm (Millimikron) und der Vergleich bei 380 nm untersucht. Der Betrag der Absorption wird mit demjenigen einer bekannten Standardprobe der Verbindung verglichen, woraus die Menge der Verbindung B-41D berechnet werden kann.

Die Verbindung B-41D kann aus der Kulturflüssigkeit unter Verwendung eines natürlichen Adsorptionsmittels, wie Aktivkohle, Aluminiumoxyd oder Kieselgel, eines synthetischen Adsorptionsmittels, wie Diaion HP-20, ein Produkt der Mitsubishi Chemical Industries, Limited, eines Adsorptionsmittels, wie Avicel, ein Produkt der Asahi Chemical Industry Co., Limited, oder Filtrierpapier, eines Ionenaustauscherharzes, eines Ionenaustauschergelfilters oder dergleichen gewonnen werden. Die Gewinnung kann aber nach dem folgenden Verfahren am wirksamsten ausgeführt werden:

Zuerst wird die Fermentierungsflüssigkeit unter Verwendung eines Filterhilfsmittels, wie Diatomeenerde, filtriert,

wobei ein Filterkuchen erhalten wird, der dann mit Methanol extrahiert wird, um die gewünschte Verbindung in einer wässrig-methanolischen Lösung zu lösen. Dann wird die wässrig-methanolische Lösung mit Wasser versetzt und die resultierende Lösung mit Hexan extrahiert. Die Hexanphase wird abgetrennt und durch Eindampfen unter vermindertem Druck eingeeengt, wobei eine ölige Substanz erhalten wird, die die gewünschte Verbindung B-41D enthält. Diese ölige Substanz wird auf eine Kieselgel (z.B. Wakogel C-200) enthaltende Säule aufgetragen und mit einem geeigneten Gemisch, z.B. im Volumenverhältnis 95:5, von Hexan und Aceton eluiert, wobei Fraktionen aufgefangen werden, die die gewünschte Verbindung enthalten. Diese Fraktionen werden durch Eindampfen unter vermindertem Druck eingeeengt und ergeben wiederum eine ölige Substanz, die in einer kleinen Menge Methanol gelöst und auf eine Säule mit Sephadex LH-20 (Markenprodukt der Pharmacia Co.) aufgetragen und mit Methanol eluiert wird. Die die gewünschte Substanz enthaltenden Fraktionen werden aufgefangen, das Lösungsmittel wird entfernt, und der Rückstand wird in einer kleinen Menge Methanol gelöst. Wasser wird zugesetzt, worauf man das Gemisch bei Raumtemperatur stehen lässt. Die resultierende Verbindung B-41D wird in Form eines Schaumes oder von Blasen erhalten, die beim Zerplatzen ein amorphes Pulver ergeben. Wenn dieses aus einem Gemisch aus Hexan und Äthylacetat im Volumenverhältnis 20:1 umkristallisiert wird, erhält man die Verbindung B-41D in Form kleiner Nadeln vom Schmelzpunkt 186 bis 188°C.

Obleich die Verbindung B-41D vor der Verwendung abgetrennt und gereinigt werden kann, z.B. in der oben beschriebenen Weise, ist es auch möglich, das Reinigungsverfahren in jedem beliebigen gewünschten Stadium abbrechen und das rohe Produkt, das ein Gemisch von Milbemycinen sowie die Verbindung B-41D enthält, als solches zu verwenden. Wenn ein Gemisch, das zwei oder mehr derartige Verbindungen enthält, ohne vollständige Trennung verwendet wird, genügt es, wenn es so gereinigt ist, dass es bei einer Konzentration von 5 ppm eine 100%ige akarizide Wirkung hat. Der Gehalt an Verbindung B-41D in dem rohen Gemisch beträgt in diesem Falle vorzugsweise mindestens 25 Gew.%, insbesondere ca. 50 Gew.%, wobei der Rest aus Verunreinigungen aus der Kulturflüssigkeit sowie anderen Milbemycinen besteht.

Die erfindungsgemässe Verbindung hat eine hervorragende akarizide Aktivität gegen adulte Tiere und Eier von Milben, wie die gemeine Spinnmilbe (*Tetranychus urticae*), die Obstbaumspinnmilbe (*Panonychus ulmi*), die «citrus red mite» (*Panonychus citri*) und Rost-Gallmilben (z.B. der Gattungen *Aculops* oder *Aculus*), die als Parasiten auf Obst, Gemüsen und Blumen vorkommen. Sie ist auch aktiv gegen Milben der Gattungen *Ixodidae*, *Dermanyssidae* und *Sarcoptidae*, die als Parasiten auf Tieren vorkommen. Die Verbindung ist ferner äusserst aktiv gegen Ektoparasiten, wie *Oestrus*, *Lucilia*, *Hypoderma*, *Gasterophilus*, Fliegen, Läuse usw., sowie Insekten von hygienischer Bedeutung, wie Schaben oder Fliegen, und andere Schadinsekten in Gartenbau und Landwirtschaft, wie Blattläuse und Larven von Insekten der Ordnung *Lepidoptera*. Ausserdem ist sie aktiv gegen Nematoden, wie diejenigen der Gattung *Meloidogyne*, und Wurzelmilben, wie diejenigen der Gattung *Rhizoglyphus*, die im Erdboden vorkommen.

Für die Verwendung als anthelminthisches oder akarizides Präparat wird die erfindungsgemässe Verbindung vorzugsweise mit einem Träger verdünnt, um Präparate, wie Pulver, grobe Pulver, Granulate, feine Granulate, Spritzpulver, emulgierbare Konzentrate oder Öle, zu bilden.

Die bei der Herstellung derartiger Präparate verwendeten Träger können synthetisch oder natürlich und anorganisch

oder organisch sein; im allgemeinen kann jeder beliebige Träger verwendet werden, der herkömmlicherweise zu Insektiziden oder Akariziden zugesetzt wird, um zu erleichtern, dass die Wirkstoffkomponente das zu behandelnde Objekt, z.B. Pflanze, Milbe oder schädliches Insekt, erreicht, oder um die Aufbewahrung, den Transport oder die Handhabung der Wirkstoffkomponente zu erleichtern.

Zu den Beispielen von geeigneten festen Trägern gehören anorganische Substanzen, wie Ton, Talkum, Diatomeenerde, Kaolin, Bentonit, Calciumcarbonat oder synthetisches Calciumsilikat, natürliche oder synthetische Harze, wie Cumaronharze, Alkydharze und Polyvinylchloride, Wachse, wie Carnaubawachs und Paraffinwachs, Nusschalen, wie Walnusschalen, oder Sojabohnenmehl.

Zu den Beispielen von geeigneten flüssigen Trägern gehören Wasser, Alkohole, wie Äthanol oder Isopropanol, Glycole, wie Äthylenglycol, Glycoläther, wie Äthylenglycolmonophenyläther oder Diäthylenglycolmonoäthyläther, Ketone, wie Aceton, Methylisobutylketon, Cyclohexanon, Acetophenon oder Isophoron, Äther, wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, aromatische Kohlenwasserstoffe, wie Benzol, Toluol, Xylol oder Methyl-naphthalin, chlorierte Kohlenwasserstoffe, wie Trichloräthylen und Tetrachlorkohlenstoff, sowie Erdölfraktionen mit niedrigem, mittlerem und hohem Siedepunkt, die Kerosin, Leichtöle oder aromatische Kohlenwasserstoffe enthalten.

Die erfindungsgemässe Verbindung kann auch als Aerosol formuliert werden; in diesem Fall wäre der Träger ein Treibmittel. Zu den geeigneten Treibmitteln gehören gasförmige Fluorkohlenstoffe, einschliesslich derjenigen, die unter der Markenbezeichnung «Freon» in den Handel gebracht werden, Flüssiggas, Dimethyläther und monomeres Vinylchlorid.

Gewünschtenfalls kann das Präparat auch ein oberflächenaktives Mittel zum Zweck der Emulgierung, Dispergierung, Benetzung oder Ausbreitung des Wirkstoffes enthalten; ein solches oberflächenaktives Mittel kann entweder ionisch oder nicht-ionisch sein. Zu den Beispielen von geeigneten anionischen oberflächenaktiven Mitteln gehören die Natrium- und Calciumsalze von Ligninsulfonsäure, die Natrium- und Kaliumsalze der Ölsäure, das Natriumsalz der Laurylsulfonsäure und die Natrium- und Calciumsalze der Dodecylbenzolsulfonsäure. Zu den Beispielen von geeigneten kationischen oberflächenaktiven Mitteln gehören die höheren aliphatischen Amine und Kondensationsprodukte der höheren aliphatischen Amine mit Äthylenoxyd. Zu den Beispielen von geeigneten nicht-ionischen oberflächenaktiven Mitteln gehören Glyceride von Fettsäuren, Saccharosester von Fettsäuren, Kondensationsprodukte von Äthylenoxyd mit höheren aliphatischen Alkoholen, Kondensationsprodukte von Äthylenoxyd mit höheren Fettsäuren, Kondensationsprodukte von Äthylenoxyd mit Alkylphenolen oder Alkyl-naphtholen und Copolymerisate von Äthylenoxyd mit Propylenoxyd.

Die erfindungsgemässen Präparate mit anthelminthischer und akarizider Wirkung können alternativ oder zusätzlich ein Schutzkolloid, wie Gelatine, Gummiarabikum, Casein, Polyvinylalkohol oder Carboxymethylcellulose, oder ein thixotropes Mittel, wie Natriumpolyphosphat oder Bentonit, enthalten. Die Präparate können auch andere Verbindungen mit akarizider Aktivität enthalten, z.B. β,β -Dimethylacrylsäure-(1-methylpropyl)-4,6-dinitrophenylester, Di-(p-chlorphenyl)-cyclopropylcarbinol, N'-(4-Chlor-2-methylphenyl)-

N,N-dimethylformamidin, 2,4,4',5-Tetrachlordiphenylsulfon, 1,1-Bis-(p-chlorphenyl)-2,2,2-trichloräthanol, 2-sek.-Butylphenyl-N-methylcarbammat, m-Tolyl-N-methylcarbammat oder Mineralöl, um die Aktivität des Präparates zu

erhöhen; in manchen Fällen kann eine synergistische Wirkung erwartet werden.

Es ist natürlich auch möglich, die erfindungsgemässe Verbindung im Gemisch mit anderen Fungiziden, Herbiziden, Pflanzenwachstumsregulatoren, Anlockmitteln oder Düngemitteln zu verwenden.

Die Verbindung B-41D ist auch hochwirksam als Parasitizid für die Behandlung von Menschen und Tieren. Die gewöhnlich als «Parasitismus» bezeichneten Krankheiten bei erkrankten Menschen und Tieren werden durch vielzellige Organismen verursacht, die allgemein als Würmer bezeichnet werden. Die Parasiten können Vieh, Geflügel und Haustiere, wie Schweine, Schafe, Ziegen, Kühe, Pferde, Hunde, Katzen und Hühner, als Epidemie befallen und können schwere wirtschaftliche Schäden verursachen. Besonders eine als Nematoden bezeichnete Gruppe von Parasiten unter den Würmern kann sich unter verschiedenen Tieren ausbreiten und häufig schwere Infektionen verursachen. Typische Gattungen von Nematoden, die die oben aufgezählten Tieren infizieren, sind:

Haemonchus
Trichostrongylus
Ostertagia
Nematodirus
Cooperia
Ascaris
Bunostomum
Oesophagostomum
Chabertia
Trichuris
Strongylus
Trichonema
Dictyocaulus
Capillaria
Heterakis
Toxocara
Ascaridia
Oxyuris
Ancylostoma
Uncinaria
Toxascaris
Parascaris und
Strongyloides

Einige der Parasiten der Gattungen Nematodirus, Cooperia und Oesophagostomum befallen die Eingeweide, während Parasiten der Gattungen Hemonchus und Ostertagia den Magen befallen und Parasiten der Gattung Dictyocaulus in den Lungen gefunden werden. Parasiten der Familien Filaridae oder Setariidae werden im Herzen, den Blutgefässen und Geweben sowie Organen, wie den subkutanen Geweben und den Lymphgefässen, gefunden.

Die erfindungsgemässe Verbindung hat eine Breitspektrum-Aktivität gegen viele Endoparasiten bei verschiedenen Tieren und ist z.B. wirksam gegen Parasiten der Gattung Dirofilaria bei Hunden und der Gattungen Nematospiroides, Siphacia und Aspicularis bei Nagetieren.

Die Verbindung B-41D ist auch wirksam gegen verschiedene Parasiten, die Menschen infizieren. Typische derartige Parasiten, die im Verdauungstrakt von Menschen gefunden werden, sind Parasiten der Gattungen

Ancylostoma

Necator
Ascaris
Strongyloides

Trichinella
Capillaria
Trichuris und
Enterobius.

Andere medizinisch signifikante Parasiten, die im Blut, in den Geweben oder in Organen mit Ausnahme des Verdauungstraktes gefunden werden, sind solche der Gattungen Wuchereria, Brugia, Onchocerca und Loa aus der Familie Filaridae, Dracunculus aus der Familie Dracunculidae und Strongyloides und Trichinella, was eine Ausnahme ist, da sie normalerweise Ectoparasiten sind, aber häufig als Endoparasiten im Verdauungstrakt auftreten.

Wenn die Verbindung B-41D als Parasitizid für Menschen und Tiere verwendet werden soll, wird sie vorzugsweise oral in Form einer Flüssigkeit oder von Kapseln verabreicht. Sie kann als wässrige Lösung oder als Lösung in einem anderen geeigneten, nicht toxischen Lösungsmittel oder als Suspension oder Dispersion, die ein Suspendierhilfsmittel und ein Netzmittel, wie Bentonit, oder andere Bestandteile enthält, formuliert werden. Im allgemeinen enthalten derartige Flüssigkeiten auch ein Antischaummittel. Normalerweise wird es bevorzugt, dass die Flüssigkeit den Wirkstoff in einer Menge von 0,01 bis 0,5 Gew.%, insbesondere von 0,01 bis 0,1 bis 0,1 Gew.%, enthält.

Es ist auch möglich, die Verbindung B-41D in Form einer Dosierungseinheit, z.B. in Form von trockenen festen Kapseln, Pillen oder Tabletten, die eine vorbestimmte Menge des Wirkstoffes enthalten, zu verabreichen. Diese Formulierungen können erhalten werden, indem man den Wirkstoff mit einem oder mehreren fein pulverisierten Materialien, wie Verdünnungsmitteln, Füllstoffen, Sprengmitteln oder Bindemitteln, z.B. Stärke, Lactose, Talkum, Magnesiumstearat oder pflanzliche Gummis, homogen mischt. Das Gewicht und der Gehalt an Wirkstoff in derartigen Dosierungseinheiten kann je nach dem Typ des zu behandelnden Tieres, der Schwere der Infektion, der Art des Parasiten und dem Körpergewicht des Menschen bzw. Tieres, innerhalb weiter Grenzen schwanken.

Die Verbindung B-41D kann an Tiere verabreicht werden, indem man sie gleichmässig in dem Futter der Tiere verteilt, oder sie kann in Form einer Flüssigkeit oder eines Feststoffes über das Futter gegossen bzw. gestreut oder in Form von Pellets verwendet werden. Um eine befriedigende antiparasitische Aktivität zu erzielen, enthält das Futterprodukt den Wirkstoff zweckmässig in einer Menge von 0,0001 bis 0,02 Gew.%.
50

Die Verbindung B-41D kann auch in einem flüssigen Träger gelöst oder dispergiert werden und durch Injektion in den Düsenmagen von Geflügel, die Muskeln, die Lungen oder unter die Haut parenteral verabreicht werden. Als Träger für die parenterale Verabreichung wird vorzugsweise ein pflanzliches Öl, wie Erdnussöl oder Baumwollsamensöl, verwendet. Bei der parenteralen Verabreichung ist der Wirkstoff vorzugsweise in einer Menge von 0,05 bis 50 Gew.% der Formulierung vorhanden.

Auch die topische Verabreichung der Verbindung B-41D ist möglich; in diesem Falle wird der Wirkstoff vorzugsweise mit einem geeigneten Träger, wie Dimethylsulfoxyd oder einem Kohlenwasserstofflösungsmittel, gemischt. Die resultierende Formulierung kann direkt auf die äussere Haut aufgebracht werden, z.B. durch Besprühen.

Die optimale Menge der Verbindung B-41D für die Erzielung der besten Ergebnisse hängt von der Art des zu behandelnden Tieres, dem Typ der Parasiteninfektion und der Schwere der Infektion ab, aber im allgemeinen verabreicht man vorzugsweise 0,01 bis 100 mg pro kg Körpergewicht des Tieres und im Falle der oralen Verabreichung insbesondere
65

0,1 bis 50 mg pro kg Körpergewicht. Die Verbindung kann als Einzeldosis oder in Teildosen verabreicht werden; normalerweise ist es nur erforderlich, das Tier während einer verhältnismässig kurzen Zeit, z.B. 1 bis 5 Tage lang, zu behandeln.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung. Die Beispiele 1 und 2 beschreiben die Herstellung der Verbindung B-41D; die Beispiele 2 bis 6 beschreiben akarizide Präparate, die die Verbindung enthalten; die Beispiele 7 bis 9 erläutern ihre akarizide Aktivität, und die Beispiele 10 bis 14 erläutern ihre anthelminthische Aktivität.

Beispiel 1

Herstellung der Verbindung B-41D

600 ml eines Nährbodens für die Vorkultur, der 2% (Gew./Vol.) Glucose, 1% (Gew./Vol.) Sojabohnenmehl, 0,5% (Gew./Vol.) Maisquellwasser (ein Produkt der Corn Products Co.) und 0,2% Natriumchlorid enthielt, wurden in einen Erlenmeyerkolben mit 2 Liter Fassungsvermögen gefüllt. Eine Öse voll Sporen von *Streptomyces* Stamm B-41-146 wurde in den Nährboden geimpft und dann 48 Stunden lang bei 27°C gezüchtet. Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Inhalt von zwei derartigen 2 Liter-Erlenmeyerkolben in einen weithalsigen Fermenter mit flachem Boden mit 30 Liter Fassungsvermögen übergeführt, der bereits 20 Liter eines gründlich sterilisierten Nährbodens enthielt, der 4% (Gew./Vol.) Glucose, 1% (Gew./Vol.) Sojabohnenmehl, 0,5% (Gew./Vol.) Maisstärke, 1% (Gew./Vol.) Magermilch, 0,2% (Gew./Vol.) Maisquellwasser und 0,3% Natriumchlorid enthielt. Der pH-Wert des Nährbodens betrug vor der Sterilisation 7,2 bis 7,5. Die Kultur wurde dann unter einem Innendruck von 0,5 kg/cm² 10 Tage lang bei 28°C bebrütet.

Nach Ablauf dieser Zeit wurden 20 Liter der Kulturflüssigkeit durch Zugabe von Schwefelsäure auf einen pH-Wert von 3 gebracht; nach Zugabe von 1 kg Celite (Markenprodukt) als Filterhilfsmittel wurde das Gemisch dann unter Druck filtriert, wobei ca. 3 kg eines Filterkuchens erhalten wurde. Dieser Filterkuchen wurde mit 15 Liter Methanol extrahiert, und der Extrakt wurde filtriert. 15 Liter der so erhaltenen methanolischen Lösung wurden mit 5 Liter Wasser verdünnt und mit 20 Liter Hexan extrahiert. Die so erhaltene Hexanlösung wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und dann durch Eindampfen unter vermindertem Druck auf einem Wasserbad, das auf 40 bis 45°C gehalten wurde, eingengt, wobei 22 g einer öligen Substanz erhalten wurden.

Diese ölige Substanz wurde in 30 ml Hexan gelöst und auf einer Säule adsorbiert, die 2 kg Kieselgel enthielt, das mit Hexan im Gleichgewicht war. Die Säule wurde mit einem Gemisch aus Hexan und Aceton im Volumenverhältnis 95:5 eluiert. 2 Liter einer Fraktion, die die gewünschte Verbindung enthielt, wurden erhalten, und diese wurde unter vermindertem Druck auf einem Wasserbad, das auf 40 bis 45°C gehalten wurde, eingengt, wobei 550 mg einer öligen Substanz erhalten wurden. Diese Substanz wurde in 1 ml Methanol gelöst und die Lösung auf eine Säule gegeben, die 200 ml Sephadex (Markenprodukt) LH-20, das mit Methanol ins Gleichgewicht gesetzt worden war, enthielt. Die Säule wurde dann mit Methanol eluiert, wobei 65 ml einer Fraktion erhalten wurden, die die gewünschte Verbindung enthielt. Diese Fraktion wurde durch Eindampfen unter vermindertem Druck bei 45°C eingengt und der resultierende Rückstand dann in 2 ml Methanol gelöst, worauf die methanolische Lösung mit 2 ml Wasser verdünnt wurde. Man liess das Gemisch bei Raumtemperatur stehen, wobei 110 mg der Verbindung B-41D in Form eines amorphen Pulvers mit den weiter oben beschriebenen Eigenschaften erhalten wurden.

Beispiel 2

Herstellung der Verbindung B-41D

Ein 2 Liter-Kolben, der 600 ml eines Vorkultur-Nährbodens enthielt, der 1% (Gew./Vol.) Saccharose, 0,35% (Gew./Vol.) Polypepton und 0,05% (Gew./Vol.) Dikaliumorthophosphat enthielt, wurde mit einer Öse voll Sporen von *Streptomyces* Stamm B-41-146 geimpft, worauf der Mikroorganismus 48 Stunden lang bei 27°C gezüchtet wurde. Der Inhalt von drei derartigen Kolben wurde dann in einen 600 Liter Fermentierungstank übergeführt, der vorher mit 300 Liter eines gründlich sterilisierten Nährbodens beschickt worden war, der 8% (Gew./Vol.) Glucose, 1% (Gew./Vol.) Sojabohnenöl, 0,5% (Gew./Vol.) Maisstärke, 1% (Gew./Vol.) Magermilch, 0,2% (Gew./Vol.) Maisquellwasser, 0,3% (Gew./Vol.) Natriumchlorid und 0,05% (Gew./Vol.) Calciumcarbonat enthielt. Der pH-Wert des Nährbodens wurde auf 7,2 bis 7,5 gehalten. Die Züchtung wurde dann bei 28°C unter Rühren mit 150 bis 200 Umdrehungen pro Minute und bei einem Innendruck von 0,5 bis 1 kg/cm² 12 Tage lang ausgeführt.

Nach Ablauf dieser Zeit betrug die Menge der Verbindung B-41D in dem Nährboden 180 µg/ml. 300 Liter des resultierenden Nährbodens wurden durch Zugabe von Schwefelsäure auf einen pH-Wert von 3 gebracht, worauf 15 kg Celite als Filterhilfsmittel zugesetzt wurden und das Gemisch unter Druck filtriert wurde, wobei 40 kg eines Filterkuchens erhalten wurde. Dieser Filterkuchen wurde mit 200 Liter Methanol extrahiert und der Extrakt filtriert. Der methanolische Extrakt wurde mit 150 Liter Wasser versetzt und das resultierende Gemisch zweimal mit je 250 Liter Hexan extrahiert. Die resultierende Hexanlösung wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und dann durch Eindampfen unter vermindertem Druck in einem Wasserbad, das auf 40 bis 45°C gehalten wurde, eingengt, wobei 350 g eines Öls erhalten wurden.

Dieses Öl wurde in 400 ml Hexan gelöst und auf einer Säule adsorbiert, die 3 kg Kieselgel enthielt, das vorher mit Hexan ins Gleichgewicht gebracht worden war. Die Säule wurde mit einem Gemisch aus Hexan und Aceton im Volumenverhältnis 95:5 eluiert, wobei 8 Liter einer Eluatfraktion erhalten wurden, die die gewünschte Verbindung enthielt. Die Fraktion wurde durch Eindampfen unter vermindertem Druck über einem Wasserbad, das auf 40 bis 45°C gehalten wurde, eingengt, wobei 33 g rohe Kristalle erhalten wurden. Diese Kristalle wurden in einem Gemisch aus Hexan und Äthylacetat im Volumenverhältnis 20:1 gelöst und daraus umkristallisiert, wobei 17,4 g Verbindung B-41D in Form von farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 186 bis 188°C, die die weiter oben beschriebenen Eigenschaften hatten, erhalten wurden.

Beispiel 3

Pulver

10 Gew.-Teile der Verbindung B-41D in Form eines amorphen Pulvers wurden zu 5 Teilen Weissruss gegeben und homogen damit gemischt. Das resultierende Gemisch wurde sodann mit 50 Gew.-Teilen Talkum und 35 Gew.-Teilen Ton versetzt; das Ganze wurde dann homogen gemischt, danach dreimal in einer Pulverisier-Prallmühle pulverisiert und schliesslich wieder homogen gemischt, wobei ein Pulver erhalten wurde.

Beispiel 4

Spritzpulver

40 Gew.-Teile der Verbindung B-41D in Form eines amorphen Pulvers wurden mit 20 Gew.-Teilen Weissruss gemischt. 5 Gew.-Teile Natriumdodecylbenzolsulfonat, 2 Gew.-Teile

Polyvinylalkohol und 33 Gew.-Teile Ton wurden zugesetzt und homogen gemischt. Das Gemisch wurde dann dreimal unter Verwendung einer Pulverisier-Prallmühle pulverisiert und danach nochmals homogen gemischt, wobei ein Spritzpulver erhalten wurde.

Beispiel 5

Emulgierbares Konzentrat

3 Gew.-Teile der Verbindung B-41D in Form eines amorphen Pulvers, 7 Gew.-Teile Polyoxyäthylennonylphenyläther, 3 Gew.-Teile Calciumdodecylbenzolsulfonat und 87 Gew.-Teile Xylol wurden gemischt; das Gemisch wurde filtriert, wobei eine Lösung erhalten wurde, die als emulgierbares Konzentrat verwendet werden konnte.

Beispiel 6

Präparat auf Ölbasis

10 Gew.-Teile der Verbindung B-41D in Form eines amorphen Pulvers wurden in 10 Gew.-Teilen Xylol gelöst, worauf 80 Gew.-Teile Maschinenöl zu der Lösung gegeben wurden und das Gemisch filtriert wurde, wobei ein Präparat auf Ölbasis erhalten wurde.

Beispiel 7

Akarizide Aktivität gegen die gemeine Spinnmilbe (*Tetranychus urticae*)

Ein 3 gew.%iges emulgierbares Konzentrat wurde nach dem in Beispiel 5 beschriebenen Verfahren hergestellt. Das Konzentrat wurde dann mit Wasser verdünnt, um die in Tabelle II angegebenen Wirkstoffkonzentrationen zu erhalten. Blättchen der chinesischen Bohne, die weibliche adulte Tiere von *Tetranychus urticae* enthielten, wurden unter Verwendung eines Zerstäubers vom Typ Mizuho (erhältlich von Mizuho Rikagaku Kikai Co. Limited) mit den Testlösungen in einer Menge von 5 ml pro 2 Blättchen besprüht. Die Blättchen wurden an der Luft getrocknet und in einem Raum, dessen Temperatur mit einem Thermostaten auf 25°C gehalten wurde, 72 Stunden lang stehen gelassen, worauf die Mortalität der Milben berechnet wurde. Die Anzahl der adulten Tiere betrug 30 bis 35 pro Blättchen, und 2 Blättchen wurde für jeden Test verwendet.

Der Versuch wurde unter Verwendung der Verbindung B-41D und, als Vergleichsverbindungen, der Milbemycine α_1 und α_3 (B-41A₃ und A₄ gemäss der GB-PS Nr. 1 390 336) sowie des bekannten landwirtschaftlichen akarizides Kelthane [Markenbezeichnung für ein Material auf Basis von 1,1-Bis-(chlorphenyl)-2,2,2-trichloräthanol] ausgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle II angegeben, ausgedrückt als prozentuale Mortalität der adulten Tiere.

Tabelle II

Konzentration der Testlösungen (ppm)					
Testverbindung	30	10	3	1	0,3
Verbindung B-41D	100	100	100	89	32
Milbemycin α_1	100	85	43	11	0
Milbemycin α_3	100	90	45	8	1
Kelthane	74	25	3	-	-

Beispiel 8

Akarizide Aktivität gegen Eier der gemeinen Spinnmilbe (*Tetranychus urticae*)

1 Tag alte Eier von *Tetranychus urticae*, die vorher auf Blättchen der chinesischen Bohne abgelegt worden waren, wurden für diesen Test verwendet. Die Blättchen wurden mit

8

der erfindungsgemässen Verbindung und den anderen Verbindungen in der in Beispiel 7 beschriebenen Weise behandelt. Die Anzahl der Eier betrug ca. 100 pro Blättchen. 2

Wochen nach der Behandlung wurde die Anzahl der Eier, die nicht ausgeschlüpft waren, gezählt; die Ergebnisse sind in Tabelle III als Prozentsatz der Gesamtzahl der Eier wiedergegeben.

Tabelle III

Konzentration der Testlösung (ppm)					
Testverbindung	30	10	3	1	0,3
Verbindung B-41D	100	100	96	52	10
Milbemycin α_1	98	85	60	30	0
Milbemycin α_3	93	89	55	20	5
Kelthane	19	0	0	-	-

Beispiel 9

Akarizide Aktivität gegen die «citrus red mite» (*Panonychus citri*)

Es wurde das in Beispiel 7 beschriebene Verfahren befolgt, wobei aber Maulbeerblätter, die weibliche adulte Tiere der «citrus red mite» trugen, verwendet wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle IV angegeben.

Tabelle IV

Konzentration der Testlösung (ppm)						
Testverbindung	10	3	1	0,3	0,1	0,3
Verbindung B-41D	100	100	100	95	90	50
Milbemycin α_1	100	98	82	68	55	3
Milbemycin α_3	100	95	82	70	48	7
Kelthane	75	-	-	-	-	-

Zusätzlich zu den in Tabelle IV wiedergegebenen Resultaten wurde auch eine Emulsion von Kelthane mit einer Konzentration von 30 ppm getestet, aber selbst bei dieser Konzentration betrug die Mortalität nur 93%.

Aus diesen Ergebnissen ist klar ersichtlich, dass die Verbindung B-41D, verglichen mit den Milbemycinen α_1 und α_3 , die ihrerseits wesentlich besser sind als das bekannte Akarizid Kelthane, eine extrem hohe akarizide Aktivität hat.

Beispiel 10

Anthelminthische Aktivität gegen *Nematospiroides dubius*

4 Wochen alte männliche Mäuse vom Stamm RFVL die je ca. 18 bis 22 g wogen, wurden oral mit *Nematospiroides dubius* infiziert. Die Mäuse wurden dann in Gruppen von je 5 Tieren unterteilt; jede Gruppe wurde nach der Infektion 7

Tage lang mit einem Futter gefüttert, das die Testverbindung in der in Tabelle V angegebenen Menge enthielt, worauf ihr unbehandeltes Futter verabreicht wurde. 14 Tage nach der Infektion wurden die Tiere getötet; die Anzahl der Parasiten im Dünndarm wurde gezählt und mit derjenigen bei einer

Vergleichsgruppe verglichen, die in ähnlicher Weise infiziert, aber nicht behandelt worden war. Die Ergebnisse, ausgedrückt als anthelminthische Aktivität, sind in Tabelle V angegeben.

Tabelle V

Testverbindung	Menge im Futter	Anthelminthische Aktivität
Verbindung B-41D	0,05%	100%
	0,005%	100%
	0,0005%	96%
Gemisch der Milbemycine α_2 und α_4	0,03%	32%
Gemisch der Milbemycine α_1 bis α_6 , α_9 , α_{10} und β_1	0,03%	27,6%

Die in Tabelle V dargestellten Ergebnisse beweisen, dass die Verbindung B-41D eine anthelminthische Wirkung hat, die etwa zwei Grössenordnungen grösser ist als diejenige von Gemischen der Milbemycine, mit denen sie verglichen wird.

Beispiel 11

Anthelminthische Aktivität gegen *Toxocara cati*

In diesem Test wurden 18 junge Katzen (3 männliche und 15 weibliche) mit einem Körpergewicht von 1,6 bis 3,0 kg verwendet, die in natürlicher Weise mit *Toxocara cati* infiziert worden waren. Jeder der jungen Katzen wurde oral eine Einzeldosis der Verbindung B-41D, dispergiert in Olivenöl, in den folgenden Mengen verabreicht: 2 junge Katzen erhielten 5 mg/kg Körpergewicht der Verbindung; 3 junge Katzen erhielten 2,5 mg/kg Körpergewicht; 2 junge Katzen erhielten 1 mg/kg Körpergewicht; 3 junge Katzen erhielten 0,5 mg/kg Körpergewicht; 3 junge Katzen erhielten 0,25 mg/kg Körpergewicht; 2 junge Katzen erhielten 0,1 mg/kg Körpergewicht; und 3 junge Katzen erhielten 0,05 mg/kg Körpergewicht. Vor der Behandlung betrug die EPG (d.h. die Anzahl der Eier pro g Exkremente) 150 bis 16 250. Eine Woche nach der Behandlung betrug die EPG bei allen jungen Katzen Null, und die Gesamtzahl der während dieser Woche ausgetriebenen Würmer betrug 2 bis 40. Bei der Autopsie zeigte es sich, dass alle jungen Katzen vollständig frei von Würmern waren.

Beispiel 12

Anthelminthische Aktivität gegen *Toxocara canis*

In diesem Test wurden 13 junge Hunde (3 männliche und 10 weibliche) mit einem Körpergewicht von 1,2 bis 13,7 kg verwendet, die in natürlicher Weise mit *Toxocara canis* infiziert worden waren. Jedem jungen Hund wurde oral eine Einzeldosis der Verbindung B-41D, dispergiert in Olivenöl, in den folgenden Mengen verabreicht: 1 junger Hund erhielt

eine Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht; 2 junge Hunde erhielten 0,25 mg/kg Körpergewicht; 4 junge Hunde erhielten 0,1 mg/kg Körpergewicht; 3 junge Hunde erhielten 0,05 mg/kg Körpergewicht; 2 junge Hunde erhielten 0,025 mg/kg Körpergewicht; und 1 junger Hund erhielt 0,01 mg/kg Körpergewicht. Vor der Behandlung betrug die EPG 10 bis 18 400. Eine Woche nach der Behandlung betrug die EPG bei allen jungen Hunden Null, und die Gesamtzahl der während dieser Woche ausgetriebenen Würmer betrug 2 bis 36 pro jungem Hund. Bei der Autopsie zeigte es sich, dass alle jungen Hunde vollständig frei von Würmern waren.

Beispiel 13

Anthelminthische Aktivität gegen *Trichuris vulpis*

In diesem Test wurden 5 Hunde (2 weibliche und 3 männliche) mit einem Körpergewicht von 6,5 bis 11,5 kg und einem Alter von 2 oder 3 Jahren verwendet. Jedem Tier wurde oral eine Einzeldosis von 1 bzw. 5 mg/kg Körpergewicht der Verbindung B-41D in Form einer mit Gelatine überzogenen Kapsel verabreicht. Es hatte sich gezeigt, dass diese Hunde in natürlicher Weise mit *Trichuris vulpis* infiziert worden waren. Vor der Behandlung betrug die EPG 100 bis 3500. Eine Woche nach der Behandlung betrug die EPG 0 bis 200, und die Gesamtzahl der während dieser Woche ausgetriebenen Würmer betrug 8 bis 451. Bei der Autopsie wurde festgestellt, dass die Anzahl der restlichen Würmer 0 bis 33 betrug, was einer prozentualen Eliminierung von 92 bis 100% entsprach. Es ist bekannt, dass Infektionen mit *Trichuris vulpis* im Blinddarm sehr schwer zu bekämpfen sind; somit zeigt die hohe prozentuale Eliminierung, die mit einer einzigen, verhältnismässig milden Dosis der erfindungsgemässen Verbindung erzielt wird, eine ausserordentlich wirksame und wertvolle Aktivität gegen diesen Parasiten an.

Beispiel 14

Anthelminthische Aktivität gegen *Ancylostoma canium*

In diesem Test wurden 5 Hunde (2 weibliche und 3 männliche) mit einem Körpergewicht von 7,0 bis 11,5 kg und einem Alter von 2 oder 3 Jahren verwendet. Es war festgestellt worden, dass alle Hunde in natürlicher Weise mit *Ancylostoma canium* infiziert worden waren. Jedem der Hunde wurde oral eine Einzeldosis der Verbindung B-41D in Form einer mit Gelatine überzogenen Kapsel in den folgenden Mengen verabreicht: 2 Hunde erhielten 0,5 mg/kg Körpergewicht; 2 Hunde erhielten 1 mg/kg Körpergewicht; und 1 Hund erhielt 5 mg/kg Körpergewicht. Vor der Behandlung betrug die EPG 20 bis 1550. Eine Woche nach der Behandlung betrug die EPG bei allen Hunden Null, und die Gesamtzahl der während dieser Woche ausgetriebenen Würmer betrug 4 bis 82 pro Hund. Bei der Autopsie wurde festgestellt, dass alle Hunde vollständig frei von Würmern waren.

FIG. 1

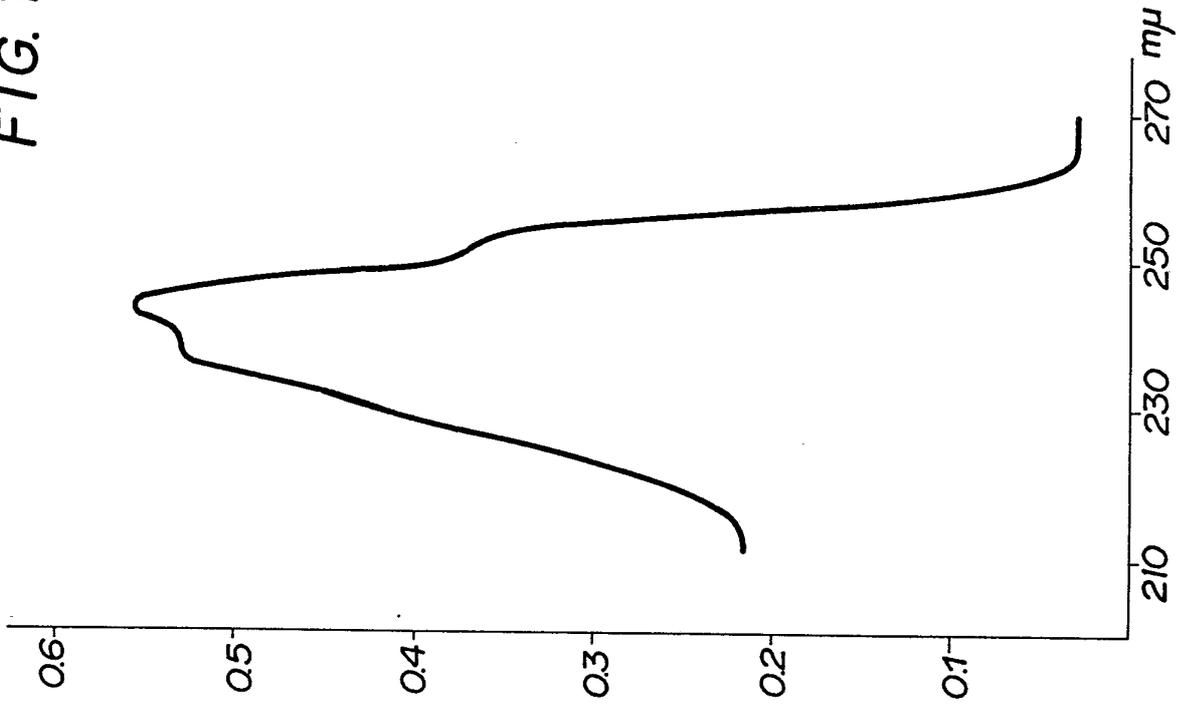


FIG. 2

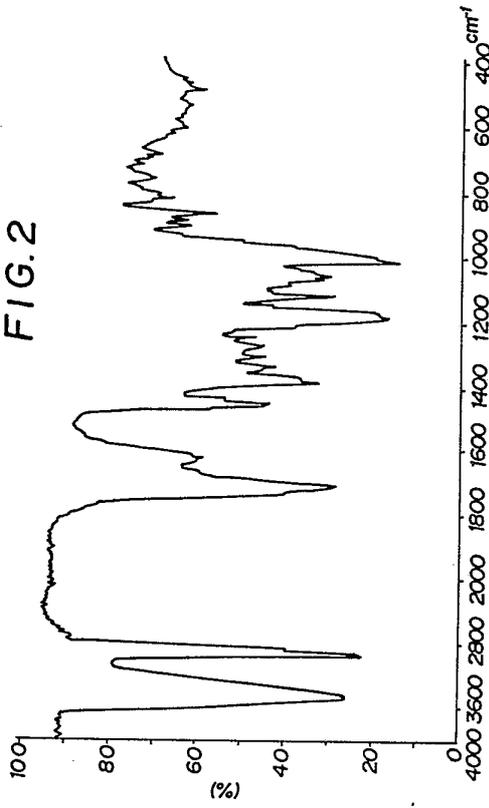


FIG. 3

