

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

11 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

3 022 112

21 N° d'enregistrement national : 15 54961

51 Int Cl⁸ : A 01 N 43/16 (2013.01), A 01 P 11/00

12 DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 01.06.15.

30 Priorité : 13.06.14 FR 1455445.

43 Date de mise à la disposition du public de la demande : 18.12.15 Bulletin 15/51.

56 Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

Demande(s) d'extension : Polynésie-Fr

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

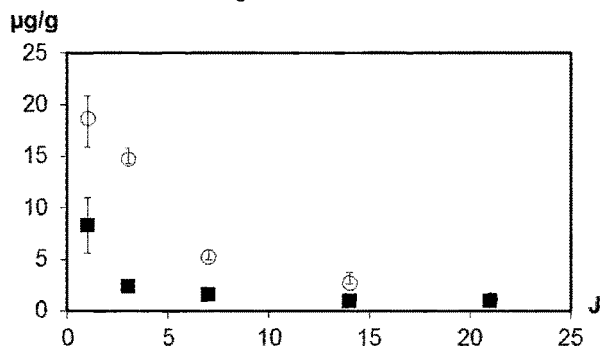
72 Inventeur(s) : CARUEL HERVE, ESPANA BERNADETTE, BESSE STEPHANE, LATTARD VIRGINIE et BENOIT ETIENNE.

73 Titulaire(s) : LIPHATECH Société par actions simplifiée.

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

54 COMPOSITION COMPRENANT DE LA BROMADIOLONE, APPAT RODONTICIDE ET PROCEDE DE LUTTE CONTRE DES RONGEURS CIBLES NUISIBLES.

57 L'invention concerne une composition comprenant de la bromadiolone majoritairement sous forme d'homo-stéréoisomère de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1 -phénylpropyl] -4-hydroxy-2H-1 - benzopyran-2-one, les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle étant de même configuration absolue. L'invention concerne également un appât rodenticide et un procédé de lutte contre des rongeurs nuisibles.



FR 3 022 112 - A1



COMPOSITION COMPRENANT DE LA BROMADIOLONE, APPÂT
RODONTICIDE ET PROCÉDÉ DE LUTTE CONTRE DES RONGEURS
CIBLES NUISIBLES

L'invention concerne une composition comprenant de la
5 bromadiolone, un appât rodenticide et un procédé de lutte contre des rongeurs
cibles nuisibles. L'invention concerne donc le domaine technique de lutte contre
le développement excessif de populations de rongeurs cibles nuisibles.

Il est connu d'utiliser des pièges à rongeurs cibles nuisibles
permettant de prélever un petit nombre d'individus d'une espèce de rongeur cible
10 nuisible. On connaît aussi des appâts rodenticides faisant office de poison pour
des rongeurs cibles nuisibles.

On connaît en particulier des appâts rodenticides
comprenant de la bromadiolone et permettant de lutter contre des rongeurs
nuisibles. Il s'agit en particulier d'appâts à base d'avoine décortiquée et
15 comprenant aussi de la bromadiolone dans une proportion massique de 50 mg par
kg (0,005 %, 50 ppm) d'appât, du benzoate de dénatonium et un colorant.

De tels appâts posent des problèmes lorsqu'ils sont mis à la
disposition des populations de rongeurs nuisibles et sont susceptibles d'être
consommés par des animaux autres que des rongeurs nuisibles. Ils peuvent par
20 exemple être consommés par des animaux domestiques, des animaux de
compagnie. Ils peuvent aussi être accidentellement consommés par des humains.

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

On connaît aussi de EP 0 147 052 une composition
30 rodenticide comprenant à titre de substance rodenticide les isomères de la
bromadiolone les moins dangereux pour des espèces non-cibles, c'est-à-dire les

isomères 1-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-3-(4-hydroxycoumarin-3-yl)-(1S,3R)-
propanol et 1-(4'-bromobiphenyl-4-yl)-3-(4-hydroxycoumarin-3-yl)-(1R,3S)-
propanol. EP 0 147 052 précise que ces isomères les moins dangereux pour les
5 espèces non-cibles sont retenus de façon moins persistante dans les tissus de
mammifères non-rongeurs ou des espèces d'oiseaux susceptibles de consommer
de telles compositions d'appât rodenticide ou des carcasses de rongeurs
empoisonnés.

Une telle composition rodenticide comprenant
sensiblement de l'ordre de 100 % de bromadiolone (1SR,3RS) est moins retenue
10 dans les tissus de mammifères non-rongeurs et d'espèces d'oiseaux consommant
de telles compositions d'appât rodenticide ou des carcasses de rongeurs
empoisonnés.

L'invention vise donc à pallier les inconvénients des
compositions rodenticides connues en proposant une composition, un appât
15 rodenticide et un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles qui sont
efficaces pour contrôler les populations de rongeurs nuisibles et qui permettent
cependant de limiter les risques d'empoisonnement primaire d'un humain
consommant accidentellement un tel appât rodenticide et les risques
d'empoisonnement secondaire d'animaux non-cibles -notamment de mammifères
20 domestiques, tels que des animaux de compagnie, ou sauvages -notamment des
renards ou d'oiseaux- prédateurs de rongeurs empoisonnés ou charognards de
cadavres de rongeurs empoisonnés.

L'invention vise aussi une composition, un appât
rodenticides et un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles dont la
25 mise en œuvre est en accord avec les règles de bon usage, notamment vis à vis de
la protection des oiseaux, et en particulier des rapaces.

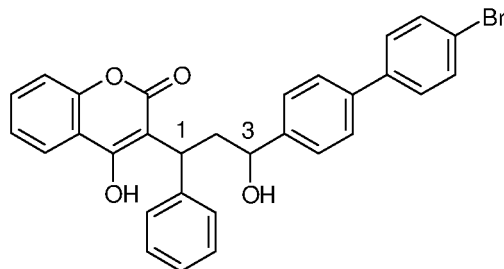
L'invention vise aussi une composition, un appât
rodenticide et un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles qui ne
nécessitent pas, pour éradiquer une population de rongeur cibles nuisibles,
30 d'utiliser des doses massives d'un agent rodenticide et qui est respectueux de
l'environnement, de la santé humaine et des animaux non cibles -notamment des

oiseaux-.

Pour ce faire, l'invention concerne une composition comprenant de la bromadiolone majoritairement sous forme d'homo-stéréoisomère de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one, les carbones 1 et 3 du
5 groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle étant de même configuration absolue.

L'invention concerne donc une composition comprenant un stéréoisomère de configuration de la bromadiolone, dit homo-stéréoisomère, de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-
10 hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle sont de même configuration absolue, l'homo-stéréoisomère étant majoritaire dans la bromadiolone.

Dans tout le texte, le terme "bromadiolone" désigne le composé 3-[3-(4'-bromo[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-
15 hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one ou 3-[3-[4-(4-bromophényl)phényl]-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-2-hydroxychromèn-4-one de formule (I) ci-après :



(I) ;

dans laquelle sont présentés les numéros des carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle.

20 Dans tout le texte :

– on désigne par "stéréoisomères", les isomères de même formule semi-développée, mais dont la position relative des atomes diffère dans l'espace. On désigne par "stéréoisomères de configuration" les stéréoisomères dont la conversion de l'un en l'autre nécessite une rupture/reformation d'une liaison
25 covalente interatomique. Ainsi, on désigne par "stéréoisomères de configuration" les stéréoisomères qui ne sont pas des isomères de conformation (ou "rotamères", dont la conversion de l'un en l'autre des isomères de

conformation s'accompagne uniquement d'une rotation d'une partie de la molécule selon l'axe d'une liaison σ formée par recouvrement axial d'orbitales). Un même stéréo-isomère de configuration peut être formé de l'un ou de l'autre des éventuels différents énantiomères de ce stéréo-isomère de configuration ou
5 d'un mélange racémique ou non racémique, de ces éventuels énantiomères ;

– les configurations absolues des carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle des stéréo-isomères de la bromadiolone sont déterminées selon la nomenclature de Cahn, Ingold et Prelog ;

– les expressions "l'homo-stéréo-isomère est majoritaire dans la
10 bromadiolone" et "la bromadiolone est majoritairement sous forme d'homo-stéréo-isomère", signifient que la quantité (massique, molaire ou volumique) d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone est majoritaire -supérieure à 50 %- dans la totalité de la bromadiolone présente dans la composition (sous toutes ses formes stéréo-isomères de configuration).

15 Dans une composition selon l'invention, la quantité d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone dans la composition est majoritaire par rapport à la somme des homo-stéréo-isomère et hétéro-stéréo-isomère de la bromadiolone.

L'invention vise donc toute composition comprenant de la
20 bromadiolone sous forme de stéréo-isomère de configuration de la bromadiolone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one et dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle sont de même configuration absolue, l'homo-stéréo-isomère étant majoritaire dans la
25 bromadiolone.

L'invention vise donc toute composition comprenant une quantité majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone par rapport à la quantité totale de bromadiolone. L'invention vise donc toute composition comprenant une proportion majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la
30 bromadiolone par rapport à l'ensemble des stéréo-isomères -homo-stéréo-isomère et hétéro-stéréo-isomère- de la bromadiolone. L'invention vise donc une

composition dans laquelle la bromadiolone est majoritairement de l'homo-stéréo-isomère.

Dans une composition et un appât selon l'invention :

– l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone est présent avec une
5 quantité de plus de 50 % par rapport à la quantité de bromadiolone ;

– la quantité d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone rapportée à la somme des quantités de chacun des stéréo-isomères (i) de la bromadiolone est supérieure à 0,5 (50 %) :

$$\frac{\text{Quantité d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone}}{\sum_i[\text{Quantité de stéréo-isomère (i) de la bromadiolone}]} > 0,5 (50\%) ;$$

10 – la concentration d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone rapportée à la somme des concentrations de chacun des stéréo-isomères (i) de la bromadiolone est supérieure à 0,5 (50 %) :

$$\frac{[\text{homo-stéréo-isomère de la bromadiolone}]}{\sum_i[\text{stéréo-isomère (i) de la bromadiolone}]} > 0,5 (50\%) ;$$

– la proportion ($p_{\text{Homo-SI}}$) d'homo-stéréo-isomère (Homo-SI) de la
15 bromadiolone dans la composition est supérieure à la proportion de l'autre stéréo-isomère de configuration (hétéro-stéréo-isomère (Hétéro-SI)) de la bromadiolone. Dans une composition selon l'invention, la proportion d'Homo-SI de la bromadiolone dans la composition est de plus de 50 % par rapport à la bromadiolone totale.

20 Les inventeurs ont observé que les stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone ne présentent pas la même rémanence hépatique chez des rongeurs cibles nuisibles et que l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone qui, selon EP 0 147 052, est le stéréo-isomère de configuration de la bromadiolone qui est retenu de façon plus persistante dans les tissus de
25 mammifères non-rongeurs et dans les tissus d'espèces d'oiseaux consommant des appâts rodenticide ou des carcasses de rongeurs empoisonnés par de tels appâts, est en fait le stéréo-isomère de configuration de la bromadiolone qui est de plus faible rémanence hépatique chez des rongeurs cibles, notamment chez des rongeurs cibles nuisibles. Les inventeurs ont observé que l'homo-stéréo-isomère
30 de la bromadiolone lorsqu'il est ingéré par un rongeur cible nuisible disparaît du

foie du rongeur cible nuisible ayant consommé une composition selon l'invention plus rapidement que l'hétéro-stéréo-isomère. Le rongeur cible nuisible mort ou vif ayant ingéré ladite composition est moins dangereux vis-à-vis de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux consommant le rongeur cible nuisible et en particulier vis-à-vis de prédateurs (de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux) qui consomment préférentiellement les viscères de leurs proies et en particulier leur foie.

Les inventeurs ont en outre observé qu'une telle composition selon l'invention comprenant majoritairement de l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone de moindre rémanence hépatique chez des rongeurs cibles nuisibles permet en fait de lutter efficacement contre des rongeurs cibles nuisibles.

Avantageusement, la composition peut aussi comprendre un autre stéréo-isomère de la bromadiolone, dit hétéro-stéréo-isomère, dans lequel les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle de la bromadiolone sont de configurations absolues distinctes. Avantageusement, ledit hétéro-stéréo-isomère de la bromadiolone est présent dans la composition avec une quantité inférieure à 50 % -notamment inférieure à 30 %, préférentiellement comprise entre 0 % et 20 %, en particulier inférieure à 10 %- par rapport à la bromadiolone. Avantageusement, la composition peut être exempte d'hétéro-stéréo-isomère de la bromadiolone.

L'invention concerne donc toute composition comprenant une quantité majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone. L'invention vise donc toute composition comprenant une quantité majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone par rapport à l'ensemble des stéréo-isomères -homo-stéréo-isomère et hétéro-stéréo-isomère- de configuration de la bromadiolone.

Avantageusement et selon l'invention, l'homo-stéréo-isomère est dans la composition en quantité supérieure à 50 % par rapport à la bromadiolone -notamment supérieure à 70 %, de préférence comprise entre 80 % et 100 %, plus préférentiellement comprise entre 90 % et 99 %- par rapport à la

bromadiolone. Avantageusement, l'homo-stéréo-isomère est dans la composition en quantité comprise entre 92 % et 97 % par rapport à la bromadiolone. Avantageusement et selon l'invention, l'homo-stéréo-isomère est dans la composition en quantité sensiblement de l'ordre de 100 % par rapport à la
5 bromadiolone.

Avantageusement et selon l'invention, l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone présente une rémanence hépatique chez des rongeurs cibles inférieure à la rémanence hépatique de l'autre stéréo-isomère (hétéro-stéréo-isomère) de configuration de la bromadiolone.

10 Avantageusement et selon l'invention, l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone présente en RMN du proton dans CDCl_3 deux multiplets distincts centrés l'un à un déplacement chimique (δ) de l'ordre de 2,35 ppm et l'autre à un déplacement chimique (δ) de l'ordre de 3,05 ppm et correspondant chacun à l'un des deux protons méthyléniques portés par le
15 carbone 2 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle. On distingue l'homo-stéréo-isomère et l'hétéro-stéréo-isomère de la bromadiolone en RMN du proton par la différence de déplacement chimique des deux protons méthyléniques portés par le carbone 2 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle de la bromadiolone. On distingue aussi l'homo-stéréo-isomère et l'hétéro-stéréo-
20 isomère de la bromadiolone en RMN du proton par la différence de déplacement chimique (4,70 ppm à 4,95 ppm) des protons portés respectivement par les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle de la bromadiolone.

Avantageusement et selon l'invention, la proportion massique de bromadiolone est inférieure à 200 ppm (200 mg de bromadiolone
25 par kg de composition) dans la composition. Avantageusement, la proportion massique de bromadiolone est comprise entre 10 ppm et 100 ppm (10 mg à 100 mg de bromadiolone par kg de composition), notamment comprise entre 10 ppm et 50 ppm (10 mg à 50 mg de bromadiolone par kg de composition), de préférence de l'ordre de 15 ppm (15 mg de bromadiolone par kg de
30 composition).

Avantageusement et selon l'invention, la proportion

(massique, molaire ou volumique) de bromadiolone est comprise entre 1 ppm et 10⁶ ppm, c'est-à-dire entre 1 mg et 10⁶ mg de bromadiolone par kilogramme de composition. Il peut donc s'agir d'une composition pure constituée exclusivement de bromadiolone, ou encore une solution liquide diluée
5 comprenant de la bromadiolone et un solvant, ou encore un prémix solide.

L'invention concerne aussi l'utilisation d'une composition selon l'invention à titre d'appât rodenticide pour des rongeurs cibles nuisibles.

L'invention concerne un appât rodenticide comprenant une composition selon l'invention. L'invention concerne un appât rodenticide
10 comprenant une composition selon l'invention et un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles et choisi pour permettre une consommation de la composition par des rongeurs cibles nuisibles. L'invention concerne donc aussi un tel appât rodenticide qui comprend une composition comprenant une proportion majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone et un excipient
15 comestible. En particulier l'excipient comestible n'est pas rodenticide en lui-même et est exempt de composés rodenticides.

Avantageusement et selon l'invention, l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des
20 graines de céréale -notamment des graines de céréale décortiquées-, des moutures de graines de céréale, des farines de graines de céréale, des flocons de graines de céréale, du son de céréales et des graines non céréalières, par exemple des graines de luzerne -notamment sous forme décortiquée, sous forme de mouture, sous forme de farine, sous forme de flocons ou de son-. L'excipient comestible peut comprendre tout support susceptible d'être consommé par les rongeurs
25 cibles nuisibles.

Avantageusement, l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des aliments d'origine végétale et des aliments d'origine animale. Avantageusement, l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi pour stimuler l'appétit des rongeurs cibles
30 nuisibles. En particulier, l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé de graines d'une ou de plusieurs céréales, de graines

décortiquées d'une ou de plusieurs céréales, des moutures de graines d'une ou de plusieurs céréales, des flocons de graines d'une ou de plusieurs céréales, du son d'une ou de plusieurs céréales et des farines de graines d'une ou de plusieurs céréales. A titre d'exemple, on choisit les céréales dans le groupe formé de
5 l'avoine, du blé, de l'orge, du maïs, du soja et du riz.

Avantageusement, un l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des aliments sucrés. Par exemple, il peut s'agir d'aliments comprenant au moins un sucre choisi dans le groupe formé du saccharose, du lactose, du fructose et du glucose. Il peut s'agir d'un
10 sirop de sucre -par exemple, d'un sirop de sucre obtenu par hydrolyse de l'amidon- ou d'un sirop de sucre obtenu par hydrolyse de saccharose (sirop de sucre inverti), ou d'un sirop de sucre de betterave, ou d'un sirop d'érable ou d'un sirop de sucre de canne.

Avantageusement, l'excipient comestible comprend au
15 moins un aliment choisi dans le groupe formé des flocons et de la farine de l'albumen de noix de coco (coprah). Avantageusement, l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des noix, des noisettes et des amandes -râpées et/ou en poudre-.

Avantageusement, l'excipient comestible comprend au
20 moins un aliment choisi dans le groupe formé des graisses végétales, des huiles végétales (par exemple huile de colza, graisse de soja, huile de tournesol, beurre de cacao, huile d'arachides, beurre d'arachides, huile de maïs, huile de palme), des graisses animales et des huiles animales (beurre, saindoux, huile de poisson).

Avantageusement, l'excipient comestible comprend au
25 moins un aliment choisi dans le groupe formé des protéines animales. Á titre d'exemple, on peut citer par exemple le lait en poudre -notamment le lait écrémé en poudre-, les œufs -notamment les œufs en poudre- et les hydrolysats de protéines animales.

Avantageusement et selon l'invention, la bromadiolone est
30 présente dans l'appât avec une proportion massique inférieure à 200 ppm c'est-à-dire 200 mg de bromadiolone par kg d'appât. Avantageusement, la

proportion massique de bromadiolone est comprise entre 10 ppm et 100 ppm (10 mg à 100 mg de bromadiolone par kg d'appât), notamment comprise entre 10 ppm et 50 ppm (10 mg à 50 mg de bromadiolone par kg d'appât), de préférence de l'ordre de 15 ppm (15 mg de bromadiolone par kg d'appât).

5 L'usage d'un appât selon l'invention comprenant une proportion majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone est moins dangereux pour les espèces exposées au risque d'intoxication primaire (ingestion de l'appât selon l'invention par un enfant ou par un animal non-cible -par un chien par exemple-) dès lors que la proportion massique de bromadiolone dans
10 l'appât est modérée et pour les espèces exposées au risque d'intoxication secondaire dès lors que le phénomène d'élimination accélérée de l'homo-stéréo-isomère dans le foie du rongeur diminue la quantité de bromadiolone résiduelle dans l'organisme d'un rongeur empoisonné -mort ou vif- susceptible d'être consommé par lesdites espèces.

15 Avantageusement, l'appât rodenticide se présente sous forme solide. Avantageusement, l'appât rodenticide selon l'invention peut être sous forme de boulettes, de granulés de bloc ou de pâte susceptibles d'être consommés par les rongeurs cibles nuisibles ou d'un matériau solide susceptible d'être rongé par les rongeurs cibles nuisibles. Avantageusement, l'appât
20 rodenticide solide selon l'invention peut se présenter sous forme d'un bloc rigide, d'un bloc semi-rigide ou d'un gel.

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

Avantageusement, l'appât rodenticide peut se présenter sous forme liquide. L'appât rodenticide est alors une boisson.

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

Avantageusement, l'appât rodenticide comprend au moins un conservateur apte à assurer sa conservation lors de son stockage.

Avantageusement, dans une variante particulière selon l'invention, la composition et l'appât rodenticide comprennent exclusivement de la bromadiolone à titre de substance rodenticide. En particulier, la composition et l'appât rodenticide selon l'invention sont exempts de toute autre substance anticoagulante à usage rodenticide.

Cependant, dans une autre variante selon l'invention, la composition et l'appât rodenticide peuvent comprendre une autre substance rodenticide autre que la bromadiolone et/ou toute autre substance anti-nuisible telle qu'une substance insecticide et/ou acaricide.

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

- de la bromadiolone majoritairement sous forme d'homo-stéréo-isomère, de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one, les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle étant de même configuration absolue, et
- un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles.

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

- de la bromadiolone sous forme d'un stéréo-isomère de configuration de la bromadiolone, dit homo-stéréo-isomère, de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one, les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle dudit homo-stéréo-isomère étant de même configuration absolue, et

- un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles ;
- dans lequel on choisit l'appât de façon que l'homo-stéréo-isomère soit majoritaire dans la bromadiolone.

L'invention concerne donc un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles dans lequel on dissémine une quantité d'appât rodenticide selon l'invention, c'est-à-dire d'un appât comprenant une proportion majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone, ladite quantité d'appât étant suffisante pour être rodenticide. On dissémine donc une quantité d'appât comprenant majoritairement de l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone dans la bromadiolone, ladite bromadiolone présentant une rémanence hépatique diminuée chez le rongeur cible nuisible mais une efficacité rodenticide maintenue. Le procédé selon l'invention permet donc de limiter l'empoisonnement secondaire de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux susceptibles de s'alimenter avec des rongeurs morts ou vifs empoisonnés mais comprenant une quantité réduite -et notamment une quantité non létale- de bromadiolone. Le procédé selon l'invention permet aussi de limiter un tel empoisonnement secondaire de mammifères non-rongeurs et d'oiseaux susceptibles de consommer préférentiellement les viscères -en particulier le foie- desdits rongeurs morts ou vifs empoisonnés.

Avantageusement et selon l'invention, l'homo-stéréo-isomère est dans l'appât en quantité supérieure à 50 % -notamment supérieure à 70 %, de préférence comprise entre 80 % et 100 %, plus préférentiellement comprise entre 90 % et 99 %- dans la bromadiolone. Avantageusement, l'homo-stéréo-isomère est dans l'appât en quantité comprise entre 92 % et 97 % par rapport à la bromadiolone. Avantageusement et selon l'invention, l'homo-stéréo-isomère est dans l'appât en quantité sensiblement de l'ordre de 100 % par rapport à la bromadiolone.

Avantageusement et selon l'invention, on choisit l'appât de façon que la bromadiolone soit présente dans l'appât avec une proportion massique inférieure à 200 ppm c'est-à-dire 200 mg de bromadiolone par kg d'appât. Avantageusement, la proportion massique de bromadiolone est comprise entre 10 ppm et 100 ppm (10 mg à 100 mg de bromadiolone par kg d'appât), notamment comprise entre 10 ppm et 50 ppm (10 mg à 50 mg de bromadiolone par kg d'appât), de préférence de l'ordre de 15 ppm (15 mg de bromadiolone par

kg d'appât).

Avantageusement et en variante selon l'invention, on choisit ladite proportion massique de bromadiolone dans l'appât, en combinaison avec la quantité d'appât disséminé de façon que des rongeurs cibles nuisibles
5 consomment une quantité d'appât au cours d'une période unique de 24 heures consécutives suffisante pour être létale pour lesdits rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât. Un appât selon cette variante de l'invention est un appât mortel en une seule prise ou "*one-shot*" en anglais.

Avantageusement et selon cette variante de l'invention,
10 ladite proportion massique de bromadiolone dans l'appât est de l'ordre de 50 ppm.

Avantageusement, selon une autre variante de l'invention, on choisit ladite proportion massique de bromadiolone dans l'appât en combinaison avec la quantité d'appât disséminé de façon que des rongeurs cibles
15 nuisible consomment une quantité de bromadiolone qui est :

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

- suffisante pour être létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât pendant plus d'une période -notamment pendant
20 plusieurs périodes de 24 heures consécutives-, lesdites périodes étant successives.

Cette autre variante de l'invention vise donc aussi en particulier un procédé de lutte contre des rongeurs cibles nuisibles dans lequel on dissémine une quantité d'appât létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant durablement cet appât et non létale pour des rongeurs ou des
25 animaux non cibles consommant accidentellement cet appât. On parle alors d'un procédé de lutte "*multi-doses*" ou, en anglais, "*multi-feeding*". Dans un tel procédé selon l'invention, la consommation d'appât par un rongeur cible nuisible pendant une durée de 24 heures est insuffisante pour entraîner la mort dudit rongeur, alors qu'une consommation répétée d'appâts pendant au moins deux
30 jours consécutifs permet d'entraîner la mort du rongeur cible nuisible.

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

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

Avantageusement et selon l'invention, on choisit la quantité d'appât disséminé et la proportion massique de bromadiolone dans l'appât pour permettre une ingestion quotidienne de bromadiolone par un rongeur cible nuisible comprise entre 0,20 et 10 mg par kilogramme de rongeur cible nuisible, notamment entre 0,2 et 2,0 mg par kilogramme.

Dans un procédé selon l'invention, on adapte la quantité d'appât disséminé et la proportion massique de bromadiolone dans l'appât de façon à permettre une consommation d'appât pendant plusieurs jours par des rongeurs cibles nuisibles, tout en limitant :

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

– les risques d'intoxication secondaire des prédateurs des rongeurs cibles nuisibles susceptibles de consommer un/des rongeur(s) –mort(s) ou vif(s)- cible(s) nuisible(s) ayant ingéré une quantité dudit appât.

Avantageusement et selon l'invention, on adapte la quantité d'appât disséminé, la proportion massique de bromadiolone dans l'appât et la proportion d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone dans la bromadiolone pour que la consommation de l'appât soit létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant quotidiennement de l'appât pendant au moins 2 périodes de 24 heures -notamment de 3 à 7 périodes-, lesdites périodes étant successives.

Avantageusement et selon l'invention, on adapte la quantité d'appât disséminé, la proportion massique de bromadiolone dans l'appât et la proportion d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone pour pouvoir atteindre dans le foie des rongeurs cibles nuisibles, au lendemain du troisième jour d'une période de trois jours consécutifs, ladite période comprenant au moins une
5 ingestion d'appât par jour, une quantité de bromadiolone inférieure ou égale à 30 µg de bromadiolone par gramme de foie de rongeur cible nuisible.

La période de trois jours consécutifs lors de laquelle un rongeur cible nuisible ingère de l'appât peut débuter à compter d'une première
10 ingestion d'appât par un rongeur cible nuisible. Elle peut aussi débuter à compter de la dissémination de l'appât.

L'invention concerne également une composition, un appât rodenticide et un procédé de lutte contre les rongeurs cibles nuisibles caractérisés en combinaison par tout ou partie des caractéristiques mentionnées ci-dessus ou
15 ci-après.

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

– la figure 1 est un détail d'un spectre de RMN du proton de l'hétéro-
20 stéréo-isomère de la bromadiolone ;

– la figure 2 est un détail d'un spectre de RMN du proton de l'homo-
stéréo-isomère de la bromadiolone d'une composition selon l'invention ;

– la figure 3 est un détail d'un spectre de RMN du proton d'un mélange de l'homo-stéréo-isomère et de l'hétéro-stéréo-isomère de la
25 bromadiolone ;

– la figure 4 est une représentation graphique de l'évolution de la concentration hépatique des stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone, et ;

– la figure 5 est une représentation graphique en histogramme de
30 l'effet d'un procédé selon l'invention sur le temps de coagulation de rongeurs cibles.

Une composition selon l'invention comprend une proportion majoritaire d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone dans la bromadiolone. Les inventeurs ont découvert qu'il est possible d'obtenir un tel homo-stéréo-isomère de la bromadiolone par séparation des stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone.

Par exemple, la chromatographie d'un mélange des stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone sur gel de silice en couche mince ou sur colonne Nova-pak[®] Silica cartouche "flash" de silice avec une phase mobile formée de 70 % d'éther de pétrole et 30 % de chloroforme (débit de 1 mL/min) permet de séparer les deux stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone.

On peut aussi séparer les deux stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone par chromatographie HPLC sur colonne de phase inverse "LiChrospher[®]100 RP-18 Endcapped, Merck" d'une longueur de 250 mm et 4 mm de diamètre interne. La phase stationnaire inverse présente une granulométrie de 5 μm et une surface spécifique de 220 m^2/g . La phase mobile est constituée d'un mélange de méthanol (72 %) et d'eau (28 %) acidifiée avec H_3PO_4 0,0025 M. Le débit de la phase mobile est de 1,0 mL/min et la détection est réalisée par spectrophotométrie à 260 nm. On détecte et on collecte l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone dont le temps de rétention est de l'ordre de 19,44 min et l'hétéro-stéréo-isomère de la bromadiolone dont le temps de rétention est de l'ordre de 21,71 min.

On peut aussi préparer l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone par purification par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) dans les conditions suivantes :

- la phase immobile est une colonne de silice greffée XBRIDGE C_{18} , 150 mm x 4,6 mm ;
- la phase mobile est formée d'un gradient de compositions A et B dont les caractéristiques sont données au tableau 1 ci-après ;
- le débit de la phase mobile dans la phase immobile est de 1 mL/min ;

- la phase immobile est maintenue à la température de 40°C ;
- la détection est réalisée par photométrie à la longueur d'onde de 265 nm ;
- le volume d'injection est de 10 µL.

Temps d'élution, min	Composition A	Composition B
	H ₂ O + 0,2 % (v/v) H ₃ PO ₄	Méthanol
0	40 %	60 %
20	20 %	80 %
20,1	40 %	60 %
25	40 %	60 %

5 Tableau 1

Cette chromatographie permet de séparer l'homo-stéréoisomère, présentant un temps de rétention de l'ordre de 17,1 minutes et un deuxième stéréoisomère, dit hétéro-stéréoisomère, de configuration de la bromadiolone présentant un temps de rétention de l'ordre de 17,9 minutes.

10 Il est cependant à noter que le remplacement du méthanol par l'acétonitrile dans la composition B de la phase mobile est de nature à inverser l'ordre d'élution de l'homo-stéréoisomère et de l'hétéro-stéréoisomère de la bromadiolone.

L'étude par RMN du proton (¹H-RMN) dans CDCl₃ des stéréoisomères de configuration de la bromadiolone permet de confirmer que :

- le stéréoisomère de configuration le moins retenu (temps de rétention de l'ordre de 17,1 min) présente un spectre de RMN du proton (¹H-RMN) dans CDCl₃, dont un détail est reproduit en figure 2, et dans lequel deux multiplets distincts centrés l'un à environ 2,35 ppm et l'autre à 3,05 ppm correspondent chacun à l'un des deux protons méthyléniques portés par le carbone 2 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle de l'homo-stéréoisomère ;
- le stéréoisomère de configuration le plus retenu (temps de rétention de l'ordre de 17,9 min) présente un spectre de RMN du proton (¹H-RMN) dans CDCl₃, dont un détail est reproduit en figure 1, et dans lequel un multiplet complexe centré à environ 2,75 ppm correspondant aux deux protons

méthyléniques portés par le carbone 2 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle de l'hétéro-stéréo-isomère.

Inhibition du complexe 1 de la vitamine K époxyde réductase (VKORC1) *in vitro* par l'homo-stéréo-isomère et par l'hétéro-stéréo-isomère de la bromadiolone

Le pouvoir inhibiteur de deux préparations enrichies respectivement en homo-stéréo-isomère (Homo-SI) et en hétéro-stéréo-isomère (Hétéro-SI) de la bromadiolone a été évalué en utilisant la mesure de l'activité vitamine K époxyde réductase (VKOR, "*Vitamin K epoxide reductase*") catalysée par des microsomes de foies de rats sensibles aux composés anti-vitamine K (AVK). Les stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone sont partiellement purifiés par chromatographie HPLC sur gradient de composition (A/B) tel que décrit au tableau 1 ci-dessus. La préparation enrichie en Homo-SI est constituée à 96 % d'Homo-SI et à 4 % d'Hétéro-SI. La préparation enrichie en Hétéro-SI est constituée de 96 % d'Hétéro-SI et de 4 % d'Homo-SI. L'analyse des courbes d'inhibition de l'activité VKOR en fonction de la concentration en inhibiteur révèle des valeurs de constantes d'inhibition (K_i) de l'ordre de 30 nM pour l'Homo-SI et de l'ordre de 50 nM pour l'Hétéro-SI. Le pouvoir inhibiteur sur la cible toxicologique de chacun des deux isomères est donc similaire.

Rémanence hépatique de l'homo-stéréo-isomère (Homo-SI) et de l'hétéro-stéréo-isomère (Hétéro-SI) de la bromadiolone chez le rat

A J0, on réalise un gavage de rats de laboratoire (rats Sprague Dawley, Charles River, Saint germain sur l'Arbresle, France) de masse corporelle de l'ordre de 200 g avec une solution d'Homo-SI dans un mélange huile/DMSO ou avec une solution d'Hétéro-SI dans un même mélange huile/DMSO à raison de 3,0 mg de bromadiolone par kilogramme de rat. On maintient les rats en vie par injection sous-cutanée quotidienne d'une solution de vitamine K à raison de 0,1 U par rat. Á J+1, J+3, J+7, J+14 et J+21, 4 rats sont anesthésiés par l'isoflurane puis sacrifiés, les foies sont prélevés et congelés jusqu'à analyse. L'évolution temporelle des teneurs hépatiques moyennes des

stéréo-isomères de configuration "Homo-SI" (■) et "Hétéro-SI" (○) sont analysées par HPLC, données au tableau 2 ci-après et représentés en figure 4 (le symbole (■) représente l'Homo-SI et le symbole (○) représente l'Hétéro-SI).

Teneur hépatique, µg/g	J+1	J+3	J+7	J+14	J+21
Homo-SI	8,27 ± 2,72	2,34 ± 0,43	1,57 ± 0,21	0,99 ± 0,06	0,92 ± 0,08
Hétéro-SI	18,62 ± 2,22	14,70 ± 1,06	5,20 ± 0,75	2,67 ± 1,07	0,99 ± 0,07

Tableau 2

5 Dès J+1, La teneur moyenne de l'Homo-SI dans le foie de rats est plus faible que la teneur moyenne de l'Hétéro-SI dans le foie de rats gavés pour une dose initiale égale de bromadiolone ingérée à J0. L'Homo-SI présente une rémanence hépatique significativement plus faible que l'Hétéro-SI.

Rémanence hépatique des stéréo-isomères de configuration

10 Homo-SI et Hétéro-SI de la bromadiolone chez le rat mâle

On prépare les compositions enrichies en stéréo-isomères de configuration Homo-SI ou Hétéro-SI suivantes par l'une des méthodes de chromatographie décrites ci-dessus et dans lesquelles les rapports molaires sont les suivants :

- 15
- Homo-SI/Hétéro-SI ; 80/20 ;
 - Homo-SI/Hétéro-SI ; 4/96.

À J0, on réalise un gavage de 16 rats de laboratoire (rats Sprague Dawley, Charles River, Saint germain sur l'Arbresle, France) mâles de masse corporelle de l'ordre de 200 g avec une dose du mélange 80/20 ou du
20 mélange 4/96 ci-dessus à raison de 3,8 mg de bromadiolone par kilogramme de rat. On maintient les rats en vie par injection sous-cutanée quotidienne d'une solution de vitamine K. À J+1, J+3, J+5 et J+10, 4 rats sont anesthésiés par l'isoflurane puis sacrifiés, les foies sont prélevés et congelés jusqu'à analyse. Les
25 teneurs hépatiques moyennes des isomères Homo-SI et Hétéro-SI des rats mâles sont analysées par HPLC et données au tableau 3 ci-après.

Mélanges	Bromadiolone	Teneur hépatique, $\mu\text{g/g}$			
		J + 1	J + 3	J + 5	J + 10
Mélange 80/20	Homo-SI	4,07 +/- 0,35	1,04 +/- 0,20	0,49 +/- 0,27	0,25 +/- 0,02
	Hétéro-SI	3,78 +/- 0,32	2,44 +/- 0,19	1,66 +/- 0,64	1,08 +/- 0,16
	Total	7,85 +/- 0,51	3,49 +/- 0,29	2,15 +/- 0,90	1,33 +/- 0,14
Mélange 4/96	Homo-SI	0,27 +/- 0,21	0,10 +/- 0,09	0,05	0
	Hétéro-SI	14,69 +1,82	9,98 +/- 3,20	9,93 +/- 1,01	2,40 +/- 1,17
	Total	14,96 +/- 2,0	10,08 +/- 3,3	9,99 +/- 1,0	2,39 +/- 1,16

Tableau 3

La teneur hépatique en bromadiolone totale (7,85 $\mu\text{g/g}$) de rats mâles traités avec le mélange 80/20 (Homo-SI/Hétéro-SI) de bromadiolone à raison de 3,8 mg de bromadiolone par kilogramme de rat est, notamment à J+1, inférieure à la teneur hépatique en bromadiolone totale (14,96 $\mu\text{g/g}$) de rats mâles traités avec le mélange 4/96 (Homo-SI/Hétéro-SI) au même jour. Le mélange 80/20 est donc moins rémanent dans le foie des rats traités. Ces résultats démontrent que le stéréo-isomère Homo-SI de la bromadiolone présente une rémanence hépatique significativement plus faible que le stéréo-isomère de configuration Hétéro-SI de la bromadiolone chez le rat mâle.

Rémanence hépatique des stéréo-isomères de configuration Homo-SI et Hétéro-SI de la bromadiolone chez le rat femelle

On prépare les compositions enrichies en stéréo-isomères de configuration Homo-SI ou Hétéro-SI suivantes par l'une des méthodes de chromatographie décrites ci-dessus et dans lesquelles les rapports molaires sont les suivants :

- Homo-SI / Hétéro-SI ; 80/20 ;
- Homo-SI / Hétéro-SI ; 20/80.

On procède avec les rats femelles de la même façon qu'avec les rats mâles comme décrit ci-dessus. Les teneurs hépatiques moyennes

des isomères Homo-SI et Hétéro-SI des rats femelles sont analysées par HPLC et données au tableau 4 ci-après.

Mélanges	Bromadiolone	Teneur hépatique, µg/g			
		J +1	J + 3	J + 5	J + 9
Mélange 80/20	Homo-SI	19,47	9,05		1,19
	Hétéro-SI	5,92	3,54		1,29
	Total	25,39	12,6		2,47
Mélange 20/80	Homo-SI	8,43	2,15	0,87	0,18
	Hétéro-SI	24,02	22,05	15,55	7
	Total	32,45	24,2	16,42	7,18

Tableau 4

Le stéréo-isomère de configuration Homo-SI de la bromadiolone présente une rémanence hépatique significativement plus faible que le stéréo-isomère de configuration Hétéro-SI de la bromadiolone chez le rat femelle.

Administration d'une composition enrichie en Homo-SI par ingestions multiple ("*multi-feeding*")

On administre quotidiennement par gavage et pendant trois jours (J0, J+1 et J+2) à des groupes de 3 rats de laboratoire (rats Sprague Dawley de 200 g) mâles ou femelles, une composition de bromadiolone comprenant 96 % d'Homo-SI et 4 % d'Hétéro-SI" à raison de :

- 0,05 mg de bromadiolone par kilogramme de rat, ou ;
- 0,1 mg de bromadiolone par kilogramme de rat, ou ;
- 0,25 mg de bromadiolone par kilogramme de rat, ou ;
- 0,5 mg de bromadiolone par kilogramme de rat, ou ;
- 0,75 mg de bromadiolone par kilogramme de rat.

Sur ces rats, on prélève du sang et on réalise à J+3 une mesure du temps de coagulation (temps de Quick, exprimé en secondes) du plasma au moyen du kit "*Neoplastine CI Determination of Prothrombin Time*" (Diagnostica Stago, Asnières, France) par mesure sur un appareil Thrombotimer option 2 plus (Behnk Elektronik, Norderstedt, Allemagne).

Les résultats obtenus sont donnés en figure 5 sur laquelle les histogrammes hachurés représentent les temps de coagulation des rats femelles et les histogrammes pleins représentent les temps de coagulation des rats mâles. Á titre indicatif, la valeur normale du temps de coagulation de rats non traités est de l'ordre de 10 à 20 secondes.

L'ingestion répétée pendant 3 jours consécutivement d'une dose quotidienne de 0,25 mg du mélange enrichi (96/4) en stéréo-isomère de configuration Homo-SI de la bromadiolone est suffisant pour obtenir un effet anticoagulant, une hémorragie chez le rat (mâle ou femelle) et leur mort.

10 Appât comprenant 50 ppm de bromadiolone pour ingestion en plusieurs prises ("*multi-feeding*") par des rongeurs

On réalise un appât rodenticide selon l'invention par dispersion d'une quantité de bromadiolone dans une pâte à base de farine et de matière grasse végétale de façon à obtenir un appât contenant 50 mg de bromadiolone par kilogramme d'appât (50 ppm de bromadiolone). On réalise un tel appât selon l'invention avec une composition (93/7) de bromadiolone comprenant 93 % d'Homo-SI et 7 % d'Hétéro-SI. On réalise aussi à titre de comparaison des appâts comprenant :

- 2 % d'Homo-SI et 98 % d'Hétéro-SI (2/98), ou ;
- 18 % d'Homo-SI et 82 % d'Hétéro-SI (18/82).

Des rongeurs (15 rats Sprague Dawley (SD), dont 9 mâles et 6 femelles et 15 rats sauvages, dont 9 mâles et 6 femelles) sont placés dans des cages individuelles. Pendant 4 jours (J1, J2, J3 et J4), chaque rat est approvisionné avec une quantité d'appât suffisante pour satisfaire son appétit. Á l'issue de ces 4 jours, une alimentation exempte d'appât est donnée. On mesure par pesée la consommation quotidienne de chaque appât. Á la mort de l'animal, le foie de l'animal mort est prélevé, congelé et conservé jusqu'à l'analyse de la teneur hépatique en stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone.

La consommation quotidienne moyenne d'appât par les rats et le délai moyen de la mort des animaux (mortalité) sont données au tableau 5 ci-après.

Homo-SI / Hétéro-SI	Masse moyenne d'appât quotidiennement consommé, g/jour	Survenue de la mort	Mortalité, %
93/7	11,45	J4 à J9	100
2/98	11,6	J4 à J8	100
18/82	12,25	J4 à J9	100

Tableau 5

Un appât selon l'invention (93/7) est consommé par des rats Sprague-Dawley ou par des rats sauvages avec la même quantité moyenne quotidienne que des appâts (2/98 ou 18/82) non enrichis en stéréo-isomère de configuration Homo-SI de la bromadiolone. Un appât selon l'invention (93/7) enrichi en stéréo-isomère de configuration Homo-SI de la bromadiolone permet d'atteindre un taux de mortalité de 100% et donc une efficacité rodenticide maximale.

Les résultats des dosages hépatiques sont présentés au tableau 6 ci-après dans lequel "Homo-SI / Hétéro-SI" représente la quantité (molaire ou massique) de l'homo-stéréo-isomère (Homo-SI) rapportée à la quantité (molaire ou massique) de l'hétéro-stéréo-isomère (Hétéro-SI) dans l'appât mis à disposition des rats et le terme "Résidu" représente le pourcentage de bromadiolone (Homo-SI et Hétéro-SI) détectée dans le foie des rats testés rapportée à la quantité totale de bromadiolone ingérée par chaque rat.

Homo-SI / Hétéro-SI	Teneur hépatique, µg/g		Résidu, %
	Homo-SI	Hétéro-SI	
93/7	7,26 ± 7,55	3,14 ± 1,03	3,7 ± 2,41
18/82	0,80 ± 0,37	20,16 ± 6,22	8,70 ± 4,83
2/98	0	26,74 ± 6,04	10,4 ± 3,84

Tableau 6

La teneur moyenne en bromadiolone dans le foie des rats morts est de 87 µg par rat traité avec l'appât Homo-SI/Hétéro-SI (93/7) selon l'invention et de 231 µg par rat traité avec l'appât Homo-SI/Hétéro-SI (2/98).

Le pourcentage de résidu de bromadiolone est minimisé par l'utilisation de l'appât bromadiolone 93/7 comprenant une proportion majoritaire d'Homo-SI en comparaison avec l'utilisation des appâts (2/98) et (18/82) comprenant une proportion majoritaire d'Hétéro-SI.

5 Un appât plus enrichi en Homo-SI, c'est-à-dire un appât comprenant les stéréo-isomères de configuration de la bromadiolone Homo-SI et Hétéro-SI dans une proportion de 95/5, voire 98/2 est donc de nature à limiter les résidus de bromadiolone dans le foie de rongeurs et leur toxicité secondaire vis-à-vis de prédateurs des rongeurs ou de charognards de cadavres de rongeurs.

10 Appât comprenant 15 ppm de bromadiolone pour ingestion en plusieurs prises ("multi-feeding") par des rongeurs

On prépare des appâts sous forme d'une pâte à base de farine et de matière grasse végétale et contenant 15 mg de bromadiolone par kilogramme d'appât (15 ppm de bromadiolone). On réalise de tels appâts avec
15 des compositions de bromadiolone comprenant :

- 96 % d'Homo-SI et 4 % d'Hétéro-SI - (96/4), ou ;
- 2 % d'Homo-SI et 98 % d'Hétéro-SI - (2/98).

Des rongeurs (10 rats Sprague Dawley (SD), dont 5 mâles et 5 femelles) âgés de 8 semaines et de 200 g environ sont placés dans des cages
20 individuelles. Pendant 4 jours (J1, J2, J3 et J4), chaque rat est approvisionné avec une quantité d'appât suffisante pour satisfaire son appétit. À l'issue de ces 4 jours, une alimentation exempte d'appât est donnée. On mesure par pesée la consommation quotidienne de chaque appât. À la mort de l'animal, le foie de
25 l'animal mort est prélevé, congelé et conservé jusqu'à l'analyse de la teneur hépatique en isomères de la bromadiolone.

1. Appât Homo-SI/Hétéro-SI (96/4) à 15 ppm de bromadiolone selon l'invention

La quantité moyenne d'appât quotidiennement consommé par chacun des 10 rats SD est de 13,2 g ($\pm 3,3$ g). Tous les rats meurent entre J4 et
30 J7. La quantité moyenne de bromadiolone ingérée par les rats SD est de 0,79 mg ($\pm 0,19$ mg), soit 0,76 mg ($\pm 0,19$ mg) d'Homo-SI et 0,03 mg ($\pm 0,008$ mg)

d'Hétéro-SI. La teneur hépatique résiduelle moyenne de la bromadiolone totale exprimée en μg de bromadiolone par gramme de foie de rat à la mort du rat est de 10,61 $\mu\text{g/g}$. Les teneurs hépatiques résiduelles moyennes de chacun des isomères Homo-SI et Hétéro-SI à la mort des rats sont respectivement de 9,61 $\mu\text{g/g}$ et
5 0,99 $\mu\text{g/g}$.

2. Appât Homo-SI/Hétéro-SI (2/98) à 15 ppm de bromadiolone

À titre comparatif, la quantité moyenne d'appât quotidiennement consommé par chacun des 10 rats SD est de 13,8 g ($\pm 2,4\text{g}$). Les
10 rats meurent en général entre J4 et J8, un rat mourant à J10. La quantité moyenne de bromadiolone ingérée par les rats SD est de 0,832 mg ($\pm 0,145$ mg), soit 0,016 mg ($\pm 0,003$ mg) d'Homo-SI et 0,816 mg ($\pm 0,143$ mg) d'Hétéro-SI. La teneur hépatique résiduelle moyenne de la bromadiolone totale exprimée en μg de bromadiolone par gramme de foie de rat à la mort du rat est de 18,53 $\mu\text{g/g}$. Les
15 teneurs hépatiques résiduelles moyennes des stéréo-isomères de configuration Homo-SI et Hétéro-SI à la mort du rat sont respectivement de 0,24 $\mu\text{g/g}$ et 18,29 $\mu\text{g/g}$.

Un appât comprenant une proportion majoritaire d'homostéréo-isomère Homo-SI de la bromadiolone permet donc de limiter la quantité
20 de bromadiolone résiduelle dans les cadavres des rongeurs ayant consommé cet appât, tout en conservant une efficacité rodenticide soutenue par rapport à un appât comprenant une proportion majoritaire d'hétéro-stéréo-isomère Hétéro-SI de la bromadiolone.

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

REVENDICATIONS

1/ - Composition comprenant de la bromadiolone majoritairement sous forme d'homo-stéréo-isomère de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one, les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle étant de même configuration absolue.

2/ - Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone présente en RMN du proton dans CDCl_3 deux multiplets distincts centrés l'un à un déplacement chimique de l'ordre de 2,35 ppm et l'autre à un déplacement chimique de l'ordre 3,05 ppm.

3/ - Composition selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que la proportion massique de bromadiolone est comprise entre 1 ppm et 10^6 ppm.

4/ - Appât rodenticide caractérisé en ce qu'il comprend une composition selon l'une des revendications 1 à 3, et un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles et choisi pour permettre une consommation de la composition par des rongeurs cibles nuisibles.

5/ - Appât selon la revendication 4, caractérisé en ce que l'excipient comestible comprend au moins un aliment choisi dans le groupe formé des graines de céréale, des moutures de graines de céréale, des farines de graines de céréale, des flocons de graines de céréale, du son de céréales et des graines non céréalières.

6/ - Appât selon l'une des revendications 4 ou 5, caractérisé en ce que la bromadiolone est présente dans l'appât avec une proportion massique inférieure à 200 ppm.

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

○ de la bromadiolone majoritairement sous forme d'homo-stéréo-isomère, de formule 3-[3-(4'-bromo-[1,1'-biphényl]-4-yl)-3-hydroxy-1-phénylpropyl]-4-hydroxy-2H-1-benzopyran-2-one, les carbones 1 et 3 du groupement 3-hydroxy-1-phénylpropyle étant de même configuration absolue, et

- un excipient comestible pour des rongeurs cibles nuisibles.

8/ - Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'on choisit l'appât de façon que la bromadiolone soit présente dans l'appât avec une proportion massique inférieure à 200 ppm.

5 9/ - Procédé selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce qu'on choisit ladite proportion massique de bromadiolone dans l'appât, en combinaison avec la quantité d'appât disséminé de façon que des rongeurs cibles nuisibles consomment une quantité d'appât au cours d'une période unique de 24 heures consécutives suffisante pour être létale pour lesdits
10 rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât.

10/ - Procédé selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce qu'on choisit ladite proportion massique de bromadiolone dans l'appât en combinaison avec la quantité d'appât disséminé de façon que des rongeurs cibles nuisible consomment une quantité de bromadiolone qui est ;

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

– suffisante pour être létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant dudit appât pendant plusieurs périodes consécutives de 24 heures.

11/ - Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce
20 qu'on choisit la quantité d'appât disséminé et la proportion massique de bromadiolone dans l'appât pour permettre une ingestion quotidienne de bromadiolone par un rongeur cible nuisible comprise entre 0,20 et 10 mg par kilogramme de rongeur cible nuisible.

12/ - Procédé selon l'une des revendications 10 ou 11,
25 caractérisé en ce qu'on adapte la quantité d'appât disséminé, la proportion massique de bromadiolone dans l'appât et la proportion d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone pour que la consommation de l'appât soit létale pour des rongeurs cibles nuisibles consommant quotidiennement de l'appât pendant au moins 2 périodes de 24 heures, lesdites périodes étant successives.

13/ - Procédé selon l'une des revendications 10 à 12,
30 caractérisé en ce qu'on adapte la quantité d'appât disséminé, la proportion

massique de bromadiolone dans l'appât et la proportion d'homo-stéréo-isomère de la bromadiolone pour pouvoir atteindre dans le foie des rongeurs cibles nuisibles, au lendemain du troisième jour d'une période de trois jours consécutifs, ladite période comprenant au moins une ingestion d'appât par jour, 5 une quantité de bromadiolone inférieure ou égale à 30 µg de bromadiolone par gramme de foie de rongeur cible nuisible.

1 / 3

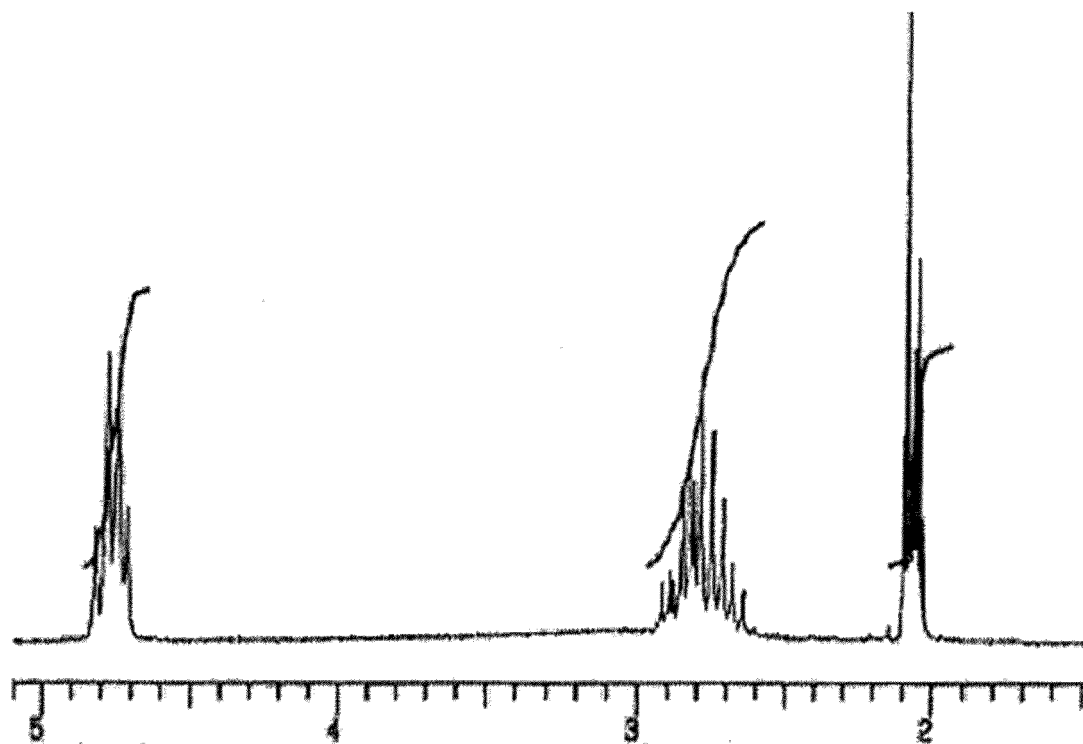


Fig 1

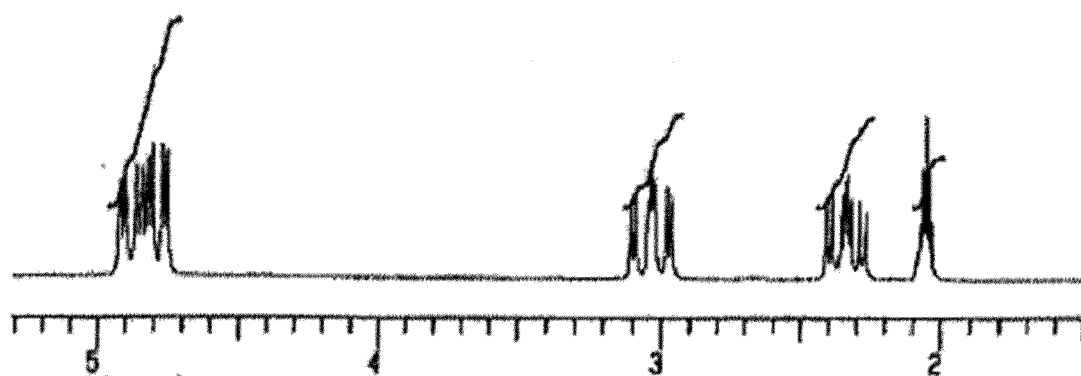


Fig 2

2 / 3

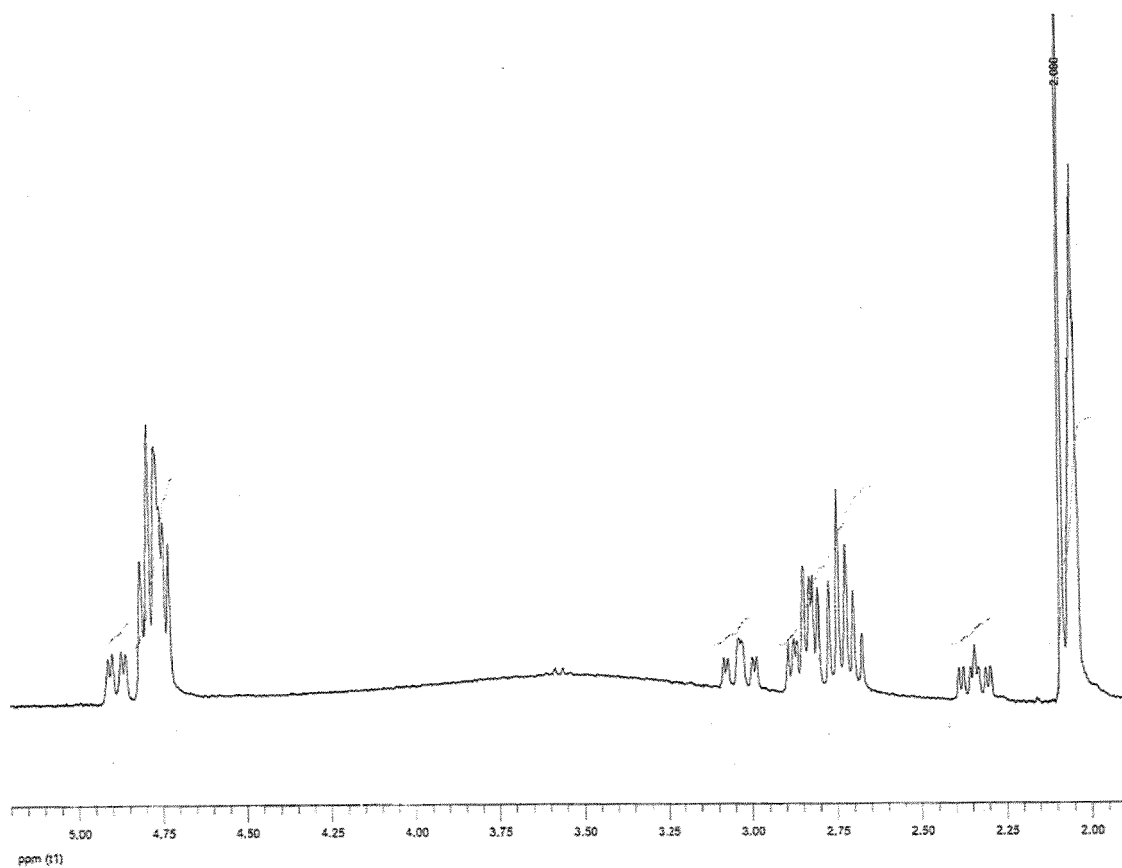


Fig 3

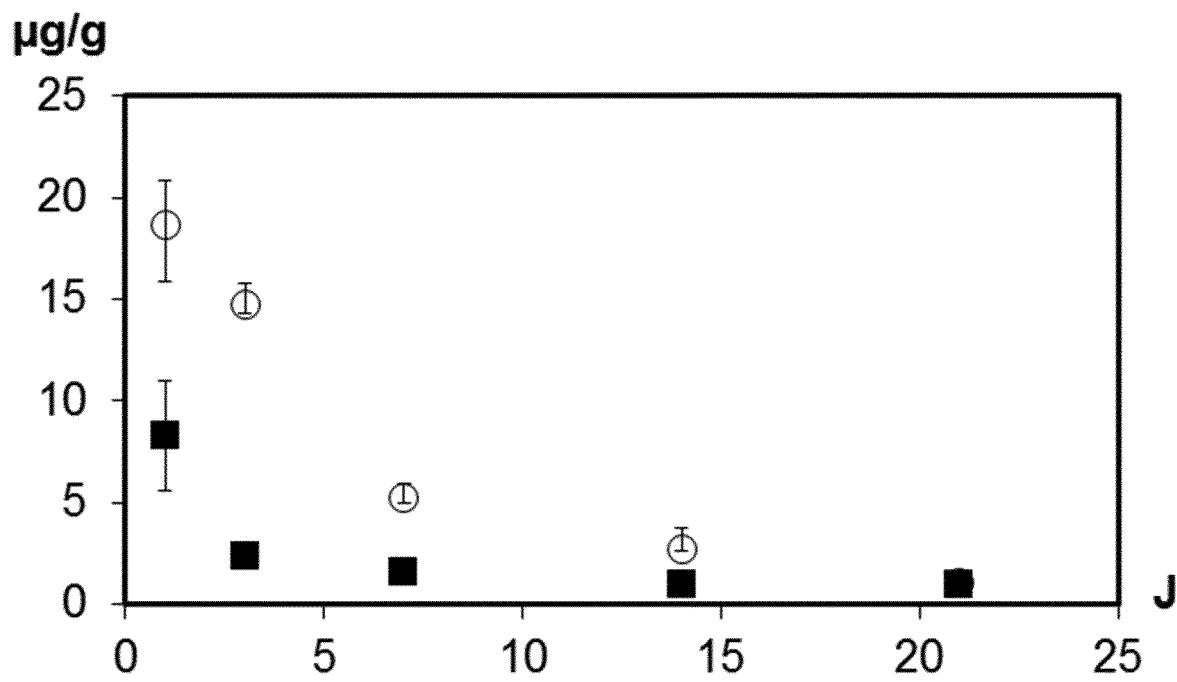


Fig 4

3 / 3

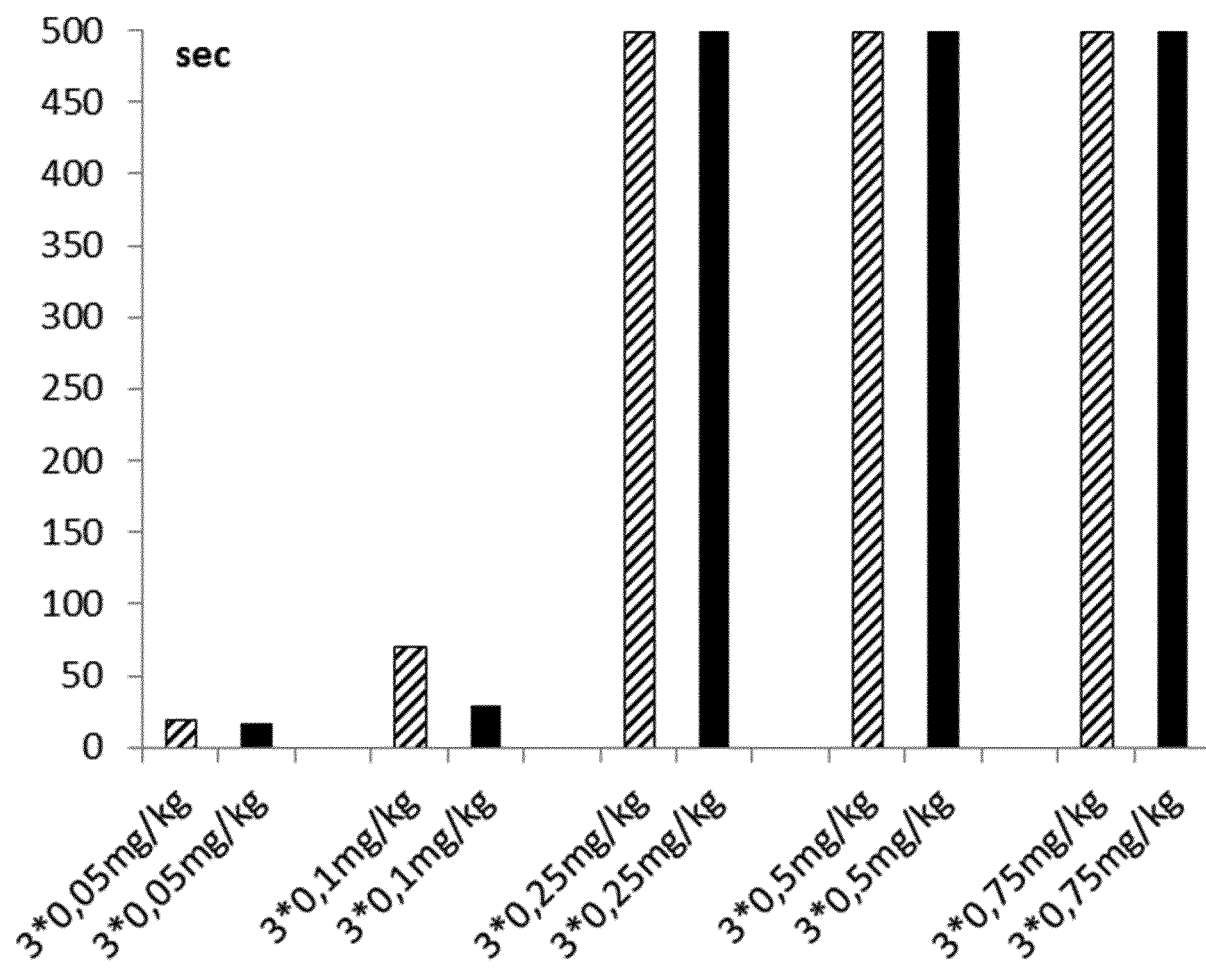


Fig 5



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 810573
FR 1554961

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y,D	EP 0 147 052 A2 (ICI PLC [GB]) 3 juillet 1985 (1985-07-03) * page 2, ligne 22 - ligne 33; revendications; exemples *	1-13	A01N43/16 A01P11/00
Y	EP 2 090 164 A1 (ZAPI IND CHIMICHE S P A [IT]) 19 août 2009 (2009-08-19) * alinéas [0019], [0020], [0084] *	1-13	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
			A01N
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
13 août 2015		Bertrand, Franck	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un		à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date	
autre document de la même catégorie		de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
A : arrière-plan technologique		D : cité dans la demande	
O : divulgation non-écrite		L : cité pour d'autres raisons	
P : document intercalaire		
		& : membre de la même famille, document correspondant	

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1554961 FA 810573**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **13-08-2015**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0147052	A2	03-07-1985	AU 578051 B2	13-10-1988
			AU 3605584 A	20-06-1985
			BE 901269 A1	13-06-1985
			BR 8406355 A	08-10-1985
			CA 1253797 A1	09-05-1989
			CS 249532 B2	12-03-1987
			DE 3485917 D1	15-10-1992
			DE 3485917 T2	14-01-1993
			DK 601384 A	15-06-1985
			EP 0147052 A2	03-07-1985
			ES 8507319 A1	16-12-1985
			GB 2152375 A	07-08-1985
			GR 81141 B	18-12-1984
			HK 98390 A	30-11-1990
			HU 196108 B	28-10-1988
			IE 58628 B1	20-10-1993
			IL 73781 A	31-10-1989
			JP H0542402 B2	28-06-1993
			JP S60197604 A	07-10-1985
			LT 869 A	27-03-1995
			NZ 210336 A	29-05-1987
			OA 7893 A	20-11-1986
			PH 21381 A	15-10-1987
			PT 79665 A	01-01-1985
			SU 1748627 A3	15-07-1992
			US 4783481 A	08-11-1988
			ZA 8409291 A	31-07-1985
ZW 18984 A1	09-07-1986			

EP 2090164	A1	19-08-2009	AT 536099 T	15-12-2011
			EP 2090164 A1	19-08-2009
			ES 2377705 T3	30-03-2012
			PL 2090164 T3	31-07-2012
			PT 2090164 E	20-02-2012
			SI 2090164 T1	30-04-2012
