



CONFEDERAZIONE SVIZZERA
UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

⑤① Int. Cl.³: A 01 N 49/00

Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein
Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein



⑫ FASCICOLO DEL BREVETTO A5

⑪

633 412

⑳ Numero della domanda: 4750/75

㉔ Data di deposito: 12.04.1975

③① Priorità: 12.04.1974 US 460633

㉔ Brevetto rilasciato il: 15.12.1982

④⑤ Fascicolo del
brevetto pubblicato il: 15.12.1982

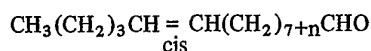
⑦③ Titolare/Titolari:
Research Corporation, New York/NY (US)

⑦② Inventore/Inventori:
Wendell L. Roelofs, Geneva/NY (US)
Ring T. Carde, Geneva/NY (US)
Thomas C. Baker, Geneva/NY (US)
Ada S. Hill, Warramanga/Canberra (AU)

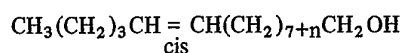
⑦④ Mandatario:
Patentanwälte Racheli & Fiammenghi, Lugano

⑤④ Procedimento per la preparazione di un composto da cui ricavare agenti sintetici di richiamo sessuale per l'attrazione di insetti nocivi e loro impiego.

⑤⑦ Si prevede un procedimento per la preparazione di un composto avente la formula:



in cui n = 0 oppure 2
facendo reagire il corrispondente alcool avente la formula:



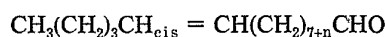
con triossido di cromo in presenza di piridina.

Il cis-11-esadecenale così prodotto può essere collocato in località infestate dai maschi della specie *Heliothis zea* per attrarli in modo che possano essere intrappolati e distrutti.

Analogamente il cis-11-esadecenale così prodotto, unitamente a cis-9-tetradecenale, pure prodotto nello stesso modo, può essere impiegato per intrappolare e distruggere maschi della specie *Heliothis virescens*.

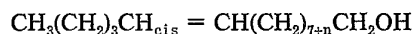
RIVENDICAZIONI

1. Procedimento per la preparazione di un composto avente la formula:



in cui $n = 0$ oppure 2

caratterizzato da ciò che il corrispondente alcool avente la formula:



viene fatto reagire con triossido di cromo in presenza di piridina.

2. Procedimento secondo la rivendicazione 1, caratterizzato da ciò che si impiega un eccesso di triossido di cromo rispetto all'alcool.

3. Procedimento secondo la rivendicazione 1, caratterizzato da ciò che si impiegano da 4 a 8 moli di triossido di cromo per mole di alcool.

4. Procedimento secondo la rivendicazione 1, caratterizzato da ciò che si impiega un rapporto molare di 2 moli di piridina per mole di triossido di cromo.

5. Procedimento secondo le rivendicazioni 1, 2, 3, 4, caratterizzato da ciò che la reazione viene effettuata in presenza di cloruro di metilene.

6. Agente sintetico di richiamo sessuale per l'attrazione di insetti nocivi, caratterizzato da ciò che esso comprende almeno cis-11-esadecenalene preparato secondo una delle rivendicazioni da 1 a 5 come componente attivo.

7. Agente secondo la rivendicazione 6, comprendente ulteriormente cis-9-tetradecenalene preparato secondo le rivendicazioni da 1 a 5.

8. Agente secondo la rivendicazione 7, caratterizzato da ciò che esso comprende da 200 a 2 parti di cis-11-esadecenalene per 1 parte di cis-9-tetradecenalene.

9. Agente secondo la rivendicazione 7, caratterizzato da ciò che esso comprende 3 parti di cis-11-esadecenalene per 1 parte di cis-9-tetradecenalene.

10. Impiego dell'agente secondo la rivendicazione 6, caratterizzato da ciò che detto agente viene collocato nelle località infestate dai maschi degli insetti nocivi, allo scopo di catturarli e distruggerli.

11. Impiego dell'agente secondo la rivendicazione 7, caratterizzato da ciò che si caricano trappole per insetti con 1 - 10 000 μg per trappola con detto agente e si colloca questa trappola in una località infestata dai maschi della specie *Heliothis virescens*.

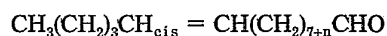
12. Impiego dell'agente secondo la rivendicazione 7, caratterizzato da ciò che si sparge su una località prestabilita, infestata dai maschi della specie *Heliothis virescens* 0,1-1000 mg/m^2 di detto agente contenuto in microcapsule a rilascio lento.

13. Impiego dell'agente secondo la rivendicazione 6, caratterizzato da ciò che per intrappolare maschi della specie *Heliothis-zea* si caricano trappole per insetti con 1-10 000 μg per trappola con detto agente e si collocano queste trappole in una località infestata da questa specie.

14. Impiego dell'agente secondo la rivendicazione 6, caratterizzato da ciò che per disorientare maschi della specie *Heliothis-zea* si sparge su una località prestabilita, infestata con questa specie, 0,1-1000 mg/m^2 di detto agente in microcapsule a rilascio lento.

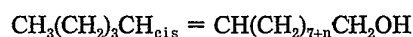
sintetici di richiamo sessuale per l'attrazione di insetti nocivi, in particolare per maschi della specie *Heliothis virescens* ed *Heliothis-zea*. Ne risulta implicitamente la possibilità di proteggere le piante di tabacco infestate da detti insetti nocivi.

5 Il procedimento in oggetto si riferisce alla preparazione di un composto avente la formula:



10 in cui $n = 0$ oppure 2

ed è caratterizzato da ciò che il corrispondente alcool avente la formula:



15 viene fatto reagire con triossido di cromo in presenza di piridina.

Il procedimento in oggetto permette di preparare in particolare quali agenti sintetici per l'attrazione di insetti nocivi, 20 il cis-9-tetradecenalene e il cis-11-esadecenalene che sono particolarmente adatti come agenti di richiamo sessuale o esche sessuali per maschi della specie *Heliothis virescens* (Tobacco Budworm Moth-Tortrice dei germogli del tabacco).

Vengono qui rivelati i particolari del procedimento di preparazione di questi composti e le modalità di utilizzazione come agenti di attrazione o di richiamo.

Di recente i problemi ecologici, sollevati dall'uso ampiamente diffuso di certi insetticidi, in particolare di composti aromatici alogenati come il DDT, hanno promosso la ricerca 30 di procedimenti più specifici per distruggere insetti dannosi, che, se non eliminano del tutto l'uso di questi pericolosi insetticidi come pesticidi, almeno ne limitano considerevolmente la zona in cui essi sono diffusi.

Di grande interesse, negli anni recenti, è stato trovato 35 l'impiego di agenti di attrazione o di richiamo sessuale o «feromoni» per attrarre il maschio o la femmina di una particolare specie o di numerose specie in un luogo particolare e piccolo, dove essi possono venir distrutti, interrompendosi in tal modo il ciclo di riproduzione e riducendosi il numero di questi parassiti nella stagione successiva. Una delle 40 tecniche impiegate per questo scopo consiste nell'isolare o il maschio o la femmina feromone ed inserirli in una trappola per insetti, che viene poi collocata nella zona che si desidera proteggere da una particolare specie di tarli o di altri insetti dannosi. Il vapore proveniente dalla trappola attrae gli insetti nella trappola, dove essi vengono trattenuti o uccisi, e in tal modo allontanati dalla popolazione generale. Due problemi sono associati con questo tentativo. Il primo problema consiste nella disponibilità. Occorre un enorme 50 numero di insetti, allevati in laboratorio, per produrre l'agente di richiamo che compare in natura. Questa, evidentemente, non è una via affrontabile dal punto di vista commerciale e perciò è necessario determinare la natura degli agenti di richiamo o di attrazione e preparare questi composti per via sintetica.

È stato trovato che un'associazione di cis-9-tetradecenalene e di cis-11-esadecenalene fornisce una composizione che esplica proprietà di attrazione o di richiamo per il maschio, in particolare per maschi della specie *Heliothis virescens* 60 (lepidotteri: Noctuidi) (Tortrice dei germogli del tabacco). È stato pure trovato che il cis-11-esadecenalene di per sé esplica proprietà simili verso la *Heliothis zea*.

La *Heliothis virescens* è uno dei parassiti di maggior danno economico negli Stati Uniti. Perciò, la scoperta di un 65 composto di richiamo per il maschio di questo insetto è di grande utilità nella elaborazione di procedimenti desiderabili dal punto di vista ecologico per ridurre la popolazione dell'insetto qui considerato senza necessità di spruzzatura

La presente invenzione ha per oggetto un procedimento per la preparazione di un composto da cui ricavare agenti

su vasta scala, come attualmente si richiede. Le composizioni di attrazione o richiamo secondo la presente invenzione possono venir utilizzate principalmente per due vie. La prima consiste nell'inserire la sostanza, in quantità efficace dal punto di vista del richiamo, in trappole per insetti, che vengono sospese in punti infestati con gli insetti. Oppure le composizioni possono venir incapsulate in microcapsule insolubili in acqua, praticamente permeabili a vapori, e distribuite nella zona infestata. Questa distribuzione provoca un disorientamento sessuale nei maschi e in tal modo riduce notevolmente il processo di accoppiamento senza necessità di impiego di trappole più costose. Le microcapsule possono venir distribuite sul terreno o mescolate con adesivi praticamente insolubili in acqua e spruzzate sulle piante nelle zone infette. È stato trovato che, in molti casi, basta semplicemente spruzzare queste composizioni su zone barriera, anziché spruzzarle sull'intera zona da proteggere.

Passando a considerare forme di esecuzione preferite, si descrive qui un procedimento generale per la sintesi del cis-9-tetradecenale. Il procedimento è del pari applicabile alla sintesi del cis-11-esadecenale.

Nel procedimento secondo l'invenzione, nella sua prima forma, si prepara una soluzione di triossido di cromo e piridina in cloruro di metilene. È desiderabile impiegare un rapporto molare di circa 2:1 tra piridina e triossido di cromo ed un notevole eccesso di triossido di cromo rispetto all'alcool da ossidare. Convien usare un rapporto molare tra circa 4 a circa 8, opportunamente di circa 6, moli di triossido di cromo per mole di alcole. Nella modificazione preferita del procedimento il cis-9-tetradecenale viene ripreso in una piccola quantità di cloruro di metilene e aggiunto alla miscela di triossido di cromo in piridina/cloruro di metilene. La reazione è piuttosto rapida e dovrebbe considerarsi completa in circa 15 minuti, a temperatura ambiente. Il prodotto viene isolato per decantazione dal solvente di un precipitato catramoso, seguita da allontanamento del solvente, a pressione ridotta, ed estrazione del residuo con etere di petrolio. Questo estratto viene poi lavato con acido minerale acquoso diluito, opportunamente con acido cloridrico, salamoia e una base blanda, convenientemente soluzione in acqua di bicarbonato sodico, e viene essiccato ed evaporato fino a dare un residuo, che viene poi ulteriormente purificato. Una conveniente purificazione si effettua mediante cromatografia, di preferenza su Florisil, per separare l'aldeide che si desidera ottenere dall'alcole che non ha reagito.

Come qui precedentemente rilevato, gli alcoli di partenza possono essere sintetizzati con procedimenti noti o acquistati da fonti commerciali. Gli alcoli così prodotti non sono sempre del tutto puri da isomeri. Si può ottenere l'isomero puro mediante cromatografia preparativa su strato sottile, dei corrispondenti acetati. Questi acetati vengono separati dagli alcoli corrispondenti coi procedimenti ben noti nel campo specifico; per esempio, mediante reazione dell'alcole con anidride acetica in piridina.

Gli acetati vengono poi cromatografati, opportunamente con cromatografia su strato sottile, di preferenza secondo la cromatografia preparativa in strato sottile su gelo di silice impregnato con nitrato d'argento. Gli acetati cis, isolati, vengono poi saponificati in modo convenzionale e convertiti nelle aldeidi che si desidera ottenere, come sopra esposto.

L'efficacia degli agenti prodotti secondo la presente invenzione, per quanto riguarda la loro attività di richiamo su maschi delle specie *H. virescens* e *H. zea*, venne esaminata sia con saggi biologici di laboratorio che con prove di campo. In un saggio biologico, un numero scelto di insetti maschi delle specie in esame, per esempio tra sei e dodici individui, di solito press'a poco dieci, vennero introdotti in un contenitore cilindrico trasparente, praticamente a tenuta

d'aria, in cui era previsto un punto di introduzione del flusso e un punto di scarico. Una quantità prestabilita della composizione dell'agente di richiamo in esame viene collocata sul percorso del flusso d'aria che entra nel recipiente. Si effettua ciò convenientemente disponendo la quantità prestabilita di agente di richiamo su un pezzo di carta da filtro e collocando quest'ultima sul percorso di flusso d'aria.

L'attività degli insetti contenuti nel recipiente viene misurata prima dell'iniezione dei vapori. Si fa passare quindi aria sopra la sorgente di vapori nel recipiente per circa 1 minuto e si nota il numero degli insetti che volano durante questo periodo.

Se T è uguale al numero totale di insetti presenti nel recipiente,

F^1 è uguale al numero degli insetti che volano prima dell'iniezione dei vapori,

F^2 è uguale al numero d'insetti che volano durante il periodo di iniezione,

il fattore di attività può venir espresso così:

$$100 \times \frac{F^2 - F^1}{T - F^1}$$

Un risultato tipico per l'*H. virescens* e *H. zea* è illustrato nella tabella I che segue:

TABELLA I

Saggio biologico per maschi di *H. virescens* e *H. zea*

Trattamento	<i>H. virescens</i> *	<i>H. zea</i> *
(attività spontanea)	3,2 ± 1,1	3,9 ± 1,6
100 ng c11-16: Ald Δ	19,3 ± 3,0	66,5 ± 7,5
30 ng c 9-14: Ald ◇	7,5 ± 2,9	6,3 ± 4,3
100 ng c11-16: Ald *		
30 ng c 9-14: Ald	90,8 ± 4,9	32,2 ± 6,5

(*) risposta media % ± errore standard

Δ cis-11-esadecenale ◇ cis-9-tetradecenale

In una prova su campo per l'*H. virescens*, effettuata nella Carolina del Nord, (che è riassunta nella tabella 2 che segue), è stato trovato che l'attività di richiamo risultava rappresentata da una combinazione di cis-11-esadecenale e cis-9-tetradecenale, in rapporti da circa 200:1 a circa 2:2. Va tenuto presente che i dati riportati rappresentano quantità di carica in quanto l'aldeide C14 evapora più rapidamente dell'aldeide C16 e questi dati, perciò, non rappresenterebbero il rapporto effettivo tra i componenti in una trappola di prova ad una particolare concentrazione.

TABELLA II

Prove su campo con composti sintetici per verificare la capacità di richiamo per l'*H. virescens*

Trattamenti		Numero di maschi intrappolati		
C11-16: Ald Δ	c9-14: Ald \Diamond	Prova A	Prova B	Totale
1000 μg	0 μg	0	0	0
»	2,5	0	0	0
»	5	10	0	10
»	7,5	6	0	6
»	15	1	2	3
»	30	3	4	7
»	40	16	10	26
»	50	0	1	1
»	75	2	4	6
»	100	11	6	17
»	150	5	0	5
»	200	17	8	25
»	300	7	4	11
»	500	0	2	2
500	500	0	0	0
250	500	0	0	0
100	500	0	0	0
50	500	0	0	0
0	500	0	0	0
senza esca		0	0	0
				119

Nelle prove su campo si caricarono trappole per insetti Pherotrap® (Zoecon Corp., Palo Alto, Ca.) col materiale in esame e si sospesero in campi dove prevaleva l'insetto da sterminare. L'agente di richiamo o di attrazione venne collocato in queste trappole su setti di gomma (tamponi di gomma di 5 x 9 mm, tipo manicotto, Arthur H. Thomas Co.).

La carica presente nelle trappole può aggirarsi tra 1 e 10 000 μg , convenientemente tra 500 e 1500 μg per trappola della composizione di richiamo totale. La carica totale dipende dal modo di caricare la trappola.

La sostanza che costituisce l'agente di richiamo può essere usata di per sé. Per ottenere una distribuzione più accurata dell'agente di richiamo esso può venir assorbito in un conveniente diluente volatile. Si può impiegare qualunque solvente organico volatile inerte. Si possono impiegare alcanoli inferiori, come eteri di metanolo od etanolo, per esempio etere dietilico, idrocarburi alogenati, come cloruro di metilene e chetoni alchilici come acetone o simili.

Questi solventi evaporeranno molto rapidamente lasciando nella trappola l'agente di richiamo, che può volatilizzare poi lentamente. Perciò il rapporto tra agente di richiamo e solvente non ha importanza.

La velocità di volatilizzazione può venir ridotta sciogliendo l'agente di richiamo in un liquido viscoso, a reazione inerte, praticamente inodore. La natura di questo liquido viscoso, tuttavia, non è critica; è stato trovato conveniente, come protettivo o conservativo dell'agente di richiamo, l'olio d'oliva, in quanto contiene triottanoato di glicerina, olio minerale e Nujol®. L'uso di questi agenti protettori consente di elevare il dosaggio a circa 10 000 μg per trappola. Ciò consente di mantenere attive le trappole per periodi di tempo prolungati senza dar luogo agli effetti di repulsione notati per concentrazioni elevate di agenti di richiamo sessuale.

Si può notare, perciò, che la preparazione di composizioni contenenti l'agente di richiamo, un protettivo ed un diluente è quanto mai desiderabile. La concentrazione dei componenti non è critica, in quanto fattore determinante è la quantità distribuita per trappola. Così, se si deve distribuire un campione di 1 ml, comprendente 10 mg per trappola, una composizione conveniente dovrebbe essere la seguente:

cis-9-tetradecenale	2,5 g
cis-11-esadecenale	7,5 g
olio d'oliva	100 ml
etanolo	900 ml

È stato pure trovato che si può esercitare un controllo sulla riproduzione senza l'uso di trappole. Il principio di questo procedimento dipende dalla scoperta che, se si tratta una zona con una notevole dose dei vapori dell'agente di richiamo per il maschio, le risposte di accoppiamento dei maschi vengono ad essere completamente confuse ed essi non si accoppieranno anche se ci sono in vicinanza femmine. È stato, perciò, trovato vantaggioso distribuire le composizioni di agente di richiamo nella forma di microcapsule insolubili in acqua, che possono venir preparate con procedimenti ben noti nel campo specifico. Queste microcapsule possono venir disperse o spruzzate sulle foglie delle zone immediatamente adiacenti alla zona da proteggere, in associazione con un materiale adesivo praticamente insolubile in acqua, che non sia pericoloso per la vegetazione circostante. Il vantaggio di spruzzare il materiale e di farlo aderire alla vegetazione adiacente consiste nel fatto di consentire un miglior flusso d'aria sul materiale di quanto non si avrebbe nel caso in cui si impiegasse la semplice dispersione.

Per quanto riguarda la descrizione della incapsulazione, qui contenuta, l'espressione «fase interna», verrà impiegata per i materiali incapsulati, mentre il termine «fase esterna» viene usato per il materiale delle pareti della cella, rispettivamente, per il materiale che costituisce la parete della capsula del materiale incapsulante. Un procedimento di incapsulazione raccomandato può trovarsi nel brevetto U.S.A. n. 3 265 629. Altri procedimenti di incapsulazione, sia chimici sia meccanici, che si possono usare per incapsulare vari materiali secondo la presente invenzione, possono trovarsi in «Microincapsulazione» (Microencapsulation) di Anderson e coll. (Harvard M.B.A. Candidates report), pubblicato da Management Reports, Boston, Mass. (1963), le cui descrizioni sono incorporate qui come riferimento.

In modo simile si può usare un'ampia varietà di materiali per la fase esterna (parete della cella) per incapsulare i componenti su citati ed altri. Materiali incapsulati convenienti, esemplificativi, che si possono usare secondo la presente invenzione, comprendono, senza essere limitanti, i seguenti: cloruro di polivinilidene, polietilene, etilcellulosa, nitrocellulosa, polistirene, shellac, alcole polivinilico, urea-

-formaldeide ed altri condensati aminoplastici, fenolformaldeide ed altri condensati fenolici, ecc. La dose attiva può variare secondo le modalità di somministrazione come pure secondo le condizioni climatiche, ma si aggirerà intorno a 1-1000 mg/m².

Esempio I

Preparazione del cis-9-tetradecenale

Si aggiunge triossido di cromo (0,56 g, 5,6 mM) ad una soluzione, mantenuta in agitazione, di piridina (0,90 g, 11,4 mM) in cloruro di metilene (14 ml). Il matraccio viene tappato con un tubo riempito con un Drierite. La soluzione rosso profondo viene agitata per circa 15 minuti, a temperatura ambiente; dopo di che si aggiunge rapidamente una soluzione di cis-9-tetradecen-1-olo (0,9 mM) in una piccola quantità di cloruro di metilene (approssimativamente 0,2 ml) e si agita la miscela per altri quindici minuti. Il prodotto viene isolato per decantazione dal precipitato catramoso, concentrato nel vuoto, e si estrae il residuo con etere di petrolio ridistillato (Skelly B). Questo estratto viene lavato successivamente con acido cloridrico acquoso diluito (circa 1%), salamoia, soluzione diluita in acqua di bicarbonato sodico (approssimativamente 5%) e salamoia (fino a neutralità), successivamente viene filtrato attraverso solfato di magnesio anidro ed evaporato nel vuoto; si ottengono 0,17 g. L'analisi gascromatografica dimostrò che il prodotto conteneva cis-9-tetradecen-1-olo, in un rapporto approssimativo di 1:9 rispetto all'aldeide; così il prodotto venne cromatografato su Florisil® (2,4 cm d. e. × 30 cm; riempimento fino a 25 cm) usando benzene ridistillato (frazioni di 15 ml). Si riuniscono le frazioni 4-7. La resa finale di cis-9-tetradecenale, esente da alcole, è di 60 mg. Operando secondo il procedimento precedente, ma partendo da cis-11-esadecenale, anziché da cis-9-tetradecenale, si ottiene cis-5-esadece-

nale grezzo (0,19 g) ed un cis-11-esadecenale esente da alcole (0,10 g).

Esempio II

5

Isomeri puri di cis-aldeidi

Si prepararono cis-9-tetradecenale e cis-11-esadecenale in isomeri puri, convertendo cis-9-tetradecenolo e cis-11-esadecenolo nei corrispondenti acetati, acetato di cis-9-tetradecenile e acetato di cis-11-esadecenile, con procedimenti convenzionali, e sottoponendo questi acetati a cromatografia preparativa su strato sottile con gelo di silice G impregnato con Ag NO₃ (rispettivamente su 35 g 15 g), usando benzene come eluente e 2',7'-diclorofluoresceina come spruzzo visualizzante. I cis-acetati isolati vengono saponificati col procedimento convenzionale (rifluendo 5% Na OH in 85-90% etanolo) e ossidati come qui precedentemente descritto.

Preparazione dei materiali di partenza

20 L'acetato di cis-9-tetradecenolo viene preparato secondo il procedimento esposto in J. Med. Chem. 11 371 (1968), la cui descrizione viene qui incorporata per riferimento. La sintesi implica la reazione tra 8-cloro-1-ottanolo e diidropirano, con ottenimento del derivato THP dell'8-cloro-1-ottanolo, che viene fatto reagire con acetilide di litio per ottenere dec-9-in-1-olo-THP. Il trattamento con la litioammide e con bromuro di butile dà tetradec-9-in-1-olo-THP, che viene ridotto convenientemente con idrogeno su carbonato di calcio, in presenza di chinolina, con ottenimento del cis-9-30 -tetradecen-1-olo-THP, che viene convertito direttamente nell'acetato, il quale, a sua volta, viene saponificato con alcali, come qui precedentemente esposto, così da dare l'alcole appropriato.

Operando secondo il procedimento su descritto, ma partendo da 10-cloro-1-decanolo anziché da 8-cloro-1-ottanolo, si ottiene il cis-11-esadecenolo.