



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1105308-9 A2



(22) Data de Depósito: 03/11/2011

(43) Data da Publicação: 07/07/2015
(RPI 2322)

(54) Título: COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA
SINERGÍSTICA

(51) Int.Cl.: A01N43/90; A01N43/78; A01P1/00

(30) Prioridade Unionista: 09/11/2010 US 61/411517

(73) Titular(es): Dow Global Technologies LLC

(72) Inventor(es): Emerentiana Sianawati

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA
SINERGÍSTICA. Uma composição antimicrobiana
sinérgica contendo flumeisulam e tiabendazol.

“COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA SINERGÍSTICA”

Esta invenção refere-se às combinações de biocidas, as combinações tendo atividade maior do que a que seria observada para os compostos antimicrobianos individuais.

5 Uso de combinações de pelo menos dois compostos antimicrobianos pode ampliar os mercados potenciais, reduzir as concentrações de uso e os custos, e reduzir resíduo. Em alguns casos, compostos antimicrobianos comerciais não podem proporcionar controle efetivo de microorganismos, mesmo em concentrações de uso elevadas, devido à atividade fraca contra certos tipos de microorganismos, e.g., aqueles resistentes a alguns compostos antimicrobianos. Combinações de diferentes compostos antimicrobianos são algumas vezes usadas para proporcionar controle total de microorganismos em um ambiente de uso final específico. Por exemplo, Patente U.S. de Nº 5.591.760 revela uma combinação de 3-iodo-2-propinil-butil-carbamato (IPBC) e 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona (DCOIT), mas esta referência não sugere qualquer uma das combinações aqui reivindicadas. Além disso, há uma necessidade de combinações adicionais de compostos antimicrobianos tendo atividade aperfeiçoada contra várias cepas de microorganismos para proporcionar controle efetivo dos microorganismos, especialmente em revestimentos de filme seco. O problema tratado por esta invenção é obter tais combinações adicionais de compostos antimicrobianos.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

25 A presente invenção é direcionada a uma composição antimicrobiana sinérgica contendo: (a) flumetsulam; e (b) tiabendazol (TBZ); sendo que uma proporção em peso de flumetsulam para tiabendazol é de 8:1 a 1:15.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Como aqui usados, os seguintes termos têm as definições designadas, a não ser que o contexto indique claramente ao contrário.

Flumetsulam é N-(2,6-difluoro-fenil)-5-metil[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina-2-sulfonamida. Diclosulam é N-(2,6-dicloro-fenil)-5-etóxi-7-fluoro[1,2,4]triazolo[1,5-c]pirimidina-2-sulfonamida. O termo "composto antimicrobiano" refere-se a um composto capaz de inibir o crescimento de ou controlar o crescimento de microorganismos; compostos antimicrobianos incluem bactericidas, agentes bacteriostáticos, fungicidas, agentes fungistáticos, algicidas e agentes algostáticos, dependendo do nível de dose aplicado, das condições do sistema e do nível de controle microbiano desejado. O termo "microorganismo" inclui, por exemplo, fungos (tais como levedura e bolor), bactérias e algas.

As seguintes abreviações são usadas em todo o relatório descritivo: ppm = partes por milhão em peso (peso/peso), mL = mililitro, ATCC = American Type Culture Collection, e MIC, = concentração inibitória mínima. Salvo indicação em contrário, temperaturas são em graus centígrados (°C), e referências às percentagens são em peso (% em peso). Percentagens de compostos antimicrobianos na composição desta invenção são baseadas no peso total de ingredientes ativos na composição, i.e., os próprios compostos antimicrobianos, sem incluir quaisquer quantidades de solventes, veículos, dispersantes, estabilizadores ou outros materiais que possam estar presentes.

Preferivelmente, uma proporção em peso de flumetsulam para ZPT é de 8:1 a 1:12, preferivelmente de 8:1 a 1:10, preferivelmente de 7:1 a 1:12; preferivelmente de 7:1 a 1:10; preferivelmente de 6:1 a 1:12; preferivelmente de 6:1 a 1:10; preferivelmente de 6:1 a 1:8.

As composições antimicrobianas descritas acima podem conter outros biocidas. Tipicamente, As composições antimicrobianas são usadas para inibir algas e/ou fungos.

Preferivelmente, as composições antimicrobianas desta invenção são incorporadas em composições líquidas, especialmente dispersões de polímeros em meios aquosos. As combinações de biocidas são

particularmente úteis em conservação de materiais de construção, e.g., adesivos, agente de calafetação, composto de junta, vedante, chapa artificial de fibras de madeira para revestimento de parede, etc.), tintas, revestimentos, polímeros, plásticos, borrachas natural e sintética, produtos de papel, lâminas de fibra de vidro, agente isolante, sistemas de acabamento isolante de exterior, feltros para revestimento de tetos e de pisos, argamassas de construção, produtos de madeira e compósitos de madeira-plástico. Preferivelmente, as composições antimicrobianas são tintas de látex ou outras composições líquidas de revestimento contendo as combinações de biocidas aqui reveladas.

As combinações de biocidas são úteis para conservação do revestimento de filme seco resultante após a aplicação de uma tinta ou de outra composição líquida de revestimento. Preferivelmente, a composição antimicrobiana é uma tinta de látex acrílico contendo uma ou mais das combinações de biocidas aqui reveladas, ou o revestimento de filme seco resultante da aplicação da tinta em uma superfície.

Tipicamente, a quantidade das combinações de biocidas da presente invenção para controlar o crescimento de microorganismos é de 100 ppm a 10.000 ppm de ingrediente ativo. Preferivelmente, os ingredientes ativos da composição estão presentes em uma quantidade de pelo menos 300 ppm, preferivelmente pelo menos 500 ppm, preferivelmente pelo menos 600 ppm, preferivelmente pelo menos 700 ppm. Preferivelmente, os ingredientes ativos da composição estão presentes em uma quantidade de não maior do que 8.000 ppm, preferivelmente não maior do que 6.000 ppm, preferivelmente não maior do que 5.000 ppm, preferivelmente não maior do que 4.000 ppm, preferivelmente não maior do que 3.000 ppm, preferivelmente não maior do que 2.500 ppm, preferivelmente não maior do que 2.000 ppm, preferivelmente não maior do que 1.800 ppm, preferivelmente não maior do que 1.600 ppm. Concentrações mencionadas acima são de uma composição líquida contendo as combinações de biocidas; níveis de biocidas no revestimento de filme seco

serão mais altos.

A presente invenção também inclui um método para prevenir crescimento microbiano em materiais de construção, especialmente em revestimentos de filme seco, pela incorporação de qualquer uma das combinações de biocidas reivindicadas nos materiais.

EXEMPLOS

Preparação de amostra: Um biocida único ou uma mistura de biocidas foi pós-adicionado(a) na tinta de látex acrílico livre de biocidas para dar uma concentração máxima total de ingrediente ativo testada. Esta tinta foi então diluída com uma tinta de látex acrílico livre de biocida para dar as concentrações selecionadas para o teste. Dependendo do tipo de misturas de biocidas testadas, as concentrações totais de biocidas variam de 200 a 5.000 ppm. Após a adição ou diluição dos biocidas, cada amostra foi manualmente misturada por pelo menos um minuto até que uniformidade fosse alcançada.

Cada uma das amostras de tinta bem como uma amostra de controle (não contendo biocida) foram usadas para preparar filmes sobre painéis de plástico preto de copolímero de acetato/cloreto de vinila (LENETA, Mahwah, NJ) usando um aplicador de barra Bird de 3 mil (0,0762 mm). Os painéis foram totalmente secos por pelo menos 2 dias evitando-se exposição direta à luz solar. Discos quadrados (0,5 polegada; 1,27 cm) foram cortados de cada painel e foram usados como o substrato para os testes de eficácia algal e fúngica. Este tamanho de amostra permitiu uma borda de ágar quando o disco de amostra foi posicionado dentro da cavidade da placa de teste. Cada amostra foi testada duas vezes.

Condições de teste: Os meios apropriados (BOLD'S 3N para Clorófitos, BG-11 para Cianobactérias, e PDA para fungos) foram usados para manter o crescimento microbiano. As placas de teste foram mantidas na temperatura ambiente (25°C - 26°C), em um ambiente de claro-escuro cíclico, por quatro semanas para algas. Placas para testes de desafio fúngico foram

mantidas a 30°C por quatro semanas. No final do período de incubação as amostras foram classificadas para área percentual coberta por crescimento bacteriano visível.

Inóculo algal

Organismos	Abreviação		Tipo	Meio para teste
<i>Gloeocapsa sp.</i>	Gs	ATCC 29159	Cianobactérias, Coloniais, Unicelulares	BG-11
<i>Oscillatoria sp.</i>	Os	ATCC 29135	Cianobactérias Filamentosas	BG-11
<i>Nostoc commune</i>	Nc	CCAP 1453/29	Clorófito Cenobial, Unicelular	Bold
<i>Trentepohlia aurea</i> + <i>Trentepohlia odorata</i>	Ta+To	UTEX LB 429 + CCAP 483/4	Clorófito Filamentoso	Bold
<i>Clorella sp.</i> UTEX + <i>Clorella kessleri</i>	Cs+Ck	ATCC 30582 + ATCC 11468	Clorófito Unicelular	Bold
<i>Calothrix parientina</i>	Cp	UTEX LB 1952	Cianobactérias Filamentosas	Bold

5 Inóculo fúngico

Organismos	Abreviação	ATCC#	Meio para crescimento e teste
<i>Aspergillus niger</i>	An	9642	PDA
<i>Penicillium funiculosum</i>	Pf	H797	PDA
<i>Cladosporium herbarum</i>	Ch	11281	PDA
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Ap	9348	PDA
<i>Trichoderma viride</i>	Tv	32630	PDA
<i>Alternaria alternata</i>	Aa	20084	PDA

Teste de Eficácia Algal - ASTM 5589 Modificado

ASTM 5589 é um método de teste acelerado padrão para determinar a resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) ao dano algal. Para acomodar seleção de alta produtividade, este método foi reduzido em escala de placas de Petri para placas de 6 cavidades. Um corpo de prova único foi posicionado com um fórceps estéril no centro do pedaço de ágar (sobre o topo) com a superfície pintada faceando para cima. Inóculos algais foram preparados por misturação de concentrações iguais (1×10^6 cfu/ml) e volumes iguais (dependendo do número de amostras a serem inoculadas) de organismos em crescimento semelhantes.

Em estudo de sinergia de Flumetsulam + vários IT, três combinações de algas misturadas foram preparadas como o inóculo de teste, *Gloeocapsa sp.* e *Oscillatoria sp.* uma mistura de cianobactérias crescidas

sobre meio BG-11; *Clorella sp.*, *Clorella kessleri*, e *Nostoc commune* são clorófitos unicelulares que foram misturados e crescidos sobre meio Bold; *Trentepohlia aurea*, *Trentepohlia odorata*, e *Calothrix parientina* são algas filamentosas que foram misturadas e crescidas sobre meio Bold.

5 Em estudos de sinergia de Diclosulam + vários IT, apenas duas combinações de algas misturadas foram preparadas; *Gloeocapsa sp.* e *Oscillatoria sp.* crescidas sobre meio BG-11 e *Clorella sp.*, *Clorella kessleri*, *Nostoc commune*, *Trentepohlia aurea*, *Trentepohlia odorata*, e *Calothrix parientina* crescidas sobre meio BG-11.

10 Cada cavidade que contém um corpo de prova testado foi inoculada com 400 µL de mistura de organismos (1×10^6 cfu/ml) certificando-se de que a superfície inteira (filme de tinta bem como o ágar circundando-o) fosse uniformemente coberta. As placas foram incubadas na temperatura ambiente (25°C - 26°C) com fases de escuridão e de exposição à
15 luz cíclicas (OIT-Lite model # OTL4012P, 40Watt, 26KLumen), por um período de quatro semanas. A área total coberta foi avaliada no final de cada semana de acordo com a área percentual coberta em incrementos de 5%.

Teste de Eficácia Fúngica - ASTM 5590 Modificado

ASTM 5590 é um método de teste acelerado padrão para
20 determinar a resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) ao dano fúngico. Para acomodar seleção de alta produtividade, este método foi reduzido em escala de placas de Petri para placas de 6 cavidades. Para preparar o teste, um pedaço de ágar foi posicionado no fundo de cada cavidade da placa estéril de 6 cavidades. Um corpo de prova único foi
25 posicionado com um fórceps estéril no centro do pedaço de ágar (sobre o topo) com a superfície pintada faceando para cima. Inóculos fúngicos foram preparados por misturação de concentrações iguais (1×10^6 cfu/ml) e volumes iguais (dependendo do número de amostras a serem testadas) de organismos em crescimento semelhantes. Para estudo de sinergia de Flumetsulam + vários

IT, três combinações de fungos misturados foram preparadas como o inóculo de teste. *Cladosporium herbarum* foi misturado com *Aureobasidium pullulans*; *Aspergillus niger* foi misturado com *Penicillium funiculosum* e *Alternaria alternata* foi misturado com *Trichoderma viride*. Para estudo de sinergia de Diclosulam + vários IT, todos os fungos acima foram misturados como uma combinação única. Cada cavidade foi inoculada com 400 µL de mistura de organismos (1×10^6 cfu/ml) certificando-se de que a superfície inteira (filme de tinta bem como o ágar circundando-o) fosse uniformemente coberta. As placas foram inoculadas a 30°C na presença de umidade, por um período de quatro semanas. A área percentual total coberta foi avaliada e registrada no final de cada semana após a 2ª semana e registrada em incrementos de 5%.

Cálculo do Índice de Sinergia

Índice de Sinergia (SI)

O SI é calculado baseado no método de F.C. Kull *et al.* (*Applied Microbiology*, Vol. 9 (1961)). Neste estudo, SI foi calculado baseado na seguinte fórmula com a concentração inibitória mínima escolhida baseando-se na inibição percentual exibida pelo biocida individual contra cada um dos microorganismos testados.

$$SI = Qa/QA + Qb/QB$$

Qa = A concentração de Biocida A na mistura

QA = A concentração de Biocida A como o único biocida

Qb = A concentração de Biocida B na mistura

QB = A concentração de Biocida B como o único biocida

Valor de SI de < 1 na fórmula indica que há uma sinergia dos biocidas misturados.

Comentário: se qualquer um dos ingredientes ativos com concentração máxima testado não exibiu alguma inibição, esta concentração máxima é usada para calcular o SI estimado e um sinal de menor do que (<) é

incluído para considerar que concentração mais alta do ingrediente ativo é necessária para alcançar a inibição selecionada.

NE = nenhum ponto final na concentração testada que atenderá aos critérios de inibição percentual estabelecidos em cada cálculo de SI.

5

Estudo de Sinergia de Flumetsulam: TBZ

	AaTv	AnPf	ApCh	Cp+To+Ta	Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1 Flumet: 1 TBZ						
Conc. Total, ppm	1000	1000	1000	4000	4000	2000
Inibição %	100	100	100	40	100	90
SI	<0,94	1,1	0,9	1,7	1,6	0,7
1 Flumet: 3 TBZ						
Conc. Total, ppm	1000	1000	1000	4000	3000	2000
Inibição %	100,0	100	100	90	100	90
SI	<1,27	1,3	1,3	1,4	1,2	0,6
1 Flumet: 5 TBZ						
Conc. Total, ppm	900	900	900	3600	3600	900
Inibição %	100	100	100	50	50	100
SI	<1,24	1,3	1,2	1,1	1,4	0,3
1 Flumet: 10 TBZ						
Conc. Total, ppm	962,5	962,5	962,5	3850	3850	2888
Inibição %	100	90	100	40	40	90
SI	< 1,43	1,5	1,4	1,1	1,5	0,8
6Flumet:1TBZ						
Conc. Total, ppm	875	875	1750	3500	3500	875
Inibição %	100	100	100	40	40	90
SI	<0,41	0,7	0,8	1,9	1,3	0,3
4Flumet:1TBZ						
Conc. Total, ppm	937,5	937,5	937,5	2813	3750	1875
Inibição %	100	90	100	80	70	90
SI	<0,51	0,7	0,5	1,4	1,4	0,7
2 Flumet: 1 TBZ						
Conc. Total, ppm	937,5	37,5	3750	2813	3750	2813
Inibição %	100	95	100	90	70	100
SI	<0,68	0,9	2,7	1,3	1,5	1,0
Flumetsulam						
Conc. Total, ppm	3500	1750	3500	1750	2625	2625
Inibição %	0	90	50	75	100	90
TBZ						
Conc. Total, ppm	625	625	625	3750	2,500	3750
Inibição %	100	100	100	90	100	85

Estudo de Sinergia de Diclosulam e TBZ

Proporções	Aa+Tv+An+Pf+Ap+Ch	Cp+To+Ta+Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1 Diclosulam: 1 TBZ			
Conc. Total, ppm	1500	3000	3000
Inibição %	60	100	100
SI	1,4	2,1	2,9
3Diclosulam: 1TBZ			
Conc. Total, ppm	2250	3000	750
Inibição %	60	50	90 ^v
SI	1,4	1,9	1,8
5Diclosulam: 1 TBZ			
Conc. Total, ppm	300	3000	3000
Inibição %	50	80	100
SI	1,5	1,8	4,1
10 Diclosulam: 1 TBZ			
Conc. Total, ppm	2750	2750	687,5
Inibição %	50	80	95
SI	1,1	1,6	1,9
1 Diclosulam: 10 TBZ			
Conc. Total, ppm	3000	3300	825
Inibição %	50	80	90
SI	4,9	2,6	1,3
1 Diclosulam: 6TBZ			
Conc. Total, ppm	2800	2800	2800
Inibição %	50	95	100
SI	4,0	2,1	1,7
1 Diclosulam: 4TBZ			
Conc. Total, ppm	3250	3250	812,5
Inibição %	50	90	100
SI	4,3	2,5	1,4
1 Diclosulam: 2 TBZ			
Conc. Total, ppm	3000	3000	750
Inibição %	60	75	100
SI	3,5	2,2	1,5
Diclosulam			
Conc. Total, ppm	3500	1750	875
Inibição %	0	100	90
TBZ			
Conc. Total, ppm	625	1250	1250
Inibição %	60	100	85

REIVINDICAÇÕES

1. Composição antimicrobiana sinérgica, caracterizada pelo fato de compreender: (a) flumetsulam; e (b) tiabendazol; em que uma proporção em peso de flumetsulam para tiabendazol é de 8:1 a 1:15.

5 2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a proporção em peso de flumetsulam para tiabendazol é de 6:1 a 1:10.

3. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que é um material de construção.

10 4. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o material de construção é uma tinta, revestimento, polímero, plástico, borracha natural ou sintética, produto de papel, lâmina de fibra de vidro, agente isolante, sistema de acabamento isolante de exterior, feltro de teto ou piso, argamassa de construção, produto de madeira ou composto de
15 madeira-plástico.

RESUMO**“COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA SINERGÍSTICA”**

Uma composição antimicrobiana sinérgica contendo flumetsulam e tiabendazol.