



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

(21) **PI0711226-2 A2**

(22) Data de Depósito: 25/05/2007
(43) Data da Publicação: 23/08/2011
(RPI 2120)



* B R P I 0 7 1 1 2 2 6 A 2 *

(51) *Int.Cl.:*
A01N 65/00 2009.01

(54) Título: **COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, CONCENTRADO DE COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, COMPOSIÇÃO COMPREENDO UMA EMULSÃO DE POLÍMERO E COMPOSIÇÃO DE REVESTIMENTO**

(30) Prioridade Unionista: 24/05/2007 US 11/805,779,
26/05/2006 US 60/808,697

(73) Titular(es): Arch Chemicals Inc.

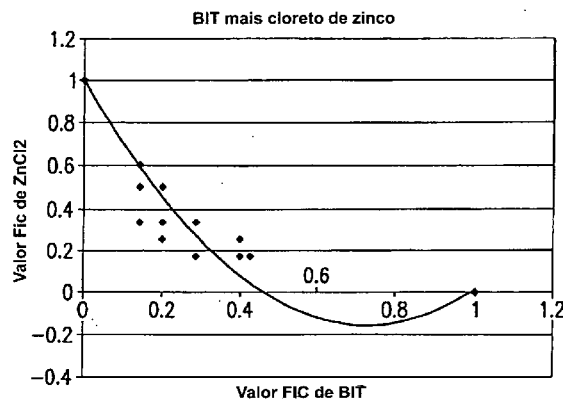
(72) Inventor(es): FITZGERALD CLARKE, Malcolm Greenhalgh,
NICHOLAS EDWARD THOMPSON

(74) Procurador(es): Antonio Mauricio Pedras Arnaud

(86) Pedido Internacional: PCT US2007012518 de 25/05/2007

(87) Publicação Internacional: WO WO2007/139950 de
06/12/2007

(57) Resumo: COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, CONCENTRADO DE COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO UMA EMULSÃO DE POLÍMERO E COMPOSIÇÃO DE REVESTIMENTO. A presente invenção refere-se a uma composição antimicrobiana compreendendo um isotiazolinona, tal como 1,2-benzisotiazolin-3-ona, e um composto de zinco selecionado de sais de zinco, ácidos de zinco, hidróxidos de zinco ou combinações dos mesmos. Os sais de zinco úteis incluem, por exemplo, ácidos, sulfatos, cloretos, e combinações dos mesmos. Em uso, o zinco a partir do composto de zinco aumenta a atividade antimicrobiana para a composição contendo isotiazolinona. Esta melhora permite conseguir a atividade antimicrobiana desejada em uma taxa de uso menor do que a que é conseguida usando o isotiazolinona na ausência do composto de zinco. A composição antimicrobiana pode também conter co-biocidas, tais como piritonas, incluindo piritona de zinco ou piritona de cobre.





"COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, CONCENTRADO DE COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO UMA EMULSÃO DE POLÍMERO E COMPOSIÇÃO DE REVESTIMENTO".

Antecedentes da invenção

5 Isotiazolinonas, tais como 1,2-benzisotiazolin-3-ona (também referido como "BIT"), são conhecidos por serem antimicrobianos eficazes. BIT, como descrito, por exemplo, nas formulações apresentadas na patente Européia EP 0 703 726, é amplamente utilizado como um bactericida
10 em uma variedade de aplicações. Ilustrativamente, o pedido de patente Britânico GB 2,230,190 A descreve uma composição conservante contendo BIT e um aduto de cloreto de zinco ("ZC"), junto com 2,2'-ditiopiridina-1,1'-dióxido ("DTP"). O exemplo 3 da publicação GB'190 A
15 compara as composições contendo BIT mais ZC mais DTP contra um exemplo controle contendo apenas BIT mais ZC. Os resultados apresentados no exemplo 3 e na tabela 3 da publicação indicam que a inclusão de DTP permite uma diminuição no uso de BIT na composição. Entretanto, a
20 quantidade de BIT (2,5 ppm) empregada no exemplo controle tem demonstrado pelos presentes inventores serem insuficientes quanto à eficácia antimicrobiana em aplicações mundiais reais.

Embora o BIT tenha provado sua utilidade em uma ampla
25 variedade de aplicações, a quantidade útil de BIT que pode ser adicionada a um produto comercial é limitada pela eficácia e considerações econômicas e por uma extensão menor em relação ao meio e sua relação toxicológica. Consequentemente, composições
30 antimicrobianas alternativas são necessárias para aplicações em estados úmidos e que tenham um custo-eficácia melhor e minimizem as probabilidades dos efeitos colaterais ao meio e os efeitos toxicológicos. A presente invenção provê uma das referidas alternativas.

35 Sumário da invenção

Em um aspecto, a presente invenção refere-se a uma composição antimicrobiana compreendendo (a) pelo menos um

isotizaolin-3-ona; e (b) pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco e combinações dos mesmos. Os sais de zinco ilustrativos são cloreto de zinco, sulfeto de zinco, carbonato de zinco, carbonato de zinco básico, e combinações dos mesmos. O composto de zinco provê uma fonte de íons de metal na composição antimicrobiana. Na composição, o isotiazolin-3-ona está presente em uma quantidade de 1 a 500 ppm (preferivelmente de 5 a 500 ppm), o composto de zinco está presente em uma quantidade de 5 a 200,000 (preferivelmente de 5 a 500 ppm), e a proporção em peso do isotiazolin-3-ona para o composto de zinco é de 1:2000 para 100:1 (preferivelmente de 1:100 a 100:1). Opcionalmente, a composição antimicrobiana compreende, adicionalmente, um sal de piritiona ou um ácido de piritiona. Os sais de piritiona úteis incluem piritiona de cobre, piritiona de zinco, piritiona de sódio, bissulfeto de piritiona, e combinações dos mesmos.

Em um outro aspecto, a presente invenção refere-se a uma composição antimicrobiana concentrada que, em diluição com água, provê uma eficácia antimicrobiana em um fluido funcional. O concentrado compreende (a) pelo menos um isotiazolin-3-ona e (b) pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos. No concentrado, o componente (a) está presente em uma quantidade de 1 a 95% em peso/peso, e o componente (b) está presente em uma quantidade de 1 para 50% p/p baseado no peso total do concentrado, com a provisão de que a porcentagem em peso de (a) mais (b) não excede 100% em peso.

Ainda em um outro aspecto, a presente invenção refere-se ao fluido funcional que compreende um meio básico mais (a) pelo menos um isotiazolin-3-ona e (b) pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco e

combinações dos mesmos. Os sais de zinco ilustrativos são cloreto de zinco, sulfeto de zinco, carbonato de zinco, carbonato de zinco básico, e combinações dos mesmos. Na composição, o isotiazolin-3-ona está presente em uma
5 quantidade de 1 a 500 ppm (preferivelmente de 5 a 500 ppm), o composto metálico está presente em uma quantidade de 5 a 200,000 ppm (preferivelmente de 5 a 500 ppm), e a proporção em peso do isotiazolin-3-ona para o íon de zinco é de 1:2000 para 100:1 (preferivelmente de 100:1 a
10 1:100). Opcionalmente, a composição antimicrobiana compreende, adicionalmente, um sal de piritiona ou um ácido de piritiona. Os sais de piritiona úteis incluem piritiona de cobre, piritiona de zinco, piritiona de sódio, e bissulfeto de piritiona. O meio básico para o
15 fluido funcional pode ser, por exemplo, um polímero útil em emulsões de polímero. Exemplos de sistemas de polímero são arranjos regulares, tais como (met)acrilato acrílico e substituído, estireno/butadieno, vinil acetato de etileno, polivinil acetato, estireno/butadieno/N-metilol
20 acrilamida, nitrila e copolímeros dos acima mencionados. Os fluidos funcionais típicos incluem composições de revestimento, tais como tinturas, adesivos, selantes, de calafetar, mosto mineral e de pigmentação, corantes de impressão, formulações pesticidas para agricultura,
25 produtos de revestimento de arranjos domésticos, produtos de cuidado pessoal, fluidos de trabalho em metais, e outros sistemas com base aquosa.

Estes e outros aspectos se tornarão aparentes na leitura da descrição detalhada a seguir no presente relatório.

30 Breve descrição dos desenhos

A figura 1 ilustra uma representação gráfica de um Isoblograma mostrando a atividade antimicrobiana das misturas de 1,2-benzisotiazolin-3-ona ("BIT") e cloreto de zinco contra *Ps. aeruginosa* com base nos valores de
35 concentração inibitória fracionária;

A figura 2 ilustra uma representação gráfica de um Isoblograma mostrando a atividade antimicrobiana das

misturas de Kathon® (uma mistura de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona ("CIMIT")) e 2-metil-4-isotiazolin-3-ona ("MIT") e cloreto de zinco contra *Ps. aeruginosa* com base nos valores de concentração inibitória fracionária;

5 A figura 3 ilustra uma representação gráfica de um Isobolograma mostrando a atividade antimicrobiana das misturas de MIT e do cloreto de zinco contra *Ps. aeruginosa* com base nos valores de concentração inibitória fracionária;

10 A figura 4 ilustra uma representação gráfica de um Isobolograma mostrando a atividade antimicrobiana das misturas de N-(n-butil)-1,2-benzisotiazolin-3-ona ("BBIT") e cloreto de zinco contra *Ps. aeruginosa* com base nos valores de concentração inibitória fracionária;

15 e

A figura 5 ilustra uma representação gráfica de um Isobolograma mostrando a atividade antimicrobiana das misturas de BIT e cloreto de sódio contra *Ps. aeruginosa* com base nos valores de concentração inibitória fracionária.

20 Descrição detalhada da invenção

Foi surpreendentemente descoberto que de acordo com a presente invenção, uma composição antimicrobiana contendo um isotiazolin-3-ona, mais um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos, exibem uma eficácia antimicrobiana aumentada, quando comparada com composições contendo isotiazolin que não contém o composto metálico. A eficácia aumentada é provida apropriadamente em composições antimicrobianas durante uma ampla variação de pHs de 3 a 12.

30 A composição antimicrobiana da presente invenção é incorporada apropriadamente dentro de um fluido funcional. O fluido funcional compreende, apropriadamente, um meio básico mais (a) pelo menos um isotiazolin-3-ona e (b) pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco de

ácidos orgânicos, sais de zinco de ácido inorgânicos, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos. Os sais de zinco ilustrativos incluem, cloreto de zinco, sulfeto de zinco, carbonato de zinco, carbonato de zinco básico (também conhecido como "carbonato de zinco contendo hidróxi", também conhecido como carbonato hidróxi de zinco", o qual é identificado ainda pela fórmula empírica $Zn_5(OH)_6(CO_3)_2$), e combinações dos mesmos.

10 O isotiazolinona útil na presente invenção é, preferivelmente, um isotiazolin-3-ona que é selecionado de: 1,2-benzisotiazolin-3-ona ("BIT"), N-(n-butil)-1,2-benzisotiazolin-3-ona ("BBIT"), 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona ("DCOIT"), 2-metil-4-isotiazolin-3-ona ("MIT"), misturas de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona ("CIMIT") mais MIT (disponível na Rohm e Hass Company, Filadélfia, PA - sob a denominação comercial Kathon®), ditio-2,2'-bis(benzimetilamida), e combinações dos mesmos. Isotiazolinonas particularmente preferidos são
15 BIT, MIT e BBIT, e combinações dos mesmos.

Na composição, a isotiazolin-3-ona está presente em uma quantidade de 1 a 500 ppm (preferivelmente de 5 a 500 ppm), o composto de zinco está presente em uma quantidade de 5 a 200,000 pm (preferivelmente de 5 a 500 ppm) e a proporção em peso de isotiazolin-3-ona para o composto de zinco é de 1:2000 para 100:1 (preferivelmente de 100:1 para 1:100).

Opcionalmente, a composição antimicrobiana compreende, adicionalmente, um sal de piritiona ou um ácido de piritiona. Os sais de piritiona úteis incluem, piritiona de cobre, piritiona de zinco, piritiona de sódio. Se utilizado, o sal de piritiona ou ácido de piritiona está presente apropriadamente na composição em uma quantidade de cerca de 0,001% p/p a cerca de 1,0% p/p.

35 Em uma configuração, a combinação dos componentes antimicrobianos para a composição antimicrobiana pode ser provida na forma de uma composição antimicrobiana

concentrada que, na diluição com água, provê a eficácia antimicrobiana em um fluido funcional. O concentrado compreende (a) pelo menos um isotiazolin-3-ona e (b) em pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos. No concentrado, o componente (a) está presente em uma quantidade de 1 a 95% peso/peso e, o componente (b) está presente em uma quantidade de 1 a 50% p/p.

As composições antimicrobianas da presente invenção são apropriadamente utilizadas em fluidos funcionais tais como emulsões poliméricas, ou outras composições de revestimento, para transmitir ambos, o estado úmido e o filme seco para conservação. O meio básico pode ser, por exemplo, um polímero útil na emulsão polimérica onde o polímero é selecionado do grupo consistindo de (met)acrilato acrílico e substituído, estireno/butadieno, vinil acetato de etileno, polivinil acetato, estireno/butadieno/N-metil acrilamida, nitrila e copolímeros dos acima mencionados. Os fluidos funcionais típicos incluem composições de revestimento, tais como, tinturas, adesivos, selantes, de calafetar, mosto mineral e de pigmentação, corantes de impressão, formulações pesticidas para agricultura, produtos para revestimento de arranjos domésticos, de cuidados pessoais, fluidos de trabalho com metal e outros sistemas de base aquosa.

A invenção é descrita ainda pelos Exemplos dados abaixo. Todas as porcentagens dadas aqui são porcentagens em peso com base no peso total da composição, a menos que de outro modo indicado.

EXEMPLO 1

Neste exemplo, as amostras de um látex acrílico de base aquosa comercial, denominação comercial REVACRYL 1A, fornecido pela "Harlow Chemical Company", pH 8,1, contendo aditivos antimicrobianos em quantidades como indicadas abaixo, na Tabela 1, foram induzidos com uma suspensão bacteriana consistindo de:

Pseudomonas aeruginosa, NCIMB 8295

Providencia rettgeri, NCIMB 10842

Serratia marcescens, NCIMB 9523

Aeromonas hydrophila, NCIMB 9233

5 *Alcaligenes spp.*, (isolado e conservado em estado úmido)

Burkholderia cepacia, ATCC 25416

Pseudomonas putida, NCIMB 9494

Todas as espécies de teste foram cultivadas em um meio ágar-nutriente e incubadas durante 24 horas a 30°C. Após
10 este período, suspensões individuais de cada um dos organismos de teste foram preparadas em uma concentração de 10^6 colônias formadoras de unidade por ml em solução salina por meio de uma câmara de contagem Thoma, conseguida por mistura de volumes iguais das suspensões
15 individuais. A concentração de bactéria em cada alíquota após cada uma das induções foi de 2×10^5 por ml.

As amostras de tintas contendo os aditivos antimicrobianos foram armazenadas a 40°C durante 7 dias antes de começar o teste. As amostras de tintas foram
20 induzidas com 1% v/v de suspensões bacterianas como descrito acima. Todas as amostras de teste foram incubadas a 30°C pela duração do teste e examinadas quanto a viabilidade da bactéria após 1, 3 e 7 dias após cada indução. As bactérias viáveis foram detectadas por
25 alíquotas marcadas em Agar nutriente seguido por incubação a 30°C por 2 dias.

TABELA 1:

São apresentados os resultados obtidos após a terceira inoculação nos dias 1, 3, e 7.

TABELA 1

Amostra	3 ^a inoculação			
	BIT/ppm	Dia 1	Dia 3	Dia 7
BIT/ZnO	50	C	C	C
	100	1+(92)	1+(27)	-
	150	1+(95)	S(7)	-
	200	S (10)	T(4)	-
	250	1+(89)	1+(22)	-
	300	1+(77)	1+(12)	-
BIT/ZnCl ₂	50	C	C	C
	100	++	1+(30)	-
	150	1+(34)	1+(21)	-
	200	1+(51)	1+(14)	-
	250	++(185)	1+(25)	-
	300	1+(58)	1+(17)	-
PROXEL BD20	50	C	C	C
	100	C	C	C
	150	C	C	C
	200	C	C	C
	250	1+(75)	-	-
	300	1+(54)	-	-
	400	1+(47)	-	-

A Avaliação é classificada como:

(-) nenhum crescimento detectado

(T) 0-5 colônias presentes

5 (S) 5-10 colônias

(1+) 20-100 colônias

(+) crescimento leve - nenhum número especificado de colônias

10 (++) crescimento moderado - colônias visíveis, alguma Coalescências

(+++) crescimento pesado - colônias coalescentes visíveis através do crescimento pesado confluyente.

(C) crescimento pesado confluyente.

15 Os resultados demonstram um efeito potencial de BIT em combinação com um sal contendo zinco quando comparado contra um produto comercial, denominado PROXEL BD20, um produto da Arch Chemicals, Inc., contendo apenas BIT para a conservação de um látex comercial em que apenas 100 ppm

de BIT são requeridos em presença de um sal contendo zinco comparado com 250 ppm de BIT para a amostra contendo apenas BIT.

EXEMPLO 2

5 Investigação da potencialização entre 1,2-benzisotiazolin-3-ona (BIT) e o cloreto de zinco ($ZnCl_2$) contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Bactéria:

Pseudomonas aeruginosa (NCIB 10241) mantida em Agar
10 nutriente, foram utilizadas para estudar a sinergia entre BIT e $ZnCl_2$.

Cálculo das concentrações inibitórias mínimas contra Mono-culturas:

As bactérias foram crescidas em uma fase estacionária
15 (aproximadamente 24 horas) em caldo nutriente (aproximadamente 10^9 organismos por ml). Um inóculo de 0,1% (v/v) foi utilizado para cultivar o meio fresco e 100 μ l do inóculo foi então adicionada a cada poço de uma placa de microtitulação, exceto para o primeiro poço, que
20 continha 200 μ l.

Usando diluições duplas, a concentração dos compostos sob
investigação foi variada em cada um dos poços ao longo do eixo geométrico ordenado. A presença ou a ausência de crescimento foi registrada por inspeção visual após 24
25 horas de incubação a 37°C.

Cálculo da atividade antimicrobiana contra mono-culturas:

As placas de microtitulação foram usadas para este
ensaio. Uma matriz simples foi construída com concentrações variadas de dois compostos de 2 x MIC
30 (concentração inibitória mínima) abaixo da concentração zero em um arranjo 10 x 10.

Como as placas de microtitulação têm apenas 96 poços, as
combinações dos dois compostos que tiveram as concentrações extremas (maior e menor) foram omitidas. As
35 soluções foram feitas em caldo em dois tempos nas concentrações finais após a pré-dissolução do composto em água destilada.

A mistura (100 µl) foi adicionada à placa de modo que o volume total em cada um dos poços foi de 200 µl. O caldo nutriente foi usado para a *Ps. aeruginosa*. As placas foram incubadas durante 16-24 horas a 37°C. A presença ou ausência de crescimento foi determinada por inspeção visual.

Resultados para o Exemplo 2:

TABELA 2

Composto	MIC (ppm) contra <i>Ps. Aeruginosa</i>			
	1	2	3	4
BIT	30	42	42	30
ZnCl ₂	300	450	375	450

BIT é 1,2-benzisotiazolin-3-ona disponível na Arch Limited PROXEL® GXL.

Cálculo da atividade contra mono-culturas:

A concentração inibitória mínima (MIC) é a menor concentração do biocida que demonstrou inibição do crescimento quando usada sozinha. Para o propósito do cálculo da concentração inibitória fracionária (FIC), se um biocida único não controlar o crescimento, o MIC foi tomado quando a maior concentração for utilizada. Uma concentração inibitória fracionária é a concentração do biocida que controlou o crescimento na mistura dividido pelo MIC daquele biocida. Os valores FIC para ambos os compostos na mistura foram calculados e os resultados estão mostrados na Tabela 3. A soma destas duas figuras resultou em uma indicação da ação dos dois biocidas. Um valor menor do que um indica um efeito melhorado, se o total é unitário ou maior a ação é aditivo e se o valor é maior do que dois os biocidas são antagonistas.

Tabela 3: Concentrações inibitórias fracionárias para 1,2-benzisotiazolin-3-ona (BIT) e cloreto de zinco (ZnCl₂) contra *Ps. aeruginosa*.

TABELA 3

Composto	Valores FIC												
	1			2			3			4			
BIT	1	0,20	0,20	0,40	0,14	0,14	0,29	0,29	0,43	0,14	0,20	0,40	0
ZnCl ₂	2	0,25	0,50	0,25	0,33	0,50	0,17	0,33	0,17	0,60	0,33	0,17	1
Total	1	0,45	0,70	0,65	0,47	0,64	0,46	0,62	0,60	0,74	0,53	0,57	1

30

Se for construído um gráfico com os eixos representantes das concentrações inibitórias fracionárias para os dois biocidas em escala linear, quando a combinação for um aditivo ao isobole (ou seja, a linha de ligação dos pontos que representam todas as combinações com o mesmo efeito incluindo as concentrações eficazes iguais dos biocidas usados sozinhos) é correta, combinações melhoradas resultam em isoboles côncavos e combinações antagonistas resultam em isoboles convexos. Como mostrado na figura 1, a combinação BIT e $ZnCl_2$ têm um efeito melhorado contra *Ps. aeruginosa* como confirmado pelo isobole côncavo no gráfico da figura 1.

EXEMPLO 3

Investigação da potencialização entre Kathon® (CIMIT/MIT) e cloreto de zinco ($ZnCl_2$) contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Bactéria:

Pseudomonas aeruginosa (NCIB 10241) mantida em Agar nutriente, foram utilizadas para estudar a sinergia entre Kathon® e $ZnCl_2$.

Cálculo das concentrações inibitórias mínimas contra Mono-culturas:

As bactérias foram crescidas em uma fase estacionária (aproximadamente 24 horas) em caldo nutriente (aproximadamente 10^9 organismos por ml). Um inóculo de 0,1% (v/v) foi utilizado para cultivar o meio fresco e 100 μ l do inóculo foi então adicionado a cada poço de uma placa de microtitulação, exceto para o primeiro poço, que continha 200 μ l.

Usando diluições duplas, a concentração dos compostos sob investigação foi variada em cada um dos poços ao longo do eixo geométrico ordenado. A presença ou a ausência de crescimento foi registrada por inspeção visual após 24 horas de incubação a 37°C.

Cálculo da atividade antimicrobiana contra mono-culturas:

As placas de microtitulação foram usadas para este ensaio. Uma matriz simples foi construída com concentrações variadas de dois compostos de 2 x MIC

(concentração inibitória mínima) abaixo da concentração zero em um arranjo 10 x 10. Como as placas de microtitulação têm apenas 96 poços, as combinações dos dois compostos que tiveram as concentrações extremas (maior e menor) foram omitidas. As soluções foram feitas em caldo em dois períodos de concentrações finais após a pré-dissolução do composto em água destilada.

A mistura (100 µl) foi adicionada à placa de modo que o volume total em cada um dos poços foi de 200 µl. O caldo nutriente foi usado para a *Ps. aeruginosa*. As placas foram incubadas durante 16-24 horas a 37°C. A presença ou ausência de crescimento foi determinada por inspeção visual.

Resultados do Exemplo 3:

15

TABELA 4

Composto	MIC (ppm) contra <i>Ps. Aeruginosa</i>			
	1	2	3	4
Kathon	0,9	0,9	0,9	0,53
ZnCl ₂	294	294	210	600

A mistura CIMIT e MIT está disponível na Rohm e Haas Company, Philadelphia, PA sob a denominação comercial Kathon®.

Cálculo da sinergia contra mono-culturas:

A concentração inibitória mínima (MIC) é a menor concentração do biocida que demonstrou inibição do crescimento quando usada sozinha. Para o propósito do cálculo da concentração inibitória fracionária (FIC), se um biocida único não controlar o crescimento, o MIC foi tomado quando a maior concentração foi utilizada. Uma concentração inibitória fracionária é a concentração do biocida que controlou o crescimento na mistura dividida pelo MIC daquele biocida. Os valores FIC para ambos os compostos na mistura foram calculados e os resultados estão mostrados na Tabela 5. A soma destas duas figuras resultou em uma indicação da ação dos dois biocidas. Um valor menor do que um indica um efeito melhorado, se o total é unitário ou maior a ação é aditiva e se o valor é maior do que dois os biocidas são antagonistas.

Tabela 5: Concentrações inibitórias fracionárias para Kathon (CIMIT/MIT) e cloreto de zinco (ZnCl₂) contra *Ps. aeruginosa*.

TABELA 5

Composto	Valores FIC											
		1		2		3			4			
Kathon	1	0,17	0,17	0,33	0,33	0,17	0,33	0,33	0,14	0,28	0,28	0
ZnCl ₂	0	0,14	0,29	0,14	0,29	0,29	0,14	0,29	0,50	0,38	0,50	1
Total	1	0,31	0,46	0,47	0,62	0,46	0,47	0,62	0,64	0,66	0,78	1

5 Se for construído um gráfico com os eixos representantes das concentrações inibitórias fracionárias para os dois biocidas, em escala linear, quando a combinação for aditiva ao isobole (ou seja, a linha de ligação dos pontos que representam todas as combinações com o mesmo
10 efeito incluindo as concentrações eficazes iguais dos biocidas usados sozinhos) é correta, combinações melhoradas resultam em isoboles côncavos e combinações antagonistas resultam em isoboles convexos. Como mostrado na figura 2, a combinação de Kathon® e ZnCl₂ tem um
15 efeito melhorado contra *Ps. aeruginosa* como confirmado pelo isobole côncavo no gráfico da figura 2.

EXEMPLO 4

Investigação da potencialização entre MIT e cloreto de zinco (ZnCl₂) contra *Pseudomonas aeruginosa*.

20 Bactéria:

Pseudomonas aeruginosa (NCIB 10241) mantida em Agar nutriente, foram utilizadas para estudar a sinergia entre MIT e ZnCl₂.

Cálculo das concentrações inibitórias mínimas contra

25 Mono-culturas:

As bactérias foram crescidas em uma fase estacionária (aproximadamente 24 horas) em caldo nutriente (aproximadamente 10⁹ organismos por ml). Um inóculo de 0,1% (v/v) foi utilizado para cultivar o meio fresco e
30 100 µl do inóculo foi então adicionado a cada poço de uma placa de microtitulação, exceto para o primeiro poço, que continha 200 µl.

Usando diluições duplas, a concentração dos compostos sob

investigação foi variada em cada um dos poços ao longo do eixo geométrico ordenado. A presença ou a ausência de crescimento foi registrada por inspeção visual após 24 horas de incubação a 37°C.

5 Cálculo da atividade antimicrobiana contra mono-culturas:

As placas de microtitulação foram usadas para este ensaio. Uma matriz simples foi construída com concentrações variadas de dois compostos de 2 x MIC (concentração inibitória mínima) abaixo da concentração zero em um arranjo 10 x 10. Como as placas de microtitulação têm apenas 96 poços, as combinações dos dois compostos que tiveram as concentrações extremas (maior e menor) foram omitidas. As soluções foram feitas em caldo em dois períodos de concentrações finais após a pré-dissolução do composto em água destilada.

15 A mistura (100 µl) foi adicionada à placa de modo que o volume total em cada um dos poços foi de 200 µl. O caldo nutriente foi usado para a *Ps. aeruginosa*. As placas foram incubadas durante 16-24 horas a 37°C. A presença ou
20 ausência de crescimento foi determinada por inspeção visual.

Resultados do Exemplo 4:

Tabela 6: atividade antimicrobiana dos compostos sob investigação.

25

TABELA 6

Composto	MIC (ppm) contra <i>Ps. Aeruginosa</i>			
	1	2	3	4
MIT	9	6	10,5	8
ZnCl ₂	210	210	450	450

Cálculo da sinergia contra mono-culturas:

A concentração inibitória mínima (MIC) é a menor concentração do biocida que demonstrou inibição do crescimento quando usada sozinha. Para o propósito do
30 cálculo da concentração inibitória fracionária (FIC), se um biocida único não controlar o crescimento, o MIC foi tomado quando a maior concentração foi utilizada. Uma concentração inibitória fracionária é a concentração do biocida que controlou o crescimento na mistura dividida

pelo MIC daquele biocida. Os valores FIC para ambos os compostos na mistura foram calculados e os resultados estão mostrados na Tabela 7. A soma destas duas figuras resultou em uma indicação da ação dos dois biocidas. Um valor menor do que um indica um efeito melhorado, se o total é unitário ou maior a ação é aditiva e se o valor é maior do que dois os biocidas são antagonistas.

Tabela 7: Concentrações inibitórias fracionárias para MIT e cloreto de zinco (ZnCl₂) contra *Ps. aeruginosa*.

10

TABELA 7

Composto	Valores FIC											
		1				2			3		4	
MIT	1	0,17	0,33	0,33	0,50	0,25	0,50	0,75	0,14	0,29	0,17	0
ZnCl ₂	0	0,57	0,29	0,43	0,14	0,43	0,29	0,14	0,33	0,17	0,50	1
Total	1	0,74	0,62	0,76	0,64	0,68	0,79	0,89	0,48	0,46	0,67	1

15

Se for construído um gráfico com os eixos representantes das concentrações inibitórias fracionárias para os dois biocidas em escala linear, quando a combinação é aditiva ao isobole (ou seja, a linha de ligação dos pontos que representam todas as combinações com o mesmo efeito incluindo as concentrações eficazes iguais dos biocidas usados sozinhos) é correta, combinações melhoradas resultam em isoboles côncavos e combinações antagonistas resultam em isoboles convexas. Como mostrado na figura 3, a combinação de MIT e ZnCl₂ têm um efeito melhorado contra *Ps. aeruginosa* como confirmado pelo isobole côncavo no gráfico da figura 3.

20

EXEMPLO 5

Investigação da potencialização entre BBIT e cloreto de zinco (ZnCl₂) contra *Pseudomonas aeruginosa*.

25

Bactéria:

Pseudomonas aeruginosa (NCIB 10241) mantida em Agar nutriente, foram utilizadas para estudar a sinergia entre BBIT e ZnCl₂.

30

Cálculo das concentrações inibitórias mínimas contra Mono-culturas:

As bactérias foram crescidas em uma fase estacionária (aproximadamente 24 horas) em caldo nutriente

(aproximadamente 10^9 organismos por ml). Um inóculo de 0,1% (v/v) foi utilizado para cultivar o meio fresco e 100 μ l do inóculo foi então adicionado a cada poço de uma placa de microtitulação, exceto para o primeiro poço, que
5 continha 200 μ l.

Usando diluições duplas, a concentração dos compostos sob investigação foi variada em cada um dos poços ao longo do eixo geométrico ordenado. A presença ou a ausência de crescimento foi registrada por inspeção visual após 24
10 horas de incubação a 37°C.

Cálculo da atividade antimicrobiana contra mono-culturas:

As placas de microtitulação foram usadas para este ensaio. Uma matriz simples foi construída com concentrações variadas de dois compostos de 2 x MIC
15 (concentração inibitória mínima) abaixo da concentração zero em um arranjo 10 x 10. Como as placas de microtitulação têm apenas 96 poços, as combinações dos dois compostos que tiveram as concentrações extremas (maior e menor) foram omitidas. As soluções foram feitas
20 em caldo em dois períodos de concentrações finais após a pré-dissolução do composto em água destilada.

A mistura (100 μ l) foi adicionada à placa de modo que o volume total em cada um dos poços foi de 200 μ l. O caldo nutriente foi usado para a *Ps. aeruginosa*. As placas
25 foram incubadas durante 16-24 horas a 37°C. A presença ou ausência de crescimento foi determinada por inspeção visual.

Resultados do Exemple 5

Tabela 8: Atividade antimicrobiana dos compostos sob
30 investigação.

TABELA 8

Composto	MIC (ppm) contra <i>Ps. Aeruginosa</i>			
	1	2	3	4
BBIT	315	360	42	180
ZnCl ₂	525	525	600	600

BBIT é N-(n-butil)-1,2-benzisotiazolin-3-ona.

Cálculo da sinergia contra mono-culturas:

A concentração inibitória mínima (MIC) é a menor

concentração do biocida que demonstrou inibição do crescimento quando usada sozinha. Para o propósito do cálculo da concentração inibitória fracionária (FIC), se um biocida único não controlar o crescimento, o MIC foi tomado quando a maior concentração foi utilizada. Uma concentração inibitória fracionária é a concentração do biocida que controlou o crescimento na mistura dividida pelo MIC daquele biocida. Os valores FIC para ambos os compostos na mistura foram calculados e os resultados estão mostrados na Tabela 9. A soma destas duas figuras resultou em uma indicação da ação dos dois biocidas. Um valor menor do que um indica um efeito melhorado, se o total é unitário ou maior a ação é aditiva e se o valor é maior do que dois os biocidas são antagonistas.

Tabela 9: Concentrações inibitórias fracionárias para BBIT e cloreto de zinco ($ZnCl_2$) contra *Ps. aeruginosa*.

TABELA 9

Composto	Valores FIC						
		1	2	3		4	
BBIT	1	0,29	0,25	0,14	0,71	0,25	0
$ZnCl_2$	0	0,43	0,43	0,50	0,38	0,38	1
Total	1	0,71	0,68	0,64	1,09	0,63	1

Se for construído um gráfico com os eixos representantes das concentrações inibitórias fracionárias para os dois biocidas em escala linear, quando a combinação é aditiva ao isobole (ou seja, a linha de ligação dos pontos que representam todas as combinações com o mesmo efeito incluindo as concentrações eficazes iguais dos biocidas usados sozinhos) é correta, combinações melhoradas resultam em isoboles côncavos e combinações antagonistas resultam em isoboles convexas. Como mostrado na figura 4, a combinação de BBIT e $ZnCl_2$ tem um efeito melhorado contra *Ps. aeruginosa* como confirmado pelo isobole côncavo no gráfico da figura 4.

30

EXEMPLO COMPARATIVO A

Investigação da potencialização entre 1,2-benzotiazolin-3-ona (BIT) e cloreto de sódio ($NaCl_2$) contra *Pseudomonas aeruginosa* quando comparada com a sinergia entre 1,2-

benzisotiazolin-3-ona (BIT) e cloreto de zinco ($ZnCl_2$) contra *Pseudomonas aeruginosa* (Exemplo 2).

Bactéria:

Pseudomonas aeruginosa (NCIB 10241) mantida em Agar
5 nutriente, foram utilizadas para estudar a eficácia da combinação de BIT com cloreto de sódio.

Cálculo das concentrações inibitórias mínimas contra Mono-culturas:

As bactérias foram crescidas em uma fase estacionária
10 (aproximadamente 24 horas) em caldo nutriente (aproximadamente 10^9 organismos por ml). Um inóculo de 0,1% (v/v) foi utilizado para cultivar o meio fresco e 100 μ l do inóculo foi então adicionado a cada poço de uma placa de microtitulação, exceto para o primeiro poço, que
15 continha 200 μ l.

Usando diluições duplas, a concentração dos compostos sob
investigação foi variada em cada um dos poços ao longo do eixo geométrico ordenado. A presença ou a ausência de crescimento foi registrada por inspeção visual após 24
20 horas de incubação a 37°C.

Cálculo da atividade antimicrobiana contra mono-culturas:

As placas de microtitulação foram usadas para este ensaio. Uma matriz simples foi construída com concentrações variadas de dois compostos de 2 x MIC
25 (concentração inibitória mínima) abaixo da concentração zero em um arranjo 10 x 10. Como as placas de microtitulação têm apenas 96 poços, as combinações dos dois compostos que tiveram as concentrações extremas (maior e menor) foram omitidas. As soluções foram feitas
30 em caldo em dois períodos de concentrações finais após a pré-dissolução do composto em água destilada.

A mistura (100 μ l) foi adicionada à placa de modo que o volume total em cada um dos poços foi de 200 μ l. O caldo nutriente foi usado para a *Ps. aeruginosa*. As placas
35 foram incubadas durante 16-24 horas a 37°C. A presença ou ausência de crescimento foi determinada por inspeção visual.

Resultados do Exemplo comparativo A

Tabela 10:

Atividade antimicrobiana dos compostos sob investigação

TABELA 10

Composto	MIC (ppm) contra <i>Ps. aeruginosa</i>
BIT	30
NaCl ₂	Nenhum detectado (maior do que 675)

5 BIT é 1,2-benzisotiazolin-3-ona disponível na Arch Limited como PROXEL^{RTM} GXL.

Cálculo da potencialização contra mono-culturas:

A concentração inibitória mínima (MIC) é a menor
 10 concentração do biocida que demonstrou inibição do
 crescimento quando usada sozinha. Para o propósito do
 cálculo da concentração inibitória fracionária (FIC), se
 um biocida único não controlar o crescimento, o MIC foi
 tomado quando a maior concentração foi utilizada. Uma
 15 concentração inibitória fracionária é a concentração do
 biocida que controlou o crescimento na mistura dividida
 pelo MIC daquele biocida. Os valores FIC para ambos os
 compostos na mistura foram calculados e os resultados
 estão mostrados na Tabela 11. A soma destas duas figuras
 resultou em uma indicação da ação dos dois biocidas. Um
 20 valor menor do que um indica um efeito melhorado, se o
 total é unitário ou maior a ação é aditiva e se o valor é
 maior do que dois os biocidas são antagonistas.

Tabela 11: Concentrações inibitórias fracionárias para
1,2-benzisotiazolin-3-ona (BIT) e cloreto de sódio
 25 (NaCl₂) contra *Ps. aeruginosa*.

Composto	Valores FIC		
BIT	1	1,00	0
NaCl ₂	0	0,33	1
Total	1	1,33	1

Se for construído um gráfico com os eixos representantes
 das concentrações inibitórias fracionárias para os dois
 biocidas em escala linear, quando a combinação é aditiva
 ao isobole (ou seja, a linha de ligação dos pontos que
 30 representam todas as combinações com o mesmo efeito
 incluindo as concentrações eficazes iguais dos biocidas

usados sozinhos) é correta, combinações melhoradas resultam em isoboles côncavos e combinações antagonistas resultam em isoboles convexas. Como mostrado na figura 5, a combinação BIT e NaCl_2 é um aditivo contra *Ps. aeruginosa* como confirmado pelo isobole côncavo no gráfico da figura 5. Adicionalmente, os resultados destes exemplos ilustram ainda que a combinação de um isotiazolin-3-ona tal como BIT e um composto de zinco tal como ZnCl_2 , como mostrado no Exemplo 2, mostrando resultados de potencialização inesperada contra *Pseudomonas aeruginosa*.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição antimicrobiana, caracterizada pelo fato de compreender, pelo menos (a) um isotiazolin-3-ona, e pelo menos (b) um composto de zinco selecionado do grupo
5 consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos, onde o referido isotiazolin-3-ona está presente em uma quantidade de 1 a 500 ppm, o composto de zinco está presente em uma quantidade de 5 a 200,000 ppm, e a proporção em peso do
10 isotiazolin-3-ona para o composto de zinco é de 1:2000 a 100:1.
2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de o componente (a) estar presente em uma quantidade a partir de 1 a 500 ppm, o
15 componente (b) estar presente em uma quantidade de 5 a 200,000 ppm, e a proporção em peso é de 1:100 a 100:1.
3. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de o componente (a) estar presente em uma quantidade de 5 a 500 ppm, e o componente
20 (b) estar presente em uma quantidade de 5 a 500 ppm.
4. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de o referido isotiazolin-3-ona ser selecionado do grupo consistindo de 1,2-benzisotiazolin-3-ona, N-(n-tubil)-1,2-benzisotiazolin-3-
25 ona, 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona, 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, misturas de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona (CIMIT) e 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, e também ditio-2,2'-bis(benzimetilamida), e combinações dos mesmos.
- 30 5. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de o referido sal de zinco ser selecionado do grupo consistindo de cloreto de zinco, sulfeto de zinco, carbonato de zinco, carbonato de zinco básico, e combinações dos mesmos.
- 35 6. Composição, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de o referido composto de zinco ser cloreto de zinco.

7. Composição antimicrobiana, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de compreender ainda um co-biocida selecionado do grupo consistindo de sais de piritiona, ácidos de piritiona, e combinações dos
5 mesmos, e onde o referido co-biocida está presente na referida composição em uma quantidade de cerca de 0,001 a cerca de 1% p/p com base no peso total da referida composição.

8. Concentrado de composição antimicrobiana,
10 caracterizado pelo fato de a diluição com água prover as quantidades dos componentes (a) e (b) como especificado na reivindicação 1, dito concentrado compreendendo isotiazolin-3-ona em uma quantidade entre 1 e 95% p/p.

9. Concentrado de composição antimicrobiana, de acordo
15 com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de compreender ainda um co-biocida selecionado do grupo consistindo de sais de piritiona, ácidos piritiona, e combinações dos mesmos, e onde o referido co-biocida está presente na referida composição em uma quantidade de
20 cerca de 1 a cerca de 50% p/p com base no peso total da referida composição.

10. Composição compreendendo uma emulsão de polímero, caracterizada pelo fato de a dita composição compreender
25 adicionalmente um conservante em estado úmido compreendendo uma combinação de (a) pelo menos um isotizaolin-3-ona e (b) pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos, onde a referida combinação está presente na referida
30 composição em uma quantidade total entre cerca de 10 ppm e cerca de 400 ppm, e onde a proporção molar do componente (a) para o componente (b) estar entre cerca de 4:1 a cerca de 1:2.

11. Composição, de acordo com a reivindicação 10,
35 caracterizada pelo fato de a referida emulsão de polímero compreender um polímero selecionado a partir do grupo consistindo de (met)acrilato acrílico e substituído,

estireno/butadieno, vinil acetato de etileno, polivinil acetato, estireno/butadieno/N-metilol acrilamida, nitrila e copolímeros dos mesmos.

12. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de o referido sal de zinco ser selecionado do grupo consistindo de cloreto de zinco, sulfeto de zinco, carbonato de zinco, carbonato de zinco básico, e combinações dos mesmos.

13. Composição, de acordo com a reivindicação 12, caracterizada pelo fato de o referido sal de zinco ser cloreto de zinco.

14. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de o referido isotiazolin-3-ona ser selecionado do grupo consistindo de: 1,2-benzisotiazolin-3-ona, N-(n-butil)-1,2-benzisotiazolin-3-ona, 4,5-dicloro-2-n-octil-4-isotiazolin-3-ona, 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, misturas de 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona (CIMIT) e 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, e também ditio-2,2'-bis(benzimetilamida) e combinações dos mesmos.

15. Composição, de acordo com a reivindicação 10, caracterizada pelo fato de compreender adicionalmente um co-biocida selecionado do grupo consistindo de sais piritiona, ácidos piritiona, e combinações dos mesmos, e onde o referido co-biocida está presente na referida composição em uma quantidade de cerca de 0,001 a cerca de 1,0% p/p com base no peso total da referida composição.

16. Composição, de acordo com a reivindicação 15, caracterizada pelo fato de os referidos sais de piritiona serem selecionados do grupo consistindo de piritiona de cobre, piritiona de zinco, piritiona de sódio, e combinações dos mesmos.

17. Composição de revestimento, caracterizada pelo fato de ser selecionada do grupo consistindo de tintura, adesivos, selantes, de calafetar, mosto mineral e de pigmentação, corantes de impressão, formulações pesticidas para agricultura, produtos de revestimento de

arranjos domésticos, produtos de cuidado pessoal, fluidos de trabalho em metais, e combinações dos mesmos, onde a referida composição de revestimento contém uma emulsão de polímero como um meio líquido básico, e um conservante em estado úmido compreendendo uma combinação de (a) pelo menos um isotiazolin-3-ona e (b) pelo menos um composto de zinco selecionado do grupo consistindo de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco, e combinações dos mesmos, onde a referida combinação está presente na referida composição em uma quantidade total entre cerca de 10 ppm e cerca de 400 ppm, e onde a proporção molar do componente (a) para o componente (b) estar entre cerca de 4:1 a cerca de 1:2.

18. Composição de revestimento, de acordo com a reivindicação 17, caracterizada pelo fato de o referido meio base líquido ser selecionado do grupo consistindo de (met)acrilato acrílico e substituído, estireno/butadieno, vinil acetato de etileno, polivinil acetato, estireno/butadieno/N-metilol acrilamida, nitrila, e copolímeros dos mesmos.

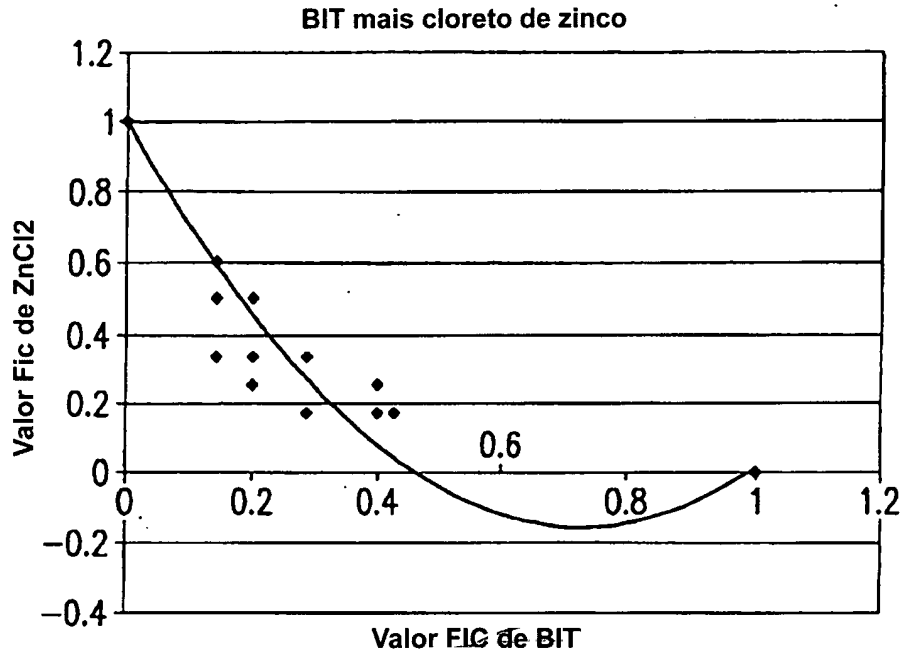


FIG.1

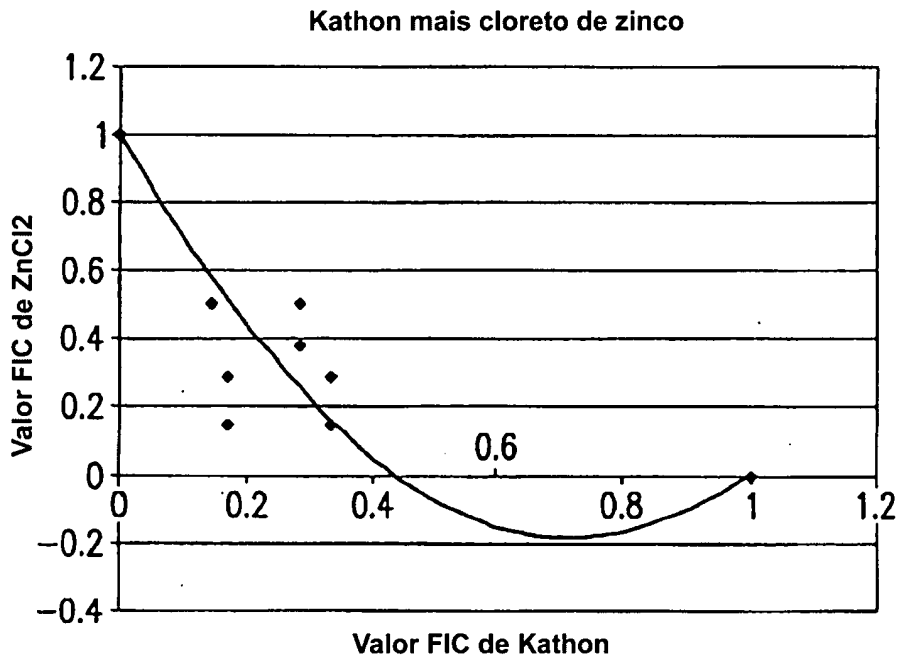


FIG.2

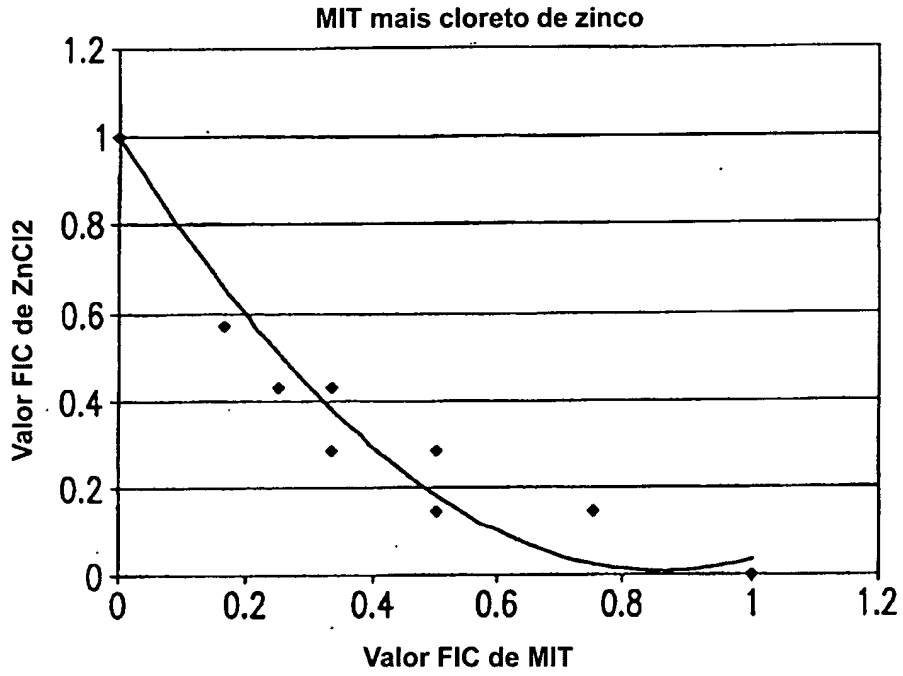


FIG.3

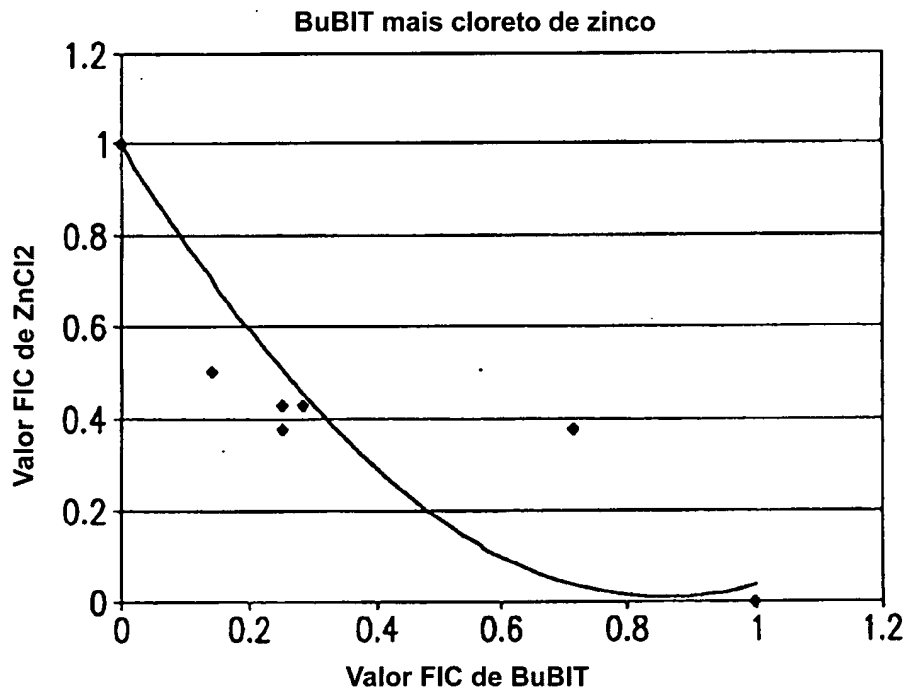


FIG.4

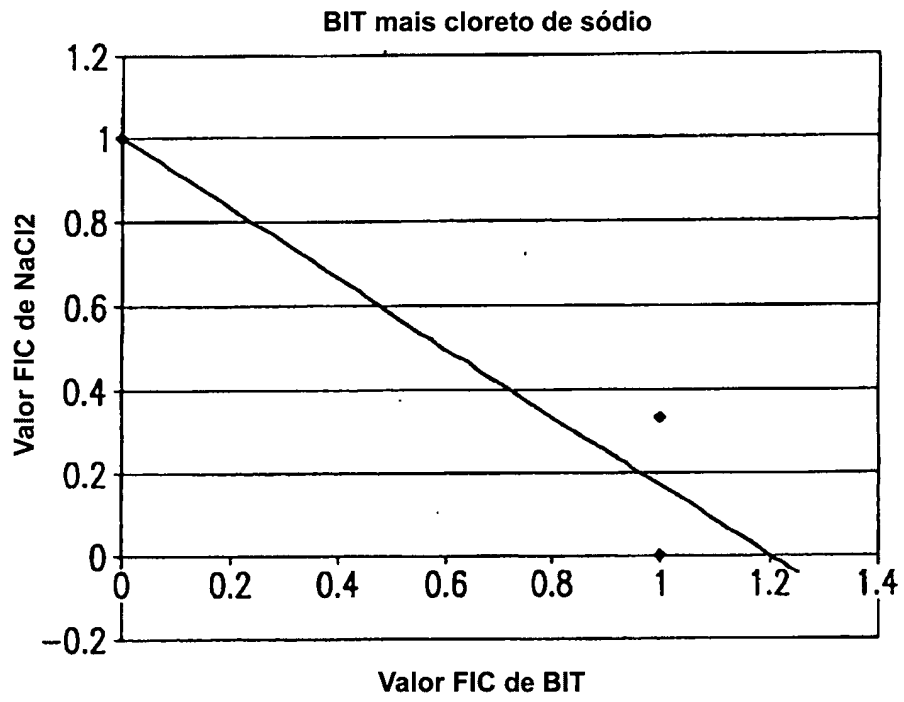


FIG.5

RESUMO

"COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, CONCENTRADO DE COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA, COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO UMA EMULSÃO DE POLÍMERO E COMPOSIÇÃO DE REVESTIMENTO".

5 A presente invenção refere-se a uma composição antimicrobiana compreendendo um isotiazolinona, tal como 1,2-benzisot-iazolin-3-ona, e um composto de zinco selecionado de sais de zinco, óxidos de zinco, hidróxidos de zinco ou combinações dos mesmos. Os sais de zinco
10 úteis incluem, por exemplo, óxidos, sulfatos, cloretos, e combinações dos mesmos. Em uso, o zinco a partir do composto de zinco aumenta a atividade antimicrobiana para a composição contendo isotiazolina. Esta melhora permite conseguir a atividade antimicrobiana desejada em uma taxa
15 de uso menor do que a que é conseguida usando o isotiazolinona na ausência do composto de zinco. A composição antimicrobiana pode também conter co-biocidas, tais como piritonas, incluindo piritona de zinco ou piritona de cobre.