



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

(21) **PI 1105285-6 A2**

(22) Data de Depósito: 03/11/2011
(43) Data da Publicação: 05/03/2013
(RPI 2200)



(51) *Int.Cl.:*
A01N 43/40
A01N 43/90
A01N 59/16

(54) **Título:** COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA
SINERGÍSTICA

(30) **Prioridade Unionista:** 09/11/2010 US 61/411520

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

(72) **Inventor(es):** Emerentiana Sianawati

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA
SINERGÍSTICA. Uma composição antimicrobiana sinérgica contendo
flumetsulam ou dielosulam; e zinco piritiona.

“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.,
10 aqueles resistentes a alguns compostos antimicrobianos. Combinações de diferentes compostos antimicrobianos são algumas vezes usadas para proporcionarem controle total de microorganismos em um ambiente de uso final específico. Por exemplo, Patente U.S. de N° 5.591.760 revela
15 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
20 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 compreendendo: (a) flumetsulam ou diclosulam; e (b) zinco piritiona (ZPT); sendo que uma proporção em peso de flumetsulam para zinco piritiona é de 8:1 a 1:7 e uma proporção em peso de diclosulam para zinco piritiona é de 15:1 a 1:2.

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]triazol[1,5-a]pirimidina-2-sulfonamida. Diclosulam é N-(2,6-dicloro-fenil)-5-etóxi-7-fluoro[1,2,4]triazol[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, quando a composição antimicrobiana contém flumetsulam e ZPT, uma proporção em peso de flumetsulam para ZPT é de 8:1 a 1:6, preferivelmente de 7:1 a 1:7, preferivelmente de 8:1 a 1:5; preferivelmente de 7:1 a 1:6; preferivelmente de 7:1 a 1:5; preferivelmente de 6:1 a 1:6; preferivelmente de 6:1 a 1:5.

Preferivelmente, quando a composição antimicrobiana contém diclosulam e ZPT, uma proporção em peso de diclosulam para ZPT é de 12:1

a 1:2; preferivelmente de 10:1 a 1:2; preferivelmente de 10:1 a 1:1,5; preferivelmente de 10:1 a 1:1.

Preferivelmente, diclosulam em combinação com ZPT é usado para inibir crescimento de algas em um meio aquoso. Preferivelmente, a proporção de diclosulam para ZPT é de 5:1 a 1:2; preferivelmente de 12:1 a 1:2; preferivelmente de 10:1 a 1:2; preferivelmente de 10:1 a 1:1,5; preferivelmente de 10:1 a 1:1.

As composições antimicrobianas descritas acima podem conter qualquer um de ou ambos flumetsulam e diclosulam e/ou outros biocidas. Tipicamente, as composições antimicrobianas são usadas para inibir o crescimento de 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.

20 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 adição ou diluição de biocidas, cada amostra foi misturada manualmente 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 polegada²; 1,27 cm²) 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 U468	Clorófito Unicelular	Bold
<i>Calothrix parientina</i>	Cp	UTEX LB 1952	Cianobactérias Filamentosas	Bold

Inóculo fúngico

Organismos	Abreviação	ATCC#	Meio para crescimento e teste
<i>Aspergillus niger</i>	An	9642	PDA
<i>Penicillium funiculosum</i>	Pf	11797	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 triagem de alta produtividade, este método foi
5 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
10 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
15 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. Em estudos de sinergia de Diclosulam + vários IT, apenas duas combinações de algas misturadas foram preparadas; *Gloeocapsa sp.* e *Oscillatoria sp.*
20 crescidas sobre meio BG-11 e *Clorella sp.*, *Clorella kessleri*, *Nostoc commune*, *Trentepohlia aurea*, *Trentepohlia odorata*, e *Calothrix parientina* crescidas sobre meio BG-11. 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
25 foram incubadas na temperatura ambiente (25°C - 26°C) com fases de escuridão e de exposição à 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 determinar a resistência de vários revestimentos (incluindo tintas) ao dano fúngico. Para acomodar triagem 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 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 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 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.

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

5

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

10 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.

15

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

Estudo de Sinergia de Flumetsulam e ZPT

	AaTv	AnPf	ApCh	Cp+To+Ta	Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1 Flumet: 1 ZPT						
Conc. Total, ppm	3000	2250	750	750	750	750
Inibição %	80	100	90	100	100	100
SI	$<0,70$	$<2,1$	1,0	0,7	0,7	$<0,7$
1 Flumet: 3 ZPT						
Conc. Total, ppm	3000	750	750	750	750	750
Inibição %	70,0	100	100	100	100	100
SI	$<0,7$	$<1,0$	1,0	1,0	1,0	$<1,0$
1 Flumet: 5 ZPT						
Conc. Total, ppm	3000	750	750	750	750	750
Inibição %	60	100	100	100	100	100
SI	$<0,60$	$<1,0$	1,0	1,0	1,0	$<1,0$
1 Flumet: 10 ZPT						
Conc. Total, ppm	NE	687,5	687,5	687,5	687,5	687,5
Inibição %		100	100	100	100	100
SI		$<1,0$	1,0	1,0	1,0	$<1,0$
6 Flumet: 1 ZPT						
Conc. Total, ppm	NE	1400	2800	2800	1400	725
Inibição %		90	80	75	90	95
SI		$<0,7$	1,3	1,6	0,7	$<0,40$
4 Flumet: 1 ZPT						

Conc. Total, ppm	NE	1625	2250	2250	2250	2250
Inibição %		90	90	100	100	100
SI		<0,90	1,2	1,4	1,2	<1,4
2 Flumet: 1 ZPT						
Conc. Total, ppm	NE	2250	2250	2250	750	750
Inibição %		100	95	100	100	100
SI		<1,6	1,6	1,8	0,6	<0,60
Flumetsulam						
Conc. Total, ppm	3500	3500	3500	2625	3500	2625
Inibição %	0	0	25	100	90	0
ZPT						
Conc. Total, ppm	5000	625	625	625	625	625
Inibição %	50	100	100	100	100	100

Estudo de Sinergia de Diclosulam e ZPT

Proporções	Aa+Tv+An+Pf+Ap+Ch	Cp+Td+Ta+Cs+Ck+Nc	Gs+Os
1 Diclosulam: 1 ZPT			
Conc. Total, ppm	3000	750	750
Inibição %	0	100	100
SI	NE	0,7	1,5
3 Diclosulam: 1 ZPT			
Conc. Total, ppm	3000	1500	750
Inibição %	0	100	100
SI	NE	0,9	1,6
5 Diclosulam: 1 ZPT			
Conc. Total, ppm	3000	750	750
Inibição %	0	100	100
SI	NE	0,4	1,6
10 Diclosulam: 1 ZPT			
Conc. Total, ppm	2750	687,5	687,5
Inibição %	0	100	100
SI	NE	0,3	1,5
1 Diclosulam: 10 ZPT			
Conc. Total, ppm	3300	1650	825
Inibição %	10	90	100
SI	NE	2,4	1,4
1 Diclosulam: 6 ZPT			
Conc. Total, ppm	2800	700	700
Inibição %	10	100	100
SI	NE	1,0	1,9
1 Diclosulam: 4 ZPT			
Conc. Total, ppm	3250	812,5	812,5
Inibição %	0	100	100
SI	NE	1,1	1,4
1 Diclosulam: 2 ZPT			
Conc. Total, ppm	3000	750	750
Inibição %	10	100	100
SI	NE	0,9	1,4
Diclosulam			
Conc. Total, ppm	3500	3500	437,5
Inibição %	0	80	100
ZPT			
Conc. Total, ppm	5000	625	625
Inibição %	0	100	100

REIVINDICAÇÕES

1. Composição antimicrobiana sinérgica, caracterizada pelo fato de compreender: (a) flumetsulam ou diclosulam; e (b) zinco piritiona; em que uma proporção em peso de flumetsulam para zinco piritiona é de 8:1 a 1:7 e uma proporção em peso de diclosulam para zinco piritiona é de 15:1 a 1:2.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de compreender flumetsulam e zinco piritiona; em que a proporção em peso de flumetsulam para zinco piritiona é de 6:1 a 1:5.

3. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de compreender diclosulam e zinco piritiona; em que a proporção em peso de diclosulam para zinco piritiona é de 10:1 a 1:2.

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

5. Composição de acordo com a reivindicação 4, 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 madeira-plástico.

RESUMO**“COMPOSIÇÃO ANTIMICROBIANA SINERGÍSTICA”**

Uma composição antimicrobiana sinérgica contendo flumetsulam ou diclosulam; e zinco piritiona.