



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA, COMÉRCIO E SERVIÇOS
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº BR 102025001272-3

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: BR 102025001272-3

(22) Data do Depósito: 23/01/2025

(43) Data da Publicação Nacional: 28/10/2025

(51) Classificação Internacional: A61K 36/22; A61P 31/02.

(52) Classificação CPC: A61K 36/22; A61P 31/02.

(54) Título: COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L. (CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS

(73) Titular: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ARIDO - UFERSA, Instituição de Ensino e Pesquisa. CGC/CPF: 24529265000140. Endereço: AV. FRANCISCO MOTA, 572 - BAIRRO COSTA E SILVA, MOSSORO, RN, BRASIL(BR), 59625-900, Brasileira

(72) Inventor: FRANCISCO MARLON CARNEIRO FEIJÓ; NILZA DUTRA ALVES; CAIO SÉRGIO SANTOS; MARA GABRIELA RUBENS; HUGO MACIEL DE FARIA; ALEXSANDRA FERNANDES PEREIRA.

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 23/01/2025, observadas as condições legais

Expedida em: 19/05/2026

Assinado digitalmente por:

Alexandre Dantas Rodrigues

Diretor de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

**“COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L.
(CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS”**

Campo da invenção

[001] Relatório Descritivo do Registro de Patente de invenção refere-se ao campo veterinário e, mais particularmente a composição um xampu compreendendo um ingrediente obtido a partir da folha de *Spondias mombin* L. (Cajá) para uso dermatológico em animais, da qual sua composição visa diminuir a quantidade de microrganismos patogênicos na pele e pelos de animais acometidos por dermatopatias bacterianas.

Fundamentos da invenção

[002] A presente descrição refere-se a uma inovação relacionada às formulações farmacêuticas líquidas e dosagens galênicas, especificamente na forma de um xampu. Esta formulação é composta por ingredientes selecionados para proporcionar benefícios excepcionais para a pele de animais com piodermite. Os componentes incluem, lauril sulfato de sódio, cloreto de sódio, ácido etilenodiamino tetra-acético, glicerina, cocoamidapropil betaína, isotiazolinonas, hidróxido de sódio, decocto de *Spondias mombin* L. e essência.

[003] A pele é o maior órgão do corpo funcionando como uma barreira fisiológica e anatômica entre o organismo e o meio ambiente, e está mais exposta a agentes nocivos sejam eles físicos, químicos ou microbiológicos, e necessita de cuidados especiais. Tanto a pele como a pelagem têm a função de proteger o corpo das possíveis agressões externas, sendo então importante a sua manutenção e cuidado para o bem-estar e, de fato, para a saúde (Larsson; Lucas, 2020; König; Liebich, 2016). Essa camada protetora composta de pele e pelos nos mamíferos não humanos como os cães e gatos, é recoberta por uma camada de ácidos graxos e ceras que contribuem para a função de barrar as diversas agressões externas, e acabam conferindo um aspecto sedoso na pelagem desses indivíduos (Souza, et al., 2009)

[004] As enfermidades dermatológicas compreendem uma grande prevalência na clínica médica de pequenos animais, em especial cães e gatos e necessita de um tratamento em sua maioria com produtos tópicos, e seu tratamento na maioria das vezes é demorado, com duração de semanas a meses e os produtos convencionais disponíveis no mercado tem um custo elevado, o que impossibilita na maioria das vezes a compra do produto e/ou a continuidade do tratamento pelos tutores desses animais, que acabam abandonando o tratamento, e a consequência disto é o agravamento da condição clínica do indivíduo, impossibilitando a cura da doença.

[005] Existem produtos à base de fitoterápicos no mercado veterinário como os das marcas PetFleur® e Propovets®, porém, nenhum foi descrito utilizando um ingrediente obtido a partir da folha de *Spondias mombin* L. (Cajá).

[006] A *Spondias mombin* L. é uma planta tropical conhecida popularmente como cajazeira, pertencente à família Anacardiaceae. Seu cultivo ocorre em regiões tropicais das Américas, nas Índias Ocidentais, em partes da África, incluindo Gana, e em algumas áreas da Ásia (Lima et al., 2011). Além de ser rica em taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides e fenóis, a planta também contém ácido ascórbico, niacina, riboflavina e tiamina em sua composição. Estudos recentes (Silva, 2015; Lima et al., 2021) têm evidenciado que o extrato da folha de *Spondias mombin* L. exibe propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antivirais, anti-helmínticas e sedativas devido à presença desses compostos. A atividade antibacteriana da *S. mombin* é atribuída à presença de taninos, saponinas e antraquinonas, tal atividade ocorre pela presença do ácido anacárdico que possui a capacidade de inibir a β -lactamase. (Lima et al., 2021).

[007] A *Spondias mombin* L. demonstra atividade de inibição bacteriana, especialmente contra bactérias gram-positivas, como destacado por Leonez et al. (2018) ao notarem a inibição de cepas de *Staphylococcus coagulase* negativa. Enquanto isso, Santos et al. (2020) observaram a atividade bacteriana dos extratos da folha da planta sobre o crescimento de *S. aureus* e *E. faecalis*, impulsionando a investigação para o tratamento de infecções endodônticas persistentes por meio de produtos bioativos. Esses efeitos podem ser atribuídos à ação dos flavonoides.

[008] Os flavonoides exercem um efeito antimicrobiano bioativo em bactérias devido aos seus grupos fenólicos hidroxila, que se ligam às proteínas, agindo como inibidores de enzimas bacterianas. Isso interfere nas vias de síntese das bactérias, inibindo a quebra do DNA mesmo em concentrações baixas, além de atuar na formação do biofilme (Alves, 2017).

[009] Oguegbulu, Abo, Afieroho (2020) descobriram que o extrato de *S. mombim* L. teve uma concentração inibitória mínima (MIC) de 10mg/ml e 5 mg/ml para *Streptococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. No entanto, não exibiu efeito contra *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Em outro estudo, Lima et al. (2021) constataram que os extratos de *S. mombim* L., em diferentes concentrações, superaram a atividade antimicrobiana do digluconato de clorexidina 0,12% contra esses microrganismos. Isso foi associado à análise química dos extratos e à cinética bacteriana, evidenciando resultados mais promissores nas primeiras 4 horas, mesmo quando avaliados em um período de 24 horas.

[0010] O estado da técnica apresenta documentos de patentes de formulações de xampu como a BR102015029201 (A2), que se refere a uma formulação de xampu com a base de citronela para animais, sua composição tem como objetivo reduzir os riscos de doenças causadas por ectoparasitas como pulgas, carrapatos, mosquitos, moscas e pernilongos. O produto foi desenvolvido também pensando nos casos de alergias e coceira causadas por esses ectoparasitas, uma vez que esse xampu tem ação repelente e pode ser utilizado de forma segura em animais. A invenção em questão visa ainda a redução de gastos para os tutores desses animais, e defende que o produto pode ser usado tanto em animais que vivem dentro das residências, como os que vivem em áreas externas, sendo os últimos, os que mais estão expostos a ectoparasitas. Porém, a invenção não contribui para a redução de bactérias patogênicas na pele desses animais.

[0011] O documento de patente BR 112018009265-7 (B1), refere-se a uma composição de limpeza para cuidados com animais essencialmente livre de surfactantes e métodos relacionados, a composição não está limitada a uma única formulação como xampu ou sabonete, mas a várias formulações, o objetivo da invenção é proporcionar composições para higiene da pele de animais que não sejam irritantes ou que causam

pouca irritação para a pele e para os olhos, sendo diferente de algumas formulações presentes no mercado pet, também indica que essa composição de limpeza não reduz a eficácia dos ectoparasiticidas anteriormente aplicados no animal e ainda assim, deixa a pele e pelos limpos, frescos, e com sensação agradável e de bom cheiro. Dessa forma, mesmo uma pele limpa, pode conter bactérias que causem piодermite.

[0012] No que se refere ao princípio ativo, o documento patente BR102018003389 (A2) trata de preparações fitoterápicas com atividade anti-inflamatória e antiviral a partir de extrato padronizado de *Spondias mombin*, a parente se refere à obtenção e ao emprego de extratos padronizados de *Spondias mombin* L., mais especificamente os extratos hidroalcoólico e seco padronizados em geraniina e ácido clorogênico, e o emprego da geraniina. A patente compreende ainda, a obtenção de composições farmacêuticas nas formas líquidas, sólidas ou semi-sólida, que são preparações indicadas tanto para uso tópico quanto sistêmico que contenham como princípio ativo o extrato hidroalcoólico ou o extrato seco de *Spondias mombin* L. (padronizados em geraniina e ácido clorogênico), ou geraniina, sendo estas preparações indicadas para o tratamento da herpes ocasionada pelo vírus herpes simples tipo 1, denominado HSV-1. Mesmo a patente citada possuindo *Spondias mombin* L. como princípio ativo, não está relacionado com a ação antibacteriana da planta, e nem com a formulação de xampu. Em se tratando de ser uma planta com diversas propriedades (antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antivirais, anti-helmínticas e sedativas), ela pode ser amplamente utilizada com formulações diversas.

[0013] A patente BR102013023217 (A2) refere-se a extratos, frações, compostos isolados e formulação farmacêutica de *Spondias mombin* L. aplicados no tratamento de inflamações, se refere à obtenção de extratos, frações e compostos isolados de raiz, tronco, partes aéreas, flores, frutos e sementes assim como do suco dos frutos de *Spondias mombin* L., e de frações e compostos bioativos isolados da planta, com atividade anti-inflamatória, sendo a inflamação causada por qualquer agente etiológico. Os princípios ativos apresentados foram testados e revelaram atividade anti-inflamatória sobre os efeitos biológicos induzidos pela inflamação com o indutor inflamatório carragenina no modelo animal de peritonite aguda. A patente compreende também a utilização dos extratos, frações e substâncias isoladas da espécie vegetal

para o tratamento de processos inflamatórios administrados pelas vias oral, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, subcutânea ou transdérmica. Porém, a patente não aborda a propriedade antimicrobiana da planta, o que é a finalidade do xampu apresentado neste pedido de patente.

[0014] Existe, portanto, a necessidade de composições de xampu para animais, especialmente pequenos animais como cães, que seja eficaz no combate às doenças causadas por bactérias. No que concerne ao xampu terapêutico, ele deve ser capaz de combater os diversos agentes que já ocasionaram problemas na pele e pelagem do animal, sem gerar novos danos ao tecido e pelos, e sendo capaz de preservar as estruturas que se encontram inalteradas na pele desses animais.

[0015] As tecnologias empregadas para a produção de produtos herbais são inovadoras, uma vez que trazem muitos benefícios e podem reduzir potencial tóxico para os animais, além de não gerar resíduos significativamente poluentes quando comparado aos produtos convencionais presentes no mercado.

Breve descrição dos desenhos

[0016] Os registros se referem a alguns passos da adição dos ingredientes na formulação do xampu:

[0017] A Figura 1 apresenta a solução formada 24h após a adição do dodecil sulfato de sódio a 95%.

[0018] A figura 2 apresenta adição de cocoamidopropilbetaina na quantidade da solução de dodecil sulfato de sódio a 95%.

[0019] A figura 3 apresenta a adição da solução de ácido etilenodiaminotetraacético (edta).

[0020] A figura 4 apresenta a adição de 50 ml de glicerina na solução.

[0021] A figura 5 apresenta a adição de 50 ml da solução de decocto de *Spondias mombin* L. sendo necessário um repouso de 24h após sua adição.

[0022] A figura 6 apresenta a composição pronta após 24 horas com a adição de todos os ingredientes.

Descrição da invenção

[0023] A invenção tal como descrita no presente pedido, refere-se a uma composição veterinária de xampu compreendendo o princípio ativo obtido a partir da folha de *Spondias mombin* (Cajá) para uso dermatológico em animais.

[0024] Conforme usado aqui, o termo “xampu” inclui qualquer composição destinada a limpar a pele ou pelagem de animais e requer lavagem com água após sua aplicação. Como de maneira geral os xampus possuem características essenciais, apresenta propriedades umectantes, espumantes e detergentes, a fim de garantir uma limpeza satisfatória da pele e da pelagem.

[0025] Dentro do significado da invenção, o “princípio ativo obtido a partir da *Spondias mombin* L.” significa pelo menos uma molécula, conjunto de moléculas ou qualquer mistura contendo o extrato do mesmo, obtido por qualquer tipo de transformação das moléculas nativas da planta, que apresentam efeito sobre os microrganismos nocivos a pele e pelagem de animais.

[0026] O princípio ativo obtido a partir de *Spondias mombin* L., usado na composição de acordo com a invenção, é especialmente obtido a partir de um processo de decocção das folhas de *Spondias mombin* L.

[0027] Existem diversas formas de extrair o princípio ativo da planta, porém, alguns deles são laboriosos e de custo elevado, a presente invenção obtém o princípio ativo através do método de decocção adaptado de Falkenberg; Santos; Simões, 2004, que consiste na fervura das folhas em água destilada.

[0028] A composição de acordo com a invenção compreende pelo menos 2% do princípio ativo obtido através das folhas de *Spondias mombin* L, compreendendo no mínimo 2% do princípio ativo no peso total da composição.

[0029] Esta composição apresenta boas propriedades de lavagem. Permite melhorar a função de barreira, restaurar o equilíbrio microbiano e, em especial, reduzir a presença

de bactérias patogênicas na pele e pelagem de animais, em especial cães, e limitar a adesão ou a formação de biofilme. As bactérias patogênicas são principalmente *Staphylococcus aureus* e/ou *Staphylococcus pseudintermedius*.

[0030] Existem diversas formas de determinar a contagem de bactérias, o método utilizado para essa determinação foi adaptado de Tortora, 2007 que descreve a quantificação através de uma diluição seriada de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , quantificando as colônias que estão entre 30 e 300 unidades formadoras de colônia (ufc). A composição aqui apresentada, tem a capacidade de reduzir de forma significativa a contagem desses microrganismos patogênicos.

[0031] O xampu a base folha de *Spondias mombin* L. para animais, mantém os elementos de sua composição e poderá ser apresentada em aromas e cores diferentes, sem que isso modifique a sua finalidade.

Exemplos de concretizações da invenção

[0032] A seguir são descritos os exemplos de concretização da invenção:

[0033] Exemplo 1: Para a obtenção da matéria prima as folhas são colhidas no período da manhã (entre 06 e 08 horas) arvore adulta da espécie *Spondias mombin* L. nas dependências da UFERSA, para a seleção das folhas não é feita distinção quanto a idade ou tamanho, mas devem estar verdes, sem imperfeições e livres de parasitas são retiradas uma quantidade em torno de 300 a 800g.

[0034] Exemplo 1.1: A higienização das folhas:

[0035] A higienização das folhas selecionadas é feita folha a folha com água destilada, retirando quaisquer resíduos que comprometam a confecção do decocto. Em seguida, as folhas lavadas ficam secando sobre papel toalha em temperatura ambiente para retirar o excesso de água.

[0036] Exemplo 1.2: Trituração das folhas:

[0037] Após estarem secas, essas folhas são trituradas com auxílio de uma tesoura de ponta fina em tamanhos variando entre 2 e 6 centímetros, as folhas picotadas devem ser passadas para um Becker limpo onde serão pesadas em balança de precisão.

[0038] Exemplo 2: Obtenção do decocto:

[0039] Para a obtenção do princípio ativo segue-se o método de decocção que consiste em um método extrativo onde a amostra vegetal fica em contato com o solvente em ebulição (Adaptado de Falkenberg; Santos; Simões, 2004) onde é necessário uma quantidade de folhas de *Spondias mombin*, cerca de 200g, pesadas em uma balança de precisão, em um Becker de vidro graduado são adicionadas 1000mL de água destilada, o Becker contendo as folhas e a água é levado a banho maria numa temperatura de 100 °C por aproximadamente 15 minutos. Após esse tempo, o conteúdo é filtrado com auxílio de um funil contendo algodão para reter qualquer resíduo sólido das folhas e passado para outro Becker de 1000mL limpo, após esse processo, a mistura deve permanecer em repouso na temperatura de 8 °C por 2 horas.

[0040] Exemplo 3: Obtenção do xampu:

[0041] De acordo com a invenção, para confeccionar 1 litro de xampu, foi necessário a pesagem dos seguintes ingredientes: 820 ml de água destilada; 200g de folhas de *Spondias mombin* L., 160 g de dodecil sulfato de sódio a 95% (NEON), 1g de ácido etilenodiaminotetraacético (edta) (Auro's Química), 25g de cloreto de sódio (NEON) e a medição de 60 ml de cocoamidopropilbetaina (Auro's Química), 50 ml de glicerina (NEON), 2ml de isotiazolinonas (Auro's Química) e 60 ml de essência de canoa free ultra (symrisecitratus). Todos esses ingredientes foram pesados e medidos um a um e mantidos em Beckers limpos e separados. Deu-se então a sequência do preparo seguindo a ordem: os 160 g de dodecil sulfato de sódio a 95% são adicionados em 500 ml de água destilada num becker de 2 litros. Como um bastão de vidro, foram realizadas rotações constantes por 5 min na solução até a completa dissolução do dodecil sulfato de sódio a 95%. A solução permaneceu em repouso por 5 minutos para não produzir espuma. Repetiu-se o processo mais vezes até a total transparência da solução e a mesma permaneceu em repouso por 24h. Seguidamente adicionou-se 25g de cloreto de sódio adicionados em um Becker contendo 100 ml de água destilada,

foram feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até sua total dissolução e o conteúdo foi passado para o Becker contendo a mistura de dudocil sulfato de sódio a 95% e 500ml de água destilada, posteriormente foram adicionados 4 gramas de ácido etilenodiaminotetraacético (edta) feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até sua total dissolução, em seguida foram adicionados os 60 ml de cocoamidopropilbetaina foram feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até sua total dissolução, posteriormente foram adicionados 50 ml de glicerina e feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até a total dissolução do conteúdo, em seguida, em um Becker graduado de 1l foi adicionado o restante da água destilada num total de 220 ml , 20 mL do extrato obtido na decocção e 60 ml da essência de canoa free ultra feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até sua total dissolução, seguidamente essa mistura foi passada para o Becker de 2l contendo os outros ingredientes, também feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até sua total dissolução, por conseguinte foram adicionados os 2ml de isotiazolinonas e feitos movimentos rotacionais por 5 minutos até sua total dissolução. A mistura permaneceu em descanso por 24 horas, em temperatura ambiente antes de ser envasada em frascos limpos de cor fosca.

[0042] Tabela 01: Ingredientes da composição veterinária a base de folha de *Spondias mombin* L. (cajá) para terapia dermatológica em animais.

Ingredientes	Quantidades proporcionais para 1L de xampu
Água destilada	820ml
Dodecil sulfato de sódio a 95%	160g
Ácido etilenodiaminotetraacético (edta)	1g
Cloreto de sódio	25g
Cocoamidopropilbetaina	60ml
Glicerina	50ml
Isotiazolinonas	2ml

Essência de canoa free ultra	60ml
Decocto	20ml

[0043] Tabela 02: Quantidade de ingredientes em porcentagem da composição veterinária a base de folha de *Spondias mombin* L. (cajá) para terapia dermatológica em animais

Ingredientes	Quantidades em % de peso, com base no peso total da composição)
Água destilada	68,4%
Dodecil sulfato de sódio a 95%	13,4%
Ácido etilenodiaminotetraacético (edta)	0,08%
Cloreto de sódio	2,1%
Cocoamidopropilbetaina	5,0%
Glicerina	4,2%
Isotiazolinonas	0,17%
Essência de canoa free ultra	5,0%
Decocto	2%

[0044] Exemplo 4: Determinação da eficácia do xampu *in vitro*:

[0045] O xampu foi produzido nas seguintes concentrações 0,5%, 1% e 2% de *Spondias mombin* L. de volume/volume utilizando-se de MacFaddin (2000) para os cálculos de elaboração dos decoctos e xampu nas concentrações em porcentagem de volume/volume ou grama/1l. Foi utilizado o método de disco-difusão que é uma das técnicas mais antigas para avaliar a sensibilidade aos antimicrobianos e continua

sendo uma das abordagens mais amplamente adotadas nos laboratórios clínicos. É apropriado para testar a maioria dos patógenos bacterianos, inclusive os mais comuns e exigentes, sendo versátil quanto à variedade de agentes antimicrobianos testáveis, sem a necessidade de equipamentos especiais. Assim como outras técnicas de disco-difusão, o método recomendado pelo EUCAST segue padrões estabelecidos e se baseia nos princípios delineados no relatório de 1972 do 'International Collaborative Study of Antimicrobial Susceptibility Testing', contando com a experiência de grupos de especialistas em nível global.

[0046] Produção das placas do disco-difusão:

[0047] Foram depositado 50 ml de meio ágar Muller-Hinton nas placas de Petri estéreis. Posteriormente, foi realizada uma perfuração dos poços com canudos de plástico estéreis de 6 mm de diâmetro, em seguida a parte interna do poço fora preenchida com uma fina camada de meio Muller Hinton, produzindo poços com diâmetro de 6 mm. Foram feitas 5 placas.

[0048] Em cada poço foi administrado 50 µL de xampu nas concentrações de 0,5%, 1% e 2% de *Spondias mombin* L. e controle negativo (água destilada estéril). Na sequência, foram cultivadas em cada placa uma bactéria, sendo elas *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Streptococcus sp.* e *Escherichia coli*. Seguidamente, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24h. Passado esse tempo, os halos de inibição produzidos em volta do poço foram medidos com régua.

[0049] O xampu na concentração de 2% teve o melhor resultado na inibição de crescimento de microrganismos isolados da pele de cães com piodermite (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Streptococcus sp.* *Escherichia coli*).

[0050] Exemplo 5: Testes físico-químicos

[0051] Para uma padronização do xampu, foram feitas análises físico-químicas, de forma assegurar a qualidade do produto. O xampu foi confeccionado na concentração

de 2%, maturou por aproximadamente 24h em temperatura ambiente, e em seguida, iniciou-se os testes.

[0052] Em 2 Beckers de 100ml foram adicionados uma amostra do xampu a 2% (Aproximadamente 60 ml), e foram realizados alguns testes.

[0053] Tabela 03: Teste de espuma

Tempo	Espessura em mm	Espessura em mm
	Amostra 01	Amostra 02
0'	9,5	10
5'	8,5	7,5
15'	7,0	6,9
30'	6,0	6,2

[0054] Assim que foi despejado nos Beckers, o xampu apresentou uma camada de espuma de aproximadamente 10mm de espessura, mas até os 30 minutos, a espuma reduziu para aproximadamente 6mm.

[0055] Tabela 04: Teste de estabilidade

Dia	pH	Cor	Cheiro (Essência de Canoa)	Aspecto
1	6,4	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
2	6,4	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração

3	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
4	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
5	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
6	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
7	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
8	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
9	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
10	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
11	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
12	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração

13	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
14	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração
15	6,3	Marrom Sem alteração	Sem alteração	Viscoso/Normal/ Sem alteração

[0056] O xampu foi analisado por 15 dias e não demonstrou alterações significativas de pH, não mudou de coloração, não apresentou alterações no cheiro da essência utilizada na composição, se manteve estável quanto ao aspecto.

[0057] Teste de Viscosidade com Copo Ford:

[0058] O Copo Ford é um viscosímetro de manuseio fácil, no qual a viscosidade está relacionada com o tempo de esvaziamento de um copo de volume conhecido que tem um orifício calibrado em sua base. Para iniciar, o Copo Ford foi higienizado e seco, o xampu estava em temperatura ambiente (entre 20 e 25°C), o Copo Ford foi colocado em uma bancada plana e preenchido com o xampu até a marca indicada, passado uma régua para retirar o excesso, o xampu foi librado e com a ajuda de um cronômetro o tempo foi registrado, para ser obtida uma média confiável, a medição foi repetida três vezes, obtida a média de 209,67 segundos. A conversão de segundos para mm^2/s foi dada pelas expressões de acordo com o orifício, para esta composição foi utilizado o orifício nº 3 cuja fórmula fornecida pelo fabricante (Generalmed modelo: VCF) é de $n = 2,31 (t - 6,58)$. Após a medição, o resultado em segundos foi posto na fórmula ($n = 2,31 \times (209,67 - 6,58) = 2,31 \times 203,09 = 469,13 \text{ mm}^2/\text{s}$) e obteve-se o resultado de 469,13 mm^2/s estando dentro dos padrões usuais para xampus.

[0059] Teste de Densidade com Picnômetro

[0060] O teste foi iniciado pesando-se o picnômetro vazio, o resultado obtido foi de $m=30,8062\text{g}$. Em seguida, uma amostra de 50ml de xampu em temperatura ambiente

(20 a 25°C) foi cuidadosamente inserida no recipiente, e o picnômetro foi novamente pesado, obtendo o resultado de $m=93,6163\text{g}$. Ao ser posto na fórmula $d = m/v$, pode ser obtido o resultado de $d=1,2562\text{g/ml}$.

[0061] Exemplo 6: Teste de citotoxicidade do xampu:

[0062] A metodologia do teste consiste na utilização de fragmentos da pele abdominal ($9,0\text{ mm}^3$) obtidos de uma cadela submetida a ovariectomia que foram cultivados *in vitro* em meio essencial mínimo modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 2% de solução de antibióticos-antimicóticos a $38,5\text{ }^\circ\text{C}$ e 5% CO_2 . Células cultivadas na 3ª passagem foram utilizadas para a análise da toxicidade, com 80% de confluência e numa concentração de $5,0 \times 10^4$ células/mL. Estas células foram então divididas em três grupos experimentais e incubadas por 10 min de acordo com cada grupo: a) Sem a presença do xampu ou clorexibe (grupo CONTROLE); b) Xampu a *spondias* a 2% (Grupo XAMPU); c) Clorexibe a 2% (Grupo CLOREXIBE). Após o período de incubação, células foram avaliadas quanto à sua morfologia usando microscópio invertido (Nikon TS100, Tokyo, Japan). Além disso, células foram avaliadas quanto à viabilidade usando o ensaio com azul de tripan a 0,4%, sendo células coradas em azul consideradas não viáveis e células incolores consideradas viáveis. Brevemente, após a tripsinização, células foram incubadas com azul de tripan e contabilizadas em câmara de Neubauer, sendo a taxa de viabilidade calculada de acordo com a fórmula: $(\text{n}^\circ \text{ de células vivas} / \text{n}^\circ \text{ total de células contadas}) * 100$. Finalmente, células foram avaliadas quanto à sua atividade metabólica usando o ensaio de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil) -2,5-difenil-2il-tetrazólico ou MTT. Células foram incubadas com 5 mg/mL de MTT por 3 h. Após esse período, a solução de MTT foi removida e acrescido 1,0 mL de DMSO para solubilização dos cristais de formazan. Adicionalmente, a leitura foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu ® UV-mini-1240, Kyoto, Japão) a uma absorvância de 595 nm. Para a análise estatística, os dados, expressos como média \pm erro padrão de três repetições, foram analisados usando o software GraphPad (Graph-Pad Software Incorporation, La Jolla, CA, USA). Todos os resultados foram verificados para normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e homoscedasticidade pelo teste de Levene. Os dados não apresentaram distribuição normal e foram transformados por arco seno. Os resultados foram analisados por

ANOVA seguida pelo teste de Tukey, a uma significância de $P < 0,05$. Resultados: Após três repetições, uma redução na confluência celular no grupo XAMPU foi observada quando comparada aos demais grupos avaliados. Quanto à viabilidade celular avaliada pelo ensaio de azul de tripan (Tabela 05), células incubadas na presença de xampu a 2% reduziram sua viabilidade quando comparada ao controle e ao grupo clorexibe a 2% ($P < 0,05$).

Tabela 05: Viabilidade avaliada pelo ensaio de azul de tripan das células da pele de cadela cultivadas *in vitro* após 10 min de incubação xampu a 2% e clorexibe a 2%.

Grupos	Viabilidade celular (%)	P em relação ao controle
Controle negativo (CONTROLE)	81,2 ± 1,2 a	--
Xampu a 2% (XAMPU)	60,9 ± 1,1 b	0,0002
Clorexibe a 2% (CLOREXIDINE)	79,1 ± 0,8 a	0,1449

Valores expressos como média ± desvio padrão (DP). a,b: diferem ($P < 0,05$).

[0063] Quanto à atividade metabólica, nenhuma diferença foi observada no percentual de atividade metabólica das células cultivadas na presença de xampu a 2% e clorexidine a 2% (Tabela 06). Contudo, ambos os grupos diferiram do controle ($P < 0,05$). O clorexidine a 2% é utilizado em animais como antisséptico.

Tabela 06: Atividade metabólica avaliada pelo ensaio de MTT das células de cadela cultivadas *in vitro* após 10 min com xampu a 2% e clorexidine a 2%.

Grupos	Atividade metabólica (%)	P em relação ao controle
Controle negativo (CONTROLE)	99,7 ± 0,5 ^a	--
Xampu a 2% (XAMPU)	34,3 ± 0,6 ^b	0,0002
Clorexibe a 2% (CLOREXIDINE)	39,6 ± 0,8 ^b	0,0002

Valores expressos como média ± desvio padrão (DP). ^{a,b}: diferem ($P < 0,05$).

[0064] Considerações: 1. Células de pele abdominal de cadela quando cultivadas na presença de xampu a 2% diferiram do controle e de clorexibe a 2% para a análise da viabilidade pelo ensaio de azul de tripan; 2. Células de pele abdominal de cadela não diferiram na sua atividade metabólica quando cultivadas na presença de xampu a 2% e clorexibe a 2%. Contudo, células incubadas na presença do xampu a 2% e clorexibe a 2% diferiram do controle.

[0065] Exemplo 7: Determinação da eficácia do xampu *in vivo*:

[0066] Em 15 animais da espécie canina com piодermite, foi utilizado o xampu num período de 28 dias, observou-se o controle da alopecia, prurido, descamação, controle do odor fétido, eritema, hiperqueratose e liquenificação, bem como a diminuição de algumas lesões presentes. Os guardiões dos animais relatam cheiro agradável do xampu e permanência do cheiro no animal por alguns dias, não houve nenhum relato de hipersensibilidade ou reação alérgica ao produto. O xampu foi utilizado nos animais com piодermite seguindo o protocolo de banhos semanais, molhando a pele e pelos com água corrente, foi usado uma quantidade de no mínimo 1ml do xampu para cada 20 cm² de área corporal, fazendo-se movimentos circulares para que o xampu entre em contato com toda a superfície da pele, foram aguardados 10 minutos com a composição na pele e em seguida foi realizado o enxague com água corrente. Foi realizada a contagem de bactérias da pele de todos os animais que fizeram uso da composição. Para proceder a avaliação, em um tubo contendo 2 ml de água destilada estéril e submetidas às diluições, 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, respectivamente. Após o procedimento, 1 ml de cada diluição foi semeado em ágar de contagem em placa e incubado em estufa bacteriológica por 24 h em uma faixa de temperatura de 37,5 ° C, tempo necessário para contagem bacteriana por mesófilos presentes em cada diluição. Foi observado o seguinte resultado: o número de bactérias na pele dos animais foi reduzido num período de 15 dias a 28 dias, em um exemplo, a redução foi de de 62 x 10⁻¹ ufc/ml para 35 x 10⁻¹ ufc/ml em 14 dias e em 28 dias, o animal apresentou ausência de bactérias na pele, bem como o desaparecimento das lesões que existiam.

[0067] Tabela 07: Contagem de ufc/ml por animal.

Animal/	1ª coleta (ufc/ml)	1ª coleta	1ª coleta	1ª coleta
---------	--------------------	-----------	-----------	-----------

Coleta	10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³	10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³
A1	inc - inc - 65	inc - inc - 60	Inc - inc - 33	100 - 28 - 7
A2	Inc - inc - 20	Inc - inc - 33	15 - Ø - Ø	Ø - Ø - Ø
A3	Inc - inc - inc	Inc - 22 - 17	8 - 4 - Ø	7 - 2 - Ø
A4	4 - 2 - 1	1 - 1 - Ø	1 - 1 - Ø	1 - Ø - Ø
A5	9 - 4 - 1	4 - 1 - Ø	2 - Ø - Ø	Ø - Ø - Ø
A6	62 - 12 - 3	35 - 8 - 2	Ø - Ø - Ø	Ø - Ø - Ø
A7	15 - 5 - 2	14 - 3 - 1	3 - 2 - Ø	1 - Ø - Ø
A8	Inc - 11 - 3	12 - 6 - 4	6 - 5 - 4	4 - 2 - 1
A9	Inc - inc - 57	22 - 6 - 2	15 - 4 - Ø	3 - 1 - Ø
A10	21 - 5 - Ø	18 - 7 - 1	5 - 5 - 2	3 - 1 - Ø
A11	6 - 2 - 1	25 - 11 - 1	17 - 8 - 1	6 - 2 - 1
A12	Inc - 35 - 11	23 - 19 - 5	Inc - 14 - 8	4 - 2 - 2
A13	Inc - 18 - 5	Inc - 5 - 4	Inc - 7 - 3	Ø - Ø - Ø
A14	Inc - 35 - 5	Inc - 10 - 5	8 - 3 - 1	8 - 2 - Ø
A15	Inc - inc - inc	7 - 5 - 1	2 - 1 - Ø	2 - 1 - Ø

inc= incontável – grandes quantidades de colônias não sendo possível realizar a contagem; **Ø**= sem crescimento bacteriano.

[0068] Cultivo das bactérias: As bactérias observadas na contagem foram isoladas e identificadas. Bactérias foram cultivadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) por 24 h de 37 °C a 37,5 °C até a fase log por aproximadamente 18-24 h. Os microrganismos foram identificados por citologia e testes bioquímicos. Para a completa identificação das bactérias foi necessário realizar as provas bioquímicas tais como catalase, urease, DNase, teste ágar, Na Cl 5%, fermentação e oxidação de carboidratos e motilidade. Com isso, através dos resultados podemos classificar as bactérias isoladas quanto ao gênero e espécie, nesse caso *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus coagulase negativa* e *Streptococcus sp. Escherichia coli* (MacFadin, 2000).

REIVINDICAÇÕES

1. “COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L. (CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS”, caracterizada pelo fato de compreender em sua formulação os ingredientes que podem variar em porcentagem, sendo eles: Água destilada de 50 a 70%, Dodecil sulfato de sódio a 95% de 10 a 20%; Ácido etilenodiaminotetraacético (edta) de 0,01 a 0,5%; Cloreto de sódio de 1 a 5%; Cocoamidopropilbetaina de 2 a 10%; Glicerina de 2 a 10%; Isotiazolinonas de 0,1 a 0,8%; Essência de canoa free ultra de 1 a 8%; Decocto de *Spondias mombin* L. de 1 a 10%.
2. “COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L. (CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS” de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por conter em sua formulação um decocto de *Spondias mombin* L. (cajá) que apresenta em sua composição água destilada e folhas de *Spondias mombin* L.
3. “COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L. (CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS” de acordo com a reivindicação 1 e 2, caracterizada por conter em sua formulação um decocto de *Spondias mombin* L. (cajá) cujas etapas para preparação consistem em: Etapa 1. Higienização das folhas *Spondias mombin* L.; Etapa 2. Trituração das folhas *Spondias mombin* L.; Etapa 3. Obtenção do decocto a partir da fervura contendo as folhas de *Spondias mombin* L. e água destilada.
4. “COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L. (CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS” de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de compreender em sua formulação os seguintes ingredientes: Água destilada - 68,4%; Dodecil sulfato de sódio a 95% - 13,4%; Ácido etilenodiaminotetraacético (edta) – 0,08%; Cloreto de sódio – 2,1%;

Cocoamidopropilbetaina – 5,0%; Glicerina – 4,2%; Isotiazolinonas – 0,17%;
Essência de canoa free ultra - 5%; Decocto de *Spondias mombin* L. 2%.

5. “COMPOSIÇÃO VETERINÁRIA A BASE DE FOLHA DE SPONDIAS MOMBIN L. (CAJÁ) PARA TERAPIA DERMATOLÓGICA EM ANIMAIS”, de acordo com as reivindicações 1, 2 e 3 caracterizado por utilizar as folhas da planta extraíndo seus compostos por fervura, na qual o decocto produzido é utilizado como antisséptico associado a fórmula de xampu.

DESENHOS

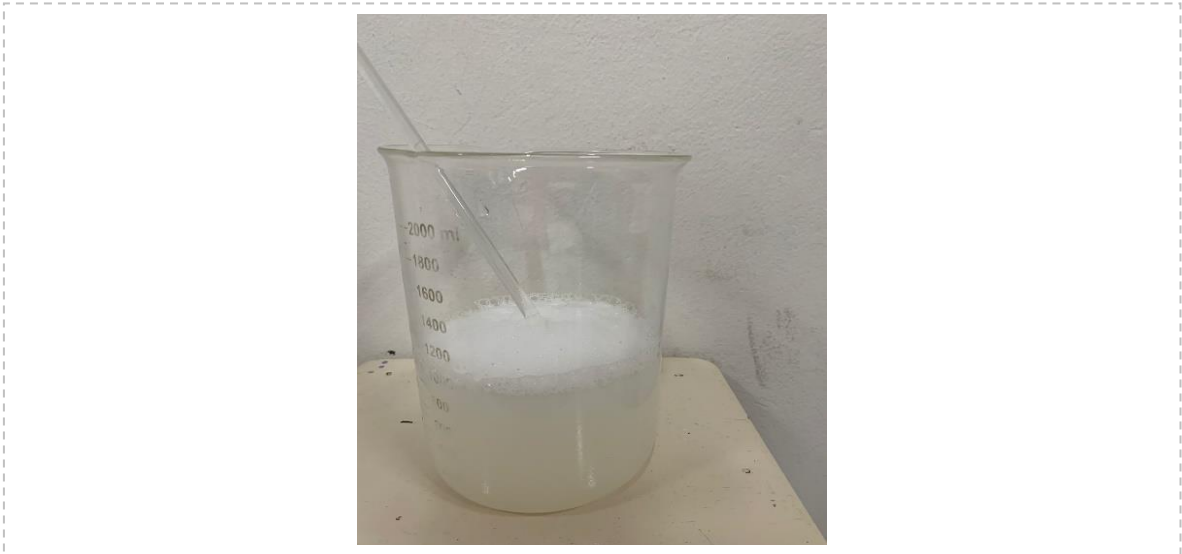


Figura 1 - Solução formada após a adição do dodecil sulfato de sódio a 95%



Figura 2 - Adição de cocoamidopropilbetaina

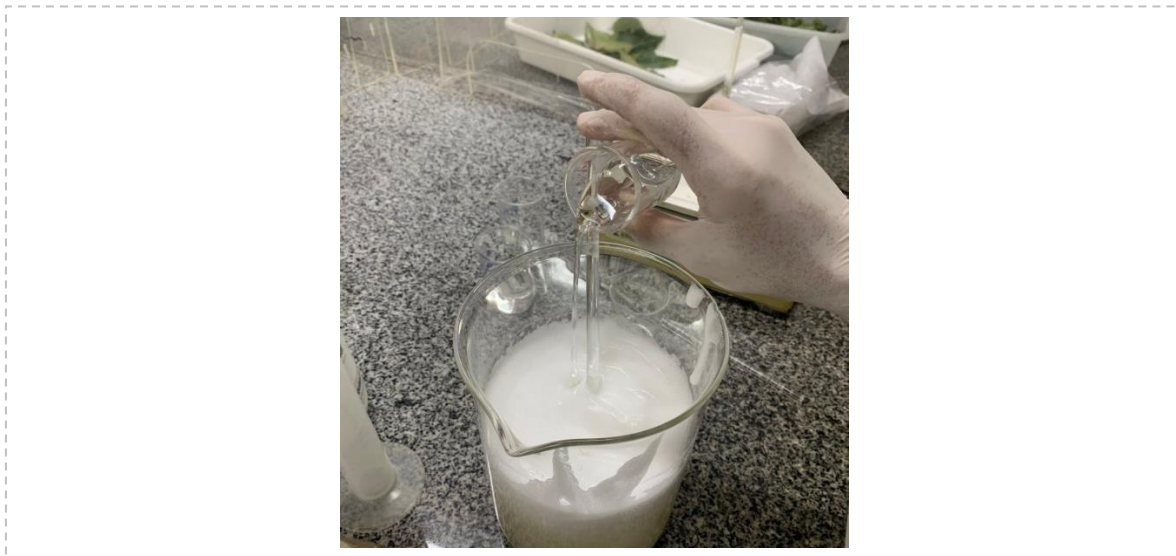


Figura 3 - Adição de ácido etilenodiaminotetraacético (edta)

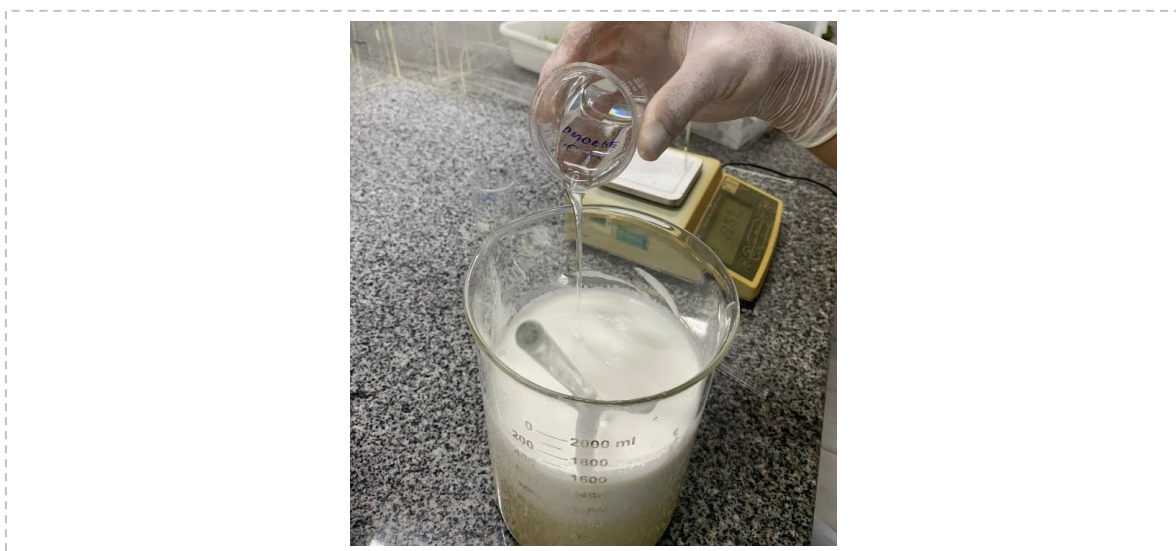


Figura 4 – Adição de glicerina.



Figura 5 – Adição do decocto de *Spondias mombin* L.

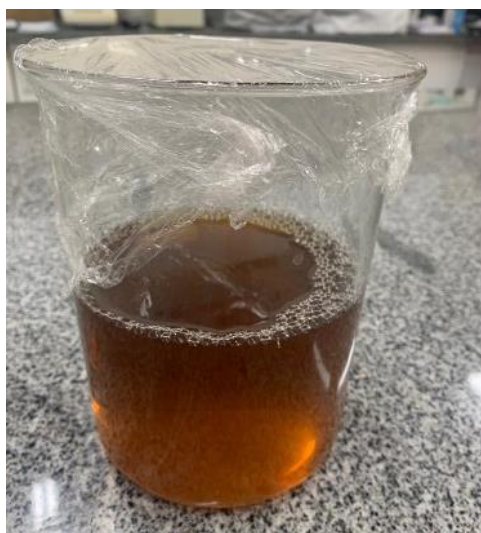


Figura 6 – Solução finalizada após 24h de repouso.