

## AVALIAÇÃO TERAPÊUTICA DO WIN 24.933-2 (derivado hidroximetil do Miracil D) e do A 16.612 (composto de piperazina) NA ESQUISTOSSOMOSE *MANSONI* HUMANA PELO MÉTODO DO OOGRAMA QUANTITATIVO

Aloísio Sales da CUNHA<sup>(1)</sup> e J. Romeu CANÇADO<sup>(2)</sup>

### R E S U M O

Tendo sido demonstrada em animais de laboratório a atividade terapêutica de um composto de piperazina (A 16.612) e de um derivado hidroximetil do Miracil D (Win 24.933-2) nas infecções pelo *Schistosoma mansoni*, os Autores decidiram investigar a ação de tais medicamentos na esquistossomose *mansoni* humana. A avaliação terapêutica do ensaio foi feita pela técnica do oograma quantitativo, por biopsia da mucosa retal. Tomando por base a variação natural do método, concluem os Autores que nas doses usadas, o composto de piperazina (A 16.612) é *inativo* na esquistossomose humana, enquanto o derivado hidroximetil do Miracil D (Win 24.933-2) é *ativo*, interrompendo a oviposição lentamente, mas de modo completo.

### I N T R O D U Ç Ã O

Recentemente, alguns novos medicamentos mostraram-se ativos na terapêutica experimental da esquistossomose *mansoni*. Entre estes estão um composto de piperazina, o A 16.612 e o derivado hidroximetil do Miracil D, o Win 24.933-2 ("Hycanthone").

O preparado A 16.612 é um composto de piperazina, que é quimicamente o N-(3-cloro-4-metilfenil)-N'-(4'-t-amilfenoxi-hexametileno) cloridrato de piperazina, de peso molecular de 493,55, sintetizado pelos Laboratórios Abbott (Illinois, U.S.A.).

Segundo o relatório dos Laboratórios Abbott<sup>5</sup> o A 16.612, administrado na dose de 25 mg/kg/dia, durante cinco dias, mata todos os vermes de camundongos infetados pelo *S. mansoni*.

Por outro lado, NEWSOME & ROBINSON<sup>3</sup>, em extratos de urinas de pacientes em uso do Miracil D, separaram 11 faixas em fita cro-

matográfica, uma das quais era o Miracil D e os outros presumivelmente produtos desconhecidos do seu metabolismo. Em testes "*in vitro*" com o *S. mansoni*, a exposição de sôro de doentes que continha 5 a 6 microgramas por ml de Miracil D exercia ação paralisante sobre os vermes; no entanto, o Miracil D em doses de 10 microgramas por ml não atuava nos parasitas. Sugeriram os Autores que esse medicamento era modificado no organismo em forma de metabólito ativo, como fração ácido solúvel extraída do sôro, responsável pela ação nos *Schistosomas*.

Assim é que STRUFE<sup>8</sup> demonstrou que o Miracil D sofre extensa transformação metabólica em várias espécies de vertebrados e que sua atividade esquistossomicida era mediada através de metabólitos ativos e que variavam de acordo com o hospedeiro: no camundongo era uma *sulfona*, no macaco, um *sulfóxido* e no homem, um *cromopeptide*.

Trabalho da Cadeira de Terapêutica Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil

(1) Docente-livre e Professor Adjunto

(2) Professor Catedrático

O Relatório do STERLING-WINTHROP RESEARCH INSTITUTE<sup>7</sup> revelou que um derivado hidroximetil (“Hycanthone”) era obtido do Miracil através da atividade biológica de um microrganismo, o *Aspergillus sclerotiorum*, e era altamente ativo em hamsters, tanto por via oral como intraperitoneal, sendo considerado o metabólito biológico final ativo do Miracil D, de acordo com ROSI & col.<sup>6</sup>.

PELLEGRINO & col.<sup>4</sup>, em hamsters, camundongos e macacos *Cebus* experimentalmente infetados pelo *S. mansoni* e tratados pelo “Hycanthone” verificaram, através do oograma, que a substância era dez vezes mais ativa em hamsters do que em camundongo.

Nosso objetivo neste trabalho foi determinar, mediante a técnica do oograma quantitativo (CANÇADO & col.<sup>1</sup>) se tais medicamentos, ativos na esquistossomose experimental, seriam também ativos nas infecções humanas do trematódeo.

#### MATERIAL E MÉTODOS

*Grupo I* — Sete pacientes de esquistossomose *mansoni* hépato-intestinal submeteram-se a tratamento com o composto de piperazina A 16.612, nas doses de 50 mg, (dois casos), 75 mg (três casos) e 100 mg/kg/dia (dois casos), por via oral, durante dez dias

seguidos. Os dois pacientes que receberam a dose de 100 mg/kg/dia tiveram o tratamento suspenso no terceiro dia de uso do medicamento, em vista de sérias reações colaterais, em especial para o sistema nervoso central.

*Grupo II* — Quatro pacientes de esquistossomose *mansoni* hépato-intestinal foram tratados com o derivado hidroximetil do Miracil D (Win-24.933-2), nas doses de 2 a 3 mg/kg/dia, por via oral, durante cinco dias consecutivos. Não observamos manifestações de intolerância de grande monta, com exceção de dor e “queimação” epigástricas que cediam com o uso de alcalinos.

Na avaliação do tratamento pela técnica do oograma quantitativo já descrita por CANÇADO & col.<sup>1</sup>, os oogramas foram feitos antes de iniciar-se a terapêutica e depois de seu término, conforme estabelecemos anteriormente (CUNHA & CARVALHO<sup>2</sup>). Em seguida, de posse dos oogramas pré e pós-tratamento, era feito o cálculo do coeficiente de variação (C.V.), considerando ativa a dose da substância que promovesse uma alteração do C.V. para ovos viáveis superior a 60%.

#### RESULTADOS

*Grupo I* — Composto de piperazina (A 16.612). Na Tabela I, relacionamos um ca-

TABELA I

Oogramas quantitativos por biopsia retal para ovos viáveis de dois pacientes tratados com o A 16.612, composto de piperazina, nas doses de 50 mg e 75 mg/kg/dia, por via oral, durante 10 dias

	Antes tratamento	Dias após o tratamento		Análise	
		1	17	S	C.V.
Caso 1, A.L.O. 50 mg/kg/dia Ovos viáveis	40.380	27.727	48.999	10.699	27%
Caso 2, G.P.M. 75 mg/kg/dia Ovos viáveis	Antes 21.758	3 10.070	19 18.358	S 6.003	C.V. 35%

S, desvio médio; C.V., coeficiente de variação

**A 16.612**  
**COMPOSTO DE PIPERAZINA**  
75 mg/kg/dia v.o. durante 10 dias

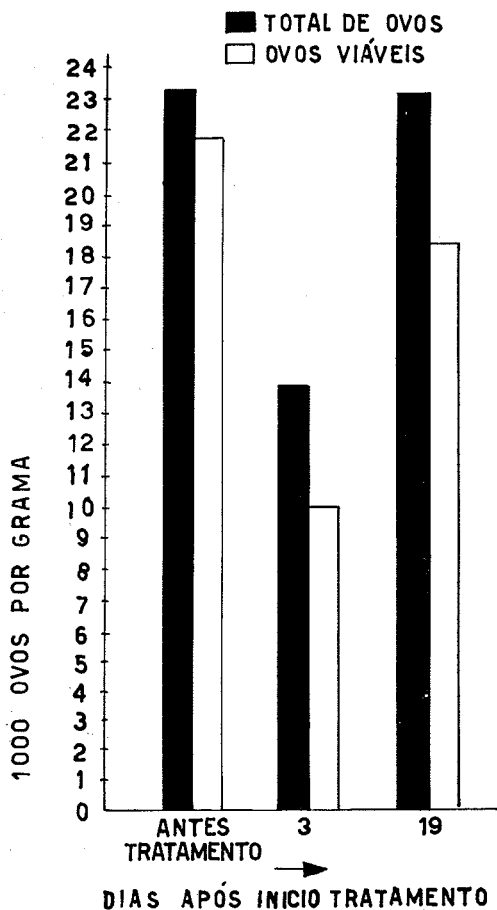


Fig. 1 — Representação esquemática dos oogramas quantitativos do Caso 2, paciente G.P.M., tratado com o A 16.612, de acordo com a Tabela II, no que se refere ao número total de ovos e ao número de ovos viáveis, por g de material removido por biópsia da mucosa do reto

so de cada dose usada, isto é, 50 mg e 75 mg/kg/dia, tendo em vista que os resultados se superpõem. Com a posologia de 100 mg/kg/dia, o tratamento foi suspenso e os pacientes não foram controlados. Para o estudo em pauta, consideramos os oogramas executados antes do tratamento e imediatamente após a terapêutica. Ao lado, a análise estatística que demonstrou um C.V. para ovos viáveis inferior a 60%: 27% para o Caso 1 (50 mg/kg) e 35% para o Caso 2 (75 mg/kg).

A Tabela II e Fig. 1 ilustram os pormenores de um dos casos tratados.

*Grupo II* — Derivado hidroximetil do Miracil D (Win 24.933-2, "Hycanthone").

Na Tabela III, mostramos três dos quatro casos tratados com este medicamento: *Caso 1* (2,2 mg/kg), *Caso 2* (2,7 mg/kg) e *Caso 3* (3 mg/kg). Em todos os casos, da mesma maneira usada para todos os medicamentos, os oogramas quantitativos feitos antes e após o tratamento, permitiram obter um C.V. para ovos viáveis sempre superior a 60%: 115% para o *Caso 1* (2,2 mg/kg), 122% para o *Caso 2* (2,7 mg/kg) e 72% para o *Caso 3* (3 mg/kg).

A Tabela IV e a Fig. 2 ilustram um de nossos casos, com as alterações nos oogramas em minúcias.

**WIN 24.933-2**  
**DERIVADO HIDROXIMETIL**  
2,2mg/kg/dia v.o durante 5 dias

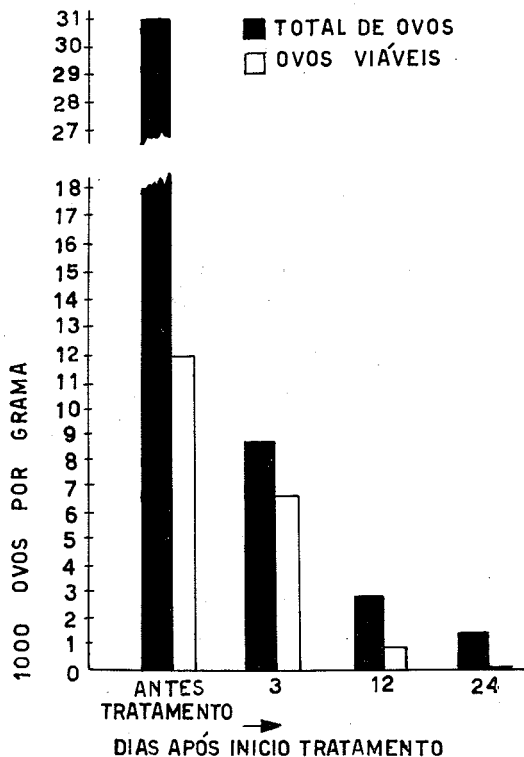


Fig. 2 — Representação esquemática dos oogramas quantitativos do Caso 1, paciente M.H.L., tratado com o Win 24.933-2, de acordo com a Tabela IV, no que se refere ao número total de ovos e ao número de ovos viáveis, por g de material removido por biópsia da mucosa do reto

CUNHA, A. S. da & CANÇADO, J. R. — Avaliação terapêutica do Win 24.933-2 (derivado hidroximetil do Miracil D) e do A 16.612 (composto de piperazina) na esquistossomose *mansonii* humana pelo método do oograma quantitativo. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:118-123, 1968.

TABELA II

Oogramas quantitativos do paciente G.P.M.

Tratado com o A 16.612, composto de piperazina, via oral, na dose de 75 mg/kg/dia, durante 10 dias

Tipos de ovos	Número de ovos por g		
	Antes tratamento	Dias após o tratamento	
		3	19
<b>Viáveis</b>			
imaturos .....	18.500	6.000	12.866
maduros .....	2.878	4.070	5.492
<b>Mortos</b>			
recém-mortos .....	182	2.280	3.120
calcificados .....	1.152	1.438	1.600
granulomas .....	60	0	0
Total .....	22.772	13.788	23.078
Amostra examinada (g) .....	0,066	0,057	0,067

TABELA III

Oogramas quantitativos por biopsia retal para ovos viáveis de três pacientes tratados com o WIN 24.933-2, derivado hidroximetil do Miracil D, nas doses de 2,2 mg, 2,7 mg e 3,0 mg/kg/dia, por via oral durante 5 dias

Caso, M.H.L. 2,2 mg/kg/dia, 5 dias Ovos viáveis	Antes tratamento	Dias após o tratamento			Análise	
		3	12	24	S	C.V.
	12000	6471	805	0	5586	115%
<b>Caso 2, A.S.</b> 2,7 mg/kg/dia, 5 dias Ovos viáveis	Antes tratamento	6	10	20	S	C.V.
	3617	1816	125	0	1700	122%
<b>Caso 3, J.F.S.</b> 3 mg/kg/dia, 5 dias Ovos viáveis	Antes tratamento	6	17	—	S	C.V.
	3761	2787	458	—	1697	72%

S, desvio médio; C.V., coeficiente de variação

CUNHA, A. S. da & CANÇADO, J. R. — Avaliação terapêutica do Win 24.933-2 (derivado hidroximetil do Miracil D) e do A 13.612 (composto de piperazina) na esquistossomose *mansoni* humana pelo método do oograma quantitativo. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:118-123, 1968.

TABELA IV

Oogramas quantitativos do paciente M.H.L.

Tratado com o WIN 24.933-2, derivado hidroximetil do Miracil D, via oral, na dose de 2,2 mg/kg/dia, durante 5 dias

Tipos de ovos	Número de ovos por g			
	Antes tratamento	Dias após o tratamento		
		3	12	24
<b>Viáveis</b>				
imaturos .....	9.400	916	0	0
maduros .....	2.600	5.555	805	0
<b>Mortos</b>				
recém-mortos .....	16.200	1.528	987	457
calcificados .....	2.800	500	260	976
granulomas .....	0	0	694	0
Total .....	31.000	8.499	2.746	1.433
Amostra examinada (g) .....	0,0100	0,0360	0,0385	0,0420

DISCUSSÃO

De conformidade com os resultados obtidos para estes medicamentos, estamos diante de dois fatos bem distintos.

Primeiro, uma substância inativa na terapêutica humana da esquistossomose *mansoni*, o composto de piperazina A 16.612, com um C.V. sempre inferior a 60% e incapaz de interromper a oviposição. Com o aumento da dose para 100 mg por kg/dia, surgiram intensas reações colaterais que impediram o prosseguimento da terapêutica. Está claro que esta substância não oferece qualquer possibilidade para o tratamento da helmintíase.

Por outro lado, o derivado hidroximetil (Win 24-933-2), nas doses empregadas, mostrou-se ativo ao deslocar o C.V. para níveis superiores a 60%, indicando interrupção completa da oviposição (Tabelas III e IV).

Cumpra mencionar ainda, um detalhe importante. Ao analisar os oogramas pós-tratamento, verificamos, logo após o término da

terapêutica com este medicamento, como no caso em exemplo na Tabela IV, três dias depois, persistência de ovos imaturos, inclusive de ovos de primeiro estágio, a refletir postura-recente. No entanto, com o passar dos dias, desapareceram os ovos imaturos e por fim os maduros. Este fato evidencia, sem dúvida alguma, que o derivado hidroximetil do Miracil D é uma substância de ação lenta nos *Schistosomas*. Deste modo, este composto poderá tornar-se mais um medicamento eficaz na terapêutica anti-esquistossomótica.

SUMMARY

*Therapeutic evaluation of Win 24.933-2 (hydroxymethyl derivative of Miracil D) and of A 16.612 (Piperazine compound) in human Schistosomiasis mansoni by the quantitative oogram technique*

Based on the demonstration of therapeutic activity of A 16.612 (piperazine compound)

and of Win 24.933-2 (hidroxymethyl derivative of Miracil D) in experimental animals infected by *Schistosoma mansoni*, the Authors undertook a clinical trial of these drugs, using the quantitative oogram technique of rectal mucosa biopsy snips. They concluded that A 16.612 is *inactive* while Win 24.933-2 is *active*, interrupting oviposition slowly but completely.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CANÇADO, J. R.; CUNHA, A. S.; CARVALHO, D. G. & CAMBRAIA, J. N. S. — Evaluation of the treatment of human *Schistosoma mansoni* infection by the quantitative oogram technique. *Bull. W.H.O.* 33:557-566, 1965.
2. CUNHA, A. S. & CARVALHO, D. G. — Estudo do método do oograma quantitativo na esquistossomose *mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:113-121, 1966.
3. NEWSOME, J. & ROBINSON, D. L. H. — Preliminary observations on metabolites of Lucanthone. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 54:582-594, 1960.
4. PELLEGRINO, J.; KATZ, N. & SCHERRER, J. F. — Oogram studies with Hycanthonone, a new antischistosomal agent. *J. Parasit.* 53: 55-59, 1967.
5. RELATÓRIO: ABBOTT 16.612 — Abbott Laboratories, Latin American Division. North Chicago, Illinois, U.S.A., 1966.
6. ROSI, D.; PERUZZOTTI, G.; DENNIS, E. W.; BERBERIAN, D. A. & ARCHER, S. — A new active metabolite of Miracil D. *Nature* (London) 208:1005-1006, 1965.
7. STERLING — WINTHROP RESEARCH INSTITUTE — A summary of laboratory data on Hycanthonone (Win 24.933-2), a Schistosomicidal agent. New York, Rensselaer, 26 p.p., 1964. Supplement. New York, Rensselaer, 1965.
8. STRUFE, R. — In PELLEGRINO & col., 1967.

Recebido para publicação em 20/9/1967.