

**As sulfonas (Promin e Diasone, e AMGL e AMBS1 do Instituto Butantan) não têm acção bacteriostática, in vitro, sobre os bacilos ácido-alcool resistentes isolados de leprosos, nem sobre o bacilo de Stefansky, in vivo (\*)**

pelo

Dr. H. C. de Souza-Araujo

Logo que surgiram os primeiros trabalhos sobre os efeitos curativos da lepra pelas Sulfonas, os quais eram atribuídos à sua acção bacteriostática ou bactericida, iniciei uma série de experiências para verificar a procedência dessa suposição, cujos resultados passo a expôr.

1 — *Promin* (Diaminodiphenyl sulphone dextrose sodium sulfonate). Este produto que contém 0,4 g do princípio activo por ml, foi diluído em caldo glicerinado a 5% na proporção de 1:100 até 1:16.000. Nestas diluições foi utilizado em quatro séries de tubos, que foram semeados com quantidades iguais (0,1 cm<sup>3</sup>) de cultura em caldo glicerinado das seguintes amostras de bacilos ácido-alcool resistentes isolados de leprosos: "José 1", «José 1a», «Rudan» e «Rossell», e permaneceram na estufa a 37° C o tempo necessário. As culturas «José 1» e «José 1a» (que são utilizadas no fabrico das Leprolinas «S.A.»), germinaram, produzindo véus tênues a partir da diluição a 1:2000, aumentando progressivamente. As culturas «Rudan» e «Rossell» não produziram véus até à diluição a 1:4000, e daí em diante germinaram normalmente. Estas verificações tiveram lugar em Janeiro e Fevereiro de 1947.

Em 1948 (3 de Junho) misturei, num tubo de ensaio, 2 cm<sup>3</sup> de emulsão de leproma de rato (bacilo Stefansky), com 2 cm<sup>3</sup> de *Promin* puro. Após forte agitação foi deixado na estufa a 37° C durante 2 e ½ horas. Retirado o tubo da estufa e agitado de novo foi o seu conteúdo inoculado em dois ratos brancos (2 cm<sup>3</sup> em cada), por via subcutânea, na axila direita. Até 29 de Junho não havia nada palpavel na região injectada. Do 2.º mês

---

(\*) Trabalho lido na 3ª Reunião Anual das Sociedades de Biologia do Brasil, em Salvador, no dia 23 de Agosto de 1949.

NOTA — Este trabalho foi discutido pelo Professor Otto Bier, de S. Paulo.



em diante já havia empastamento. Em 7 de Novembro morreu um dos ratos com tumor característico de lepra murina. No dia 9 de Novembro foi sacrificado o outro, com igual resultado. A lepra se desenvolveu em 5 e  $\frac{1}{2}$  meses, período mínimo para formação de tumores nesse animal. O *Promin* não impediu a infecção.

Em Julho de 1948 misturei, em dois tubos de hemólise, 1 cm<sup>3</sup> de cultura em caldo glicerinado das amostras «José 1» e «Rudan», a 1 cm<sup>3</sup> de *Promin* puro; agitei as misturas e deixei-as na estufa a 37° C durante 24 hs., após o que repiquei-as em meios glicerinados e em meio de Loewenstein. As sementeiras de ambas as amostras germinaram normalmente.

2 — *Diasone* (Diamino-diphenyl-sulphone formaldehyde sulfoxylate). Com um soluto a 1% de *Diasone*, esterilizado por filtração, diluindo-o a 1:1000 e até a 1:10.000, em caldo glicerinado a 5%, fiz quatro séries de experiências, semeando em cada tubo com 10 cm<sup>3</sup> da mistura, 0,1 cm<sup>3</sup> de uma das quatro culturas das amostras acima. No 6º dia de incubação a 37° C os tubos 1 e 2 da 1ª série (Amostra José 1) apresentavam tenuíssima germinação e os tubos 3 a 9 véus bem visíveis; na 2ª série (Amostra José 1a) os tubos 1 a 4 apresentavam início de germinação e os tubos 5 a 9 véus bem visíveis. Na 3ª série somente os tubos 5 a 9 apresentavam véus visíveis (Amostra Rudan). Na 4ª série (Amostra Rossell), do 2º ao 6º tubos início de germinação e véus bem visíveis do 7º ao 9º.

Os 4 tubos testemunhas, das 4 séries, germinaram abundantemente.

À última leitura no 30º dia (27-3-47): Tôdas as quatro séries apresentavam germinação sob a forma de esbôço de véus nos tubos 1 e 2; véus tênues nos tubos 3 a 5 e véus espessos, totais, amarelos, nos tubos 6, 7 e 8. Nos tubos testemunhas os véus eram mais espessos e mais cromogênicos e havia depósito. Praticamente a *Diasone* não mostrou acção bacteriostática.

No dia 3 de Junho de 1948 misturei, em dois tubos de hemólise 2 cm<sup>3</sup> de emulsão fresca de leproma de rato com 2 cm<sup>3</sup> de *Diasone* (soluto de 2 comprimidos de 0,3 gr em 10 cm<sup>3</sup> de água destilada esterilizada). Agitei-os bem e deixei-os na estufa a 37° C durante 2 e  $\frac{1}{2}$  horas. Dessa mistura, após nova agitação, foram injectados 2 cm<sup>3</sup> na axila de 2 ratos brancos. Durante o 1º mês não apareceu nada palpavel. Do 3º mês em diante notou-se empastamento que terminou na formação de tumores característicos da doença de Stefansky. Sacrificados êsses dois ratos a 9 de Novembro (5 e  $\frac{1}{2}$  meses depois de inoculados), verificámos em ambos grandes tumores cujos esfregaços revelaram o bacilo de Stefansky.



Em Julho de 1948 misturei num tubo de hemólise 1 cm<sup>3</sup> de soluto de *Diasone* com 1 cm<sup>3</sup> de cultura em caldo glicerinado da amostra «José 1». Noutro tubo misturei 1 cm<sup>3</sup> do soluto de *Diasone* com 1 cm<sup>3</sup> da cultura «Rudan». Após forte agitação êsses tubos permaneceram na estufa a 37° C durante 24 horas. Retirados da estufa e agitados de novo, foram essas misturas semeadas em meios glicerinados e em Loewenstein. Ambas essas culturas germinaram normalmente após alguns dias de incubação a 37° C. Nessas condições a *Diasone* não teve acção bacteriostática.

*Sulfonas do Instituto Butantan* — Graças à gentileza do ilustre químico Sr. Francisco Bérti, do Instituto Butantan, pude realizar duas séries de experiências com duas das Sulfonas por êle preparadas naquele Instituto: A.M.G.L. a 30% e A.M.B.S.1 a 28% (esta da partida VII de 4-7-49).

Cada um dêsses produtos foi diluído em caldo glicerinado na proporção de 1:10 (1° tubo) até a 1:12800 (9° tubo). As diluições foram feitas, gentilmente, pelo Dr. Amadeu Cury, da Secção de Micologia. Em cada tubo, inclusive um tubo testemunha de cada série, semeei 0,1 cm<sup>3</sup> da cultura em caldo glicerinado do bacilo ácido-alcool resistente isolado por mim de leproso (Amostra José 1). Após agitação foram os tubos incubados a 37° C durante 10 dias (21-7 a 1°-8-49). A partir do 5° dia se notava ligeira germinação sob a forma de tênue véu do 2° ao 9° tubos das duas séries, mais exuberantemente nos tubos testemunhas. No 10° dia a série AMGL apresentava nos tubos 1 e 2 (1:10 a 1:100 do soluto a 30%) ligeiro véu apenas visível na parede dos tubos; no 3° tubo (1:200) véu tênue cobrindo totalmente o meio. Nos tubos 4 a 9 a germinação foi quase tão exuberante quanto no tubo testemunha: véu denso, total, amarelado, subindo cerca de 1 cm pela parede dos tubos. O meio se conservou límpido, prova de ausência de contaminação.

A série AMBS1 apresentava tênue véu ao redor do tubo 1 (1:10 do soluto a 28%) e a partir do tubo 2 ao 9°, véu denso, cobrindo totalmente o líquido, tão exuberante quanto no tubo testemunha. Êsses produtos não têm, portanto, acção bacteriostática sobre a cultura de bacilo ácido-alcool resistente mais típica da minha colecção.

## CONCLUSÕES

1 — O *Promin* na diluição de 1:2000 e 1:4000 inibiu a formação de véus nas semeaduras de quatro amostras de culturas de bacilos ácido-alcool resistentes isolados de leprosos.



2 — A *Diasone* não impediu a germinação dessas quatro amostras de cultura em idênticas condições.

3 — Misturas de emulsão fresca de leproma Stefansky com partes iguais de *Promin* e *Diasone* inoculadas em ratos brancos produziram, em 5 e  $\frac{1}{2}$  meses, tumores característicos da lepra murina. Essas sulfonas não reduziram o poder infectante do bacilo de Stefansky.

Manguinhos, 20 de Agosto de 1949.