AÇÃO VERMICIDA DO ÓLEO DE CAJÚ (*ANACARDIUM OCCIDENTALE*) E DERIVADOS. EXPERIÊNCIAS EM CÃES (*)

POR ARISTOTERIS T. LEÃO & F. W. EICHBAUM (**)

(*Do Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*)

No "Répertoire des plantes utiles", publicado em 1836, E. A. Duchèsne (1) menciona a aplicação do óleo da castanha de cajú — fruto do cajueiro — (*Anacardium occidentale*) no tratamento das verminoses, sem no entanto, dar qualquer esclarecimento.

Dujardin-Beaumetz et Égasse (2) num livro publicado em 1889 citam o uso de uma tintura de óleo de cajú a 10% para o mesmo fim, dando como dose ativa 2-10 gotas, desta tintura. Estes autores salientam ainda que o óleo não irrita as mucosas gastro-intestinais, apesar de possuir uma forte ação vesicante sôbre a pele. Também os dicionários modernos de plantas medicinais (3 e 4) citam a tintura do óleo de cajú como vermífugo, mas não conseguimos localizar um único trabalho clínico ou experimental que fornecesse dados mais concretos sôbre êste assunto. Também nenhum dos tratados modernos sôbre drogas vermicidas incluem esta substância na discussão.

O nosso interêsse para o óleo de cajú e sua possível aplicação como vermifugo foi despertado pelos recentes trabalhos de um de nós (Eichbaum) (5, 6) que verificou uma forte ação vermicida *in vitro,* do ácido anacárdico, o qual constitui um dos componentes principais do óleo do cajú. Ao lado do ácido anacárdico, representando cêrca de 50% do óleo, êste contém ainda Cardol e Anacardol, além de taninos e certos produtos de polimerização. Observações ocasionais de uma ação vermicida em ratos e cobaios estimularam ainda mais o interêsse de examinar-se intensivamente a atividade destas drogas em outros animais e no homem.

Serviu de material para as observações contidas neste trabalho o óleo de cajú fornecido por uma firma comercial e proveniente do norte do país. O óleo é contido no pericarpo dos frutos de *Anacardium occidentale* e é recolhido,

---

(*) Trabalho apresentado na 1.ª Reunião Conjunta das Sociedades de Biologia do Brasil, de 2 a 6 de Setembro de 1946.

(**) Estagiario.

Recebido para publicação em 4 de Dezembro de 1946.

comercialmente, por um processo de aquecimento que faz arrebentar as castanhas deixando em liberdade o óleo. Além do óleo puro, foram ainda usados: ácido anacárdico, anacardato de sódio, anacardol, a fração cardol-anacardol, que denominaremos doravante de "fração anácida", representando a parte sobrenadante depois da precipitação do ácido anacárdico pelo hidróxido de chumbo.

A composição do óleo de cajú pode ser esquematizada da maneira seguinte:

O ácido anacárdico foi usado tanto como ácido puro, como sob a fórma do sal sódico (anacardato de sódio).

Tôdas as substâncias purificadas foram preparadas na Seção de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, pelo Prof. H. Hauptmann e Srta. Hanna Rothschild. Pormenores dos caractéres físico-químicos dos mencionados produtos e os métodos de sua preparação foram descritos por Eichbaum, Hauptmann e Rothschild (7).

Após observações *in vitro* com várias concentrações de anarcadato de sódio que mostraram ação nitidamente vermicida sôbre *Ancylostoma caninum, Trichuris vulpis* e *Toxocara canis*, resolvemos iniciar experiências *in vivo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Para êste fim usamos cães num total de 26 que nos foram fornecidos pela Prefeitura da Capital. Não levamos em consideração quer a raça, sexo ou côr dos animais e todos faziam parte dos chamados "vira lata" que são capturados diariamente nas ruas da Capital.

Para a verificação do grau de infestação usamos exclusivamente o método original de Stoll (8), porém ao em vez de uma lâmina contavamos duas, diminuindo assim, ainda mais, as possiveis causas de erro. Faziamos sempre três contagens antes (às vêzes quatro e raramente duas) e três depois (às vêzes quatro ou cinco e raramente duas), em dias seguidos, da medicação. Levamos

sempre em consideração a consistência das fezes, tomando como base fezes "formadas", portanto multiplicavamos o número de ovos encontrados por 2 quando em face de fezes moles e por 4 quando diarréicas. Não fizemos verificação quanto ao número de vermes expulsos. Os nossos números se referem, portanto, ao número de ovos encontrados antes e depois da medicação, bem como ao número de vermes encontrados depois da necropsia.

Para comparação quanto ao número de ovos por grama de fezes, fizemos contagens em 6 cães não tratados os quais foram posteriormente sacrificados e os seus vermes contados. Estes resultados são referidos no quadro No. 1, os quais servirão de base para os nossos cálculos. Como mostra esta tabela, no

QUADRO I

(relação ovo-verme por grama de fezes)

(Ancylostoma)

Cão No.	No. médio de ovos por grama	Vermes encontrados	N.o de ovos por verme
10	6.383	193	33
18	10.966	137	80
37	3.666	23	159
40	4.189	19	220
41	2.837	22	129
42	7.462	45	165
Total — 6	35.501	439	786
Média por cão	5.912	73	131

caso de *Ancylostoma*, a relação verme-ovo por grama de fezes é de 1:130; no caso de *Trichuris* esta relação é aproximadamente de 1:25, precisando-se ainda de mais dados estatísticos para apurar êstes resultados obtidos em número relativamente pequeno de animais. Quanto à relação ovo-verme de *Toxocara* não temos elementos suficientes para uma comparação exata ou mesmo aproximada, bastando-se os nossos resultados somente nos exames pré e post-medicação dos cães Nos. 13, 25 e 39.

Nenhum dos cães tratados mostrou, durante o tempo de observação, que variou de 5 dias a 4 semanas, sinal de intoxicação.

Para controlar o efeito vermicida nos cães tratados êstes eram sacrificados 3-4 dia após a medicação, o intestino e o estômago foram dessecados para a verificação da presença ou ausência de vermes. Depois da inspecção macroscópica dos órgãos parenquimatosos, pedaços de fígado, rim, baço, coração, pulmão, intestino e estômago eram retirados e fixados em formol-fisiológico a 10% e submetidos a exame microscópico (córtes histológicos corados pelo sudan-hematoxilina e eosina-hematoxilina).

Em alguns casos (4 cães tratados e 2 de contrôle) foram feitos testes funcionais de fígado, a saber a reação de Takata, o teste da floculação da cefalina (Hanger) e a determinação da bilirubina, direta e indireta no sôro (Tabela I e II).

Para fins de estudos toxicológicos aplicamos nos cães Nos. 14, 15, 17, 28 e 36 quantidades de drogas (óleo puro, ácido anacárdico) variando de 6 a 40 cm^3, aplicadas 1-2 vêzes no período de 14 dias. Os animais assim tratados foram sacrificados e autopsiados 3-4 semanas após o início do tratamento.

Todos os cães destinados ao tratamento receberam a última ração às 14 horas, permanecendo sem receber novo suprimento até às 9 horas do dia seguinte quando então eram medicados.

As substâncias enumeradas mais detalhadamente nos protocolos, eram aplicadas por via gástrica, seja por meio de cápsulas gelatinosas contendo cada uma 1 cm^3 da droga, seja por meio de sonda. Fóra das quantidades excessivas, aplicada com o fim de verificar a toxidez, as doses variaram de 2½ a 8 cm^3, levando para tanto, em geral, em consideração o pêso do animal, não se considerando, entretanto, com rigor êste ponto.

Como referimos linhas atrás as nossas experiências preliminares *in vitro* foram realizadas usando-se o sal sódico do ácido anacárdico (anacardato de sódio) razão pela qual também as primeiras experiências *in vivo* foram feitas com êste sal.

Não sendo animadores os resultados obtidos, passamos a ensaiar, em seguida, o óleo puro tendo como veículo u'a emulsão de goma arábica (julepo gomoso) e que será sempre referido como "emulsão". Aqui os resultados foram bastantes encorajadores, o que nos levou a insistir nas experimentações.

Passamos em seguida a experimentar o óleo puro (sem nenhuma mistura), sôbre o qual mais insistimos pelo fato de obtermos resultados plenamente satisfatórios. Pesquisamos ainda a ação do ácido anacárdico, ácido anacárdico

TABELA I

Oe resultados dos exames histológicos são resumidos na tabela seguinte

Cão No.	Pêso	Medicação oral	Autopsia ...dias após últ. medicação	Histologia	
				Fígado	Rim
14	18 kg	2x100 cm³ de emulsão c/ intervalo de dois dias	7	Coloração marron laranja difusa das células hepáticas. Vacuolização + óleo nos grandes ductus biliares ++	Glomerulos: normais; acumulação (eliminação) do óleo em quasi todos túbulos contortos e na alça de Henle +++
15	12 kg	Idem	1	Vacuolização das células hepáticas +. Óleo nos grandes ductus biliares ++	Glomerulos: normais; óleo nos túbulos contortos e na alça de Henle +
17	22 kg	2x125 cm³ de emulsão c/ intervalo de dois dias	3	Vacuolização das células hepáticas +++. Acumulação de óleo nas cél. reticul. ++	Óleo nos glomerulos ++. Óleo nos túbulos contortos e na alça de Henle ++.
28	7 kg	15 cm³ de óleo puro	16	Vacuolização das células hepáticas +++. Óleo nas cél. reticul. ++ e nos grandes ductus biliares +++.	Fraca coloração difusa marron-laranja dos tub. ret. (alça de Henle) e contortos.
11 kg	35	7 cm³ de ácido anacárdico	4	Vacuolização das células hepáticas 0. Células hep. c/ lig. col. laranja difusa. Óleo nos grandes ductus biliares ++.	Óleo em isolados glomerulos +; lig. col. laranja difusa dos túbulos contortos.
36	6 kg	6 cm³ de óleo puro	1 h 30'	Vacuolização das células hepáticas ++. Óleo nos grandes ductus biliares +-++.	Glomerulos: normais; óleo nos túbulus contortas +, na alça de Henle ++-+++.
Normal I	18 kg	Não recebeu tratamento	.....	Inchação turva das cél. hept.; infiltr. gordurosa + na periferia dos lóbulos.	Nefrite intersticial +. Glomerulos: normais.
Normal II	15 kg	Idem	.....	Ligeira vacuolização das cél. hept. +. Infiltr. gordurosa na perif. dos lóbulos +-++.	Glomerulos, túbulos contortas e retos de aspecto normal.

TABELA II

Provas funcionais de fígado

Cão No.	Pêso	Medicação	Bilirubina mg.	Bilirubina direta	Cefalina 24 hs.	Cefalina 48 hs.	Takata
Normal I	?	Sem medicação	0,305	neg.	++++	++++	++
Normal II	?	Idem	0,278	neg.	++++	++++	+
28	7 kg	15/6/46: 15 cm³ de óleo puro	a 18/6/46: 18/6/46:	neg.	++++	++++	neg.
29	7½ kg	6/6/46: 2,5 cm³ de anacardol. 13/6: anacardol. 18/6: 3 cm³ fração anacida + 3 cm³ ácido anacárdico	0,204	neg.	+	++++	++
31	10 kg	13/6/46: 6 cm³ fração anácida. 18/6: 3 cm³ fração anácida + 3 cm³ ácido anacárdico	18/6/46 0,250 27/6/46: 0,370	neg. neg.	++++ +	++++ ++++	neg. +
6½ kg	32	13/6/46: 6 cm³ fração anácida. 18/6: 3 cm³ fração anácida + 3 cm³ ácido anacárdico	18/6/46 0,398 27/6/46: 0,241	neg. neg.	++++ +	++++ ++++	neg. +

+ fração anácida, fração anácida e, finalmente, em um único caso, o anacardol. Todas as experiências foram feitas de acôrdo com o esquema seguinte:

TABELA III

(*exemplificação das diversas experiências*)

Cão No. 22 — *Peso: 11½ kg* — Data: 21/5/46

Diagnóstico	Ancylostoma	
	Trichuris	
No. médio de ovos por grama de fezes	Ancylostoma	177320
	Trichuris	1040
No. de vermes que devia existir	Ancylostoma	1353
	Trichuris	42

TRATAMENTO

A 23/5/46 recebeu 5 cápsulas de óleo puro (= 5 cm³)

		Redução
1.ª contagem (24/5/46)	Ancylostoma: 800 ovos	99,55%
	Trichuris: negativo	100 %
2.ª contagem (27/5/46)	Ancylostoma: 100 ovos	99,9 %
	Trichuris: 800 ovos	23,1 %

Sacrificado a 27/5/46: — Redução

Ancylostoma: Havia 2 ♂♂ e 2 ♀♀ da espécie *Ancylostoma braziliense* — 99,8%

Trichuris: Havia 3 ♀♀ e 1 ♂ ..... — 90,5%

RESULTADOS

1) *Ação vermicida do anacardato de sódio.* Nas experiências com o anacardato de sódio usamos sómente 2 cães, os quais receberam 1.1 e 1.2 g respetivamente. Não foram feitas contagens de ovos antes da medicação, baseando-se, por isso, os resultados apresentados, sómente na positividade ou negatividade dos exames de fezes posteriores ao tratamento e após o sacrifício do animal. Resulta daí não termos elementos seguros para julgar o valor real da droga empregada, excepto que nas dóses usadas não teve efeito decisivo em nenhuma espécie dos seguintes vermes: *Ancylostoma, Trichuris* e *Dipylidium*.

2) *Ação vermicida da "emulsão".* Denominamos "emulsão" á mistura de julepo gomoso contendo 20% de óleo puro. Pensando numa possível ação irritante sôbre as mucosas gástricas e entéricas foi que lançamos mão da mistura acima referida, imaginando que assim poderiamos contornar, em certo grau, aquêle efeito desagradavel, bem como servir de corretivo.

Quadro II

Resumo dos resultados obtidos com "emulsão"

Cão		NOPG			NTV			Tratamento		NDUM	NOPG			ROF			Autopsia						
																	VE			RV			
No.	Pêso (kg)	A	Tr	To	A	Tr	To	Dr	Dg		A	Tr	To	A	Tr	To	A	Tr	To	A	Tr	To	
5	?	10.500	200		80	8		E	50 cm³	6	100	0		99,1%	100%		18	0		77,5%	100%		Havia 1 exemplar de *Dipylidium*
6	?	3.000			23			"	"	7	0			100%			5			78,3%			
7	11	1.100	100		8	4		"	"	2	0	300		100%	0%		6	0		25%	100%		
8	7	10.920			83	1		"	30 cm³	2	0	0		100%	100%		0	1		100%	?		
9	6	14.400	1.900		109	76		"	30 cm³ + 60 cm³	3	200	0		98,7%	100%		8	0		92,7%	100%		
11	8½	7.433	166		56	6		"	50 cm³	4	0	0		100%	100%		0	6		100%	?		
12	11	3.700	66		28	3		"	"	3	400	0		89,2%	100%		13	1		54%	66,7%		
13	13	16.000		Não contados	127		?	"	"	3	0		0	100%		100%	0		0	100%		100%	

LEGENDAS:

NOPG = No. de ovos por grama de fezes
NDUM = No. de dias depois da última medicação
NTV = No. teórico de vermes
ROF = Redução dos ovos nas fezes
RV = Redução dos vermes
VE = Vermes encontrados
E = Emulsão

Dr = Droga
Dg = Dosagem
A = Ancylostoma
Tr = Trichuris
To = Toxocara
OP = Óleo puro

Quadro III

Resumo dos resultados obtidos como óleo puro de cajú

Cão		NOPG			NTV			Tratamento		NDUM	NOPG			ROF			Autopsia						
																	VE			RV			
No.	Pêso (kg)	A	Tr	To	A	Tr	To	Dr	Dg		A	Tr	To	A	Tr	To	A	Tr	To	A	Tr	To	
16	15	4.280	33		33	2		OP	8 cm³	4	100	0		97,7%	100%		3	1		91%	50%		
20	8	6.400	2.200		48	88		"	4 cm³ + 4 cm³	3	150	0		97,7%	100%		6	0		87,5%	100%		
21	10	6.500	383		46	15		"	6 cm³	3	250	50		95,9%	97%		1	1		97,9%	93,4%		
22	11½	117.320	1.040		1.353	42		"	5 cm³	4	100	800		99,5%	23,1%		4	4		99,8%	90,5%		*A. brasiliense*
23	2½	88.800	266		677	10		"	2,5 cm³	4	0	0		100%	100%		0	4		100%	60%		Amanheceu morto 9 dias após a medicação
24	10	11.518			87			"	6 cm³	3	0			100%			2			97,7%			Havia 2 ♂♂ de *Trichuris*
25	6	2.600		633	19		?	"	5 cm³	3	0		0	100%		100%	0		0	100%		100%	
27	5½	4.083	2.350		31	94		"	6 cm³	28	0	0		100%	100%								Não foi sacrificado
28	7	6.175	150		47	6		"	15 cm³	16	—	—		—	—		0	0		100%	100%		Havia cêrca de 1 dezena de *Dipylidium.*
39	8	4.683	200	50	36	8	?	"	6 cm³	4	50	0	0	99%	100%	100%	2	6	0	94,5%	25%	100%	
Médias gerais	8,35	312,36	622,2	68,3	237,7	26,5	?		6,75	7,2	65	85	0	98,8%	77,5%	100%	18	16	100%	96,5%	74,1%	100%	

LEGENDAS:

NOPG = No. de ovos poo grama de fezes
NDUM = No. de dias depois da última medicação
NTV = No. teórico de vermes
ROF = Redução dos ovos nas fezes
RV = Redução dos vermes
VE = Vermes encontrados
E = Emulsão

Dr = Droga
Dg = Dosagem
A = Ancylostoma
Tr = Trichuris
To = Toxocara
OP = Óleo puro

Usamos um total de 8 cães cujos resultados foram sintetizados no Quadro II. Sôbre o *Ancylostoma* os resultados foram sempre bons, dando uma percentagem de redução elevada, em geral acima de 77,5%, excepto num cão (No. 7) que foi apenas de 25%. Em *Trichuris* foram os resultados obtidos igualmente animadores, elevando-se em geral a 100% a percentagem de redução, salvo no cão No. 11, sôbre o qual parece não ter agido (ver Quadro II).

3) *Ação vermicida do "óleo puro"*. O óleo puro da castanha de cajú,sem nenhuma mistura, era administrado por meio de cápsulas gelatinosas ou sonda gástrica. As cápsulas continham sempre 1 cm³ da substância. Nas experiências com o óleo puro utilizamos 10 cães nos quais, aparentemente, houve tolerância perfeita. Sôbre o *Ancylostoma* agiu bem, dando uma percentagem de redução acima de 95%, excepto no cão No. 20 que foi apenas de 87, 5%. Em relação aos *Trichuris* também foi elevada a percentagem de redução, salvo em 2 casos em que foram baixas, sendo 1 de apenas 25% (cão No. 39) e outro de 50% (cão No. 16). Também em 2 casos infestados com *Toxocara* obtivemos uma eliminação total. Damos, em resumo, no Quadro III. os resultados alcançados. [a])

4) *Ação vermicida do "ácido anacárdico"*. Foram usados sómente 2 cães, Nos. 34 [b]) e 35 [c]). No animal No. 34 houve uma redução no número de ovos de cêrca de 78, 9% em relação ao *Ancylostoma*, e de 100% em relação ao *Trichuris*. Este cão foi posteriormente medicado com o óleo puro o que resultou uma redução de 94,8% em relação ao *Ancylostoma*. O animal No. 35 estava infestado só com *Ancylostoma*, dando uma redução final de 100%. O protocolo seguinte serve para exemplificar o andamento das diversas experiências (Tabela II)

5) *Ação vermicida da "fração anácida"*. As experiências com a fração anácida (cardol-anacardol) absorveram sómente 3 cães, Nos. 31, [d]) 32 [e]) e 33), [f] pois os resultados obtidos não foram encorajadores. Nos cães, Nos. 31 e 33 a droga foi destituida de qualquer ação. Embora no cão No. 32 parecesse, em principio, haver certa redução no número de ovos, este chegou a se elevar a 29.500 por grama de fezes, o que veio confirmar o valor negativo das experiências, pelo menos é o que podemos afirmar, levando em consideração as dóses administradas.

---

a) a quantidade de óleo puro aplicada variou entre 2.5 — 8 cm³, de acordo com o peso dos animais (2.5 — 15 kg).

b) quantidade aplicada de ácido anacardico no cão No. 34 (8 kg) = 5 cm³.

c) quantidade de ácido anacardico aplicada no cão No. 35 (11 kg) = 7 cm³.

d) quantidade de poção anácida aplicada no cão No. 31 (10 kg) = 6 cm³.

e) quantidade de poção anácida aplicada no cão No. 32 (6.5 kg) = 9 cm³.

f) quantidade de poção anácida aplicada no cão No. 33 (7.5 kg) = 6 cm³.

Os cães Nos. 31 e 33 receberam então 5 e 7 dias respectivamente, depois, 6 cm.³ de óleo puro, apresentando em seguida uma redução de 100%. O cão No. 32, 5 dias após a medicação pela fração anácida, recebeu u'a mistura de 3 cm³ de ácido anacárdico + 3 cm³ da fração anácida, o que conduziu em 2 dias a um desaparecimento quase total de todos os vermes (*Ancylostoma* e *Trichuris*).

Os resultados assim obtidos foram praticamente iguais áqueles obtidos com o oleo puro.

TABELA IV

Exemplo de uma experiência mista (aplicação de ² drogas)

Cão No. 34 — *Pêso: 8 kg* — Data: 11/7/46

Diagnóstico	Ancylostoma	
	Trichuris	
No. médio de ovos por grama de fezes	Ancylostoma	7560
	Trichuris	140
No. de v. q. teoric. devia existir	Ancylostoma	57
	Trichuris	6

TRATAMENTO

A 15/7/46 recebeu 6 cápsulas de ácido anacárdico

		Redução
1.ª contagem (16/7/46)	Ancylostoma: 9.050 ovos	0 %
	Trichuris: 50 ovos	64,3%
2.ª contagem (19/7/46)	Ancylostoma: 3.600 ovos	52,4%
	Trichuris: negativo	100 %
3.ª contagem (23/7/46)	Ancylostoma: 2.500 ovos	77 %
	Trichuris: negativo	100 %
4.ª contagem (24/7/46)	Ancylostoma: 3.350 ovos	55,7%
	Trichuris: negativo	100 %
5.ª contagem (25/7/46)	Ancylostoma: 1.600 ovos	78,9%
	Trichuris: negativo	100 %

A 25/7/46 recebeu 6 cápsulas de óleo crú

1.ª contagem (26/7/46)	Ancylostoma: 1.650 ovos	78,2%
	Trichuris: negativo	100 %
2.ª contagem (31/7/46)	Ancylostoma: 100 ovos	98,7%
	Trichuris: negativo	100 %
3.ª contagem (1/8/46)	Ancylostoma: 50 ovos	99,4%
	Trichuris: negativo	100 %

Sacrificado a 1/8/46:

Ancylostoma: Havia 2 ♂♂ e 1 ♀	94,8%
Trichuris: negativo	100 %

RESULTADOS DAS AUTOPSIAS

Macroscópico

O aspecto do estômago e do intestino delgado e grosso não mostrou nada de anormal em caso algum: ausência de qualquer irritação local. Também os órgãos parenquimatosos: fígado e rim, baço, pulmão, coração, etc. ofereceram aspecto perfeitamente normal.

Microscópico

Exame microscópico do rim, fígado, baço, pulmão, coração, estômago, intestino de 6 cães tratados (Nos. 14, 15, 17, 28, 35 e 36) e de 2 cães não tratados (I e II).

Fixação em forma a 10% durante 48 horas e coloração pelo sudan III-hematoxilina (cortes de congelação) e hematoxilina-eosina (cortes de parafina).

Visto que o óleo de cajú e o ácido anacárdico formam com o sudan um complexo de côr marron-laranja, a sua presença pode ser facilmente identificada nos cortes histológicos. Uma certa dificuldade de identificação encontramos somente no baço, onde tinha também nos cães não tratados numerosos pigmentos hematogênicos, que em geral apresentam, aliás, uma coloração mais escura, sem o nape de laranja.

Assinalando nos protocolos a presença do óleo em certas células, deixamos aberto, si se trata de fato do óleo sob a forma aplicada, ou de produtos secundários formados no organismo (*).

Estômago e intestino: mostraram em todos os casos uma mucosa intacta, sem qualquer sinal de irritação local.

Coração e pulmão: de aspecto normal.

Baço: Em alguns casos dos animais tratados verificou-se intensa deposição de um pigmento marron-escuro no reticulo, que aliás foi encontrado também no baço de um dos cães não tratados (contrôle).

Fígado: O fígado dos animais não tratados mostrou uma ligeira infiltração gordurosa, principalmente na periferia dos lóbulos, notando-se ainda uma inchação turva na maioria das células parenquimatosas. Quatro dos seis animais tratados com altas doses de óleo apresentaram uma difusa vacuolização das

(*) Deve-se lembrar que o óleo de cajú forma complexos com a formalina, fato êste muito usado na fabricação de substâncias plásticas na base do óleo.

células parenquimatosas e uma deposição do óleo nas células de Kupfer e nos histiocitos do campo peri-portal. A maior acumulação do óleo notou-se nos epitelios dos grandes dutos biliares, que estavam infartados com gotículas oleosas. O grau de vacuolização não mostrou relação nítida com a quantidade de óleo aplicada por kg de pêso corporal Tabela I). Assim, um cão tratado com 2 x 100 cm^3 de u'a emulsão de óleo a 20% (cão No. 15) apresentou um fígado praticamente normal, na autopsia 1 semana após a última ingestão do óleo; outro animal (No. 28) tratado com 15 cm^3 de óleo puro e sacrificado 16 dias após, revelou um alto grau de vacuolização das células hepáticas.

Rim: Cães não tratados:

Cão I — nefrite intersticial
Cão II — sem particularidades

Cães tratados: Em todos os casos verificou-se uma acumulação intensa de óleos nos túbulos contortos e mais fracamente na alça de Henle. No interior dos capilares do glomerulo só raramente foram encontrados maiores quantidades de gotículas de óleo. Fóra disso, as células parenquimatosas não apresentaram nenhum sinal de lesão.

O número dos exames histológicos não é suficiente para se chegar a uma conclusão definitiva, tanto mais que os cães não tratados mostraram certas alterações das células hepáticas que não podem ser consideradas normais.

Nos cães tratados impressiona que a maioria mostre uma vacuolização mais ou menos generalizada das células hepáticas, indicando um certo comprometimento do parenquima; seriam necessárias observações em maior número de animais e com um tempo mais dilatado de observação para se poder apurar êstes achados.

Quanto à acumulação (eliminação?) do óleo nos grandes dutos biliares e no rim, impressiona o fato que mesmo nos cães sacrificados 7-16 dias depois da última medicação o óleo aparentemente ainda não havia sido inteiramente eliminado.

Como mostra a Tabela II, praticamente não existe diferença nos resultados dos testes funcionais de figado obtidos dos cães normais e dos cães tratados. A bilirubina direta foi negativa em todos os casos; a dosagem da bilirubina em mg deu em todos os casos valores dentro do limite normal, variando de 0.204 a 0.398 (nos cães tratados) e de 0.278 a 0.305 (nos cães normais). A floculação da cefalina foi positiva em todos os animais, a reação de Takata + — ++ nos cães normais e nos tratados variando de 0 — ++.

DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

Pelas experiências descritas ficou provado que o óleo de cajú aplicado por via oral em cães, infestados expontaneamente com certas espécies de vermes, possui uma nítida ação vermicida sôbre *Ancylostoma caninum, Ancylostoma braziliense, Toxocara canis* e, em grau mais ou menos elevado sôbre *Trichuris vulpis*. As doses que provocam tal efeito estão a grosso modo compreendidas entre 2,5 a 8 cm³ em cães de pêso entre 2½ a 16 kg. A atividade vermicida se manifesta em primeiro lugar, de acôrdo com as nossas observações, sôbre o *Ancylostoma caninum,* cujo número é reduzido com uma única aplicação da droga a cêrca de 95%, em média. Conquanto as observações em cães infestados com *Toxocara canis* sejam relativamente pequenas para permitir uma apreciação detalhada, — a atividade do óleo de cajú sôbre esta espécie de helminto parece ser excelente. Temos a impressão de que seja mesmo mais sensível que o próprio *Ancylostoma caninum,* pois que com uma única dose e nos três casos neste trabalho relatados a eliminação foi total. (Quadro No. III) Em relação ao *Trichuris vulpis* os resultados obtidos não são tão conclusivos. Posto que só na metade dos animais tratados a redução tenha sido de 90-100%, nos outros, esta variou entre 25-60%. Também os cães infestados com *Dipylidium,* que depois de medicados ainda revelaram a presença de exemplares vivos no intestino, não permitem nenhuma conclusão certa sôbre o poder vermicida do óleo de cajú sôbre esta espécie de verme.

Quanto à atividade *in vivo* do ácido anacárdico, substância altamente ativa *in vitro,* obtivemos em 1 caso (11 kg de pêso) tratado com 7 cm³ da substância a eliminação total dos *Ancylostoma* e num outro (8 kg de pêso) que recebeu 6 cm³ a redução foi de 78,9%, valor êste abaixo da média dos cães tratados com o óleo puro. Por outro lado a combinação do ácido anacárdico com a fração anácida — por si só sem efeito vermicida — eleva a atividade do ácido anacárdico, dando uma redução de 90-100%. Parece assim que a atividade do ácido anacárdico é reforçada em presença da fração anácida, composta na maior parte de cardol e anacardol; experiências em maior escala teriam que decidir, provavelmente, em favor desta hipótese, que está em certo paralelo com as observações de Roger (9) que verificou uma ativação do poder vermicida do hexilresorcinol em presença de detergentes.

O anacardol, igual à fração anácida, parece destituido de ação vermicida na dose empregada.

O óleo de cajú não exerceu ação tóxica local ou geral que se manifestasse clinicamente nos animais tratados. Entre 26 animais tratados houve apenas 1 caso de morte num cão de 2½ kg de pêso medicado com 2,5 cm³ de óleo, sem que pudessemos relacionar, com certeza, êste acidente ao tratamento, posto que outros cães tratados com doses maiores (cálculo por kg de pêso) não revelaram quaisquer sintomas clínicos de intoxicação. Quanto a certas alterações histológicas no fígado dos cães medicados (vacuolização) não chegamos a uma apreciação definitiva porquanto também os fígados dos animais não tratados mostraram ligeiras modificações das células hepáticas. Um outro fato ao qual no início de nossas experiências não prestamos a devida atenção foi o tóxico usado para o sacrifício dos animais, o cloroformio, o qual poderia também influenciar no aspecto histológico do fígado.

Depois de termos verificado a ausência de sintomas tóxicos para os cães, experimentamos em nós mesmos o efeito de 2 cm³ do óleo de cajú puro, que ingerimos na parte da manhã, em jejum. Enquanto um de nós tenha tido cêrca de 2 h depois da ingestão evacuações nitidamente diarréicas, o outro apresentou tão somente ligeira sensação de pêso no estômago que persistiu por algumas horas; na urina eliminada 4 horas depois verificou-se a presença do óleo, que no frasco abandonado no ambiente, se separou em duas camadas, sendo que a superior formou na superfície uma película iridescente.

Depois destas experiências preliminares em nós mesmos, começamos as observações clínicas em pacientes portadores de ancilostomose (*Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*). Fóra dos exames parasitológicos realizados 3-5 dias antes (contagens de ovos) do tratamento, todos os casos foram submetidos a rigorosos testes complementares, tais como testes funcionais de fígado (Takata, Henger, bilirubina), função renal (exame químico geral, uréa clearence, sedimento), bem como exame clínico e hematológico.

A quantidade de óleo aplicada em cápsulas gelatinosas variou de 2 a 8 cm³. Na maioria dos casos a ingestão da droga era seguida 2 h depois por evacuações diarréicas. Como sintomas subjetivos os pacientes assinalaram unicamente ligeira dôr no epigastro direito, que desaparecia logo depois das primeiras evacuações.

Podemos adiantar que contamos até agora só com 2 casos humanos bem estudados e com os seguintes resultados: 1.°) apresentando 150 ovos de *Necator* por grama de fezes, não revelando, após 3 dias do tratamento a presença de

ovos. O segundo caso, apresentando cêrca de 10.000 ovos por grama de fezes, igualmente foi negativo mesmo após 3 dias de observação. Este apresentou após 10 dias uma contagem de 400 ovos ou seja uma redução de 96%.

RESUMO

No presente trabalho os A. A. demonstram que o óleo de cajú — fruto do cajueiro (*Anacardium occidentale*) — e derivados possuem nítida ação vermicida tanto *in vitro*, como *in vivo* (cães) sôbre o *Ancylostoma braziliense*, *Toxocara canis* e, em grau relativamente elevado, sôbre o *Trichuris vulpis*. Nos 2 casos de cães infestados com *Dipylidium caninum* não obtiveram resultados positivos.

As doses empregadas variaram de 2,5 a 8 cm³. Posto que quantidades muito maiores tenham sido empregadas com o fim de estudos toxicológicos, nenhum sintoma de intoxicação foi observado.

A administração foi sempre pela via oral, por meio de cápsulas gelatinosas contendo 1 cm³ da substância ou com sonda gástrica.

Os melhores resultados foram obtidos com o óleo puro (sem nenhuma mistura), cuja percentegem de redução se elevou a 96,8% no caso de *Ancylostoma*, a 100% em relação ao *Toxocara* e de 77,3% sôbre o *Trichuris*.

Foi notado um efeito purgativo em vários cães medicados quer pelo óleo puro, quer pelo ácido anacárdico.

Doses maciças usadas nos testes toxicológicos não provocaram sintomas clínicos ou lesões macroscópicas do canal intestinal e dos órgãos parenquimatosos. Nos cortes histológicos de fígado foi verificada uma forte acumulação de óleo nas células de Kupfer e nos epitelios dos grandes dutos biliares, evidenciando-se ao mesmo tempo, na maioria dos casos, uma difusa vacuolização das células hepáticas, — alterações pouco conclusivas —, tanto que também os animais não tratados revelaram sinais de ligeiro comprometimento celular hepático. Os rins evidenciaram forte acumulação de gotículas de óleo, particularmente nos túbulos contortos, na alça de Henle e, isoladamente, também nos glomerulos. Fóra disso as células renais apresentavam aspecto normal. Não foi encontrado nenhum sinal macro - ou microscópico indicando irritação local das mucosas gastro-intestinais.

Os testes funcionais de fígado deram resultados concordantes nos animais tratados e não tratados.

A clínica humana já foi iniciada e com resultados promissores.

ABSTRACT

Cashew oil, the nutshell liquid of the Brazilian tree *Anacardium occidentale* L., and its main constituent, anacardic acid, have a strong vermicidal activivy *in vitro*, as has been shown recently by Eichbaum. The present experiments, which were performed on a total of 26 dogs, spontaneously infested with a variety of worms, revealed a strong anthelmintic activity of these substances also in living animals, without clinically appearant signs of local or general toxicity.

There could be noted too a marked purgative effect of cashew oil and anacardic acid.

The drugs were applied by gastric tube or in gelatine capsules, containing 1 g. of substance, each. The given dosis varied between 2.5-8g. according to the body weight of the treated animals.

Among the drugs tested (crude oil, sodium anacardate, anacardol, a mixture of cardol-anacardol) the crude oil showed the highest activity.

The best results were obtained in dogs infested with *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis;* the elimination of worms — controled by autopsies — varied in these cases between 90-100% after the application of a single dose (4g. on the average).

The activity against *Trichuris vulpis* was less pronounced, but even here the reduction of worm eggs reached, in half of the treated animals, values between 90-100%; in the other half, the reduction value observed varied between 25-60%, with an average reduction value of approximately 75% for all animals treated.

Functional liver tests in animals treated with very high dosis (up to 15g) gave the same results as those obtained in the control animals: in both group — treated and non-treated dogs — the cephalin flocculation test was positive as well as the Takata reaction; the bilirubin blood level was normal in most cases.

There were no microscopical lesions of the gastric and intestinal mucosa or the parenchymatous organs. The histological examination revealed the elimination of the drug by the larger bile ducts and the renal tubuli; an accumulation of the oil (or sub-products) was also found in the Kupfer cells of the liver, which showed in most cases, a general vacuolisation of the parenchymatous cells. These findings have only a relative value, since also in

non-treated "normal" animals the structure of the liver cells indicated a slight degenerative process. The renal glomeruli and tubuli, heart, lung, gastric and intestinal mucosa showed a histologically normal structure.

Agradecimentos — É-nos grato deixar aqui consignados os nossos melhores agradecimentos a todos aquêles que tão desinteressadamente nos auxiliaram na realização dêste trabalho. Tais foram o Prof. Dr. Moacyr Amorim, pelos valiosos conselhos nas interpretações histológicas; Dr. A. Hoge, pelos testes funcionais de fígado, à Srta. Ingrid Hofstetter e Da. Maria Battaglia, pela confecção de cortes histológicos, ao Prof. Dr. H. Hauptmann e à doutoranda H. Rothschild, pela preparação das substâncias puras.

BIBLIOGRAFIA

1. *Duchèsne, E. A.* — Répertoire des plantes utiles. Jules Renouard, Paris, 1836.
2. *Dujardin-Beaumetz et Égasse, E.* — Les plantes medicinales indigènes et exotiques. Octave Doin, Paris, 1889.
3. *Dorland, N.* — The American illustrated medical dictionary. W. B. Saunders Co., Philadelphia, London, 1938.
4. *Penna, M.* — Dicionario brasileiro de plantas medicinais. Livraria Kosmos, editora, 3.ª ed., pag. 27. Rio de Janeiro. 1946.
5. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid, cardol and derivatives. *Nature* (3988) :449. 1946.
6. *Eichbaum, F. W.* — Biological properties of anacardic acid (o-penta-decadienyl-salicylic acid) and related compounds, *Mem. Inst. Butantan,* **19**:69. 1946.
7. *Eichbaum, F W., Hauptmann, H. e Rothschild, H.* — Preparação e ação biologica do acido anacardico e de alguns derivados, *Anais da Ass. Quim. do Brasil,* **4**:83, 1945.
8. *Stoll, N. R.* — Investigations on the control of hookworm disease. XV. An effective method of counting hookworm eggs in feces, *Amer. Jour. Hyg.,* **3**:39. 1923.
9. *Rogres, W. P.* — Studies on the anthelmintic activity of hexylresorcinol and tetrachlorethylene, *Parasitology,* **36**:98, 1944.