

Metil-Eugenol: Uma Avaliação Laboratorial em Animais

P. P. P. Barbosa¹, J. R. M. Teixeira², M. F. B. Melo³ & Q. M. W. B. Gusmão⁴

Barbosa P P P, Teixeira J R M, Melo M F B, Gusmão Q M W B – Methyl eugenol: laboratorial evaluation in animals

Methyl Eugenol (C₁₁H₁₄O₂), 178 grams of molecular weight, an essential oil fraction obtained from the *Caryophyllum aromaticus* L plant, known as "Craveiro da Índia", causes central depressing effects with significant hypnotic and myorelaxing action in doses of 40 mg.kg⁻¹i.p. for rats and 5 mg.kg⁻¹e.v. for rabbits and dogs, rapid time of induction and satisfactory duration of sleep 1184 seconds (in rabbits) and 473 minutes in rats and sleep time between 9 and 12 minutes in rabbits and dogs, respectively. The anesthetic evolution in dogs showed a satisfactory result followed by a rapid recovery and movement consequently. Methyl eugenol (20 µg/ml) produces reduction in the atrial muscular cardiac force of contraction (50%) in 20 minutes as that produced by lidocaine. The addition of methyl eugenol to isolated bath organs with rat diaphragm nerve muscle produces muscular force of contraction blockade under direct and indirect stimulation. The conclusion of this study is that methyl eugenol showed significant pharmacological results and may be used, alternatively after continuous research in laboratory animal experiments.

Key Words: ANESTHESIA: intravenous; ANESTHETICS: methyl eugenol; ANIMAL: dog, guinea pig, rat; INDUCTION

O metil-eugenol (C₁₁H₁₄O₂), peso molecular 178 g, é um princípio ativo encontrado na fração oleosa volátil de várias plantas das famílias das Lauraceae, Umbelliferae, Myrtaceae, Saurutaceae, Myristitaceae (*Myristica fragans* – noz-moscada)¹ e na *Caryophyllum aromaticum* conhecida como "Craveiro-da-índia", "Cravo-da-Índia". A literatura refere estudos laboratoriais

com o metil-eugenol (ME) sobre ação analgésica, anestésica, anticonvulsivante, hipotermizante, miorelaxante e determinação do índice terapêutico^{2,3}. Os objetivos de nossos estudos visaram avaliar as respostas do metil-eugenol sobre alguns parâmetros farmacológicos.

METODOLOGIA

a) Extração e preparação do metil-eugenol.

O metil-eugenol foi obtido por destilação fracionada do "óleo do cravo" (metilação do eugenol), através da Givaudan do Brasil Ltda., e apresenta-se incolor, com odor penetrante, muito volátil, devendo ser utilizado após extração recente e conservado em temperatura de seis graus negativos, requisitos indispensáveis para a manutenção de sua atividade farmacológica. A preparação da emulsão foi feita a partir da adição de Cremophor El (4%), composto polioxetilado vegetal que atua como solubilizante, e salina 0,9% q.s.p.; o pH deve ser de 3,8 a 4,4 e a solução deve ser utilizada no momento dos bioensaios farmacológicos.

b) Determinação do tempo de indução e duração do sono

Ratos Sprague-Dawley adultos, de ambos os

Trabalho realizado no Laboratório de Farmacologia, Setor de produtos naturais, Departamento de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Alagoas e Departamento de Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

1 Professor Adjunto de Farmacologia, Departamento de Fisiologia CCBi Universidade Federal de Alagoas e Escola de Ciências Médicas de Alagoas

2 Professor Adjunto de Farmacologia, CCBi, Universidade Federal do Pará

3 Professor Assistente da Farmacologia, CCBi, Universidade Federal de Alagoas

4 Médica Anestesiologista da Unidade de Emergência Dr. Armando Lages, Alagoas

Correspondência para Petrucio P. P. Barbosa
Praça Afrânio Jorge s/nº
57000- Maceió, AL

Recebido em 12 de agosto de 1987

Aceito para publicação em 22 de junho de 1988

© 1988, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

sexos, foram colocados em jejum sólido e água *ad libitum*, após o que foram injetados por via peritoneal com a emulsão de metil-eugenol, em doses variando entre 20 mg.kg⁻¹ a 50 mg.kg⁻¹. O tempo de indução foi tornado no momento em que o animal apresentava perda total do tono postural, permanência da posição de decúbito dorsal e ausência de resposta aos estímulos corneal e córneo-palpebral. Para o período de recuperação, considerou-se o momento inicial quando o animal sacudia rapidamente a cabeça, segundo estímulo mecânico com pincel de cerdas finas a nível da comissura palpebral.

c) *Evolução anestésica em cães*

Cães mestiços, de ambos os sexos (6 a 15 kg), foram contidos, dissecada a veia safena externa e canulada para introdução da emulsão do metil-eugenol/Crernophor El/salina. As observações foram iniciadas desde o momento da injeção venosa lenta (2-3 min) e avaliadas as seguintes respostas: tempo de indução, reflexos corneal, córneo-palpebral, pupilar, faríngeo, analgesia, temperatura colônica, tono muscular, secreções, duração do sono, recuperação e acompanhamento pós-anestésico (24 h).

d) *Preparação nervo frênico-músculo diafragma de rato*

A preparação nervo frênico-músculo diafragma de rato foi montada segundo o método descrito por Bülbring⁴. Ratos adultos, de ambos os sexos, foram sacrificados, retirado o conjunto nervo frênico-músculo diafragma e instalado em cuba contendo líquido nutritivo de Tyrode a 37°C, saturado com mistura carbogênica (O₂ = 95% e c o₂ = 5%), com a seguinte composição nM: NaCl 135, KC15,0; CaCl₂ 2,0; NaHCO₃ 15,0 NaH₂P O₄; 1,0; MgCl₂ 1,0; dextrose 11,0. O músculo foi atado a um transdutor de força NARCO acoplado a um polígrafo NARCO 314 (USA) e as contrações musculares, registradas antes e após a adição das drogas. A estimulação nervosa e muscular foi obtida utilizando-se um estimulador eletrônico NARCO, com pulsos quadrados de 0.5 ms de duração, freqüência de 0.1 Hz e voltagem supra-máxima determinada para cada preparação. As fibras musculares foram estimuladas diretamente com pulsos supra-máximos de 2 ms e 0.1 Hz de freqüência e os músculos submetidos a uma tensão ótima.

e) *Preparação átrio direito de cobaia*

Cobaias adultas, de ambos os sexos, foram sacrificadas, removido o coração, dissecado o

átrio direito e instalado em banho de órgão isolado com líquido nutritivo de Tyrode 37°C, borbulhado com mistura carbogênica (O₂ = 95% e CO₂ = 5%), com a seguinte composição nM: NaCl 138; KCl 2,7; CaCl₂ 2,7; MgCl₂ 0,5; NaHCO₃ 12,0; NaH₂P O₄ 3,6; Dextrose 5,5. O registro das ritmicidade espontânea e contratibilidade muscular do átrio foi obtido por meio de transdutor de força NARCO (USA), tipo "A" conectado ao polígrafo NARCO 314 (USA) e os músculos foram submetidos a 0,5 g de tensão.

RESULTADOS

a) *Extração e preparação do metil-eugenol*

Para a preparação da emulsão do metil-eugenol tomamos o peso molecular do óleo essencial (178 g) como base para o cálculo das concentrações usadas nos bioensaios.

b) *Determinação do tempo de indução e duração do sono*

O emprego de doses entre 20 e 50 mg. kg⁻¹ intraperitoneal da emulsão do metil-eugenol em ratos mostrou tempos de indução e sono variáveis e proporcionais as doses utilizadas. Verificamos ainda que no grupo de ratos administrados com ME (40 mg.kg⁻¹ intraperitoneal) o tempo de indução foi de 118 ± 4s, manteve a anestesia durante 47 ± 3 min e apresentou sobrevida dos ratos ao redor de 90%, ao longo de 24 h (Figura 1).

c) *Evolução anestésica em cães*

A administração flébrica da emulsão do metil-eugenol, na dose de 5 mg.kg⁻¹, determinou hiperpnéia inicial, seguida de inconsciência, vocalização, intensa agitação, perda do tono postural, regularização da respiração, instalação do sono, relaxamento muscular acentuado, analgesia durante os primeiros minutos (3 a 8 min), centralização, do globo ocular e intensa miose, abolição dos reflexos corneal, córneo-palpebral, faríngeo e discreta redução da temperatura colônica (36°C). A duração do sono situou-se em torno de 9 a 12 min., recuperação. rápida e deambulação do animal (80%) dez minutos após a recuperação da consciência. Durante os primeiros dez minutos de anestesia observamos incontinência fecal e urinária, além de discreta eliminação de saliva.

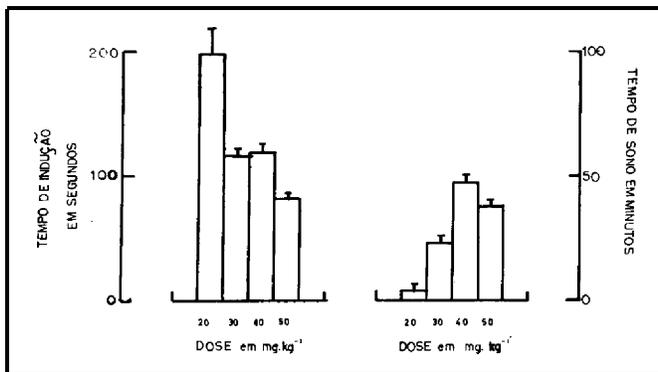


Fig. 1 Histograma representativo da determinação do tempo de indução (esquerda) e sono (direita) em ratos submetidos a diferentes doses peritoneais com metil-eugenol.

d) Preparação nervo frênico-músculo diafragma de rato

Na preparação nervo frênico-músculo diafragma isolado de rato, a incubação da emulsão dometil-eugenol ($40 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$), a contração muscular diafragmática sob estimulação direta no músculo apresentou bloqueio total ao redor de 15 min, prontamente revertido após lavagem da preparação (Figura 2). O registro da redução da contração muscular do diafragma do rato provocada pelo metil-eugenol ($40 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) mostrou bloqueio total da resposta ao final de 15 min (Figura 3), comparavelmente com o efeito produ-

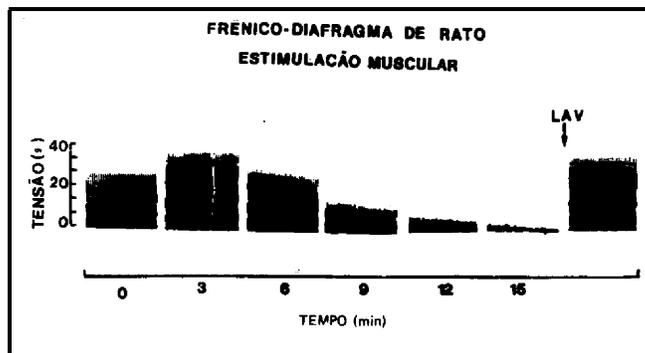


Fig. 3 A contração muscular na presença do metil-eugenol em função do tempo e a recuperação da resposta a níveis controles iniciais, após lavagem da preparação.

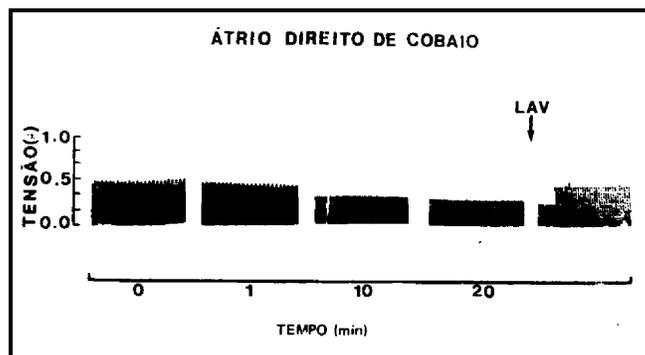


Fig. 4 Registro típico da alteração na contratilidade atrial causada pela incubação de metil-eugenol ($20 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$). A atropina ($25 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) não foi capaz de bloquear a ação do metil-eugenol.

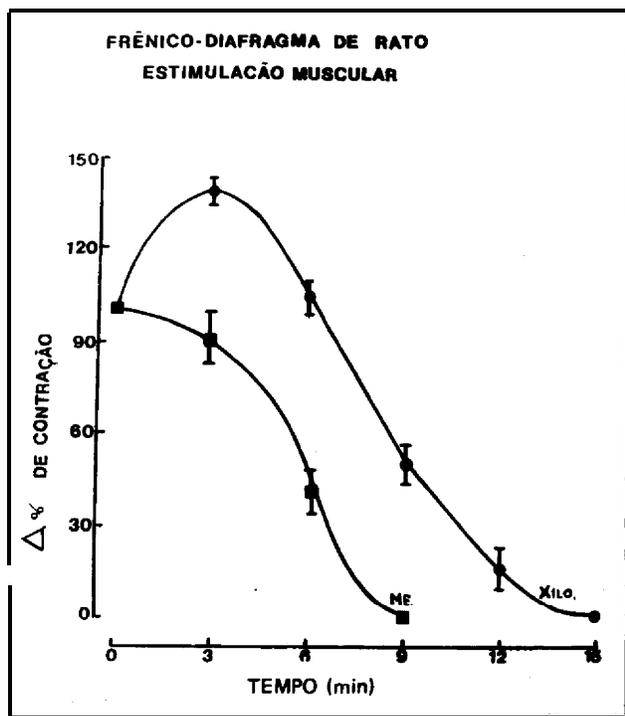


Fig 2 Efeitos de incubação de metil-eugenol na preparação nervo frênico-músculo diafragma de rato. As contrações foram obtidas por estimulação indireta ($n = 6$).

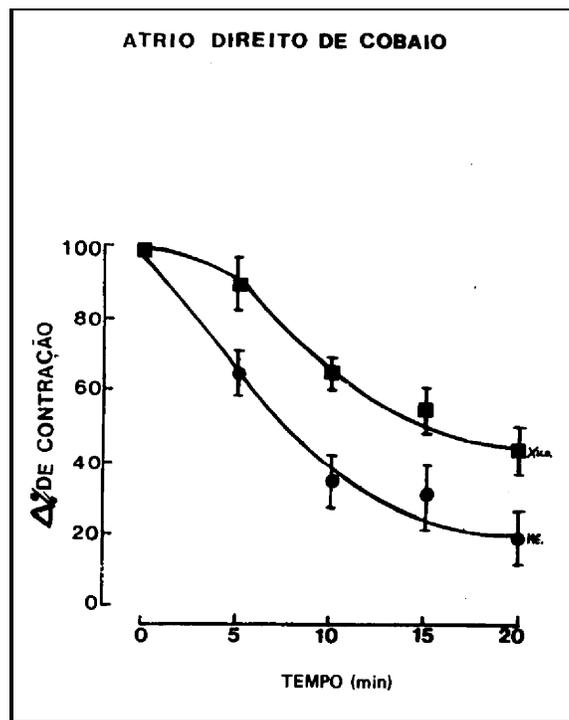


Fig 5 Efeitos da incubação de metil-eugenol na contratilidade espontânea atrial ($n = 6$).

zido pela lidocaína ($200 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$), incubada em igual preparação nervo frênico-músculo diafragma de rato.

e) Preparação átrio direito da cobaia

A incubação da emulsão do metil-eugenol provocou redução na força de contração da musculatura cardíaca atrial, dose-dependente, atingindo cerca de 50% ao final de 15 min com a dose de $20 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ (Figura 4). A referida resposta não foi bloqueada pela atropina ($25 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) porém revertida imediatamente, após lavagem (Figura 5) comparavelmente à lidocaína ($200 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) com protocolo semelhante ao utilizado para o estudo (Figura 4).

DISCUSSÃO

A preparação da emulsão do metil-eugenol, a partir de seu peso molecular (178 g), como base de cálculo para as concentrações e doses, nos pareceu representar a forma mais correta, considerando-o um óleo puro, estrutura química e peso molecular definidos, relacionando a correspondência entre 178g em um litro ou 178 mg em 1 ml. A administração intraperitoneal em doses variadas (20 a $50 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$) visou determinar a melhor dose observando-se: tempo de indução, duração do sono e reduzidos índices de mortalidade. A dose

Barbosa P P P, Teixeira J R M, Melo M F B, Gusão Q M W B – Metil-eugenol: uma avaliação laboratorial em animais.

O metil-eugenol ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$), peso molecular igual a 178 g, fração oleosa essencial obtida da planta *Caryophyllus aromaticus* L, conhecida popularmente como "Craveiro-da-índia", provocou efeitos depressores centrais, com significativa ação hipnótica e miorelaxante nas doses de $40 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ intraperitoneal para ratos e $5 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ por via venosa para coelhos e cães. Observamos tempo de indução rápido e duração satisfatória do sono ($118 \pm 4\text{s}$ e 47 ± 3 min para ratos, respectivamente) e tempo de sono entre 9 e 12 min para coelhos e cães. A evolução anestésica em cães mostrou resultado satisfatório, seguido de rápida recuperação, ~com conseqüente deambulação. O metil-eugenol ($20 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) produziu redução de 50% da força de contração da musculatura atrial cardíaca ao final de 15 min, sem alteração da frequência cardíaca, cujos efeitos não foram bloqueados pela atropina ($25 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) e prontamente revertidos após lavagem. Na preparação nervo frênico-músculo diafragma de rato o

de $40 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ apresentou tempo de indução e sono satisfatórios e redução acentuada dos índices de mortalidade ao longo de 24 h. O quadro evolutivo das respostas apresentados no cão pela injeção endoflébica de metil-eugenol ($5 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$) mostrou-se dentro de um perfil anestésico aceitável, ressaltando-se a manutenção dos reflexos observados além de um bom miorelaxamento. A recuperação rápida do animal e conseqüente deambulação em curto tempo podem representar referência bem razoável, como também a sobrevivência pós-anestésica e os efeitos secundários durante a anestesia com o metil-eugenol.

Os resultados apresentados pelo metil-eugenol sobre a contratilidade atrial da cobaia quando da preparação nervo frênico-músculo diafragma do rato são, igualmente, apresentados pela lidocaína nos referidos métodos de estudo, exibindo o metil-eugenol uma igual atividade anestésica local^{5,6}.

Concluimos, no presente estudo, que o metil-eugenol apresentou atividade hipnótica em coelhos e cães, com reduzidos efeitos colaterais, atividade miocárdio-depressora e miorelaxamento diafragmático semelhante à lidocaína, sugerindo uma ação anestésica local. Esses resultados farmacológicos indicam que o metil-eugenol pode vir a ser usado, alternativamente, como anestésico, em experiências de rotina com animais de laboratório.

Barbosa P P P, Teixeira J R M, Melo M F B, Gusão Q M W B – Metil eugenol: valoración de laboratorio en animales.

El metil eugenol ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_2$), cuyo peso molecular es igual a 178 g, fracción oleosa esencial obtenida de la planta *Caryophyllus aromaticus* L, popularmente conocida como "Clavel de India", provocó efectos depresores centrales, con significativa acción hipnótica y miorelajante en dosis de $40 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ intraperitoneal para ratones y $5 \text{ mg}.\text{kg}^{-1}$ por vía venosa para conejos y perros. Observamos un tiempo de inducción rápido y duración satisfactoria del sueño ($118 \pm 4\text{s}$ y 47 ± 3 min para ratones, respectivamente) y tiempo de sueño entre 9 y 12 min para conejos y perros. La evolución anestésica en perros mostró un resultado satisfactorio, seguido de una rápida recuperación con conseqüente deambulación. El metil eugenol ($20 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) produjo una reducción de 50% de la fuerza de contracción de la musculatura atrial cardíaca al final de 15 min, sin alteración de la frecuencia cardíaca cuyos efectos no fueron bloqueados por la atropina ($25 \mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$) y prontamente revertidos después de

metil-eugenol ($40\mu\text{g.ml}^{-1}$) foi capaz de bloquear completamente as contrações musculares produzidas tanto por estímulo direto quanto por estímulo indireto, semelhante ao efeito da lidocaína ($200\mu\text{g.ml}^{-1}$). Todos os efeitos foram revertidos após lavagem. Os autores concluem que o metil eugenol apresentou resultados significativos e pode vir a ser usado, alternativamente, em experimentos com animais de laboratório.

Unitermos: ANESTESIA: peritoneal, venosa;
ANESTÉSICOS: metil-eugenol; ANI-
MAL: cão, cobaia, rato; INDUÇÃO

un lavaje. En la preparación del nervio frénico músculo diafragma de ratón, el metil eugenol ($40\mu\text{g.ml}^{-1}$) fué capaz de bloquear completamente las contracciones musculares producidas tanto por estímulo directo, cuanto por estímulo indirecto, semejante al efecto de la lidocaína ($200\mu\text{g.ml}^{-1}$). Después de lavaje, todos los efectos fueron revertidos. Concluyen los autores que el metil eugenol presentó significativos resultados y puede venir a ser usado alternativamente en experimentos con animales de laboratorio.

REFERÊNCIAS

1. Sulgin AT – Possible implication of myristicin as a psychotropic substance. *Nature* 1967; 210: 380-393.
2. Dallmeier K R, Carlini E A – Anesthetic, hypodermic, myorelaxant and anticonvulsant effects of synthetic eugenol derivatives and natural analogs. *Pharmacology* 1981; 22: 113-127.
3. Dallmeier K R, Zelger J L, Carlini E A – New anti-convulsants derived from 4-allyl-2-methoxyphenol (eugenol): comparison with common antiepileptics in mice. *Pharmacology* 1983; 27: 40-49.
4. Bulbring E – Observation of the isolated phrenic – nerve diaphragm preparation of the rat. *Br J Pharmacol* 1946; 1: 38-61.
5. Sudo R T, Oliveira L F - Efeito hemodinâmico da lidocaína em cães *Rev Bras Anest* 1984; 34: 381-385.
6. Sell A B, Carlini E A – Anesthetic action of methyleugenol and other eugenol derivatives. *Pharmacology* 1976; 14: 367-377.

AGRADECIMENTOS – Maria Lanuza Silva Gonçalves – Técnica de Laboratório e Georgina Maria Oliveira da Silva – Técnica de Laboratório