UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia Químico-Farmacêutica

**RESOLUÇÃO DE (±)-2-AMINO-1-BUTANOL,
PRECURSOR PARA OBTENÇÃO DE ETAMBUTOL**

MARILIA ARAUJO DE ASSIS

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

Orientador :

Prof. Dr. LEOBERTO COSTA TAVARES

São Paulo

2001

16.821

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica
Área de Tecnologia Químico-Farmacêutica

**RESOLUÇÃO DE (±)-2-AMINO-1-BUTANOL,
PRECURSOR PARA OBTENÇÃO DE ETAMBUTOL**

MARILIA ARAUJO DE ASSIS

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

Orientador :

Prof. Dr. LEOBERTO COSTA TAVARES

São Paulo

2001

DEDALUS - Acervo - CQ

30100003877

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Assis. Marília Araujo de

A848r Resolução de ($\pm$)-2-amino-1-butanol : precursor para obtenção
de erambuto? / Marília Araujo de Assis. -- São Paulo, 2001.
87p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia
Bioquímico-Farmacêutica.

Orientador: Tavares, Leoberto Costa

1. Tecnologia químico - farmacêutica 2. Estereoquímica :
Orgânica I. T. II. Tavares, Leoberto Costa, orientador.

660 CDD

MARILIA ARAUJO DE ASSIS

**RESOLUÇÃO DE ($\pm$)-2-AMINO-1-BUTANOL,
PRECURSOR PARA OBTENÇÃO DE ETAMBUTOL**

COMISSÃO JULGADORA

Dissertação para obtenção do grau de mestre

Profa. Dra. Ida Caramico Soares - 1ª Examinadora

Profa. Dra. Veni Maria Andres Felli - 2ª Examinadora

Prof. Dr. Leoberto Costa Tavares - Orientador / Presidente

São Paulo, Março de 2001

Dedico este trabalho a meu marido Marcos e a meu filho Henrique, pelo amor, incentivo, apoio e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Leoberto Costa Tavares, pela amizade e orientação deste trabalho.

À Profa. Dra. Liliana Mazorati pela colaboração na execução dos ensaios polarimétricos.

À Regina Maria Almeida Neves, pelas sugestões e indispensável colaboração nos ensaios polarimétricos

À Dra. Maria Inês de Almeida Gonçalves, pela execução dos espectros de RMN.

Às amigas Andrea e Patrícia, pelo apoio, companhia e valioso auxílio.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, ao Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica pela oportunidade concedida.

À CAPES pelo auxílio concedido.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Resumo.....	xiv
Abstract.....	xv
1. Introdução.....	1
2. Objetivo e Justificativa	4
3. Revisão da literatura	
3.1. Tuberculose.....	6
3.2. Patogenia.....	7
3.3. Epidemiologia	
3.3.1. Aspectos mundiais.....	10
3.3.2. Tuberculose no Brasil.....	18
3.4. Tratamento e Profilaxia	
3.4.1. BCG e quimioprofilaxia.....	20
3.4.2. Quimioterápicos.....	21
3.4.3. Esquemas de tratamento.....	31
3.5. Pesquisa em quimioterapia antimicobacteriana.....	36
3.5.1. Etambutol	37
3.6. Fármacos quirais.....	42
3.7. Métodos de obtenção de SEP.....	46
4. Parte experimental	
4.1. Materiais	
4.1.1. Reagentes e solventes.....	49
4.1.2. Equipamentos.....	49
4.2. Métodos	
4.2.1. Métodos Gerais	
4.2.1.1. Recristalização do (+)-ácido tartárico	50
4.2.1.2. Obtenção de (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol	
(+)-bis-tartarato de e (+)-2-amino-1-butanol.....	50

4.2.1.3.	Determinação da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol.....	51
4.2.1.4.	Resolução do (±)-2-amino-1-butanol	
4.2.1.4.1.	Obtenção do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol a partir de 2-amino-1-butanol (racêmico).....	51
4.2.1.4.2.	Separação do (+)-2-amino-1-butanol.....	52
4.2.1.5.	Obtenção do etambutol.....	52
4.2.2.	Métodos analíticos	
4.2.2.1.	Análise elementar.....	53
4.2.2.2.	Espectrofotometria de absorção de infravermelho.....	53
4.2.2.3.	Espectrofotometria de ressonância magnética Nuclear de carbono 13 e protônica.....	53
4.2.2.4.	Faixa de fusão.....	53
4.2.2.5.	Rotação específica.....	53
4.3.	Resultados	
4.3.1.	Recristalização do (+)-ácido tartárico.....	54
4.3.2.	Obtenção de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol e (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol.....	54
4.3.2.1.	Obtenção em metanol anidro.....	55
4.3.2.2.	Obtenção em etanol absoluto.....	57
4.3.2.3.	Obtenção em etanol 96 %.....	59
4.3.3.	Determinação da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol.....	61
4.3.4.	Resolução de (±)-2-amino-1-butanol	
4.3.4.1.	Resolução em metanol anidro.....	63
4.3.4.2.	Resolução em etanol absoluto.....	64
4.3.4.3.	Resolução em etanol 96%.....	65
4.3.4.4.	Obtenção do (+)-2-amino-1-butanol.....	66
4.3.4.5.	Obtenção de etambutol.....	67

5. Discussão.....	75
5.1. Obtenção de (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino-1-butanol.....	76
5.2. Obtenção de (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol.....	78
5.3. Determinação da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol.....	79
5.4. Resolução de ($\pm$)-2-amino-1-butanol.....	80
5.5. Obtenção do (+)-2-amino-1-butanol.....	81
5.6. Obtenção de etambutol.....	82
6. Conclusões.....	83
7. Referências bibliográficas.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Distribuição das notificações mundiais de tuberculose – 1998.....	11
Figura 02 – Desenvolvimento e propagação de bacilos resistentes.....	15
Figura 03 – Prevalência mundial de resistência adquirida à fármacos antituberculose – 1994 a 1997.....	17
Figura 04 – Casos notificados de TB no Brasil de 1985 a 1988.....	18
Figura 05 – Casos notificados de TB por região em 1988.....	19
Figura 06 – Fórmula estrutural da isoniazida.....	23
Figura 07 – Fórmula estrutural da pirazinamida.....	25
Figura 08 – Fórmula estrutural da rifampicina.....	26
Figura 09 – Fórmula estrutural da estreptomicina.....	26
Figura 10 – Fórmula estrutural do etambutol.....	27
Figura 11 – Fórmula estrutural da etionamida.....	27
Figura 12 – Fórmulas estruturais da canamicina e amicacina.....	28
Figura 13 – Fórmula estrutural da ciclosserina.....	28
Figura 14 – Fórmula estrutural da capreomicina.....	29
Figura 15 – Fórmula estrutural da tioacetazona.....	29
Figura 16 – Fórmula estrutural da ácido p-aminossalicílico.....	30
Figura 17 – Fórmula estrutural do ofloxacino.....	30
Figura 18 – N, N'-diisopropiletilenodiamina.....	38
Figura 19 – (+)Cloridrato de etambutol.....	38
Figura 20 – Rota de obtenção de etambutol.....	41
Figura 21 – Formação de sais diastereoméricos.....	47
Figura 22 – Reação de obtenção de (+)-bis-tartaratos de (+) e (-)-2-amino-1-butanol.....	50
Figura 23 – Reação de obtenção do (+)-2-amino-1-butanol.....	52
Figura 24 - Espectro no IV de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino- 1-butanol obtido em MeOH.....	58
Figura 25 – Espectro no IV de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino- 1-butanol obtido em EtOH absoluto.....	60

Figura 26 – Espectro no IV de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino- 1-butanol obtido em EtOH 96%.....	62
Figura 27 – Espectro no IV de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino- 1-butanol obtido por resolução em EtOH 96%.....	70
Figura 28 – Espectro no IV de (+)-2-amino-1-butanol obtido em resolução em EtOH 96%.....	71
Figura 29 – Espectro no IV de cloridrato de etambutol.....	72
Figura 30 – Espectro de RMN- ¹ H do cloridrato de etambutol.....	73
Figura 31 – Espectro de RMN- ¹³ C de cloridrato de etambutol.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Incidência estimada de TB – 22 países de maior incidência.....	12
Tabela 02 – Características dos principais fármacos antituberculose.....	24
Tabela 03 – Esquemas quimioterápicos alternativos para cada categoria de tratamento.....	32
Tabela 04 – Esquemas de tratamento segundo a situação do caso.....	33
Tabela 05 – Esquema I – 2RHZ/4RZ.....	34
Tabela 06 – Esquema IR – 2RHZE/4RHE.....	34
Tabela 07 – Esquema II – 2RHZ/7RH.....	35
Tabela 08 – Esquema III – 3 SEtEZ/9EtE.....	35
Tabela 09 – Quantidades experimentais para obtenção dos (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino-1-butanol e (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1- butanol em MeOH anidro.....	55
Tabela 10 – Valores experimentais e teóricos de rendimentos, faixas de fusão e rotações específicas de (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino- 1-butanol obtidos nos experimentos I, II e III.....	56
Tabela 11 – Determinação de solubilidade de (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino- 1-butanol.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

BCG	Bacilo Calmette-Guerin
CM	Capreomicina
CS	Ciclosserina
DOTS	Directly observed treatment, short-course – Tratamento diretamente observado, curto prazo
E, EMB	Etambutol
ETH	Etionamida
EtOH	Etanol
FNS	Fundação Nacional de Saúde
GTB	Global tuberculosis programme – Programa global para tuberculose
H	Izoniazida
INH	Isoniazida
IV	Infravermelho
KN	Canamicina
MDR-TB	Multidrug resistance tuberculosis – tuberculose multi-resistente
MeOH	Metanol
MS	Ministério da Saúde
NAD	Nicotinamida adenina dinucleotideo
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAS	Ácido p-aminossalicílico
PZA	Pirazinamida
R, RMP	Rifampicina
SEP	Substâncias enantiomericamente puras
S, SM	Streptomycin
TB	Tuberculose
T, TZA	Tioacetazona
Z	Pirazinamida

RESUMO

A emergência de cepas resistentes à isoniazida, principal fármaco utilizado no tratamento da tuberculose, tem causado renovado interesse nos tuberculostáticos denominados de “segunda escolha”, dentre estes, o etambutol. O desenvolvimento de metodologias de obtenção de fármacos antimicobacterianos que sejam técnica e economicamente acessíveis e a otimização das técnicas existentes consistem em estratégias de grande importância em países em desenvolvimento onde os altos índices de incidência e prevalência estão diretamente relacionados à falta de recursos. Dentre os vários métodos de obtenção de (+)-2,2’-(etilenodiimino)di-1-butanol, etambutol, a separação dos enantiômeros do ($\pm$)-2-amino-1-butanol com (+)-ácido tartárico seguida de condensação com dihaloetano apresenta-se como uma metodologia que atende aos requisitos anteriormente citados. Assim, efetuou-se neste trabalho, a otimização da resolução do 2-aminobutanol racêmico por formação de sais diastereoméricos neutros, (+)-bis-tartaratos de (+) e (-)-2-amino-1-butanol, seguida de separação por cristalização preferencial do sal contendo o isômero dextrógiro, precursor na síntese do etambutol. Pela formação de sais neutros elevou-se o rendimento da resolução em comparação aos resultados citados em literatura obtidos pela formação de sais ácidos em 63%, obtendo-se (+)-2-amino-1-butanol com elevada pureza química e enantiomérica.

ABSTRACT

The emergence of *M. tuberculosis* strains resistant to isoniazid, the main drug in tuberculosis treatment, has raised renewed interest in second choice drugs, like ethambutol. Researching into technical and economically accessible synthesis of antimycobacterial drugs and improving on existing ones is of great importance in developing countries where the rising of tuberculosis incidence and prevalence is related to the lack of resources and inadequate control methods. Among various methods of preparation of (+)-2,2'-(ethylenediimino)di-1-butanol -ethambutol-, resolution of ($\pm$)-2-amino-1-butanol with L-(+)-tartaric acid, followed by condensation to ethylene dichloride, consists in a procedure that is in accordance with these previous requirements. Resolution of racemic 2-aminobutanol was optimized, by diastereomeric neutral salts formation followed by preferential crystallization of the diastereomer containing the *dextro* isomer of 2-amino-1-butanol. This method resulted in yields 63% higher than resolutions performed by hemitartrates formation, and resulted in (+)-2-amino-1-butanol with high chemical and enantiomeric purity.

1- INTRODUÇÃO

Doença contagiosa, de evolução lenta, a tuberculose tem como principal agente causador o *M. tuberculosis*, micobactéria transmitida pelo ar que implanta-se nos pulmões após invadir o organismo do hospedeiro através das vias aéreas superiores. Quando não eliminado pelos sistemas de defesa, o microrganismo pode estabelecer infecção latente, sem manifestações clínicas, ou multiplicar-se e iniciar processos patogênicos característicos, podendo disseminar-se para outros locais do organismo através dos sistemas linfático e circulatório ^{7, 10, 11, 15, 24, 38, 73, 121}.

Outrora considerada moléstia infecciosa sob controle, marcadamente em países desenvolvidos, a tuberculose ressurge como sério problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, onde a ausência de recursos e o emprego de programas de controle inadequados mantiveram elevados os índices de incidência e prevalência ^{51, 81, 121}.

Alavancados pela epidemia mundial de AIDS e pelo alarmante crescimento na incidência de tuberculose resistente aos fármacos usualmente empregados na terapêutica, os índices epidemiológicos para TB encontram-se em ascensão. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, cerca de um terço da população mundial está infectada com o bacilo da tuberculose e, anualmente, 7 a 8 milhões de pessoas desenvolvem a doença. Um indivíduo é infectado pelo *M. tuberculosis* a cada segundo. Como doença infecciosa, é a maior causadora de mortes entre jovens e adultos, matando de 2 a 3 milhões de pessoas por ano ^{81, 111, 113}.

O perfil epidemiológico no Brasil acompanha o quadro mundial, verificando-se elevação no número de casos notificados a partir de 1991. A incidência mais elevada é observada na região Sudeste, destacadamente

em São Paulo e Rio de Janeiro, onde se encontram grandes grupos populacionais desprovidos de sistemas adequados de saneamento e promoção da saúde, condições estas favoráveis à propagação do bacilo da tuberculose ^{19, 39}.

Para controle da doença se faz necessária estratégia que envolva sistema eficiente de detecção dos casos, aplicação de quimioprofilaxia aos indivíduos sob risco de contágio ou que ainda não desenvolveram a doença e quimioterapia para tratamento dos indivíduos doentes. A quimioterapia antituberculose deve envolver mais de um fármaco, a fim de prevenir o aparecimento de resistência e reduzir a duração do tratamento ^{13, 22, , 35, 51}.

Neste contexto, é de grande importância a busca por alternativas que possam auxiliar no controle da doença, seja pelo desenvolvimento de novos quimioterápicos, seja pelo aprimoramento dos fármacos existentes.

O fator econômico é um componente decisivo na aplicação e manutenção do tratamento em países subdesenvolvidos. Os custos de tratamento da doença causada por bacilos susceptíveis aos fármacos mais freqüentemente empregados podem atingir cerca de dois mil dólares por paciente. Este valor pode ser aumentado em até 100 vezes para o tratamento de pacientes com tuberculose multi-resistente. Diante do exposto, pesquisas visando a redução de custos e aumento da eficiência de processos de obtenção de antimicobacterianos se fazem imprescindíveis ^{12, 13, 22, 27, 62, 112}.

As descobertas acerca dos mecanismos biológicos do *M. tuberculosis*, especialmente no campo da biologia molecular, têm trazido nova luz ao entendimento dos processos patológicos e do desenvolvimento da resistência aos fármacos. Mais recentemente, o esclarecimento das bases genéticas do bacilo tem contribuído para o desenvolvimento de vacinas que surgem como nova e promissora ferramenta para imunização.

Contudo, todos os esforços na busca de desenvolvimento tecnológico aplicado ao controle da tuberculose serão insuficientes se medidas de melhoria das condições sócio-econômicas das populações mais atingidas não forem aplicadas.

2 - OBJETIVO E JUSTIFICATIVA

Diante da crescente incidência, a tuberculose ressurgiu como séria ameaça à saúde de habitantes de países desenvolvidos e subdesenvolvidos. Por si, este fato justifica todos os esforços em se desenvolver e aprimorar ferramentas de detecção e erradicação da doença.

Vários fatores contribuem para este ressurgimento, entre eles citam-se o baixo desempenho sócio-econômico das populações afetadas e a emergência de *M. tuberculosis* resistente à agentes quimioterápicos. A otimização de fármacos atualmente empregados, no sentido de reduzir custos de obtenção resultam em benefícios de curto prazo, considerando-se que o desenvolvimento de um novo fármaco demanda longo tempo e custos elevados. Por outro lado os fármacos não tão frequentemente utilizados, como o etambutol, ainda apresentam grande potencial de exploração no tratamento de tuberculose multi-resistente (MDR-TB) por apresentar baixa incidência de bacilos resistentes^{22, 113, 114, 115, 118}.

O etambutol, isômero dextrógiro de 2,2'-(etilenodiimino)di-1-butanol é um fármaco empregado em tratamentos de tuberculose recidivante, abandono do tratamento primário e em casos de resistência aos quimioterápicos isoniazida, rifampicina e pirazinamida. Uma das vias mais simples de obtenção de etambutol consiste na reação de (+)-2-amino-1-butanol com dicloroetano, técnica amplamente empregada^{109, 110}. O (+)-2-amino-1-butanol pode ser obtido a partir de síntese estereosseletiva ou por resolução. A resolução de (+)-2-amino-1-butanol por formação de sais diastereoméricos com (+)-ácido tartárico apresenta-se como método simples e economicamente acessível, devido ao baixo custo e pronta disponibilidade do racemato e do agente de resolução, o (+)-ácido tartárico^{47, 65}. Resoluções de (±)-2-amino-1-butanol utilizando-se (+)-ácido tartárico como agente de resolução são encontradas na literatura, na grande maioria sob

forma de patentes. De modo geral, as técnicas descrevem a formação de sais diastereoméricos ácidos utilizando-se álcoois de baixa massa molar como solvente^{41, 45, 76, 79, 84, 120}.

Este trabalho tem como objetivo a otimização da resolução de ($\pm$)-2-amino-1-butanol, precursor na síntese de etambutol. A metodologia empregada para a resolução é baseada na formação de sais diastereoméricos neutros com (+)-ácido tartárico visando obter rendimento superior aos rendimentos descritos na literatura com resolução por formação de sais ácidos. Os sais obtidos deverão apresentar elevada pureza química e enantiomérica, adequadas às etapas posteriores de cristalização preferencial para separação dos sais e obtenção de etambutol por síntese com dicloroetano.

3 - REVISÃO DA LITERATURA

3.1 - Tuberculose

Doença infecto-contagiosa que acompanha a humanidade desde tempos paleolíticos, a tuberculose (TB) ganhou caráter epidêmico com a formação de agrupamentos humanos. Chamada de “Grande Praga Branca” na Europa feudal, tornou-se a principal causa de morte e morbidade nos Estados Unidos e Europa, no início do século XX ^{23, 73, 121}.

A partir de 1944, com a aplicação da streptomina, primeiro antimicobacteriano clinicamente disponível, e com a subsequente introdução de outros agentes quimioterápicos e profiláticos, associados à melhoria das condições sanitárias e adoção de programas governamentais para controle da doença, verificou-se franco declínio na incidência global, destacadamente em países industrializados ^{7, 10 103, 107}.

Durante algumas décadas, a excessiva confiança na efetividade do controle da tuberculose gerou expectativas quanto a sua possível erradicação, causando desinteresse gradual em relação à doença, que foi negligenciada como questão de saúde pública por vários países ^{31, 36, 80}.

A partir dos anos 80, após décadas de declínio, a tuberculose ressurgiu como ameaça mundial, registrando-se crescentes taxas de incidência e mortalidade em países industrializados e em desenvolvimento, sendo declarada emergência global pela Organização Mundial de Saúde em 1993, evidenciando a grande preocupação quanto à propagação da doença ^{7, 81, 111}.

3.2 - Patogenia

A tuberculose pode ser causada por várias espécies de micobactérias, sendo o principal agente etiológico o *Mycobacterium tuberculosis*, bacilo aeróbio obrigatório de caráter álcool-ácido resistente. As micobactérias são caracterizadas pelo alto teor de lipídeos em seu envelope, o que confere grande resistência às condições ambientais adversas, podendo sobreviver por semanas em meio completamente seco e resistir a alguns antimicrobianos utilizados como antissépticos e desinfetantes^{58, 102}. O *M. tuberculosis* faz parte de um pequeno grupo de espécies capazes de sobreviver no interior de células fagocíticas do hospedeiro animal. É provável, portanto, que seu envelope apresente propriedades de defesa contra processos microbicidas^{11, 14}.

O modo mais comum de aquisição da tuberculose se dá pela inalação de bacilos que são expelidos pela tosse, fala ou espirro de portadores da doença em sua forma ativa^{7, 73, 102}. Um espirro pode produzir mais de um milhão de núcleos infecciosos, que são muito estáveis e se mantêm suspensos no ar por um longo período de tempo e partículas com diâmetro de até 5 µm, contendo de 1 a 3 bacilos, atingem os espaços alveolares. O número de bacilos inalados necessários para se estabelecer infecção não é exatamente definido por depender da virulência do bacilo e da resistência do hospedeiro, porém estudos indicam que este número esteja entre 10 e 50 unidades, cerca de 6% dos bacilos inalados^{63, 82, 92}.

Os métodos disponíveis para diagnóstico da tuberculose compreendem exames radiológico, imunológico e bacteriológico, aplicáveis de acordo com a forma e estágio da doença. O exame radiológico é indicado para indivíduos sintomáticos com baciloscopia negativa. A prova tuberculínica é utilizada como método auxiliar de diagnóstico de TB em pessoas não vacinadas com BCG. Realiza-se a cultura do bacilo para indivíduos suspeitos de tuberculose pulmonar, negativos ao exame direto, e

para diagnóstico de formas extrapulmonares. A baciloscopia direta no escarro é o método de escolha por ser simples, de baixo custo, seguro e, principalmente, por permitir identificar casos bacilíferos, fontes de propagação da doença^{5, 19, 42, 55}.

De modo geral a patogênese da tuberculose pode ser dividida em estágios que ocorrem seqüencialmente durante a evolução da doença sem intervenção terapêutica. O primeiro estágio se inicia com a inalação do bacilo da tuberculose e sua subsequente instalação em um alvéolo pulmonar, onde é capturado por macrófagos alveolares^{7, 24}. A evolução para o próximo estágio é dependente de três fatores: virulência do microrganismo, carga bacilífera e resistência do hospedeiro. Se os macrófagos alveolares falharem em destruir o bacilo, este se multiplica até que o macrófago se rompa, liberando uma nova geração de bacilos que serão então fagocitados por outros macrófagos alveolares e por macrófagos imaturos provenientes da corrente sangüínea^{24, 63}.

Inicia-se, então, o segundo estágio da patogênese, caracterizado por relacionamento simbiótico no qual o macrófago não ativado é incapaz de destruir ou inativar o bacilo, que por sua vez não agride o macrófago, pois o hospedeiro ainda não desenvolveu hipersensibilidade tuberculínica^{10, 24}. Na primo-infecção, como o hospedeiro apresenta-se destituído de resistência específica, os bacilos proliferam-se com desenvolvimento de lesão com reação inflamatória aguda ou sub-aguda⁸.

Quando a multiplicação logarítmica dos bacilos no interior dos macrófagos cessa, se inicia o terceiro estágio da doença, o que se dá de duas a três semanas após a inalação do bacilo. O hospedeiro se torna tuberculina-positivo e as lesões apresentam necrose caseosa. O bacilo é capaz de sobreviver em material caseoso sólido mas, aparentemente, não pode multiplicar-se devido às condições desfavoráveis como falta de oxigênio, pH reduzido e presença de ácidos graxos inibitórios^{10, 24, 43}. Se o número de

bacilos for pequeno, a probabilidade de regressão da lesão é maior, porém, se a carga bacilífera for maior, ocorre aumento das lesões que se convertem em tubérculos, caracterizados por formações nodulares constituídas por uma região central onde se encontram células gigantes tipo Langhans, uma região média de células epitelióides e uma camada periférica de fibroblastos, linfócitos e monócitos ^{8, 11, 15}.

Em indivíduos imunologicamente debilitados o quarto estágio da doença é caracterizado pela fagocitose de bacilos oriundos dos cáseos por macrófagos não ativados ou fracamente ativados que permitem sua multiplicação intracelular, resultando em crescimento da área de necrose caseosa e migração, através dos canais linfáticos e sistema circulatório, para vários órgãos, em especial aqueles de maior oxigenação ^{10, 11, 24}. Este tipo de disseminação hematogênica pode causar tuberculose miliar, caracterizada pela ocorrência de vários pequenos tubérculos de tamanho uniforme ocorrendo simultaneamente nos pulmões ou fígado, baço e rins. Em indivíduos resistentes, os macrófagos capazes de inibir a multiplicação dos bacilos se acumulam em grande quantidade em torno do centro caseoso, resultando em redução ou interrupção dos danos teciduais ^{15, 24, 54}.

O quinto estágio é caracterizado pela liquefação do cáseo e formação de cavidade. O material liqüefeito constitui-se em excelente meio para proliferação dos bacilos que se multiplicam extracelularmente. As paredes de brônquios adjacentes se tornam necróticas, formando uma cavidade que, ao se romper, descarrega bacilos e material caseoso liqüefeito, atingindo outras regiões do pulmão. Ao tossir, falar ou espirrar, o doente dissemina este material infeccioso para o meio externo. A ruptura de vasos localizados na parede ou lúmen da cavidade é a causa mais comum da hemoptise, presente em estágios avançados da doença ^{11, 24, 25}.

3.3 - Epidemiologia

3.3.1 – Aspectos mundiais

A tuberculose é, atualmente, um sério problema de saúde pública em escala global. No âmbito das doenças infecciosas é a principal causadora de mortes de jovens e adultos; uma em cada quatro mortes evitáveis é atribuída à tuberculose. Estima-se que cerca de um terço da população mundial, aproximadamente 1,7 bilhões de pessoas, esteja infectado com o *M. tuberculosis*, a grande maioria residindo em países em desenvolvimento^{111, 116}.

Segundo dados da OMS, no ano de 1998, foram notificados 3.617.045 casos (61 por 100.000 pessoas) em todo o mundo, o que representa aumento de 7% em relação ao ano anterior (Figura 01). Este número representa apenas 45% dos 8,08 milhões de casos estimados. Deste total, 77% dos casos ocorrem em um grupo de 22 países acompanhados pela OMS com prioridade, devido às elevadas taxas de incidência e mortalidade, do qual o Brasil faz parte, na 13ª colocação, em número absoluto de casos estimados (124.000) e na 22ª colocação em números relativos, 74,7 por 100.00 habitantes. A Índia é o país com maior incidência absoluta, com 1.828.000 casos, seguida de China, Indonésia e Bangladesh. O Zimbabwe aparece como o país de maior incidência relativa, 560,1 casos por 100.000 habitantes (Tabela 01)¹¹³.

Associada à pobreza e negligência por parte dos órgãos de saúde, a tuberculose prevalece em países subdesenvolvidos. São oriundos destes países 95% dos casos notificados à OMS, e 98% das mortes. Como agravante, 75% dos casos ocorrem em população economicamente ativa, entre 15 e 45 anos, alimentando vínculo entre a pobreza e a doença¹¹³.

Figura 01 – Distribuição das notificações mundiais de tuberculose - 1998

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global tuberculosis control. WHO report 2000*. Geneve, 2000, 187 p.

Tabela 01 - Incidência estimada de TB – 22 países de maior incidência

PAÍS Por ordem de incidência	POPULAÇÃO X 1000	NÚMERO ESTIMADO				INCIDÊNCIA CUMULATIVA (%)
		Todos os Casos		Casos Bacilíferos		
		Milhares	Taxa/ 100.000	Milhares	Taxa/100.000	
1 Índia	982.223	1.828	186,1	818	83,3	23
2 China	1.255.689	1.414	112,8	636	50,7	40
3 Indonésia	206.338	591	286,6	266	128,7	47
4 Bangladesh	124.774	305	244,7	137	110,1	51
5 Paquistão	148.166	268	181,3	120	81,3	55
6 Nigéria	106.409	259	243,4	113	106,1	58
7 Filipinas	72.944	224	306,7	101	137,9	61
8 África do Sul	39.357	172	437,9	70	177,3	63
9 Etiópia	59.649	160	268,6	67	112,8	65
10 Vietnã	77.562	147	189,3	66	85,2	66
11 Rússia	147.434	156	105,7	70	47,5	68
12 Congo	49.139	130	263,7	55	112,1	70
13 Brasil	165.815	124	74,7	55	33,3	71
14 Tanzânia	32.102	99	308,6	41	127,5	73
15 Quênia	29.008	86	296,8	35	121,7	74
16 Tailândia	60.300	85	140,9	37	62,0	75
17 Mianmar	44.497	81	181,9	36	81,9	76
18 Afeganistão	21.354	75	353,1	34	158,9	77
19 Uganda	20.554	68	332,3	27	132,9	78
20 Peru	24.797	66	265,0	29	118,7	78
21 Zimbábue	11.377	64	560,1	25	215,6	79
22 Camboja	10.716	58	540,5	26	241,8	80
Total 22 países	3.690.248	6.461	175,1	2.866	77,7	80
Total global	5.898.152	8.083	137,0	3.547	60,6	100

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global tuberculosis control. WHO report 2000*. Geneve, 2000, 187 p.

A estimativa de crescimento do número de casos novos para o final do ano 2000 é de 36% em relação ao início da década, ou seja, 10,2 milhões de novos casos e 3.509.000 mortes apenas este ano. São esperados 3,9 milhões de novos casos no sudeste asiático, 2,1 milhões na África sub-Sahariana e 645 mil nas Américas do Sul e Central ²⁶.

Como principais fatores contribuintes para o crescimento alarmante dos índices epidemiológicos pode-se citar o movimento migratório de pessoas de e para regiões de alta incidência e prevalência, programas ineficientes de controle da doença, surgimento de cepas resistentes à um ou mais fármacos antimicobacterianos e, principalmente, a combinação letal entre tuberculose e AIDS ^{80, 93, 11}.

O efeito da migração se faz sentir particularmente em países industrializados, causando elevação no número de casos, especialmente entre minorias étnicas e raciais. De todos os casos notificados nos Estados Unidos em 1996, 37% ocorreram em indivíduos nascidos em outros países. Em países como Dinamarca, Suécia, Suíça e Nova Zelândia este número ultrapassa 50% ^{93, 113}.

A chave para o controle da tuberculose está na rápida detecção e cura de casos infecciosos. Para que estas medidas sejam efetivas, faz-se necessária a elaboração e implantação de planos nacionais de controle da doença, estabelecendo estratégias e diretrizes que proporcionem métodos eficazes de diagnóstico, registro de índices estatísticos, esquemas terapêuticos adequados e aplicação de medidas profiláticas. Em muitos países, a concepção errônea do controle sobre a doença associada à programas inconsistentes tem resultado em baixos índices de cura, reincidência e, o mais alarmante, o surgimento de resistência aos agentes quimioterápicos usualmente empregados ^{111, 112, 114}.

Nas últimas décadas, o crescente emprego de agentes antimicrobianos e, principalmente, seu uso inadequado, resultou em desenvolvimento de microrganismos resistentes aos principais anti-micobacterianos em uso, isoniazida, rifampicina, pirazinamida, streptomina e etambutol^{17, 112}. A resistência representa assustadora ameaça, pois são poucos os fármacos disponíveis no arsenal terapêutico, e, em particular, a propagação de cepas resistentes aos dois mais importantes fármacos, isoniazida e rifampicina, pode resultar em agravamento do quadro epidemiológico e falência dos atuais esquemas de controle^{10, 36, 112}.

A resistência em microrganismos ocorre naturalmente pelo surgimento de mutantes durante o processo de multiplicação, independente da interação com antibióticos. A exposição de *M. tuberculosis* a um único agente anti-micobacteriano resulta em seleção, por eliminar ou suprimir os microrganismos susceptíveis, permanecendo vivos os bacilos resistentes (Figura 02)^{17, 40, 112}. Neste contexto, a resistência pode ser classificada como primária, quando ocorre em pacientes que nunca receberam tratamento, ou secundária, também chamada de adquirida, quando, após exposição ao agente antimicobacteriano, o bacilo resistente é selecionado⁴⁰.

A ocorrência espontânea de tuberculose multi-resistente (MDR), definida como resistente à isoniazida e rifampicina, com ou sem resistência à outros fármacos, é extremamente improvável, visto que a probabilidade de mutações que resultem em resistência simultânea à isoniazida e rifampicina é o produto das probabilidades individuais ou seja 1 em 10^{14} (as probabilidades para surgimento de resistência para isoniazida e rifampicina foi estimada em 10^6 e 10^8 , respectivamente). Portanto a emergência de MDR-TB está inequivocamente relacionada ao emprego inadequado de fármacos antimicobacterianos^{46, 80, 93}.

Figura 02 - Desenvolvimento e propagação de bacilos resistentes.

Sob a perspectiva mundial, a prevalência média entre novos casos de tuberculose é de 10% de resistência à uma única droga e de 1,4% para MDR. Em países como Argentina e República Dominicana a prevalência para MDR-TB ultrapassa 4,5%, índice considerado alarmante pela OMS (Figura 3) ¹¹².

A assustadora elevação na ocorrência de MDR tem sido associada à aplicação de regimes terapêuticos não padronizados ou inadequadamente conduzidos, à incapacidade de manutenção de um suprimento regular de medicamentos, levando à interrupção do tratamento, à utilização de

medicamentos de qualidade insatisfatória e à associação com a também crescente epidemia de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, AIDS ^{46, 89}.

A ocorrência de tuberculose entre portadores do vírus HIV tornou-se uma epidemia dentro de uma pandemia, que tem causado aumentos notáveis na incidência de tuberculose em muitos países. Devido a sua capacidade de debilitação do sistema imunológico do hospedeiro, o HIV tem sido considerado como o mais importante fator de risco para desenvolvimento da doença ^{61, 86, 93}. Indivíduos HIV-positivos têm probabilidade de adoecer de tuberculose aumentada em 30 vezes em relação a um indivíduo não-portador. Cerca de um terço do aumento na incidência de TB nos últimos seis anos pode ser atribuído ao HIV. Ao final desta década haverão 1,5 milhões de casos de tuberculose ocorrendo por associação com AIDS ^{93, 111}.

Em 1996, cerca de 22 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV, 90% residindo em países em desenvolvimento onde ocorrem 98% das mortes causadas por TB. Estimativas indicam a existência de mais de 9,5 milhões de pessoas duplamente infectadas, 70% destas na região sub-Sahariana da África ^{26, 81, 105}. O risco anual de evolução da infecção latente para tuberculose ativa é de 5 a 10% para indivíduos portadores dos agentes etiológicos para TB e AIDS, estes mesmos percentuais são aplicados a um período correspondente à expectativa de vida de um indivíduo não infectado por HIV ^{3, 72}. As consequências deste risco elevado são evidentes quando se observam os números relativos à incidência de TB em vários países africanos onde, após anos de declínio, o número casos relatados se elevou dramaticamente ⁷².

Figura 03 – Prevalência mundial de resistência adquirida a fármacos antituberculose – 1994 a 1997

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Global tuberculosis control. WHO report 2000*. Geneve, 2000, 187 p.

3.3.2 – Tuberculose no Brasil

Os índices epidemiológicos para TB no Brasil começaram a declinar a partir da década de 80 como resultado da implantação de sistemas de controle da doença. A partir de 1991, verificou-se aumento no número de casos notificados, atribuído, entre outros fatores, à influência epidemiológica da AIDS e, em âmbito nacional, à desestruturação ocorrida com a extinção da Campanha Nacional Contra a Tuberculose e da Central de Medicamentos, resultando em interrupção no provimento de medicamentos gratuitamente fornecidos pelo Governo (Figura 04). Em 1998 foram notificados cerca de 83 mil casos novos e estima-se em mais de 50 milhões o número de brasileiros infectados ^{19, 39}.

(a) RJ informou apenas dados do município do Rio de Janeiro; (b) Exceto Rio de Janeiro; (c) RJ, PR, dados provisórios.

Figura 04 – Casos notificados de TB no Brasil de 1985 a 1988

Fonte: FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE – MS. *Plano nacional de controle da tuberculose*. Brasília, 1999, 184 p.

A distribuição regional de casos notificados em 1998 apresenta maior número de casos na região Sudeste com 47%, seguida da região Norte, com 29,4% e Sul, com 11,2% das notificações. Ao se contabilizar números relativos, verifica-se que a região Sudeste ainda detém o maior número de casos notificados por habitante, porém não ocorre diferença significativa entre os índices relativos para as regiões Norte, Nordeste e Sudeste (Figura 05). Estes resultados se explicam, em parte, pela elevada densidade populacional da Região Sudeste associada ao estado de pobreza e desinformação no qual vivem várias comunidades, sendo este último, o fator determinante para os elevados índices nas regiões Norte e Nordeste ^{19, 39}. O Rio de Janeiro é o estado que apresenta maior incidência relativa, 111,0 casos notificados por 100.000 habitantes em 1997, seguido de Roraima, Amazonas e Acre. Em números absolutos, São Paulo apresenta o maior número de casos novos notificados: 17.609 casos de todas as formas de TB, seguido do Rio de Janeiro com 15.193 e Bahia, com 7.805, em 1997 ²⁰.

Figura 05 – Casos notificados de TB por região em 1988

Fonte: FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE – MS. *Plano nacional de controle da tuberculose*. Brasília, 1999, 184 p.

Os casos notificados são apenas parte do número real de casos, estimados em 130.000 anuais. A atual impossibilidade de levantamento representativo deve-se à deficiências do sistema de saúde pública associadas à imprecisão no diagnóstico da doença. De acordo com dados do Ministério da Saúde, ainda é precária a rede pública de saúde, de forma que a população pobre tem dificuldades para aderir ao tratamento e nem sempre encontra apoio em postos de saúde, o que impede a detecção de casos e concorre para o abandono do tratamento ^{19, 39}.

3.4 - Tratamento e Profilaxia

3.4.1- BCG e Quimioprofilaxia

As medidas de caráter profilático incluem a vacinação e a quimioprofilaxia, sendo a segregação do paciente recomendada apenas em casos severos por curtos períodos.

A vacina BCG, sigla para Bacilo de Calmette-Guérin, é produzida a partir de subcepas vivas e atenuadas derivadas de *Mycobacterium bovis*. Parte integrante de Programas Nacionais de Controle, a vacina confere imunidade a indivíduos não infectados, diminuindo o risco de desenvolvimento da doença ao estimular resposta imunológica mais rápida e intensa à infecção pelo bacilo. A imunidade conferida pela vacina, porém, é de caráter temporário e variável de 70 a 80% ^{18, 29, 33}.

No Brasil, a vacinação é obrigatória para crianças menores de 1 ano e prioritariamente indicada para crianças de 0 a 4 anos. As recomendações de vacinação abrangem recém-nascidos que tenham peso igual ou superior a 2 Kg, mesmo HIV positivos, desde que não apresentem sintomas da síndrome

bem como para trabalhadores da área de saúde em contato com possíveis infectantes. A revacinação deve ser realizada para todas as crianças por volta de 6 anos de idade ²⁰.

A quimioprofilaxia visa a prevenção do desenvolvimento de tuberculose pela administração de quimioterápicos à indivíduos infectados com *Mycobacterium tuberculosis* que não desenvolveram a doença, e à indivíduos sob alto risco de contágio. Além dos benefícios diretos pela proteção individual, a grande importância da quimioprofilaxia está na interrupção da propagação do bacilo a partir de doente bacilífero ³⁷. A isoniazida tem sido recomendada para este procedimento devido à sua comprovada capacidade de reduzir o desenvolvimento da doença. ^{60,71}.

O esquema quimioprolático recomendado pelo Programa Nacional de Controle da Tuberculose consiste na administração diária de isoniazida na dosagem de 10 mg/Kg de peso, com dosagem máxima de 400 mg, por período de 6 meses. O tratamento é indicado para comunicantes intradomiciliares de bacilíferos, adultos e menores de 5 anos ainda não vacinados, recém nascidos coabitantes de foco bacilífero, comunicantes soropositivos para HIV ou imunodeprimidos ¹⁹.

3.4.2 Quimioterápicos

A quimioterapia para doenças micobacterianas foi iniciada em 1944, quando pela primeira vez administrou-se estreptomicina, com resultados notáveis, a um paciente com tuberculose pulmonar progressiva, que não respondia aos meios curativos disponíveis na época. Até então os procedimentos adotados visando a cura da doença eram baseados em

isolamento, repouso do paciente, dieta reforçada, ar puro e, em casos muito avançados, procedimentos cirúrgicos, como a toracoplastia^{23, 106}.

O advento da quimioterapia inaugurou uma nova era no tratamento da tuberculose, reduzindo dramaticamente as taxas de morbidade e mortalidade e dando fim ao prolongado período de tratamento que, por vezes, se estendia por toda vida do doente.

O objetivo da quimioterapia é erradicar os bacilos nos vários ambientes onde se encontram no organismo do hospedeiro. A maior carga bacilífera é representada pelos bacilos extracelulares que se multiplicam nas paredes das cavidades e meio líquido necrótico. Estes são eliminados com maior eficiência pela isoniazida. Os bacilos extracelulares, de crescimento lento, encontrados em material caseoso, são destruídos mais eficazmente pela estreptomicina. A pirazinamida é o quimioterápico mais indicado para eliminar os bacilos de crescimento lento encontrados no interior dos macrófagos. Os bacilos em estado latente não podem ser atacados até que iniciem processo de multiplicação^{67, 68, 87}.

Estes mecanismos, em parte, explicam a necessidade de utilização de mais de um fármaco no tratamento da tuberculose, porém, a razão principal consiste na prevenção da emergência de cepas resistentes a um ou mais fármacos, pois a ação combinada de dois ou mais destes agentes resulta em rápida destruição dos bacilos em seus vários estágios evolutivos³⁸.

Os fármacos correntemente utilizados no tratamento de TB são divididos em dois grupos de acordo com a eficácia e toxicidade apresentada. Os fármacos de primeira linha, ou também chamados fármacos de escolha são a isoniazida, a rifampicina, a pirazinamida, a estreptomicina e o etambutol. O grupo de fármacos de segunda linha é formado por etionamida, ácido p-aminos-

salicílico, canamicina, amicacina, ciclosserina, capreomicina, tioacetazona e ofloxacino (Tabela 02)^{22, 67, 68, 112}.

A isoniazida (INH) (Figura 06), principal fármaco do arsenal antituberculose, surgiu da observação de atividade antimicobacteriana da nicotinamida e subsequente avaliação de seus análogos¹⁰³. Seu mecanismo de ação não está completamente esclarecido, porém sabe-se que envolve a inibição da síntese de ácidos micólicos, componentes essenciais da parede celular do bacilo. Outros mecanismos de ação foram propostos, incluindo a ação como antimetabólito para NAD ou piridoxal fosfato^{35, 77, 97, 117}. A INH é um bactericida efetivo contra bacilos em crescimento do complexo *M. tuberculosis*, tendo atividade variável *in vitro* contra micobactérias não causadoras de tuberculose e nenhuma atividade contra *M. avium*^{22, 87}.

Figura 06 – Fórmula estrutural da isoniazida

A isoniazida é bem absorvida, atingindo concentrações plasmáticas entre 3 e 5 µg/ml de 1 a 2 horas após uma dose oral de 300 mg. É metabolizada pelo fígado a acetilhidrazida, ácido nicotínico e isonicotinil glicina. Aproximadamente 75 a 95% da dose administrada é excretada na urina após 24 horas como INH e seus metabólitos. O efeito adverso mais comum é a neuropatia periférica, causada pelo aumento da excreção de piridoxina (Vitamina B6) induzida pela INH^{22, 67, 68, 108}.

Tabela 02 – Características dos principais fármacos antituberculose

FÁRMACOS	Ano de introdução	Atividade	CIM ^(a)	Alvo molecular	Via de administração	Toxicidade	Custo
Fármacos de primeira linha							
Isoniazida	1952	++++ ^(c)	100	Síntese de ácidos micólicos	Oral	Baixa	Baixo
Rifampicina	1965	++++	100	RNA polimerase	Oral	Baixa	Médio
Pirazinamida	1970	+++	5 a 10	Desconhecido	Oral	Baixa	Médio
Estreptomina	1944	+++	30	Proteínas ribossômicas	Intramuscular	Média	Alto
Etambutol	1968	+++	3 a 4	Polissacarídeos da parede celular	Oral	Baixa	Médio
Fármacos de Segunda linha							
Etionamida	1966	+++	5	Síntese de ácidos micólicos	Oral	Alta	Médio
Canamicina/Amicacina	1957	+++	30	Proteínas ribossômicas	Intramuscular	Média	Alto
Cicloserina	1955	++	3 a 4	Síntese da parede celular	Oral	Alta	Alto
Capreomicina	1967	++	5 a 10	Desconhecido	Intramuscular	Média	Alto
Tioacetazona	1950	+	10	Desconhecido	Oral	Média	Baixo
Ácido p-aminossalicílico	1946	+	100	Biossíntese de folato	Oral	Média	Alto
Ofloxacino	1987	++	N.D. ^(b)	DNA girase	oral	Baixa	Alto

(a) Nível sanguíneo para concentração inibitória mínima (b) Não determinado (c) Atividade : + = baixa; ++ = média; +++ = boa; ++++ = muito boa
 Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Anti-tuberculosis drug resistance in the world*. Geneve, 1998, 290 p.

A pirazinamida (PZA) (Figura 07) também é um análogo da nicotinamida cujo mecanismo de ação não é conhecido. Possui espectro de ação restrito, apresentando atividade bacteriostática contra *M. tuberculosis*, porém, é inativa contra *M. bovis*. A importância da utilização de pirazinamida reside em sua capacidade de destruir bacilos no interior dos monócitos. Estudos sugerem que PZA seja um pró-farmaco do ácido pirazinóico, sendo este último responsável pela atividade. A maior importância do emprego de PZA está em sua aplicação em terapias de curto prazo, complementando a atividade da isoniazida e rifampicina. Os efeitos adversos mais comuns estão relacionados à hepatotoxicidade e hiperuricemia ^{21, 22, 87}.

Figura 07 – Fórmula estrutural da pirazinamida

A rifampicina (RMP) (Figura 08), sintetizada pela primeira vez em 1965, é resultante de modificações moleculares efetuadas em compostos com atividade antimicrobiana, as rifamincinas. É um fármaco bactericida importante no tratamento de doenças causadas por micobactérias em geral, apresentando boa atividade contra *M. tuberculosis* intra e extracelular, atividade mediana contra o complexo *M. avium* e baixa atividade contra *M. fortuitum* ^{22, 83}. O mecanismo de ação da RMP parece ser a inibição de β -subunidade de RNA polimerase DNA-dependente. De grande importância para o desenvolvimento dos regimes de curta duração, combinado à isoniazida, permitiu a redução do tratamento de 18-24 meses para 6-9 meses ^{22, 52}. A rifampicina é metabolizada no fígado por deacetilação, sendo o metabólito eliminado na urina. A administração de doses elevadas, acima de 15 mg/Kg, tem sido associada à ocorrência de anemia, falha renal aguda e leucopenia ^{22, 87}.

Figura 08 – Fórmula estrutural da rifampicina

Antibiótico da classe dos aminoglicosídeos, a estreptomicina (SM) (Figura 09) tem atividade bactericida contra micobactérias extracelulares. O mecanismo de ação parece ser a inibição de síntese protéica por ligar-se à subunidade 30 S ribossômica, o que resulta em danos à membrana do bacilo. É administrada por via parenteral por ser escassamente absorvida a partir do intestino. Distribui-se amplamente pelos fluidos orgânicos, acumulando-se nos tecidos, com liberação lenta. Entre os efeitos adversos, pode causar dano ao oitavo nervo craniano, nefropatia e ototoxicidade ^{13, 22, 87}.

Figura 09 - Fórmula estrutural da estreptomicina

O etambutol (EMB) (Figura 10) é um tuberculostático desenvolvido a partir um programa de *screening* no qual vários análogos de N, N'-diisopropil-etilenodiamina foram sintetizados e testados, resultando o etambutol como o composto mais ativo ^{88, 101, 110}. Quase todas as cepas de

M. tuberculosis e *M. kankansasii*, e muitas cepas do complexo *M. avium* são sensíveis a este fármaco e a importância de seu emprego reside em sua capacidade de suprimir o crescimento da maioria dos bacilos resistentes à isoniazida e estreptomicina. Embora o mecanismo de ação não esteja completamente esclarecido, EMB parece inibir a incorporação de ácido micólico na parede celular micobacteriana ^{13, 22, 87}. A dose usual de 15 mg/Kg é bem tolerada, com raros relatos de neurite retrobulbar, seu mais importante efeito adverso, que está relacionado à dose e duração da terapia. A acuidade visual deve ser acompanhada durante o decorrer do tratamento ^{22, 27}.

Figura 10 - Fórmula estrutural do etambutol

A etionamida (ETH) (Figura 11), derivado da α -etiltioisonicotinamida, parece atuar inibindo a síntese protéica pelo bloqueio de aminoácidos que contém enxofre, inibindo a síntese de ácidos micólicos. Apesar de apresentar apenas 10% da atividade da INH, sua toxicidade é 15 vezes menor. Os efeitos colaterais mais freqüentemente observados são anorexia, vômitos e desconforto gastrointestinal ^{22, 108}.

Figura 11 – Fórmula estrutural da etionamida

A canamicina (KN) e a amicacina (Figura 12) são aminoglicosídeos, portanto, apresentam o mesmo mecanismo de ação da estreptomicina. A

KN apresenta atividade inferior à SM e tem sido usada na terapia da tuberculose em combinação com outros fármacos. A amicacina apresenta atividade superior à KN e semelhante à SM, porém não é utilizada no tratamento inicial principalmente devido a seu custo elevado, sendo indicada no tratamento de tuberculose resistente ^{13, 87, 108}.

Figura 12 – Fórmulas estruturais da canamicina e amicacina

A ciclosserina (CS) (Figura 13) é um análogo da D-alanina que atua pelo bloqueio da alanina racemase e D-alanina sintetase, o que resulta em inibição da síntese da parede micobacteriana. Doses elevadas do fármaco podem causar sintomas relacionados ao sistema nervoso central, como sonolência, dores de cabeça, letargia e depressão entre outros ^{13, 108}.

Figura 13 – Fórmula estrutural da ciclosserina

A capreomicina (CM) (Figura 14) é um polipeptídeo bacteriostático obtido a partir do *Streptomyces capreolus*, cujo mecanismo de ação, ainda desconhecido, parece estar relacionado com a inibição de síntese de proteínas. Devido à pequena absorção intestinal é administrada por via

intramuscular e sua distribuição no organismo ainda não é conhecida. Alguns dos efeitos adversos relatados são ototoxicidade, nefrotoxicidade e eosinofilia^{22, 87, 108}.

Figura 14 - Fórmula estrutural da capreomicina

A tioacetazona (TZA) (Figura 15) é uma tiosemicarbazona de baixa atividade anti-micobacteriana, porém indicada para utilização com isoniazida e estreptomicina por não apresentar resistência cruzada em relação a estes fármacos. Seu uso clínico apresenta limitações devido à sérios efeitos adversos quando de sua administração, como perturbações gastrointestinais e anemia. Seu mecanismo de ação é desconhecido^{22, 87}.

Figura 15 - Fórmula estrutural da tioacetazona

O ácido p-aminossalicílico (PAS) (Figura 16) é um agente fracamente bactericida que recebeu renovado interesse devido ao surgimento de TB resistente. Seu mecanismo de ação está relacionado com a síntese de tetraidrofolato e ao transporte de ferro. Sua atividade se aplica apenas contra *M. tuberculosis* em crescimento, sendo inativo contra bacilos intracelulares e não apresenta atividade contra a maioria das demais

micobactérias. Atualmente é usado em combinação a outros agentes mais potentes para aumentar sua eficácia e impedir ou retardar o surgimento de resistência ^{22, 87, 108}.

Figura 16 - Fórmula estrutural do ácido *p*-aminossalicílico

O ofloxacino (Figura 17) é um antimicrobiano da classe das quinolonas, que atua por inibição da DNA girase. Em geral é bem tolerado, podendo apresentar efeitos colaterais como náuseas, diarreia e dor abdominal em até 10% dos pacientes. O ofloxacino tem sido incluído como parte de regimes multidroga para tratamento de infecções em pacientes aidéticos ^{22, 87}.

Figura 17 - Fórmula estrutural do ofloxacino

3.4.3 Esquemas de Tratamento

Em linhas gerais, o tratamento da tuberculose é dividido em duas fases: uma fase intensiva ou de ataque, durante a qual o objetivo é destruir a população de bacilos que estão se multiplicando, e uma fase de manutenção ou continuação, que visa destruir os bacilos que se encontram em estado latente e aqueles não atingidos pela primeira fase. Um número maior de fármacos é usado na primeira fase, que pode variar de 1 a 2 meses, do que na fase de manutenção, cuja duração varia de 4 a 10 meses. Nos regimes para tratamento de casos novos são empregados fármacos de primeira linha: isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol. Em alguns países subdesenvolvidos emprega-se a tioacetazona por seu baixo custo^{13, 35, 71}.

Os regimes de tratamento de TB são expressos utilizando-se um código padrão composto de números e letras, onde os números indicam a duração do tratamento, em meses, e as letras representam o fármaco utilizado a saber: H para isoniazida, T para tioacetazona, R para rifampicina, S para estreptomicina, E para etambutol e Z para pirazinamida. Um número subscrito após a letra que designa o fármaco indica o número de vezes por semana em que este deve ser administrado (Tabela 03)^{71, 115}. Na década de 60, o regime padrão, 2STH/10-16TH, utilizado em muitos programas nacionais de controle, demandava de 12 a 18 meses de tratamento. Este prazo foi reduzido para 6 meses em 1993, com o regime de curta duração 2HRZE/4HR, recomendado pela OMS e American Thoracic Society. Apesar dos custos elevados dos fármacos utilizados nos regimes de curta duração comparados ao aplicado anteriormente, a sua adoção resultou em benefícios evidentes: índices de cura mais elevados, maior aderência do paciente ao tratamento e notável redução do surgimento de resistência micobacteriana. Além destas vantagens, a quimioterapia de curto prazo demonstrou melhor relação custo-benefício^{70, 71}.

Existem várias combinações de fármacos para elaborar diferentes regimes adequados ao orçamento e sistema de saúde de cada país. A tabela 03 mostra possíveis alternativas de regimes para cada categoria de tratamento recomendadas pela OMS. Em situações especiais os esquemas descritos na tabela não se aplicam, sendo necessária prescrição individualizada ¹¹⁵.

Tabela 03 – Esquemas quimioterápicos alternativos para cada categoria de tratamento

CATEGORIA	DESCRIÇÃO	REGIMES ALTERNATIVOS	
		Fase inicial (diário ou 3 vezes por semana)	Fase de manutenção
I	Bacilífero positivo novo; Bacilífero-negativo com envolvimento parenquimal extensivo; Novos casos de formas severas de TB extra-pulmonar	2 EHRZ (SHRZ) 2 EHRZ (SHRZ) 2 EHRZ (SHRZ)	6 HE 4 HR 4H ₃ R ₃
II	Bacilífero com retorno após abandono; Falência do tratamento; Tratamento após interrupção	2 SHRZE/1 HRZE 2 SHRZE/ 1HRZE	5 H ₃ R ₃ E ₃ 5 HRE
III	Bacilífero negativo em categoria diferente de I; Formas menos severas de TB extra-pulmonar.	2 HRZ 2 HRZ 2 HRZ	6 HE 4 HR 4 H ₃ R ₃
IV	Caso crônico/resistência (ainda bacilífero após re-tratamento)	Não aplicável Procurar normas de procedimento da OMS para uso de drogas de segunda linha em centros especializados	

Fonte: WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Treatment of tuberculosis. Guidelines for national programmes*. Geneve, 1998, 78 p.

A maioria dos fármacos utilizados no tratamento da TB são de uso seguro para mulheres grávidas, com exceção da estreptomicina que é ototóxica para o feto e pode ser substituída por etambutol. Durante a amamentação a mãe deve continuar o tratamento, sem risco para o bebê, como forma de prevenir a transmissão do bacilo. O bebê deve receber tratamento profilático com isoniazida e imunização com BCG ^{13, 35, 68, 115}. Mulheres que fazem uso de contraceptivos orais correm o risco de ter reduzida a proteção contra a gravidez caso sejam tratadas com rifampicina. Nesta situação, o contraceptivo deve ser substituído por outro com maior teor em estrogênio ou usar outra forma de contracepção ^{35, 115}. No Brasil, o tratamento é desenvolvido em regime ambulatorial, sendo admitida hospitalização apenas em casos de meningite tuberculosa, indicações cirúrgicas, complicações graves ou quando o estado geral do doente não permite tratamento em ambulatório ¹⁹. Em todos os esquemas adotados no Programa Nacional de Controle da Tuberculose do Ministério da Saúde, a medicação deve ser administrada diariamente. A tabela 04 apresenta os esquemas adotados de acordo com as possíveis situações de tratamento. As tabelas 05, 06, 07 e 08 descrevem os esquemas citados ¹⁹.

Tabela 04 – Esquemas de tratamento segundo a situação do caso

SITUAÇÃO	ESQUEMA INDICADO
Sem tratamento anterior ^a	I
Com tratamento anterior : Recidivante do Esquema I Retorno após abandono do Esquema I	IR
Meningite tuberculosa	II
Falência dos Esquemas I ou IR ^b	III

a) Considera-se **sem tratamento** os pacientes que nunca se submeteram à quimioterapia antituberculosa ou o fizeram por menos de 30 dias. b) Entende-se por **falência** a persistência da positividade na baciloscopia no escarro ao final do tratamento.

Fonte: COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA – FNS – MS. **Manual de normas para o controle da tuberculose**. Brasília, 1995, 30 p.

Tabela 05 - Esquema I - 2RHZ/4RH

FASES DO TRATAMENTO	FÁRMACOS	PESO DO DOENTE			
		ATÉ 20 Kg (mg / Kg/dia)	DE 20 A 35 Kg (mg / dia)	DE 35 A 45 Kg (mg / dia)	MAIS DE 45 Kg (mg / dia)
1ª FASE (2 meses)	R	10	300	450	600
	Z	10	200	300	400
	H	35	1000	1500	2000
2ª FASE (4 meses)	R	10	300	450	600
	H	10	200	300	400

Fonte: COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA – FNS – MS. *Manual de Normas para o controle da tuberculose*. Brasília, 1995, 30 p.

Tabela 06 - Esquema IR - 2RHZE/4RHE

FASES DO TRATAMENTO	FÁRMACOS	PESO DO DOENTE			
		ATÉ 20 Kg (mg / Kg / dia)	DE 20 A 35 Kg (mg / dia)	DE 35 A 45 Kg (mg / dia)	MAIS DE 45 Kg (mg / dia)
1ª FASE (2 meses)	R	10	300	450	600
	H	10	200	300	400
	Z	35	1000	1500	2000
	E	25	600	800	1200
2ª FASE (4 meses)	R	10	300	450	600
	H	10	200	300	400
	E	25	600	800	1200

Fonte: COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA – FNS – MS. *Manual de Normas para o controle da tuberculose*. Brasília, 1995, 30 p.

Tabela 07 - Esquema II - 2RHZ/7RH

FASES DO TRATAMENTO	FÁRMACOS	mg / Kg de peso / dia	DOSE MÁXIMA (mg)
1 ^A FASE (2 MESES)	R	20	600
	H	20	400
	Z	35	2000
2 ^a FASE (7 MESES)	R	10 A 20	600
	H	10 A 20	400

Fonte: COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA – FNS – MS. *Manual de Normas para o controle da tuberculose*. Brasília, 1995, 30 p.

Tabela 08 - Esquema III - 3SEtEZ/9EtE^a

FASES DO TRATAMENTO	FÁRMACOS	PESO DO DOENTE			
		ATÉ 20 Kg (mg/Kg/dia)	DE 20 A 35 Kg (mg/ dia)	DE 35 a 45 Kg (mg/dia)	MAIS de 45 Kg (mg/dia)
1 ^a FASE (3 MESES)	S	20	500	1000	1000
	Et	12	250	500	750
	E	25	600	800	1200
	Z	35	1000	1500	2000
2 ^a FASE (9 MESES)	Et	12	250	500	750
	E	25	600	800	1200

a)Et = Etionamida

Fonte: COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA – FNS – MS. *Manual de Normas para o controle da tuberculose*. Brasília, 1995, 30 p.

O controle do tratamento consiste na aplicação de meios que permitam o acompanhamento da evolução da doença e utilização correta dos fármacos. Se faz necessária realização de baciloscopia de controle, acompanhamento clínico periódico e monitorização da entrega e uso dos medicamentos.

Em 1993, o Programa Global para Tuberculose (GTB) da OMS, iniciou a divulgação de uma estratégia de detecção e cura que se tornou a base da maioria dos planos de controle de vários países. Denominada DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course), a estratégia combina cinco elementos: compromisso político, serviços de microscopia, provimento de fármacos, sistemas de monitoramento e observação direta do tratamento. O GTB tem provido as informações necessárias, tais como diretrizes técnicas e material de treinamento para divulgação e implantação da estratégia DOTS, fornecendo assistência para mais de 60 países ^{111, 136}.

Em 1998 o Ministério da Saúde declarou a tuberculose como problema de saúde prioritário no Brasil, implantando a estratégia DOTS em projeto piloto na Região Centro-Oeste. A adesão ao projeto tem sido encorajada através de incentivos financeiros com reembolso aos Estados pelas baciloscopias realizadas e por cada paciente curado ^{39, 113}.

3.5 – Pesquisa em quimioterapia antimicobacteriana

A confiança no controle da tuberculose, desenvolvida a partir da notável queda dos índices epidemiológicos resultantes da introdução dos quimioterápicos, causou acomodação e desinteresse por parte dos pesquisadores, órgãos de saúde e companhias farmacêuticas quanto ao desenvolvimento de novos agentes antituberculose e aprimoramento dos fármacos existentes. Em resposta à crescente incidência de *M. tuberculosis* resistente e freqüente ocorrência de infecção por complexo *M. avium* em

pacientes infectados com HIV, se faz necessária a busca de novas alternativas, visando, principalmente, eficácia contra cepas resistentes, redução da duração do tratamento e diminuição da toxicidade ^{22, 114, 118}.

Na luta contra a tuberculose a questão econômica é crucial. Em todos os 22 países classificados pela OMS como os de maior incidência mundial há populações vivendo em carência nutricional, condições sanitárias insatisfatórias e escassez de recursos aplicados em saúde pública, evidenciando a relação entre a doença e o baixo desempenho sócio-econômico. Frente à estes problemas, estudos de otimização dos fármacos atualmente empregados, no sentido de diminuir a duração da terapia, facilitar sua administração, redução da toxicidade, aumentar a tolerância e, principalmente, reduzir custos de obtenção, resultam em benefícios de curto prazo, considerando-se que o desenvolvimento de um novo fármaco demanda longo tempo e custos elevados. Por outro lado, os fármacos existentes, especialmente aqueles não tão freqüentemente utilizados, como o etambutol, ainda apresentam grande potencial de exploração, principalmente por apresentar baixa incidência de bacilos resistentes ^{22, 113, 114, 115, 118}.

3.5.1 - Etambutol

O etambutol, *(+)-2,2'-(etilenodiimino)di-1-butanol*, foi desenvolvido a partir da verificação da atividade antimicobacteriana de N,N'-diisopropiletileno-diamina (Figura 18) em um programa de *screening* realizado para selecionar compostos com potencial atividade antimicrobiana. A descoberta de um composto com elevada atividade, especialmente contra *M. tuberculosis*, com estrutura química não relacionada aos fármacos conhecidos, estimulou a realização de estudos para determinação das características estruturais relacionadas à atividade farmacológica e desenvolvimento de análogos com maior atividade e menor toxicidade ^{88, 109,}

Figura 18 - N,N'-diisopropiletenodiamina

Foi possível demonstrar que a atividade desta classe de compostos depende da presença de dois nitrogênios amínicos básicos, da distância entre os dois carbonos centrais e de grupos alquil com ramificações curtas, não maiores que sec-butil, ocorrendo nos carbonos ligados aos nitrogênios. Os compostos com maior atividade apresentaram características estruturais consistentes com a capacidade de formar quelatos, sugerindo que esta propriedade esteja relacionada com a atividade antituberculosa. Baseando-se nestas descobertas, análogos de N,N'-bis(hidroxiálquil) alquildiaminas foram sintetizados e testados. Posteriormente, verificou-se que o cloridrato de (+)-2,2'-(etilenodiimino)-di-1-butanol, cloridrato de etambutol (Figura 19), apresentava-se como o composto de maior atividade ^{87, 88, 109, 110}.

Figura 19 - (+)-cloridrato de etambutol

O 2,2'-(etilenodiimino)-di-1-butanol apresenta três estereoisômeros, a saber: os enantiômeros *levo* e *dextro* e a forma *meso*. O estudo quimioterapêutico dos isômeros em camundongos revelou destacada atividade do isômero *dextro* em relação aos demais, sendo este 12 vezes mais ativo do que o isômero *meso*, que por sua vez é, pelo menos, 200

vezes mais ativo do que o isômero *levo*, que mostrou-se inativo na dose máxima tolerada ^{109, 110}.

Quanto ao espectro de ação, o etambutol possui capacidade de inibição *in vitro* da maioria das cepas de *M. tuberculosis*, *M. smegmatis*, *M. bovis* e *M. kansasii*, em concentrações da ordem de 1 a 5 µg/mL. Em estudos de susceptibilidade realizados com diversos grupos de microrganismos, o etambutol não apresentou atividade contra estafilococos, enterococos, coliformes e algumas espécies de vírus e fungos ^{49, 96, 101, 109}.

O modo de ação do etambutol, em comparação a outros quimioterápicos antimicobacterianos, não foi alvo de estudos extensivos, portanto, pouco se sabe a respeito. Muitos efeitos morfológicos, fisiológicos e bioquímicos, relacionados ao efeito inibitório foram descritos, porém não há informação suficiente para a elaboração de uma hipótese definitiva. Acredita-se que o mecanismo de ação esteja relacionado à interferência na função de poliaminas e cátions bivalentes no metabolismo de RNA, inibição da síntese protéica e de DNA e inibição da introdução de D-arabinose na arabinogalactana da parede celular ^{6, 50, 96, 98}.

Graças à sua estrutura molecular diferenciada, não há evidências de resistência cruzada com outros agentes antituberculose, o que justifica sua importância no tratamento de tuberculose resistente ^{101, 110}. O mecanismo de desenvolvimento de resistência ao etambutol não é conhecido, porém a frequência de emergência de bacilos resistentes é da ordem de 1 em 10⁶ para *M. tuberculosis* e *M. bovis* ¹⁰⁴.

Nos anos 60, época de introdução do etambutol, os três fármacos mais freqüentemente utilizados eram isoniazida, estreptomicina e ácido p-aminossalicílico. A ocorrência de bacilos resistentes decorrentes da utilização de regimes de tratamento baseados em apenas um fármaco já havia sido determinada e o etambutol foi então gradualmente incorporado

em substituição ao PAS, que apresentava baixa atividade e problemas de intolerância por parte dos pacientes ^{12, 27}.

Atualmente, o etambutol tem sido prescrito em doses orais de 15 a 25 mg/Kg/dia, administrado com, pelo menos, dois outros fármacos, em esquemas para tratamento de pacientes recidivantes, para pacientes com histórico de abandono do tratamento primário, ou ainda quando ocorre total falência de esquemas anteriormente utilizados ^{19, 91}.

O aspecto toxicológico mais importante, a neurite retrobulbar é caracterizada por perda de discriminação das cores verde e vermelho, redução da acuidade e restrição do campo visual. Ocorre em cerca de 3% dos pacientes tratados com 25 mg/Kg/dia. Em doses acima de 30 mg/Kg/dia, verificou-se que o número de pacientes acometidos pode atingir mais de 20%. Quando detectada precocemente a toxicidade ocular é completamente reversível após a interrupção da administração de etambutol. Outros efeitos adversos são desconforto gastrointestinal, artralgias, dermatite, confusão mental e anorexia ^{22, 75}.

Os primeiros relatos de toxicidade em humanos foram baseados em estudos realizados com o racemato, forma disponível do fármaco na época. Verificou-se, mais tarde, que a toxicidade ocorre de maneira semelhante para os três isômeros. Como citado anteriormente, o *levo*-isômero não apresenta atividade e, adicionalmente, é mais lentamente excretado, de forma que doses equivalentes do racemato produzem mais efeitos neurotóxicos e menor efeito micobactericida em relação ao etambutol enantiomericamente puro ^{75, 85}.

A síntese do etambutol foi descrita pela primeira vez por Wilkinson e colaboradores ^{109, 110}, pela reação de dicloroetano com excesso de (+)-2-amino-1-butanol, sob aquecimento, método ainda amplamente utilizado (Figura 20).

Figura 20 – Rota de obtenção de etambutol ^{109, 110}

Outros métodos de síntese estão citados na literatura e, quase em sua totalidade, apresentam-se na forma de patentes. Em linhas gerais as metodologias são descritas a seguir:

- Reação de 2-amino-1-propanol com dicloroetano, seguido de adição de metóxido de sódio ²;
- Reação de (+)-2-benzilamino-1-butanol com dibromoetano, seguido de reação com dietil oxalato e hidrogenação catalítica mediada catalisador de paládio ⁵³;
- Redução de ácido 2-aminobutírico à 2-aminobutanol, este reagindo com dietiloxalato, seguido de redução com hidreto de lítio e alumínio em presença de tetrahidrofurano ou dioxano ^{28, 56};
- Reação de 2-aminobutanol com poliglixal seguido de redução catalítica com níquel de Raney ⁴⁸;
- Reação de trietilamina com clorocarbonato de etila resultando em oxazolidona seguido de refluxo com HCl ⁹⁹.

Verifica-se, porém, que o método de Wilkinson ^{109, 110} permanece como a forma mais simples de obtenção do etambutol, apresentando facilidade operacional, com vantagem adicional de custo inferior aos demais processos propostos. O (+)-2-amino-1-butanol, isômero dextrorrotatório precursor, é uma substância não encontrada em quantidades industriais para fornecimento e de preço elevado, portanto faz-se necessária obtenção deste isômero através de resolução ótica de seu racemato, o 2-amino-1-

butanol, aminoálcool de baixo preço e com boa disponibilidade comercial ^{1, 34, 64}.

3.6 – Fármacos Quirais

Os fundamentos da estereoquímica foram estabelecidos a partir da descoberta da atividade ótica pelo físico João-Baptista Biot em 1815 ³⁰ e pelos trabalhos de Pasteur que, em 1848 ⁶⁹, ao observar cristais de tartarato de sódio e amônio opticamente inativo sob aumento, constatou ser composto de mistura de duas espécies de cristais que apresentavam imagens especulares. A separação manual e dissolução de cada espécie em água, possibilitou a observação de atividade ótica de sinais contrários porém de mesma magnitude.

A propriedade geométrica que confere não identidade de um objeto com sua imagem especular é chamada de *quiralidade*. Uma molécula quiral existe em duas formas *enantioméricas* que são imagens especulares uma da outra. A manifestação mensurável da quiralidade molecular é o *poder rotatório*, capacidade de girar o plano de um feixe de luz polarizada. A rotação específica, $[\alpha]$ de um composto opticamente ativo é definida como a rotação, em graus, observada quando um feixe de luz polarizada atravessa uma solução na concentração de 1 g/cm³ contida em um tubo de 1 decímetro de comprimento.

Os *enantiômeros* apresentam propriedades físicas idênticas, exceto pelo sentido de rotação do plano da luz polarizada. O par de enantiômeros de um dado composto apresenta poder rotatório de valores absolutos equivalentes, mas de sinais contrários. Denomina-se *dextrorrotatório* ou (+), o enantiômero que gira o plano para direita, e *levorrotatório* ou (-), o enantiômero que o faz para a esquerda. Misturas contendo igual quantidades de cada um dos enantiômeros (50:50) são chamadas *misturas racêmicas* ou *racematos*. Estereoisômeros que não são imagem especular

um do outro, apresentando propriedades físico-químicas diferenciadas são denominados diastereômeros ou diastereoisômeros^{30, 47}.

Atualmente observa-se crescente interesse pelo significado da estereoquímica na ação de fármacos. A maior demanda por substâncias enantiomericamente puras (SEP) provém da indústria farmacêutica, devido ao grande número de estudos visando relacionar atividade biológica à aspectos estereoquímicos dos fármacos. Porém ainda há muito a ser feito no sentido de racionalizar o uso de fármacos quirais pois muitos fármacos ainda são comercializados na forma de racematos^{113, 116}. Por muitos anos a maioria dos fármacos foi produzida em sua forma racêmica, visto que os métodos de síntese assimétrica disponíveis não eram muito eficientes e a resolução de racematos resultava em custos elevados e dificuldades operacionais, tornando onerosa a produção industrial. Portanto, durante décadas, a questão da quiralidade e pureza ótica foram negligenciadas pela comunidade científica e pela indústria farmacêutica^{4, 30, 44}.

A influência da quiralidade pode ser verificada nos vários caminhos percorridos por um fármaco desde sua administração até a eliminação. Se o sistema de transporte do fármaco ao sítio de ação for do tipo ativo, que implica no envolvimento de uma enzima transportadora, será necessária elevada estereosseletividade para combinar-se à enzima em questão. Este fenômeno pode aplicar-se à várias etapas do processo farmacocinético, ou seja, à absorção, à distribuição, ao metabolismo e à excreção^{30, 44, 59}. A estereoespecificidade de enzimas e receptores conduz à respostas biológicas diferenciadas para as estruturas quirais. Com o desenvolvimento das técnicas de separação de enantiômeros tornou-se possível a realização de estudos farmacológicos dos isômeros isolados de sua mistura racêmica. Em linhas gerais, no que diz respeito aos fármacos quirais, são observadas as seguintes ocorrências: os enantiômeros podem apresentar a mesma propriedade farmacológica, com atividades semelhantes ou um dos enantiômeros sendo mais ativo; a atividade sendo atribuída a apenas um

dos enantiômeros, sendo o outro inativo; a atividade de um isômero sendo diferente da atividade de seu antípoda ótico, podendo ocorrer antagonismo ^{30, 44, 59}.

A ocorrência de enantiômeros com atividade e potência semelhantes é uma situação rara, devido à estereoespecificidade das enzimas e receptores. Os isômeros da prometazina, fármaco antagonistas dos receptores H₁ apresentam esta característica, apesar da conhecida seletividade destes receptores. Outro anti-histamínico H₁, a terfenadina, também demonstra atividade semelhante entre os isômeros isoladamente e a mistura racêmica. Nesta situação, a aplicação de técnicas estereosseletivas para obtenção e subsequente administração da substância enantiomericamente pura não oferece vantagem ^{44, 119}.

Mais freqüente é a situação na qual os enantiômeros apresentam atividades semelhantes com potência diferentes. A potência do isômero *levo* do anticoagulante warfarina, é cerca de 2 a 5 vezes maior do que o *dextro*. Os isômeros do verapamil são equivalentes na potência para os efeitos vasodilatadores, mas o isômero *dextro* é cerca de 8 a 10 vezes menos potente no que diz respeito à ação cardiodepressora ^{16, 66, 100}.

A manifestação de atividade em apenas um dos isômeros em oposição à inatividade do outro é uma ocorrência não muito comum, porém extremamente vantajosa do ponto de vista farmacológico. Um dos raros exemplos é o α -metildopa, que tem sua atividade antihipertensiva exercida apenas pelo isômero L ^{44, 59}.

Um exemplo de atividade diferenciada para cada isômero é o caso do propoxifeno, seu isômero *dextro* possui atividade analgésica e seu antípoda apresenta atividade antitussígena. As diferentes atividades resultaram na comercialização dos isômeros com especialidades farmacêuticas distintas ^{44, 90}. Nesta categoria enquadra-se o exemplo clássico da talidomida. O desastre ocorrido pela administração deste fármaco como mistura racêmica ilustra a ocorrência de atividade

diferenciada na forma de efeitos indesejados. O isômero (R) da talidomida apresenta propriedades sedativas e hipnóticas enquanto o isômero (S) possui, adicionalmente, propriedades teratogênicas. O efeito secundário de retenção de ácido úrico exercido pelo isômero *dextro* da indacrinona é antagonizado pela propriedade uricosúrica de seu antípoda ótico levógiro ³²,
59 .

No caso do etambutol, sua comercialização e administração sob forma enantiomericamente pura justifica-se amplamente, pela observação da maior atividade tuberculostática do isômero *dextro* e pela elevada toxicidade resultante da administração do racemato, que requer doses mais elevadas para obtenção de efeito equivalente.

O mercado para fármacos quirais está em franco crescimento. Dos 100 fármacos mais vendidos no mundo em 1997, 50 eram constituídos por enantiômeros isolados. Este crescimento é atribuído à introdução de fármacos que atuam no sistema nervoso central, no sistema cardiovascular, fármacos antivirais e antineoplásicos. A possibilidade de patenteamento da tecnologia de obtenção da forma enantiomericamente pura de um fármaco originalmente licenciado como mistura racêmica, tem impulsionado a indústria farmacêutica a desenvolver tecnologias quirais e lançar sucedâneos enantiomericamente puros dos racematos originais ⁹⁴.

3.7 – Métodos de obtenção de substâncias enantiomericamente puras - SEP

Denomina-se ativação ótica a obtenção de compostos quirais a partir de precursores não quirais ou racêmicos. Fármacos quirais podem ser obtidos através de síntese estereosseletiva, por resolução do racemato ou separação cromatográfica, de acordo com fatores relacionados à estrutura da molécula alvo e da disponibilidade e custos dos compostos de partida ³⁰,
47 .

A síntese estereosseletiva envolve duas estratégias de obtenção baseadas nos compostos de partida. Na *síntese diastereosseletiva* utiliza-se substâncias naturais enantiomericamente puras, denominados blocos quirais, como compostos de partida, incorporando-os à estrutura da molécula alvo. A partir da quiralidade presente no composto de partida novos centros quirais são diastereomericamente induzidos ^{4, 30}. Na *síntese enantiosseletiva*, os compostos de partida são substâncias pro-quirais que resultarão na formação de compostos enantioméricos, compreendendo processos identificados como sínteses assimétricas.

A resolução de racematos é o mais antigo método de obtenção de SEP e consiste na intervenção físico-química que resulta em separação dos enantiômeros que compõem um racemato. Os métodos clássicos de resolução ótica, desenvolvidos a partir dos estudos de Pasteur, são a cristalização direta de misturas de enantiômeros e a cristalização fracional de diastereômeros com um reagente quiral. A resolução ótica também pode ser efetuada por técnicas cromatográficas, permitindo a separação direta do enantiômero pelo uso de fase quiral, móvel ou estacionária.

Na resolução por cristalização direta, os enantiômeros podem separar-se espontaneamente a partir de um conglomerado ou por diferenças nos padrões de cristalização dos enantiômeros em solução supersaturada do racemato, sendo esta última denominada resolução por cristalização preferencial.

Na resolução por formação de diastereômeros, uma substância opticamente pura reage com o racemato, resultando em compostos diastereoméricos que, devido às diferenças em suas propriedades físico-químicas podem ser separados por método apropriado ^{30, 47}.

É grande o número de resoluções mediadas por diastereômeros citadas em literatura por ser a técnica de resolução mais amplamente

empregada, principalmente em escala industrial. Após sua formação, diastereômeros podem ser separados empregando-se várias técnicas, como a cromatografia e a cristalização. Baseando-se nas diferenças de solubilidades é possível efetuar a separação de um dos diastereômeros pela cristalização do composto menos solúvel em solvente apropriado. A formação de sais diastereoméricos pode ser sumariada no esquema abaixo (Figura 21), que corresponde à reação de uma base racêmica - $(\pm)B$ - com um ácido opticamente ativo - $(+)AH$ - para formação de sal ^{30, 47}.

Figura 21 - Formação de sais diastereoméricos

Em princípio, qualquer ácido ou base opticamente ativos podem ser usados e a escolha do agente de resolução deve ser baseada em sua disponibilidade e custo. Substância natural, obtido como subproduto na fabricação de vinhos, o isômero *dextro* do ácido tartárico tem sido extensivamente utilizado para resolução de bases racêmicas pela formação de sais ácidos ou neutros, por tratar-se de um diácido ^{47, 65}.

Na maioria das técnicas de resolução de 2-amino-1-butanol, descritas na literatura, tendo ácido tartárico como agente de resolução, este combina-se com o racemato na proporção de 1:1 de forma a originar sais ácidos ^{120, 41, 79, 45, 76}. Por tratar-se de ácido dibásico, existe a possibilidade de formação de sais neutros, com resolução de maior quantidade do racemato para a mesma quantidade de agente de resolução. A cristalização do diastereômero desejado pode ser extremamente facilitada pela introdução de núcleos iniciadores de cristalização. Este processo, denominado *semeadura* (*seeding*), que consiste na adição de poucos cristais do diastereômero em questão à solução saturada com ambos os diastereômeros resultantes da reação com ácido tartárico, induzindo a

formação preferencial de cristais do sal de interesse ⁴⁷. Este processo foi primeiramente descrito por Gernez, em 1866, pela observação de que uma solução supersaturada de tartarato de sódio e amônio racêmico resultava apenas em cristais do sal do enantiômero usado para semear a solução ⁶⁵.

A ocorrência de resolução ótica espontânea por cristalização é de duas a três vezes maior para racematos iônicos em comparação a racematos covalentes ⁶⁵, portanto, é pertinente supor que a separação seria facilitada por esta combinação de condições favoráveis : formação de sais diastereoméricos e semeadura da solução saturada.

4 – PARTE EXPERIMENTAL

4.1 – Materiais

4.1.1 – Reagentes e Solventes

- (±)-2-amino-1-butanol 97% (Aldrich)
- (+)-Ácido tartárico PA (Synth)
- 1,2-dicloroetano PA (Reagen)
- Ácido clorídrico PA (Reagen)
- Ácido L-(+) tartárico grau industrial
- Álcool Isopropílico PA (Reagen)
- D(-)-2-amino-1-butanol 98%, $[\alpha]_D^{25} = - 10^\circ$ (neat) (Aldrich)
- Etanol absoluto PA (Synth)
- Hidróxido de Cálcio Puro (Cinética Química)
- Hidróxido de potássio PA (Reagen)
- L(+)-2-amino-1-butanol 98%, $[\alpha]_D^{25} = + 10^\circ$ (neat) (Aldrich)
- Metanol anidro PA (Synth)
- Peneira Molecular 4A (Sardi)
- Propanol PA (Synth)

4.1.2 – Equipamentos

- Aparelho digital de ponto de fusão Micro-Química (0,01 °C)
- Balança analítica Ohaus
- Banho termostatzado com agitação Fanem Mod.145
- Espectrofotômetro de Infravermelho Shimadzu IR-470
- Polarímetro digital Jasco DIP-370 (0,01°)
- Rotaevaporador Fisatom

4.2 – Métodos

4.2.1 – Métodos de síntese e separação

4.2.1.1 – Recristalização de (+)-ácido tartárico

(+)-ácido tartárico grau industrial foi dissolvido em álcool isopropílico sob refluxo. A solução foi filtrada a quente e resfriada à aproximadamente 5 °C. Os cristais obtidos foram filtrados sob pressão reduzida e lavados com clorofórmio gelado.

4.2.1.2- Obtenção de (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol e (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol ^{74, 78, 84}.

Dissolveu-se (+)-ácido tartárico no solvente em estudo (metanol anidro, etanol absoluto, etanol 96%), sob aquecimento e em seguida adicionou-se (+)-2-amino-1-butanol, sob agitação. Resfriou-se a solução a 5 °C por 12 horas. Os cristais formados foram filtrados e lavados com o solvente gelado e mantidos em dessecador em presença de pentóxido de fósforo. O mesmo procedimento foi utilizado para reação com (-)-2-amino-1-butanol.

Figura 22- Reação de obtenção de (+)-bis-tartaratos de (+) e (-)-2-amino-1-butanol

4.2.1.3 - Determinação da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol ⁶⁹.

(+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol foi adicionado a cada um dos solventes em estudo (metanol anidro, etanol absoluto, etanol 96%) de forma a obter-se solução saturada. Os recipientes contendo as suspensões foram mantidos em banho de água a $25 \pm 0,3$ °C, com agitação constante, por 24 horas. Após este período, as suspensões foram centrifugadas e, em seguida, transferiu-se alíquota de 1 mL do sobrenadante, isento de sólidos, para frasco rigorosamente limpo e pesado. Os pesos das alíquotas foram registrados, os frascos levados à estufa para volatilização do solvente e, em seguida, mantidos em dessecador em presença de pentóxido de fósforo. Os frascos foram novamente pesados para verificação da massa do sal.

4.2.1.4 – Resolução do (±)-2-amino-1-butanol

4.2.1.4.1 - Obtenção de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol a partir de 2-amino-1-butanol (racêmico):

Dissolveu-se (+)-ácido tartárico no solvente indicado (metanol, etanol absoluto, etanol 96%), sob aquecimento. Adicionou-se (±)-2-amino-1-butanol, sob agitação. Semeou-se com cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol, obtido de acordo com o método descrito no item 4.2.1.1, à temperatura ambiente e, em seguida, resfriou-se a 5 °C por 12 horas. Os cristais diastereoméricos formados foram filtrados, lavados com o solvente analisado resfriado a 5 °C e mantidos em dessecador em presença de pentóxido de fósforo.

4.2.1.4.2 - Separação do (+)-2-amino-1-butanol ^{78, 84}.

Os cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol foram dissolvidos em água destilada. Adicionou-se à solução hidróxido de cálcio, à temperatura ambiente, sob agitação, até pH 11,0. O tartarato de cálcio formado foi filtrado sob pressão reduzida e lavado com água destilada. A solução resultante teve seu volume reduzido em rotaevaporador e, em seguida, foi submetida à destilação sob pressão reduzida para remoção do restante da água e obtenção do (+)-2-amino-1-butanol. A reação de obtenção do (+)-2-amino-1-butanol encontra-se representada na figura 23.

Figura 23 - Reação de obtenção do (+)-2-amino-1-butanol.

4.2.1.5 - Obtenção do etambutol ^{9, 57, 110}.

Adicionou-se (+)-2-amino-1-butanol ao 1,2-dicloroetano, mantendo-se a mistura reacional sob refluxo por 30 minutos. À solução resultante, resfriada à temperatura ambiente, adicionou-se etanol para precipitação do etambutol, que foi convertido em cloridrato por adição de HCl

4.2.2 - Métodos Analíticos

4.2.2.1- Análise Elementar

Os percentuais de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinadas em aparelho Elemental Analyser 24013 CHN, Perkin-Elmer, pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

4.2.2.2 – Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção no IV foram registrados na região entre 4000 a 400 cm^{-1} utilizando-se dispersão em KBr espectroscópico, para os compostos sólidos, e cela de NaCl para os compostos líquidos.

4.2.2.3 - Espectrometria de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetro Brüker, modelo Advance DPX-300 MHz no Laboratório de RMN da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, utilizando-se água deuterada (D_2O) com trimetilsilano (TMS) como padrão de referência interna.

4.2.2.4 - Faixa de fusão

As faixas de fusão foram determinadas em aparelho Micro-Química para determinação de faixa de fusão em placa com leitura digital.

4.2.2.5 – Rotação Específica

A determinação da rotação específica, $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ foi realizada em polarímetro digital com resolução de $0,01^\circ$, em solução a 5% para (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino-1-butanol, 20% para (+)-ácido tartárico e em (+)-2-amino-1-butanol puro.

4.3 – Resultados

Os solventes e as quantidades de reagentes utilizadas, bem como os rendimentos percentuais, faixa de fusão, rotação específica, análise espectrométrica e análise elementar, que permitiram a identificação e caracterização de cada composto encontram-se descritos a seguir.

4.3.1 – Recristalização do (+)-ácido tartárico

90,0 g de (+)-ácido tartárico foram dissolvidos em 420 mL de álcool isopropílico sob agitação magnética em refluxo. A solução quente foi filtrada rapidamente e resfriada à aproximadamente 5 °C por 8 horas, ocorrendo a cristalização do composto. Os cristais foram separados por filtração sob pressão reduzida, lavados com clorofórmio gelado e mantido em dessecador em presença de pentóxido de fósforo. Após 2 recristalizações subsequentes obteve-se 72,9 g do composto, o que representa rendimento de 81%. Os ensaios de caracterização do (+)-ácido tartárico recristalizado resultaram nos seguintes valores:

$$\begin{array}{ll} \text{P.F.}_{\text{exp}}: 168,4 - 169,6 \text{ }^{\circ}\text{C} & \text{P.F.}_{\text{lit}}: 169 - 170 \text{ }^{\circ}\text{C}^1 \\ [\alpha]_{\text{D}}^{25}_{\text{exp}}: + 12,6^{\circ} & [\alpha]_{\text{D}}^{25}_{\text{lit}}: + 12,0^{\circ}^1 \end{array}$$

Os cristais obtidos na terceira recristalização a partir da solução-mãe remanescente apresentaram baixa pureza, inferida pela elevação da faixa de fusão.

4.3.2 – Obtenção de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol e (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol

O método utilizado para preparação de (+)-bis-tartaratos neutros de (+) e (-)-2-amino-1-butanol está descrito no sub-ítem 4.2.1.

4.3.2.1 – Obtenção em Metanol Anidro

Sob agitação magnética o (+)-ácido tartárico foi completamente solubilizado em metanol anidro aquecido até cerca de 45 °C,. À solução quente foi adicionado o (+)-2-amino-1-butanol na proporção 2:1 em relação ao (+)-ácido tartárico, ocorrendo elevação da temperatura do meio reacional até a ebulição. Após alguns minutos de agitação a mistura foi deixada para resfriamento até temperatura ambiente. O mesmo procedimento foi utilizado para reação com o (-)-2-amino-1-butanol. As quantidades de metanol e reagentes utilizados encontram-se na tabela 09.

Tabela 09 – Quantidades experimentais para obtenção dos (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino-1-butanol e (+)-bis-tartaratos de (-)-2-amino-1-butanol em MeOH anidro.

Exp.	(+)-ácido tartárico (g)	MeOH anidro (mL)	(+)-2-amino-1-butanol (mL)	(-)-2-amino-1-butanol (mL)
I	2,0 ^a	5,0	2,5 ^b	-
II	2,0	10,0	2,5	-
III	2,0	15,0	2,5	-
IV	2,0	5,0	-	2,5
V	2,0	10,0	-	2,5
VI	2,0	15,0	-	2,5

a) 2,0 g de ácido tartárico correspondem a 0,013 moles

b) 2,5 mL de 2-amino-1-butanol correspondem a 2,4 g e 0,027 moles

Houve imediata formação de grande massa de cristais brancos, aciculares nos experimentos I, II e III. As massas reacionais foram mantidas a 5 °C por 12 horas para crescimento dos cristais, estes, em seguida, foram filtrados sob pressão reduzida, lavados com MeOH gelado e mantidos em

dessecador, inicialmente com sílica-gel, seguido de pentóxido de fósforo. Observou-se que o composto obtido apresenta caráter higroscópico.

Na tabela 10 apresentam-se os resultados relativos às faixas de fusão e rotações específicas dos compostos obtidos, bem como os valores calculados e verificados em literatura.

Tabela 10 – Valores experimentais e teóricos de rendimentos, faixas de fusão e rotações específicas de (+)-bis-tartaratos de (+)-2-amino-1-butanol obtidos nos experimentos I, II e III.

Exp.	η (%) ^a		Faixa de fusão (°C)		$[\alpha]_D^{25}$ ^b	
	Exp.	Lit.	Exp.	Lit. ⁸⁴	Exp.	Lit. ⁸⁴
I	92,4	-	142,7-143,9	143	+ 27,5°	+ 27,6°
II	92,2	-	142,9-144,1	143	+ 28,6°	+ 27,6°
III	95,3	-	143,0-143,6	143	+ 27,6°	+27,6°

a) η = rendimento total obtido após três cristalizações.

b) $[\alpha]$ = rotação específica determinada em solução a 5 % em água⁷⁴.

O (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido no experimento III foi submetido à análise elementar obtendo-se os resultados a seguir.

% C _{exp.} : 43,69	% H _{exp.} : 8,65	% N _{exp.} : 8,49
% C _{calc.} : 43,89	% H _{calc.} : 8,59	% N _{calc.} : 8,53

A partir da análise espectrofotométrica no IV do (+)-bis-tartarato de 2-amino-1-butanol obtido no experimento III, pôde-se identificar bandas de

absorção relativas às ligações características, que estão descritas a seguir. O espectro analisado está apresentado na figura 24.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr, cm^{-1}) 3340 (O-H), 3125 (N-H), 2965 (CH_3), 1586 (C=O),
1444-1475 (CH_2), 1397 (C-O), 1107 (C-N), 1067 (C-OH).

Não foi possível cristalizar o (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol nos experimentos IV, V e VI, nas condições experimentais descritas e mesmo por evaporação do solvente para concentração da solução e/ou variando-se a temperatura de cristalização para 1, - 3 e - 6 °C. Observou-se que a redução de solvente por evaporação e o resfriamento da solução resultaram em aumento proporcional da viscosidade da solução.

4.3.2.2 – Obtenção em Etanol Absoluto

2 g (0,013 moles) de (+)-ácido tartárico foram dissolvidos, sob agitação, em 15 mL de EtOH absoluto aquecido até 45 °C. Adicionou-se, em seguida, 2,5 mL (2,4 g – 0,027 moles) de (+)-2-amino-1-butanol mantendo-se a mistura sob agitação até completa homogeneização. A solução foi resfriada até temperatura ambiente, ocorrendo formação de cristais brancos aciculares, em grande quantidade. A massa cristalina foi resfriada até de 5 °C por 12 horas. Os cristais foram filtrados sob pressão reduzida, lavados com etanol gelado e mantidos em dessecador em presença de pentóxido de fósforo. Verificou-se que os cristais possuíam elevada higroscopicidade.

$$\eta = 94,6 \%$$

$$\text{P.F.}_{\text{exp.}} = 138,6 - 141,3 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad \text{P.F.}_{\text{lit.}} = 138 - 139 \text{ }^{\circ}\text{C}^{74}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +26,5^{\circ} (\text{H}_2\text{O}, c\ 5) \quad [\alpha]_{\text{D}}^{25} = +26,1^{\circ}{}^{74}$$

Figura 24 – Espectro no IV do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido em MeOH.

Pela análise do espectro no IV do (+)-bis-tartarato de 2-amino-1-butanol obtido, apresentado na figura 25, pôde-se identificar bandas de absorção relativas às ligações características, que estão descritas a seguir.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr, cm^{-1}): 3390 (O-H), 3130 (N-H), 2965 (CH_3), 1587 (C=O), 1474 (CH_2), 1394 (C-O), 1107 (C-N), 1063 (C-OH).

Não foi possível efetuar a reação de obtenção de (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol devido a indisponibilidade do reagente (-)-2-amino-1-butanol.

4.3.2.3 – Obtenção em Etanol 96 %

a)(+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol

Em béquero de 50 mL sobre chapa de aquecimento, 2 g (0,013 moles) de (+)-ácido tartárico foi solubilizado, sob agitação magnética, em 15 mL de EtOH 96 % aquecido até cerca de 45 °C. À solução quente adicionou-se 2,5 mL (2,4 g – 0,027 moles) de (+)-2-amino-1-butanol, ocorrendo elevação da temperatura do meio reacional até a ebulição. Após alguns minutos de agitação a mistura foi deixada para resfriamento à temperatura ambiente, ocorrendo imediata formação de cristais brancos, de aspecto acicular. A massa cristalina foi resfriada até 5 °C por 12 horas, os cristais foram filtrados sob pressão reduzida, lavados com EtOH 96% gelado e mantidos em dessecador em presença de pentóxido de fósforo. Verificou-se o caráter higroscópico dos cristais.

$$\eta = 95,1 \%$$

$$\text{P.F.}_{\text{exp.}} = 142,8 - 143,6 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad \text{P.F.}_{\text{lit}} = 143 - 144 \text{ }^{\circ}\text{C}^{11}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +27,1^{\circ} (\text{H}_2\text{O}, c 5) \quad [\alpha]_{\text{D}}^{25} = +27,6^{\circ}^{11}$$

Figura 25 – Espectro no IV do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido em EtOH absoluto.

A partir da análise espectrofotométrica no IV do (+)-bis-tartarato de 2-amino-1-butanol obtido, pôde-se identificar bandas de absorção relativas às ligações características, que estão descritas a seguir. O espectro analisado está apresentado na figura 26.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr, cm^{-1}): 3390 (O-H), 3115 (NH), 2965 (CH_3), 1591 (C=O), 1476 (CH_2), 1389 (C-O), 1113 (C-N), 1065 (C-OH).

b) (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol

Não ocorreu formação cristalina nas condições do experimento, mesmo após evaporação do solvente e variação da temperatura de cristalização para 1, -3 e -6 °C. Observou-se que a redução de solvente por evaporação e o resfriamento da solução resultaram em aumento proporcional da viscosidade da solução.

4.3.3 – Determinação da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol.

Em tubos de ensaio de 15 mL providos de tampa, adicionou-se 2 mL dos solventes: metanol anidro, etanol absoluto e etanol 96%, separadamente e em duplicata. Adicionou-se, a cada tubo, quantidade suficiente de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido no experimento III do item 4.3.1.1 para a obtenção de solução saturada à temperatura do ensaio. Os tubos foram mantidos a $25,0 \pm 0,3$ °C, sob agitação constante por 24 horas e, subseqüentemente, em repouso por 6 horas para decantação, na mesma temperatura. Em seguida, colheu-se de cada tubo 1 mL de sobrenadante que foram transferidos para frascos com peso exatamente determinado. Efetuou-se a volatilização dos solventes a cerca de 70 °C por 8 horas e, em seguida, os frascos foram mantidos em dessecador em presença de pentóxido de fósforo por 72 horas. Os pesos das alíquotas, dos resíduos salinos e as respectivas solubilidades encontram-se descritos na tabela 13.

Figura 26 – Espectro no IV do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido em EtOH 96%

Tabela 11: Solubilidades de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol em MeOH, EtOH abs. e EtOH 96%.

Solvente	Solução (mg)	Resíduo (mg)	Solubilidade (mg/g ^a)
MeOH anidro	731,2	42,4	58,0
	754,8	43,2	57,2
EtOH absol.	776,8	7,5	9,6
	761,5	7,4	9,7
EtOH 96 %	788,8	29,9	37,9
	789,0	31,7	40,2

a) em gramas de solução.

O estudo da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol não pode ser realizado visto que não foi possível obter o sal na forma cristalina.

4.3.4 – Resolução de (±)-2-amino-1-butanol

A metodologia utilizada está descrita no item 4.2.1.3.1. A proporção molar (±)-2-amino-1-butanol : (+)-ácido tartárico adotada para o ensaio foi de 4:1.

4.3.4.1 – Resolução em Metanol anidro

Em bquer de 50 mL, 2 g (0,013 moles) de (+)-ácido tartárico foram dissolvidas em 15 mL de metanol anidro aquecido a aproximadamente 45 °C. Adicionou-se, sob agitação, 5,1 mL (4,8 g – 0,053 moles) de (±)-2-amino-1-butanol à solução aquecida, sob agitação. A solução foi resfriada à temperatura ambiente e semeada com cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-

amino-1-butanol. Não houve crescimento de cristais à temperatura ambiente. Verificou-se formação de pequena massa cristalina após período de 4 horas sob resfriamento a 5 °C. Não foi possível acelerar a cristalização mesmo após variação na quantidade de solvente, concentrando-se ou diluindo-se a solução em cerca de 10, 30 e 50% a partir do volume inicial. Não houve aumento da formação de cristais mesmo após 72 horas, à temperatura ambiente e à 5 °C.

4.3.4.2 – Resolução em Etanol absoluto

2 g (0,013 moles) de (+)-ácido tartárico foram dissolvidos em 15 mL de etanol absoluto aquecido a aproximadamente 45 °C, em béquer de 50 mL, sob agitação magnética. À solução aquecida adicionou-se 5,1 mL (4,8 g – 0,053 moles) de (±)-2-amino-1-butanol e, em seguida, resfriou-se a mistura à temperatura ambiente. A solução foi semeada com cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol e resfriada a 5 °C, observando-se o início da formação de cristais. Os cristais brancos de aspecto acicular, que se formaram em grande quantidade, foram filtrados sob pressão reduzida, lavados em etanol absoluto gelado e mantidos em dessecador em presença de sílica-gel posteriormente substituída por pentóxido de fósforo. Os cristais obtidos apresentaram higroscopicidade acentuada. O rendimento (em relação ao (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol), faixa de fusão e rotação específica obtidos estão descritos a seguir.

$$\eta = 78,2 \%$$

$$\text{P.F.}_{\text{exp.}} = 123,4 - 125,8 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad \text{P.F.}_{\text{lit.}} = 138 - 139^{74}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25}_{\text{exp.}} = + 21,2 \text{ (H}_2\text{O, c 5)} \quad [\alpha]_{\text{D}}^{25}_{\text{lit.}} = + 26,1^{74}$$

O mesmo experimento foi repetido aumentando-se a quantidade de etanol absoluto para 19,5 mL (30%), obtendo-se os seguintes resultados:.

$$\eta = 70,8 \%$$

$$P.F._{exp.} = 123,5 - 125,1 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad P.F._{lit.} = 138 - 139 \text{ }^{\circ}\text{C}^{74}$$

$$[\alpha]_D^{25}_{exp.} = +22,4 \text{ (H}_2\text{O, c 5)} \quad [\alpha]_D^{25}_{lit.} = +26,1^{74}$$

4.3.4.3 – Resolução em Etanol 96 %

Em bquer de 50 mL contendo 15 mL de etanol 96% aquecido at aproximadamente 45 C, foram dissolvidos 2 g (0,013 moles) de (+)-cido tartrico. soluo aquecida, sob agitao, adicionou-se 5,1 mL (4,8 g – 0,013 moles) de ()-2-amino-1-butanol e, em seguida, resfriando-se at temperatura ambiente. Semeou-se com cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol e a formao de cristais iniciou-se imediatamente. Observou-se maior velocidade de crescimento da massa cristalina quando a suspenso foi resfriada a 5 C, comparativamente aos experimentos anteriores. Os cristais foram filtrados sob presso reduzida, lavados com etanol 96% gelado e mantidos em dessecador em presena de slica-gel posteriormente substituída por pentxido de fsforo. O rendimento (em relao ao (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol), faixas de fuso e rotao especfica do composto obtido esto descritos a seguir.

$$\eta = 85,6 \%$$

$$P.F._{exp} = 135,2 - 136,6 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad P.F._{lit.} = 143-144 \text{ }^{\circ}\text{C}^{74}$$

$$[\alpha]_D^{25}_{exp.} = +25,8^{\circ} \text{ (H}_2\text{O, c 5)} \quad [\alpha]_D^{25}_{lit.} = +27,6^{74}$$

A análise elementar do composto obtido resultou nos valores descritos abaixo.

$$\begin{array}{lll} \% C_{\text{exp.}} = 43,60 & \% H_{\text{exp.}} = 8,48 & \% N_{\text{exp.}} = 8,48 \\ \% C_{\text{calc.}} = 43,89 & \% H_{\text{calc.}} = 8,59 & \% N_{\text{calc.}} = 8,53 \end{array}$$

O composto foi submetido à recristalização em etanol 96%, com semeadura de cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol, obtendo-se os seguintes resultados:

$$\eta = 80,4 \%$$

$$\begin{array}{ll} \text{P.F.}_{\text{exp.}} = 138,6 - 139,2 \text{ }^{\circ}\text{C} & \text{P.F.}_{\text{lit.}} = 143 - 144 \text{ }^{\circ}\text{C}^{74} \\ [\alpha]_{\text{D}}^{25}{}_{\text{exp.}} = +27,1^{\circ} (\text{H}_2\text{O}, c\ 5) & [\alpha]_{\text{D}}^{25}{}_{\text{lit.}} = +27,6^{\circ}{}^{74} \end{array}$$

A partir da análise do espectro no IV do composto obtido, pôde-se identificar bandas de absorção relativas às ligações características, que estão descritas a seguir. O espectro analisado é apresentado na figura 27

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr, cm^{-1}): 3330 (O-H), 3185 (NH), 2930 (CH_3), 1570 (C=O), 1462 (CH_2), 1401 (C-O), 1104 (C-N), 1071 (C-OH).

4.3.4.4 – Obtenção do (+)-2-amino-1-butanol

Dissolveu-se 40 g de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido conforme procedimento descrito no item 4.3.3.3 em 60 mL de água destilada. Adicionou-se 14,5 g de hidróxido de cálcio, em pequenas porções e sob agitação, até pH 11,0. A suspensão foi vigorosamente agitada por 4 horas, deixada para decantação por 8 horas, filtrada sob pressão reduzida e o tartarato de cálcio resultante lavado com água destilada. A maior parte da água contida no filtrado foi removida em rotaevaporador, resultando em

cerca de 50 mL da solução, que foi destilada sob pressão reduzida em banho de óleo. Manteve-se a pressão em 81 mm Hg durante toda a destilação. Verificou-se o início da destilação da água em 40 °C e o (+)-2-amino-1-butanol foi destilado a 90 ± 1 °C obtendo-se 18,3 mL do aminoálcool que foram mantidos sobre peneira molecular A4 para remoção de água residual. Os valores experimentais de rendimento, rotação específica e análise elementar do (+)-2-amino-1-butanol obtido encontram-se descritos a seguir.

$$\eta = 75,0 \%$$

$$[\alpha]_D^{25}{}_{\text{exp.}} = 9,0^\circ \quad [\alpha]_D^{25}{}_{\text{lit.}} = +9,8^\circ{}^{10}$$

$$\%C_{\text{exp.}} = 51,24 \quad \%H_{\text{exp.}} = 11,80 \quad \%N_{\text{exp.}} = 15,08$$

$$\%C_{\text{calc.}} = 51,31 \quad \%H_{\text{calc.}} = 12,37 \quad \%N_{\text{calc.}} = 14,96$$

Os percentuais calculados incluem cerca de 4,8% em peso de água, indicando que a secagem com peneira molecular não foi completa. O cálculo do rendimento foi baseado no peso do aminoálcool anidro. Pela análise espectrofotométrica no IV do composto obtido, foram identificadas bandas de absorção relativas às ligações características, que estão descritas a seguir. O espectro analisado é apresentado na figura 28.

IV $\nu_{\text{máx.}}$ (KBr, cm^{-1}): 3395 (O-H), 3270 (N-H), 2960 (CH_3), 1475 (CH_2), 1377 (CH_3)

4.3.5 – Obtenção de etambutol

Em balão de fundo redondo, 1,9 g (0,01 moles) de 1,2-dicloroetano foram adicionados a 9,0 g (0,1 moles) do (+)-2-amino-1-butanol obtido nas etapas anteriores de resolução. A mistura foi aquecida em banho de óleo e sob agitação magnética até refluxo por 30 minutos. Após resfriamento até temperatura ambiente, adicionou-se 1,23 g de KOH dissolvidos em 10 mL de

propanol. Ocorreu imediata precipitação de cristais brancos de KCl, removidos por filtração. Removeu-se o excesso de solvente e adicionou-se, à temperatura ambiente, solução de acetona e propanol 1:1, ocorrendo precipitação adicional de KCl, removido por filtração. Ao filtrado, adicionou-se 8,0 mL de HCl etanólico 7,8 N e resfriou-se a -5°C por 8 horas. Formaram-se cristais brancos de cloridrato de etambutol, que foram separados por filtração sob pressão reduzida e recristalizados de etanol absoluto. Os valores de rendimento, faixa de fusão e rotação específica de solução 2%, ($c=2$), para o composto obtido encontram-se descritos a seguir.

$$\eta_{\text{exp}} = 49\% \qquad \eta_{\text{lit}} = 67\%^{109}$$

$$\text{PF}_{\text{exp}} = 198,7 - 200,3^{\circ}\text{C} \qquad \text{PF}_{\text{lit}} = \begin{matrix} 198,5 - 200,3^{110} \\ 200,0 - 202,0^{57} \\ 201,8 - 202,6^{109} \end{matrix}$$

$$[\alpha]_{\text{D}}^{25}{}_{\text{exp}} = +7,0 \qquad [\alpha]_{\text{D}}^{25}{}_{\text{lit}} = +7,6^{109}$$

A análise elementar do cloridrato de etambutol obtido resultou nos seguintes resultados :

$$\begin{array}{lll} \%C_{\text{exp.}} = 43,63 & \%H_{\text{exp.}} = 9,31 & \%N_{\text{exp.}} = 10,15 \\ \%C_{\text{calc.}} = 43,32 & \%H_{\text{calc.}} = 9,45 & \%N_{\text{calc.}} = 10,10 \end{array}$$

As bandas de absorção relativas a ligações características na região do Infravermelho obtidas por análise do cloridrato de etambutol obtido estão descritas a seguir. O espectro analisado é apresentado na figura 29.

IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr, cm^{-1}): 3340 (O-H est.), 3000-2000 (N^+ -H est.), 2970 (C-H est.)
1549 (N^+ -H def.), 1461 (C-H def.), 1308 (C-H def, $-\text{CH}_2-$)
1023 (C-O est.).

Os resultados referentes à análise espectrométrica de Ressonância Magnética Nuclear de Próton do cloridrato de etambutol obtido estão descritos a seguir :

RMN-¹H (300 MHz, D₂O)

δ (ppm): 1,05 (t, J=7,5 Hz, 3H, CH₃); 1,69-1,92 (m, 2H, CH₂ Et); 3,33-3,41 (m, 1H, H-N); 3,6 (sl, 4H, CH₂-N); 3,84 (dd, J₁=13,0 Hz, J₂=5,1, Hz, 1H, -CH₂-OH); 3,98 (dd, J₁=13,0, H₃, J₃=3,2 Hz, 1H, -N-CH).

Sinais de RMN de próton para o Etambutol descrito s em literatura ⁵⁷ :

Deslocamento químico (ppm)	Protons	Desdobramentos
0.83 - 0.98	a	triplete
1.29 - 1.56	b	quinteto
2.48 - 2.60	c	sexteto
2.70 - 2.78	d	quarteto
2.91	e	singleto
3.24 - 3.44	f	-
3.56 - 3.70	g	-

Os resultados referentes à análise espectrométrica de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 estão descritos abaixo :

RMN-¹³C (300 MHz, D₂O)

C₁ = 9,36; C₂ = 20,73; C₃ = 58,17; C₄ = 61,77; C₅ = 41,10

Figura 27 – Espectro no IV do (+)-bis-tartrato de (+)-2-amino-1-butanol obtido por resolução em EtOH 96%

Figura 28 – Espectro no IV do (+)-2-amino-1-butanol obtido de resolução em EtOH 96%

Figura 29: Espectro no IV do Cloridrato de etambutol obtido.

Figura 30 : Espectro de RMN- ^1H do cloridrato de etambutol obtido.

Figura 31: Espectro de RMN-¹³C de cloridrato de etambutol

5 – DISCUSSÃO

Os solventes nos quais a maior parte das resoluções envolvendo formação de sais de ácido tartárico são o etanol, metanol, água e acetona. O etanol é o solvente que aparece no maior número de trabalhos de resolução em geral, portanto recomenda-se que seja empregado em sua forma anidra e aquosa, desde que a formação de hidratos pode facilitar a cristalização de sais ⁴⁷.

Embora o uso de água como solvente seja sempre desejável devido à disponibilidade, baixo custo e inocuidade, a remoção deste solvente em escala industrial consiste em processo laborioso em relação à remoção de solventes voláteis como os álcoois de baixo peso molecular utilizados, razão pela qual optou-se pelo não emprego da água. Adicionalmente, os álcoois podem ser facilmente recuperados por condensação e reintroduzidos no processo.

A acetona, apesar de facilmente removível, apresenta a desvantagem do custo e toxicidade elevadas em relação ao etanol. Apesar de apresentar as mesmas desvantagens frente ao etanol, o metanol anidro foi utilizado por ser o solvente orgânico utilizado na maioria das resoluções de 2-amino-1-butanol com formação de sais diastereoméricos com (+)-ácido tartárico ^{41, 45, 76, 79, 84, 120}.

As temperaturas de dissolução dos reagentes, semeadura e cristalização utilizadas nos ensaios foram propostas de forma a se obter condições facilmente acessíveis – aquecimento a 45 °C, temperatura ambiente e temperatura de geladeira – visando tornar a técnica facilmente reprodutível.

A resolução por formação de sais diastereoméricos baseia-se na solubilidade diferenciada dos dois sais formados para que possam ser

separados por cristalização preferencial. Consequentemente, o estudo das solubilidades dos (+)-bis-tartaratos de (+) e (-)-2-amino-1-butanol nos solventes propostos deve ser efetuada. Para tal, foram utilizados (+)-ácido tartárico P.A., (+)-2-amino-1-butanol P.A. e (-)-2-amino-1-butanol P.A. nas reações de obtenção dos sais.

5.1 – Obtenção de (+)-bis-tartaratos de (+)-2 amino-1-butanol

A obtenção dos (+)-bis-tartaratos de (+) e (-)-2-amino-1-butanol seguiu, em linhas gerais, o método descrito por SAMANT¹². Destacam-se, porém algumas observações feitas ao longo dos experimentos que não constam no artigo original ou apresentam-se indicadas de outra forma.

Utilizando-se o volume de solvente indicado no artigo para dissolução do (+)-ácido tartárico (5 mL de metanol para 2 g de (+)-ácido tartárico) fez-se necessário maior tempo de agitação ou elevação da temperatura para completa dissolução do ácido. Adicionalmente, quando da adição do (+)-2-amino-1-butanol à solução, por tratar-se de reação exotérmica, ocorreu acentuada volatilização do solvente, resultando em condição desfavorável à formação e crescimento dos cristais. A utilização de volume maior de solvente resultou em menor tempo e temperatura de dissolução para todos os solventes estudados (metanol anidro, etanol absoluto, etanol 96 %) e obtenção de rendimentos elevados (92,4 a 95,3%).

A característica de exotermia desta reação também exigiu atenção quanto à adição do (+)-2-amino-1-butanol, que não pode ser efetuada de uma só vez (batch), de forma a evitar superaquecimento. O procedimento mais adequado foi a adição em porções, sob contínua agitação.

Devido à higroscopicidade do composto, os cristais devem ser filtrados o mais rapidamente possível. Observou-se redução no rendimento devido à perdas na filtração.

As quantidades do solvente utilizadas nos ensaios refletem aproximação das quantidades encontradas nas referências citadas, porém, é fundamental ressaltar que em todas as referências, com exceção de PITRÉ⁷⁴ e SAMANT⁸⁴, foram obtidos sais diastereoméricos ácidos, com propriedades físico-químicas diferenciadas dos sais neutros obtidos no presente trabalho.

Pelos resultados obtidos apresentados na tabela 11, verifica-se que a variação da quantidade de metanol, aumentando-se em duas e três vezes em relação ao volume inicial de 5 mL, não resulta em grande alteração nos valores de rendimento, faixa de fusão e rotação específica, porém, o composto obtido no experimento III (15 mL de metanol) apresentou maior rendimento, pureza ótica mais elevada e faixa de fusão mais estreita. Os resultados obtidos em análise elementar para C, H e N mostraram-se em estreita conformidade com os valores calculados, bem como as bandas de absorção obtidas na região do IV, atestando a identidade do composto como (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol, descartando-se a formação de sal ácido. Este sal foi utilizado como referência para outros ensaios e para inoculação de núcleos cristalinos (semeadura), com objetivo de induzir a cristalização nas etapas de resolução.

A reação de obtenção do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol em etanol absoluto seguiu o mesmo padrão da reação em metanol, porém observou-se higroscopicidade mais acentuada para o composto obtido. Uma possível explicação para este fato seria a tendência à formação de cristais menores e/ou mais irregulares em etanol absoluto, o que resultaria em maior área de superfície exposta, favorecendo a adsorção de água.

O valor da faixa de fusão para o composto obtido em etanol absoluto descrito em literatura⁷⁴, 138-139 °C, difere do valor descrito para obtenção em metanol⁸⁴ 143 °C. O valor determinado experimentalmente foi de 138,6-141,3 °C. A faixa ampla pode evidenciar a presença de água, introduzida

durante o preparo do material, extremamente higroscópico, para execução do ensaio. Possivelmente o valor descrito em literatura e o valor obtido no experimento foram influenciados por esta propriedade.

O valor obtido para a rotação específica do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol obtido em etanol absoluto, $+26,5^\circ$ foi bastante aproximado ao descrito na literatura ⁷⁴, $+26,1^\circ$, que é inferior ao valor descrito para o composto obtido em metanol ⁸⁴, $+27,6^\circ$. Desde que o valor da rotação específica é estabelecido para uma concentração determinada, a presença de água reduziria o valor absoluto obtido.

A reação de obtenção de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol em etanol 96% também não apresentou variações em relação aos experimentos anteriores. Os resultados obtidos na determinação da faixa de fusão e rotação específica, $142,8-143,6^\circ\text{C}$ e $+27,1^\circ$ estão próximos aos descritos em literatura ⁸⁴, $143-144^\circ\text{C}$ e $+27,6^\circ$, respectivamente.

Comparando-se os espectros de absorção no IV verifica-se a ocorrência de bandas de absorção semelhantes, o que atesta a obtenção do mesmo composto em todos os experimentos.

Em linhas gerais, a reação de obtenção do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol foi facilmente efetuada nos três solventes em estudo, porém, pelas características citadas anteriormente, o composto obtido na reação em metanol foi selecionado para dar continuidade aos ensaios de solubilidade.

5.2 - Obtenção de (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol

A formação de cristais de (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol, a partir do enantiômero (+)-2-amino-1-butanol, ocorreu espontaneamente, em todos os solventes em estudo, em temperatura ambiente, induzida

apenas por atrito do bastão de vidro contra as paredes do béquer. Em oposição, na reação de obtenção do diastereômero (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol, a partir do antípoda ótico (-)-2-amino-1-butanol, não foi possível obter o sal em sua forma cristalina, em metanol anidro e em etanol 96%. Na literatura ¹² encontram-se registros referentes à não obtenção do (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol em metanol anidro, porém não são descritas as alterações efetuadas no método original visando a obtenção do diastereômero.

Diante da impossibilidade de obtenção de um dos diastereômeros, o estudo do equilíbrio de fase para o sistema ternário envolvendo os dois diastereômeros e o solvente não pode ser realizado, desde que os sais devem ser obtidos em sua forma cristalina. Porém, a dificuldade de cristalização do (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol evidencia grande solubilidade nos solventes em questão, o que consiste em situação favorável à cristalização do outro diastereômero. Partindo desta suposição, foi efetuado o estudo da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol.

5.3 - Determinação da solubilidade do (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol

A menor solubilidade foi observada em etanol absoluto, 9,6 mg/g de solução, em seguida, etanol 96% e a maior solubilidade ocorreu em metanol anidro. Pela observação destes valores pode-se supor que o (+)-bis-tartarato de (+)-2-amino-1-butanol poderia separar-se mais facilmente a partir de etanol anidro, porém, como a cristalização fracional torna-se mais eficiente quanto maior for a diferença de solubilidade entre os dois sais e os valores de solubilidade do outro diastereômero não são conhecidos, os resultados de solubilidade obtidos servem apenas como indicação de prioridade nos ensaios para escolha de solvente para resolução.

A inexistência de informações sobre a solubilidade do (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol impossibilita estudo adequado para propor técnica de separação dos diastereômeros por cristalização fracional, porém esta deficiência foi suplantada pela aplicação da cristalização preferencial, na qual a solução saturada em ambos os diastereômeros foi semeada com alguns cristais do diastereômero de interesse, que acredita-se ser menos solúvel, induzindo-se sua cristalização preferencial.

5.4 - Resolução de ($\pm$)-2-amino-1-butanol

A resolução em metanol anidro mostrou-se pouco produtiva nas condições do experimento. Não foi possível obter cristais do diastereômero que resultassem em rendimento satisfatório.

Nas mesmas condições, a resolução em etanol absoluto produziu grande quantidade de cristais, porém extremamente higroscópicos, o que resultou em perdas durante o processo de separação e purificação. O composto obtido apresentou baixa pureza ótica e ponto de fusão abaixo do indicado em literatura, o que evidencia a presença do outro diastereômero. A quantidade contaminante não pode ser determinada devido ao desconhecimento das propriedades de rotação específica e faixa de fusão do (+)-bis-tartarato de (-)-2-amino-1-butanol.

Na resolução em etanol 96%, observou-se que a formação de cristais diastereoméricos se deu mais rapidamente em relação ao experimento anterior. O valor da rotação específica e a faixa de fusão experimentalmente obtidos, após recristalização, resultaram próximos aos valores descritos em literatura. Estes resultados, associados aos percentuais para C, N e H obtidos em análise elementar e ao espectro obtido na região do IV, atestaram a identidade e pureza química do composto bem como a elevada pureza ótica. Comparando-se os resultados obtidos, a resolução em etanol 96% mostrou-se como a melhor opção.

5.5 – Obtenção do (+)-2-amino-1-butanol

A separação do (+)-2-amino-1-butanol do (+)-ácido tartárico pela adição de hidróxido de cálcio mostrou-se um processo simples porém lento. A suspensão resultante deve ser agitada durante longo período devido à insolubilidade do hidróxido de cálcio em água. Observou-se a ocorrência de pós-precipitação nas etapas posteriores de remoção da água, requerendo filtrações adicionais. Ao final da decantação obtém-se suspensão viscosa, dificilmente filtrável, sendo necessária diluição com grande volume de água, o que torna o processo trabalhoso. A separação poderia ser realizada pela introdução de reagente solúvel que formasse tartarato insolúvel, como por exemplo em sal de sódio ou mesmo hidróxido de sódio.

Verificou-se que a destilação à pressão atmosférica do filtrado resulta em carbonização do composto em temperaturas próximas à ebulição. A destilação sob pressão reduzida foi conduzida rapidamente, permitindo controle da temperatura de aquecimento, sem ocorrência de decomposição do composto.

Ao (+)-2-amino-1-butanol obtido foram adicionados alguns grânulos de peneira molecular para remoção da água residual. O composto permaneceu em contato com o secante por 72 horas, porém ainda apresentou grande quantidade de água, o que pode ser verificado pelos resultados obtidos em análise elementar descritos no item 4.3.4.4. O baixo valor obtido na determinação da rotação específica pode ser explicado pela presença de água.

A resolução por formação de tartarato neutro resultou na obtenção de 1,5 moles de (+)-2-amino-1-butanol para cada mol de (+)-ácido tartárico, contra 0,92 moles/mol de (+)-ácido tartárico descritos em literatura ⁴⁵ para resolução por formação de tartarato ácido, o que corresponde a ganho de 63% em rendimento do processo.

5.6 – Obtenção de etambutol

A reação de obtenção de cloridrato de etambutol descrita por Wilkinson ¹¹⁰ descreve procedimento facilmente reproduzível, observando-se apenas a necessidade da introdução de mais uma etapa de concentração da solução de forma a precipitar KCl residual. A separação dos cristais não ocorre de forma imediata, porém apreciável, após algumas horas. A maior desvantagem do método consiste no grande excesso de aminoálcool em relação ao KCl (0,1 moles e 0,01 moles respectivamente), sendo a proporção estequiométrica de 2:1. Os rendimentos obtidos resultaram cerca de 27% menores do que o valor descrito em literatura.

Como o objetivo do trabalho consiste na otimização da etapa de resolução, cálculos para determinação do rendimento global do processo não foram efetuados, visto que as etapas posteriores à resolução não foram otimizadas.

6 – CONCLUSÕES

- Efetuou-se a resolução de ($\pm$)-2-amino-1-butanol com (+)-ácido tartárico em etanol 96%, obtendo-se (+)-2-amino-1-butanol com pureza enantiomérica satisfatória para subsequente obtenção de etambutol.
- O rendimento obtido em resolução por formação de sais diastereoméricos neutros em EtOH 96% mostrou-se 63% superior ao maior rendimento descrito em literatura para resoluções por formação de sais diastereoméricos ácidos, mostrando-se significativamente mais adequado para aplicação industrial.
- Sintetizou-se o cloridrato de d-2,2'-(etilenodiimino)-di-1-butanol, cloridrato de etambutol, utilizando-se como composto de partida o (+)-2-amino-1-butanol obtido nas etapas anteriores de resolução.

7 – Referências Bibliográficas *

*De acordo com a norma NBR 6023/89 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As abreviaturas e local de publicação seguem o Chemical Abstracts Service Index (CASSI), 1994.

1. ALDRICH .Catalog handbook of fine chemicals – Brasil. 1998, p. 68
2. AMERICAN CYANAMID CO. Amine derivatives. Brit. Pat. 961.317, June 17,1964, 28 p.
3. ANTONUCCI, G. *et al.* Risk factor for tuberculosis in HIV-infected persons. A pespective cohort study. **J. Am. Med. Assoc.**, Chicago, v. 274, p. 143-48, 1995.
4. BARREIRO, E.J., FERREIRA, V.F., COSTA, P.R.R., Substâncias enantiomericamente puras (SEP): a questão dos fármacos quirais. **Química Nova**, V. 20, n. 6, p. 647-56, 1997.
5. BATES, J.H. New diagnostic methods. In: FIEDMAN, L.N. Ed. **Tuberculosis current concepts and treatment**, Washington: CRC Press, 1994, p. 81-92.
6. BEGGS, W.H., WILLIAMS, N.E. Protection of *Mycobacterium smegmatis* from ethambutol and streptomycin inhibition by MgSO₄ and polyamines. **Infect. Immun.** Washington, v.3, p.496-97, 1971.
7. BERNARDO, J. Tuberculosis: a disease of the 1990s. **Hosp. Pract.**, New York, v. 26, n. 10, p.195-98, 202, 207-08, 1991.
8. BIER, O. **Microbiologia e Imunologia**. 24^a Ed., São Paulo: Melhoramentos, 1985, p. 709-24.
9. BLESSINGTON, B., BEIRAGHI, A. Study of the stereochemistry of ethambutol using chiral liquid chromatography and synthesis. **J. Chrom.**, London, v.552, p. 195-203, 1990.
10. BLOOM, B.R., MURRAY, C.J.L. Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. **Science**, Washington, v. 257, p. 1055-64, 1992.
11. BLOOM, BR., ROOK, G.A.W. Mechanisms of pathogenesis in tuberculosis. In: BLOOM, B.R., Ed. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control**, Washington: ASM Press, 1994, p. 485-501.
12. BOBROWITZ, I. D. Comparison of ethambutol-INH versus INH-PAS in original treatment of pulmonary tuberculosis. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** New York, v. 135, p. 921-939, 1966.
13. BRAUSCH, L.M., BASS, J.B. The treatment of tuberculosis. **Med. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 77, n.6, p. 1277-88, 1993.
14. BRENNAN, P.J., DRAPER, P., Ultrastructure of *Mycobacterium tuberculosis*. In: BLOOM,B.R., Ed. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control**, Washington: ASM Press, 1994, p.271-84.

15. BROLIO, R. LIMA FILHO, M.T. Tuberculose pulmonar. In: VERONESI, R., FOCACCIA, R., DIETZE, R., Eds. ***Doenças Infecciosas e Parasitárias***, 2ª Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. P. 325-43.
16. CALDWELL, J. Importance of stereospecific bioanalytical monitoring in drug development. ***J. Chromatogr. A***, London, v. 719, p. 3-13, 1996.
17. CANETTI, G. Present aspects of bacterial resistance in tuberculosis. ***Am. Rev. Respir. Dis.*** New York, v. 92, p. 687-703, 1965.
18. COMSTOCK, G. W. Identification of na effective vaccine against tuberculosis. ***Am. Rev. Respir. Dis.***, New York, v. 138, p. 479-80, 1988.
19. COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA – FNS – MS. ***Manual de Normas para o controle da tuberculose***. Brasília, 1995, 30 p.
20. COORDENAÇÃO NACIONAL DE PNEUMOLOGIA SANITÁRIA-CENEPI-FNS. ***Relatório Epidemiológico 1997***, Brasília, 1997, 16 p.
21. CYNAMON, M.H. et al. Antimicobacterial activity of a series of pyrazinoic acid esters. ***J. Med. Chem.***, Washington, v. 35, p. 1212-28, 1992.
22. CYNAMON, M.H., KLEMENS, S.P. Chemotherapeutic agents for mycobacterial infections In: FRIEDMAN, L.N. Ed. ***Tuberculosis current concepts and treatment***. Washington: CRC Press, 1994, p. 237-57.
23. DANIEL, T.M., BATES, J.H., DOWNES, K.J. History of tuberculosis. In: BLOOM, B.R., Ed. ***Tuberculosis: Pathogenesis, Protection, and Control***. Washington: ASM Press, 1994, p. 13-24.
24. DANNENBERG, A.M., Jr., ROOK, G.A.W. Pathogenesis of pulmonary tuberculosis: na interplay of tissue-damaging and macrophage-activating imune responses – dual mechanisms that control bacillary multiplication. In: BLOOM, B.R., Ed. ***Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control***, Washington: ASM Press, 1994, p. 459-83.
25. DANNENBERG, A.M., Jr., SUGIMOTO, M. Liquefaction of caseous foci in tuberculosis. ***Am. Rev. Respir. Dis.*** New York, v. 113, p. 257-59, 1976.
26. DOLIN, P.J., RAVIGLIONE, M.C., KOCHI, A. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. ***Bull. WHO***, Geneve, v. 72, n. 2, p. 213-20, 1994.
27. DOSTER, B. et al. Ethambutol in the initial treatment of pulmonary tuberculosis. ***Am. Rev. Respir. Dis.*** New York, v. 107, p. 177-82, 1973.
28. ECSERY, Z., MILLER, M., KOSA, I. Ethylenediamine derivatives. Hung. Pat. 151.002, May 29, 1962, 5 p.
29. EDWARDS, P.Q. Tuberculosis, now and the future: short-term therapy, and bacillus Calmette-Guérin. ***Bull. N. Y. Acad. Med.***, New York, v. 53, n. 6, p. 526-31, 1977.
30. ELIEL, E.L., WILEN, S.H., MANDER, L.N. ***Stereochemistry of organic compounds***. New York: Wiley Interscience, 1994.

31. ELNER, J.J. *et al.*, Tuberculosis symposium: emerging problems and promise. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v. 168, p. 537-51, 1993.
32. FABROS, S., SMITH, R.L., WILLIAM, R.T. Chiral drugs, **Nature**, v. 385, p. 129-141, 1990.
33. FINE, P.E., RODRIGUES, L.C. Modern vaccines – mycobacterial diseases. **Lancet**, London, v. 335, p. 1016-20, 1991.
34. FLUKA – RIEDEL-DE HAËN. **Reagentes para laboratório e reagentes para análises – Brasil**. 1999, p. 83-84.
35. FOX, H.H. The chemical attack on tuberculosis, **Trans. N. Y. Acad. Sci.**, New York v.15, p. 234-41, 1953.
36. FRIEDEN, R.T. *et al.*, The emergency of drug-resistant tuberculosis. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 328, p. 521-26, 1993.
37. FRIEDMAN, L.N. Skin testing and chemoprophylaxis. In: FRIEDMAN, L.N. Ed. **Tuberculosis current concepts and treatment**. Washington: CRC Press, 1994, p. 285-306.
38. FRIEDMAN, L.N., SELWYN, P.A. Pulmonary tuberculosis: primary, reactivation, HIV related, and non-HIV related. In: FRIEDMAN, L.N. Ed. **Tuberculosis current concepts and treatment**. Washington: CRC Press, 1994, p.93-112.
39. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE – MS. **Plano nacional de controle da tuberculose**. Brasília, 1999, 184 p.
40. GOBLE, M. Drug resistance. In: FRIEDMAN, L. N. Ed. **Tuberculosis current concepts and treatment**. Washington : CRC Press, 1994, p. 259-84.
41. HALMOS *et al.*, d-2-amino-1-butanol. Brit. Pat. 1.188.185, April 15, 1970, 4 p.
42. HEIFETS, L.B., GOOD, R.C. Current laboratory methods for the diagnosis of tuberculosis. In: BLOOM, B.R. Ed. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control**. Washington: ASM Press, 1994, p.85-110.
43. HEMSWORTH, G. R., KOCHAN, I. Secretion of antimycobacterial fatty acids by normal and activated macrophages. **Infect. Immun.** Boston, v. 19, p. 170-77, 1978.
44. HYNECK, M., DENT, J., HOOK, J. Chirality: pharmacological action and drug development. In: BROWN, C. Ed. **Chirality in drug design and synthesis**. London: Academic Press, 1990.
45. ICHIKAWA, Y. *et al.*, Optical resolution of 2-amino-1-butanol. Japan. Pat. 75.111.005, Sep. 01, 1975, 8 p.
46. ISEMAN, M.D. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. **N. Engl. J. Med.** Boston, v.329, p. 784-91, 1993.
47. JACQUES, J., COLLET, A., WILEN, S.H. **Enantiomers, racemates, and resolutions**. New York: Wiley Interscience 1988, p. 03, 217-240, 253-317, 378-434.
48. KAKEN CHEM. CO. DL- 2,2'-(ethylenediimino)di-1-butanol. Jap. Pat. 15.163('65), July 16, 1963, 2p.

49. KARLSON, A.G. The *in vitro* activity of ethambutol (dextro-2,2'[ethylenediimino]-di-1-butanol) against tubercle bacilli and other organisms. **Am. Rev. Respir. Dis.** New York, v. 84, p. 905-06, 1961.
50. KILBURN, J.O., TAKAYAMA, K., Effects of ethambutol on accumulation and secretion of trehalose mycolates and free mycolic acid in *Mycobacterium smegmatis*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, Washington, v.20, p. 401-413, 1981.
51. KOCHI, A., The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. **Tubercle.** London, v. 72, p. 1-6. 1995.
52. KONO, K., OIZUMI, K., OKA, S., Mode of action of rifampin in mycobacteria. **Am. Rev. Resp. Dis.** New York, v. 107, p. 1006-31, 1973.
53. KOPECKY. Ethambutol. Czech. Pat. 108.444, Sept. 15, 1963, 4 p.
54. KOROLKOVAS, A. **Dicionário terapêutico guanabara.** 3ª Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, p. 18.23-25.
55. KRITSKI, A.L. *et al.* Reação em cadeia da polimerase (RCP/PCR) aplicada ao diagnóstico de tuberculose. **J. Pneumol.** São Paulo, v. 23, n.2, p. 23-34, 1997.
56. KRITSYN *et al.* Ethambutol and related compounds. Synthesis and stereochemical relationships. **Dokl. Akad. Nauk. SSSR.** Moscow, v. 145, p. 332-35, 1962.
57. LEE, C. S., BENET, L. Z. Ethambutol hydrochloride. **Anal. Profiles Drugs Subst.**, Melbourne, v.7, p. 233-249, 1977.
58. LIM, D., **Microbiology.** Boston: McGraw-Hill, 1998, p. 510-11.
59. LIMA, V. L. E. Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem. **Química nova.** V. 20, n. 6, p. 657-63, 1994.
60. LINCOLN, N.S., BOSWORTH, E.B., ALLING, D.W. The after-history of pulmonary tuberculosis. III. Minimal tuberculosis. **Am. Rev. Respir. Dis.** New York, v. 70, p. 15-31, 1954.
61. LUCAS, S., NELSON, A.M. Pathogenesis of tuberculosis in human immunodeficiency virus-infected people. In: BLOOM, B.R. Ed. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control.** Washington: ASM Press, 1994, p.503-13.
62. LUCCHESI, M. MANCINI, P. The antimycobacterial activity of ethambutol (ETB). **Antibiot. Chemother.** New York, v. 16, p. 230-38, 1970.
63. LURIE, M.B. **Resistance to tuberculosis: experimental studies in native and acquired defensive mechanisms.** Cambridge: Harvard University Press, 1964, p. 54-63.
64. MANUFACTURING NET.[Online]. Available: <http://manufacturing.net/products.html> [Sep. 12, 2000].
65. MASON, S.F. **Molecular optical activity and the chiral discriminations.** London: Cambridge University Press, 1982, p. 186-204.
66. MILLERSHIP, J. Chirality in drug design. **Chirality**, New York, v.5, p. 573-79, 1993.

67. MITCHISON, D.A. Basic mechanisms of chemotherapy. **Chest**. Chicago, v. 76, p. 771-80, 1979.
68. MITCHISON, D.A. The action of antituberculosis drugs in short-course chemotherapy. **Tubercle**, London, v. 66, p.219, 1985.
69. MULLIN, J.W. **Crystallization**. London: Butterworths, 1961, p. 30-33
70. MURRAY, C.J.L. *et al.* Cost-effectiveness of chemotherapy for pulmonary tuberculosis in three sub-Saharan African countries. **Lancet**, London, v. 338, p. 1305-08, 1992.
71. MURRAY, C.J.L. Issues in operational, social, and economic research on tuberculosis. In: BLOOM, B.R. Ed. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control**. Washington: ASM Press, 1994, p. 583-622.
72. NARAIN, J.P., RAVIGLIONE, M.C., KOCHI, A. HIV-associated tuberculosis in developing countries: epidemiology and strategies for prevention. **Tuberc. Lung Dis.** London, v.73, p.311-21, 1992.
73. NARDELL, E.A. Transmission and Safety Issues. In: FRIEDMAN, L.N., Ed. **Tuberculosis current concepts and treatment**. Washington : CRC Press, 1994, p.53-70.
74. PITRÉ, D., GRABITZ, E.B. Razemattrennung des D,L-amino-1-butanols mit L(+)-weinsäure. **Chimia**, Milano, v.23, p. 399-400, 1969.
75. PLACE, V.A. *et al.* Metabolic and special studies of ethambutol in normal volunteers and tuberculosis patients. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** New York, v.135, p. 775-95, 1966.
76. QI, J., WANG, Q., Antitubercular ethambutol. VI Mutual resolution of (±)-2-aminobutanol and (±)-tartaric acid. **Yiyao Gongye**. Shanghai, v. 17(4), p. 145-7, 1986.
77. QUEMARD, A., LACAVE, C., LANCELLE, G., Isoniazid inhibition of mycolic acid synthesis by cell extracts of sensitive and resistant strains of *Mycobacterium aurum*. **Antimicrob. Agents Chemother.** Washington, v.35, p.1035-49, 1991.
78. RADKE, F.H., FEARING, R.B., FOX, S.W. Resolution of glutamic acid with 1-hydroxy-2-aminobutane. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 76, p. 2801-03, 1954.
79. RAKHNEVA, Y., MUTAFCHIEVA, E., YANKOVA, M. Industrial method for separation of racemic (±)-2-aminobutan-1-ol into its active forms. **Tr. Nauchnoizled. Khim.-Farm. Inst.** Bulgary, v. 9, p. 193-6, 1974.
80. RAVIGLIONE, M.C. *et al.*, Assessment of worldwide tuberculosis control. **The Lancet**, London, v. 350, p.624-29, 1997.
81. RAVIGLIONE, M.C., SNIDER, D.E., KOCHI, A., Global epidemiology of tuberculosis: morbidity and mortality of a worldwide epidemic. **J. Am. Med. Assoc.**, Chicago, v. 273, p.220-26, 1995.
82. RILEY, R.L. *et al.*, Infectiousness of air from a tuberculosis ward. Ultraviolet irradiation of infected air: comparative infectiousness of different patients. **Am. Rev. Respir. Dis.** New York, v. 85, p. 511-25, 1962.

83. SAITO, H., SATO, K., TOMIOKA, H. Comparative *in vitro* and *in vivo* activity of rifabutin and rifampicin against *Mycobacterium avium* complex. ***Tubercle***, London, v.69, p. 187- 99, 1988.
84. SAMANT, R.N., CHANDALLA, S.B. Separation of racemic mixtures : optical resolution of DL-2-amino-1-butanol. ***Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.***, Bombay, v.24, p. 426-29, 1985.
85. SCHMIDT, I.G., SCHMIDT, L.H. Studies on the neurotoxicity of ethambutol and its racemate for the rhesus monkey. ***J. Neuropathol. Exp. Neurol.*** Boston, v. 25, p. 40-67, 1966.
86. SELWYN, P.A., HARTEL, D., LEWIS, I.A. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug abusers with human immunodeficiency virus infection. ***N. Engl. J. Med.*** Boston, v.320, p. 545-50, 1989.
87. SENSI, P., GRASSI, G.G. Antimycobacterial agents. In: WOLFF, M.E. Ed. ***Burger's medicinal chemistry and drug discovery***, New York: John Wiley and Sons, 1996, v. 2, p. 575 – 625.
88. SHEPHERD, R.G. *et al.* Structure-activity studies leading to ethambutol, a new type of antituberculous compound. ***Ann. N. Y. Acad. Sci.*** New York, v. 135, p. 686-710, 1966.
89. SILVA, L.P. *et al.* Tratamento cirúrgico adjuvante da tuberculose pulmonar multirresistente. ***J. Pneumol.*** São Paulo, v. 23, n. 1, p. 11-14, 1997.
90. SILVERMAN, R. ***The organic chemistry of drug design and drug action***. San Diego: Academic Press, 1992, p.152-184.
91. SIMPSON, D. G. *et al.* Ethambutol in the treatment of tuberculosis. . ***Am. Rev. Respir. Dis.*** New York, v. 98, p. 320-21, 1968.
92. SMITH, G.P., MOSS, A.R. Epidemiology os tuberculosis. In: BLOOM, B.R., Ed. ***Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control***, Washington: ASM Press, 1994, p. 47-59.
93. SNIDER, D.E., Jr., RAVIGLIONE, M., KOCHI, A., Global burden of tuberculosis. In: BLOOM, B.R., Ed. ***Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control***. Washington: ASM Press, 1994. P. 3-11.
94. STINSON, S. C. Conting on chiral drugs. ***Chemical & Eng. News***. Washington, v. 76, n. 38, p. 10-19, 1998.
95. SURAKITBANHARN, Y., *et al.* Self association of dexverapamil in aqueous solution ***J. Pharm. Sci.*** Washington, v. 84, p. 720-725, 1995.
96. TAKAYAMA, K. *et al.* Inhibition by ethambutol of mycolic acid transfer into the cell wall of *Mycobacterium smegmatis*. ***Antimicrob. Agents Chemother.***, Washington, v. 16, p. 240-47, 1979.

97. TAKAYAMA, K., WANG, L., DAVID, H.L. Effect of isoniazid on the *in vivo* mycolic acid synthesis, cell growth, and viability of *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrob. Agents Chemother.** Washington, v. 2, p. 29-44, 1972.
98. TAMURA, M., TAKANO, S. Effect of pH on the minimal inhibitory concentration of d-ethambutol against tubercle bacilli. **Am. Rev. Respir. Dis.** New York, v. 100, p.454-63, 1969.
99. TANIYAMA, H., KUBO, H. (+)-2,2'-(ethylenediimino)di-1-butanol. Japan Pat. 6926.090, Nov. 01, 1969, 3 p.
100. THALL, E., When drug molecules look in the mirror. **J. Chem. Educ.** Easton, v. 73, p. 481-484, 1996.
101. THOMAS, J.P. *et al.* A new synthetic compound with antituberculous activity in mice: ethambutol (dextro-2-2'-(ethylenediimino)-di-1-butanol). **Am. Rev. Resp. Dis.** New York, v.83, p. 891 – 898, 1961.
102. TORORA, G.J., FUNKE, B.R., CASE, C.L. **Microbiology**. 6th Ed. Menlo Park: Benjamin Cummings, 1998, p.637-41.
103. TRACY, J.W., WEBSTER, L.T. Chemotherapy of infections. In: GODMAN, A.G., HARDMAN, G.J., LIMBIRD, L.E., Eds. **The pharmacological basis of therapeutics**. 9th Ed., New York: McGraw-Hill, 1996, p. 955-64.
104. TSUKAMURA, M. Resistance pattern of *Mycobacterium tuberculosis* and *Micobacterium bovis* to ethambutol. **Am. Rev. Respir. Dis.** New York, v. 95, p. 163-72, 1967.
105. UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. **The status and trends of the global HIV/AIDS. Pandemic symposium final report**. Vancouver, 1996, 192 p.
106. WAKSMAN, S.A. **A vitória sobre a tuberculose**. São Paulo: Cultrix, 1996. 254 p.
107. WARNER, A.M., WARNER, V.D. Antimycobacterial agents. In: FOYE, W.O. Eds. **Principles of medicinal chemistry**. 3rd Ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1989, p. 669-78.
108. WEBER, W.W., HEIN, D.W. Clinical pharmacokinets of isoniazid. **Clin. Pharmacokinet.**, Bethesda, v. 4, p. 410-431, 1979.
109. WILKINSON, R. G., CANTRALL, M.B., SHEPHERD, R.G. Anti-tuberculous agents. III. (+)-2,2'-(ethylenediimino)-di-1-butanol, and some analogs. **J. Med. Pharm. Chem.** Washington, v. 5, p. 835-44, 1962.
110. WILKINSON, R.G. *et al.* Stereospecificity in a new type of synthetic antituberculous agent. **J. Am. Chem. Soc.** Washington, v. 83, p.2212-13, 1961
111. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Tuberculosis. **Fact Sheet**, Geneva, n. 104, 1998, 4p.
112. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Anti-tuberculosis drug resistance in the world**. Geneve, 1998, 290 p.

113. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis control. WHO report 2000.** Geneve, 2000, 187 p.
114. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Procurement of second-line anti-tuberculosis drugs for dots-plus pilot projects.** Geneve, 1999, 20 p.
115. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Treatment of tuberculosis. Guidelines for national programmes.** Geneve, 1998, 78 p.
116. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **What is DOTS? A guide to understanding the WHO-recommended TB control strategy known as DOTS.** Geneve, 1999, 41 p.
117. YOUATT, J. A review of the action of isoniazid. **Am. Rev. Resp. Dis.** New York, v. 99, p. 729-42, 1969.
118. YOUNG, D.B., Strategies for new drug development. In: BLOOM, B.R. Ed. **Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control.** Washington: ASM Press, 1994, p. 559-67.
119. ZHANG, M.Q., LAAK, A.M.T., TIMMERMAN, H. Structure-activity relationships within a series of analogues of histamine H1-antagonist terfenadine **Eur. J. Med. Chem.** Paris, v. 28, p. 165-73, 1993.
120. ZOJA, G., Resolution of 1-hydroxy-2-aminobutane. Fr.Pat. 1.439.850, May 27, 1966, 4 p.
121. ZUMLA, A., GRANGE, J.M. Doing something about tuberculosis. **Brit. Med. Journal**, London, v. 318, p. 956-57, 1999.