

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
vinculada ao Ministério da Agricultura

Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar
Boletim Técnico n.º 11

**OBTENÇÃO DE ESTERÓIDES
DO SISAL**

WALTER B. MORS e NICOLAI SHARAPIN

RIO DE JANEIRO
1974

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA

Ministro: Alysson Paulinelli

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-EMBRAPA

Presidente: José Irineu Cabral

Diretores: Eliseu Roberto de Andrade Alves
Edmundo da Fontoura Gastal
Roberto Meirelles de Miranda

Diretor do CTAA: José Camões Orlando

COMISSÃO TÉCNICA DE DIVULGAÇÃO

Coordenador: Salatiel Corrêa da Motta

Editor-Chefe: Adilson Nobre

Vogais: Oscar Ribeiro
Ângela Maria Lyra Porto
Seiva Cascon
Teonila Rocha Silva
Amaro Henrique de Souza

Assessor: Alberto Nascimento

Entrega
FLC6773
APOSED

A OBTENÇÃO DE ESTERÓIDES DO SISAL*

WALTER B. MORS e NIKOLAI SHARAPIN

Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar, Ministério da Agricultura,
rua Jardim Botânico, 1024, Rio de Janeiro, GB, Brasil.

ABSTRACT

OBTAINING STEROIDS FROM SISAL. By Walter B. Mors and Nikolai Sharapin.

The extraction of iso-sapogenins from sisal juice as raw materials for steroids of pharmacological interest is suggested as a possible economic alternative in the diversification of the Brazilian sisal industry. The article describes the establishment of a pilot plant in the northeastern State of Rio Grande do Norte, for the extraction of hecogenin and tigogenin on an experimental scale. The use in the process, of lime together with diatomaceous earth has been introduced instead of the conventional sodium hydroxide and calcium chloride — an improvement from the point of view of regional working conditions. Iso-sapogenins were thus obtained in an average yield of 0.67 grams per litre of sisal juice. A general view of chemical and microbiological transformations of the steroids is also given.

INTRODUÇÃO. A planta. O gênero *Agave*, da família das Amarilidáceas, abrange mais de trezentas espécies, cujo centro de dispersão é o México e as áreas áridas adjacentes. Muitas delas são essencialmente ornamentais; algumas, no entanto, se tornaram úteis ao homem, como fornecedoras de fibras duras. Com esta finalidade se cultivam hoje, no mundo, as seguintes: como mais importante e cultivada em maior escala, a *Agave sisalana* Perr., popularmente chamada "sisal" e fornecedora da fibra do mesmo nome; em segundo lugar, *A. fourcroydes* Lem., o *henequén* do México, conhecida no Brasil como "piteira". Certa quantidade de fibra de *henequén* provém, também, da *A. lurida* Ait.; e menor importância na produção de fibras têm a *A. letona*, cultivada na América Central, e *A. cantala*, nas Filipinas.

As plantas apresentam suas longas, duras e suculentas folhas partindo de um curto caule, situado ao nível do solo, em disposição de roseta. Quando

já avançadas em idade, emitem enormes inflorescências, conhecidas como "pendão" ou "penão". Estas apresentam uma curiosa propriedade: não chegam a frutificar; antes de fenercerem, elas produzem uma quantidade fabulosa de pequeninas plantas, chamadas "bolbilhos", capazes de refazer os indivíduos adultos, quando lançadas ao solo. Daí o termo "vivípara" aplicado à planta. As espécies de *Agave* vivem em localidades áridas, razão por que se adaptaram perfeitamente na África oriental, para onde o sisal foi levado por colonizadores alemães, no princípio do século. Das antigas colônias alemãs, a cultura se espalhou para outras partes do continente africano, depois da Primeira Guerra Mundial. Também no princípio deste século, foi o sisal introduzido no Brasil, sem porém adquirir importância econômica, inicialmente. As mesmas razões ecológicas que favoreceram o cultivo da *A. sisalana* na África determinaram sua adaptação ao clima e solo nordestinos. A conjuntura

*Pesquisa subvencionada pelo Conselho Nacional de Pesquisas

excepcional no mercado de fibras do Ocidente, causada pela Segunda Guerra Mundial, fomentou as plantações no nordeste brasileiro, passando o nosso país, gradualmente, a figurar entre os grandes produtores da fibra.

A fibra — produção, empregos, situação econômica. Hoje, com uma produção anual de pelo menos 200 000 t de fibra, é o Brasil, talvez, o primeiro produtor de sisal do mundo, emparelhado com a Tanzânia, de produção aproximadamente equivalente. Dados exatos não podem ser citados, conquantos as estatísticas destoam entre si. Enquanto as cifras oficiais situavam a produção brasileira, em 1969, em 311 100 t (1), a estimativa da FAO só concede ao Brasil, no mesmo ano, 185 000 t (2).

Brasil, dados oficiais	311 100
Brasil, estimativa da FAO	185 000
Tanzânia	209 300
Angola	57 700
Quênia	46 200
Moçambique	28 500
Madagáscar	25 000
Total mundial	622 900

Tabela I — Produção de sisal em 1969: principais produtores (em t)

Em nosso país, a cultura do sisal acha-se concentrada nos Estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Pernambuco e norte da Bahia, com a seguinte distribuição, em 1969 e 1970, segundo dados do Instituto Brasileiro de Estatística do IBGE (1):

	1969	1970
Bahia	99 760	89 934
Rio Grande do Norte	88 672	79 717
Paraíba	105 913	77 800
Pernambuco	15 967	15 353

Tabela II — Distribuição da produção brasileira de sisal entre os Estados maiores produtores, em 1969 e 1970, em t (1)

Os empregos da fibra do sisal dizem respeito à fabricação de cordas, barbantes grossos, redes de dormir, chapéus, tapetes, capachos e objetos de artesanato. No panorama mundial, sua principal aplicação tem sido na fabricação de cordoalha destinada à colheita do trigo. Tais cordas compreendem as chamadas *binder twine*, para amarrar feixes, e *baler twine*, para enlaçar os fardos.

Durante a última década vem o sisal sofrendo fortíssima pressão econômica de parte das fibras sintéticas, dai tendo resultado grande baixa em seu preço. A crise resultante ameaçou seriamente a lavoura do *Agave* em todos os países que a ela se dedicam. A erradicação das plantações nordestinas já foi cogitada por várias vezes. Não se consumou, tão-somente, em vista da falta de culturas alternativas que se adaptam ao mesmo ambiente.

A principal medida tomada pelos cultivadores do sisal brasileiro contra a depreciação do seu produto foi sua incorporação em papéis resistentes, do tipo Kraft (4). Esta nova aplicação já vem sendo praticada há algum tempo com êxito. Mais recentemente está sendo estudada a fabricação de outros tipos de papel, inclusive papéis finos, com fibra de sisal como matéria-prima. As experiências, muito promissoras, determinaram que uma empresa, a Companhia Celulose da Bahia S.A., decidisse dedicar-se com vigor a esta diversificação da industrialização do sisal. Mais recentemente ainda, há a mencionar a proposição de investidores japoneses no sentido de fabricar papel destinado à impressão de cédulas, para o que a fibra do sisal se revelou excelente matéria-prima. Desta forma, a crise mais intensa na área do sisal está sendo, gradativamente, debelada.

Esteróides como alternativa de diversificação. Por motivação original do Conselho Nacional de Pesquisas, foi estudada a possibilidade do aproveitamento do suco das folhas do sisal como matéria-prima para a obtenção de esteróides. A idéia originou-se da Primeira Reunião Brasileiro-Norte-Americana sobre Ci-

ência, Tecnologia e Desenvolvimento, realizada em Itatiaia, em abril de 1966, onde o Prof. Carl Djerassi, da Universidade de Stanford, lançou a sugestão do aproveitamento dos esteróides do sisal como um projeto de estímulo à pesquisa básica, com implicações industriais ou tecnológicas (3). O CNPq levou avante a proposição em cuja execução se empenharam duas instituições técnicas governamentais: o Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar, do Ministério da Agricultura, e o Instituto Nacional de Tecnologia do Ministério da Indústria e do Comércio.

O consumo mundial de esteróides assume na época atual proporções astronômicas. O movimento mundial de vendas de hormônios sexuais, drogas anti-inflamatórias, anovulatórios, agentes anabolizantes e outros medicamentos de natureza esteroidal é da ordem de 1 bilhão de dólares por ano, e continua crescendo (5). Como mostra a Tab. III, a importação brasileira de drogas esteroidais dobrou de 1969 para 1970, assumindo agora o quantitativo anual de 3 t, que se traduz numa despesa de 4 milhões de dólares.

Substância	1969		1970	
	kg	USS	kg	USS
Hidrocortisona	300,6	150 000	381,0	163 000
Prednisolona	300,6	1 936 000	345,0	2 804 000
Estrona	132,0	193 000	1 225,1	394 000
Estriol	14,0	122 000	14,1	123 000
Progesterona	144,2	46 000	214,4	190 000
Etiniltestosterona	9,5	3 000	27,5	25 000
Testosterona	385,8	123 000	657,7	203 000
Total	1 286,7	2 573 000	2 865,8	3 902 000

Tabela III — Importação brasileira dos principais esteróides (1)

A elucidação do papel dos hormônios na fisiologia animal e da estrutura química de alguns dos principais hormônios esteroidais foi obra da ciência das décadas de 30 e 40. Eram, então, os hormônios substâncias raras e a terapêutica por seu intermédio, caríssima. Recorria-se a extratos de glândulas de

animais ou aos hormônios extraídos dos fluidos orgânicos. As primeiras sínteses, trinta anos atrás, serviam-se do colesterol e de ácidos biliares como substâncias de partida. Estes, embora abundantes, podendo ser obtidos de órgãos de gado abatido, não são as matérias-primas mais convenientes para a síntese industrial.

O panorama mudou depois da Segunda Guerra Mundial, graças aos trabalhos fundamentais de Marker e colaboradores, sobre as sapogeninas existentes em plantas pertencentes a algumas famílias de Monocotiledôneas, notadamente as Liliáceas, Amarylidáceas e Dioscoreáceas (6). Tais substâncias, produtos da hidrólise de saponinas, são de natureza esteroidal e algumas delas revelaram-se excelentes pontos de partida para a síntese de toda sorte de esteróides farmacologicamente ativos. Foram, ainda, os estudos de Marker que apontaram o caminho para, mediante degradações químicas relativamente simples das sapogeninas, chegar-se a derivados do pregnano, o hidrocarboneto fundamental das moléculas dos hormônios esteroidais.

As primeiras transformações foram feitas com sarsa-sapogenina, a primeira genina esteroidal estudada por Marker, já em 1938, proveniente da droga salsaparrilha, que se obtém de algumas Liliáceas do gênero *Smilax*. Esta, porém, apresentava dois inconvenientes: além de não se encontrar disponível em grandes quantidades, sua molécula possui o esqueleto carbônico totalmente saturado, o que dificulta a síntese de hormônios em algumas etapas.

Melhor êxito obteve-se com a diosgenina. Esta substância é de fácil acesso, pois ocorre nos tubérculos de várias espécies de *Dioscorea* do México. Ademais, sua molécula apresenta insaturação na posição 5:6 do anel B do esqueleto esteroidal.

Os primeiros estudos químicos sobre dioscoreáceas datam de 1904, quando Honda, no Japão, isolou o glicosídeo a que chamou de dioscina. Foram ainda japoneses – Tsukamoto e colaboradores – que, em 1936-37, obtiveram a aglicona correspondente, a

diosgenina. Os próprios pesquisadores japoneses já caracterizaram a substância como um esteróide, cabendo porém a Marker a elucidação completa da estrutura. Aplicando a esta genina sua experiência já adquirida com o trabalho com sarsa-sapogenina, conseguiu ele esclarecer a natureza da cadeia lateral e, com isto, estabelecer a estrutura completa.

A Fig. 1 mostra a série de degradações pela qual a diosgenina é convertida em um derivado simples do pregnano. Trata-se essencialmente das mesmas reações que permitiram a Marker estabelecer a estrutura da substância e que hoje constituem as primeiras etapas das sucessivas transformações em hormônios esteroidais. O produto que aparece na Fig. 1 é a 16-deidro-pregnolonona ou, simplesmente, "16-D", substância-chave para todas as demais conversões industriais baseadas no uso da diosgenina. Graças a um suprimento natural abundante de espécies selvagens de *Dioscorea* em suas matas é o México, hoje, produtor quase exclusivo de diosgenina. Outros produtores, mas em escala menor, são a Guatemala, Porto Rico, a Índia e a República Popular da China. Outros países têm procurado cultivar os preciosos tubérculos, mas com pouco êxito. O Brasil conta muitas espécies, algumas delas comestíveis — os "inhames" do nordeste ou "carás" do sul. Nenhuma delas, porém, pelo menos até hoje, revelou-se como potencial fonte de diosgenina. No México, a exportação de raízes de *Dioscorea*, de diosgenina pura e dos seus primeiros produtos de transformação é proibida por lei. Com esta medida, tornou-se aquele país o primeiro produtor de hormônios esteroidais do mundo, tendo exportado em 1967 esteróides num valor total de 13 milhões de dólares. Com o desenvolvimento da indústria dos esteróides a partir de matéria-prima vegetal, nos últimos 25 anos, o preço dessas substâncias abaixou 1 000 vezes. Antes de 1943, quando as sínteses ainda partiam do colesterol e dos ácidos biliares, o preço da progesterona era de 80 dólares o grama. A mesma importância corresponde hoje, aproximadamente, ao preço de 1 quilo.

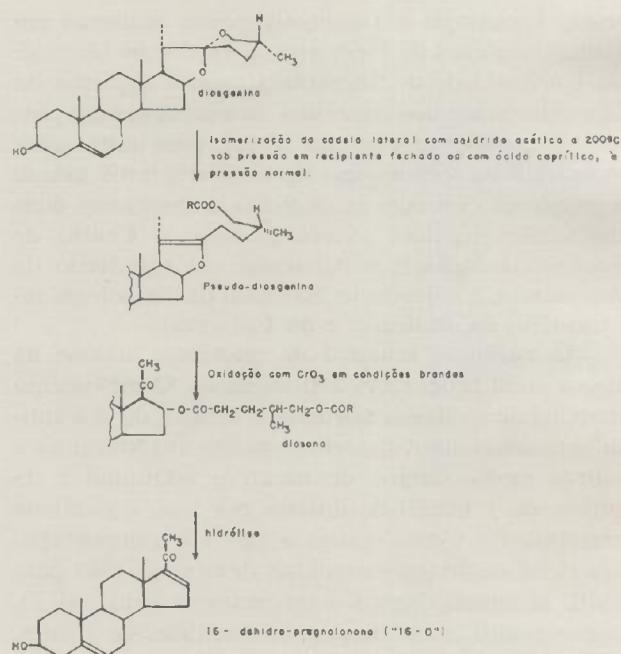


Figura 1 — Primeiras etapas de degradação da diosgenina

Hecogenina. A diosgenina, apesar de predominar no panorama das matérias-primas esteroidais, não é a única fonte dessas substâncias empregada pela indústria. Um laboratório americano (Upjohn) baseia pelo menos parte da sua produção no estigmasterol, proveniente do insaponificável do óleo de soja. O mesmo acontece com algumas outras empresas, entre as quais se destaca a Glaxo, britânica, em relação à hecogenina do sisal. Como substância de partida para as sínteses de hormônios, apresenta a hecogenina um grande inconveniente e dois aspectos favoráveis. O inconveniente reside no fato de ser sua molécula, como a da sarsa-sapogenina, totalmente saturada. Esta característica obriga a incluir algumas etapas adicionais, de rendimento pouco satisfatório, na cadeia das transformações químicas que levam aos hormônios. É justamente esta natureza saturada da hecogenina que

determinou que prevalecesse o uso da diosgenina como matéria-prima preferida.

Por outro lado, há a registrar duas vantagens. A primeira é a disponibilidade praticamente ilimitada da hecogenina. O suco das folhas do sisal é resíduo inaproveitado na grande maioria das instalações de industrialização da fibra. Se bem que não se fez sentir, até hoje, falta de diosgenina, as reservas de *Dioscoreas* selvagens não são inesgotáveis. A rebeldia destas plantas contra o cultivo já está levando os grandes laboratórios à procura de novas fontes daquela preciosa sapogenina. Uma possível escassez de diosgenina poderá determinar maior procura de hecogenina para as sínteses.

A segunda vantagem da hecogenina é de ordem química. São duas as grandes classes de hormônios esteroidais: os hormônios sexuais (masculinos e femininos) e os adrenocorticais ou córtico-esteróides. Estes últimos são secretados pelo córtex das glândulas supra-renais e são essenciais à vida dos animais superiores. Exemplo dos mais conhecidos é o da cortisona. Estes hormônios corticóides, contrariamente ao que acontece com os sexuais, possuem uma função oxigenada no anel C do esqueleto esteroidal — mais precisamente, na posição 11 do mesmo. E, enquanto a diosgenina não ostenta átomo de oxigênio algum no seu anel C, a hecogenina possui tal feição, ou seja, um grupo carbonila no átomo de carbono 12.

Transformações químicas. Consideremos os quatro fatos básicos que devem orientar as operações químicas quando utilizamos hecogenina como substância de partida para a obtenção de hormônios esteroidais:

a) A degradação da cadeia lateral

Esta é efetuada de maneira idêntica à já descrita para a diosgenina (Fig. 1). Na verdade, há uma diferença estrutural a assinalar na cadeia lateral das duas moléculas. Esta se situa na orientação relativa do substituinte metila no átomo de carbono 25. A diosgenina apresenta ali a chamada “configuração neo ou normal” (metila beta-axial), enquanto a hecogenina

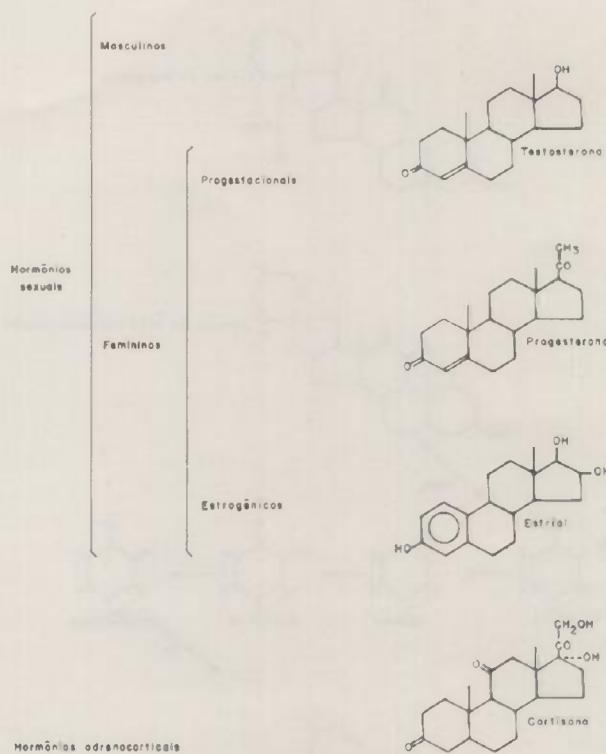


Figura 2 — Hormônios esteroidais: exemplos

pertence à série isômera das “iso-sapogeninas”, com a configuração naquele centro invertida (metila alfa-equatorial). Tal diferença, porém, em nada modifica as reações de degradação da cadeia.

b) Transposição da carbonila do átomo de carbono 12 para a posição 11

Esta transposição torna-se necessária se desejamos produzir hormônios corticóides. Vários métodos são conhecidos e possíveis para alcançar este objetivo. Exemplifiquemos com um deles, na Fig. 3. O produto é a 11-ceto-tigogenina, isômera da hecogenina, possuindo o oxigênio carbonílico na posição 11 do esqueleto.

c) Eliminação do oxigênio da posição 12

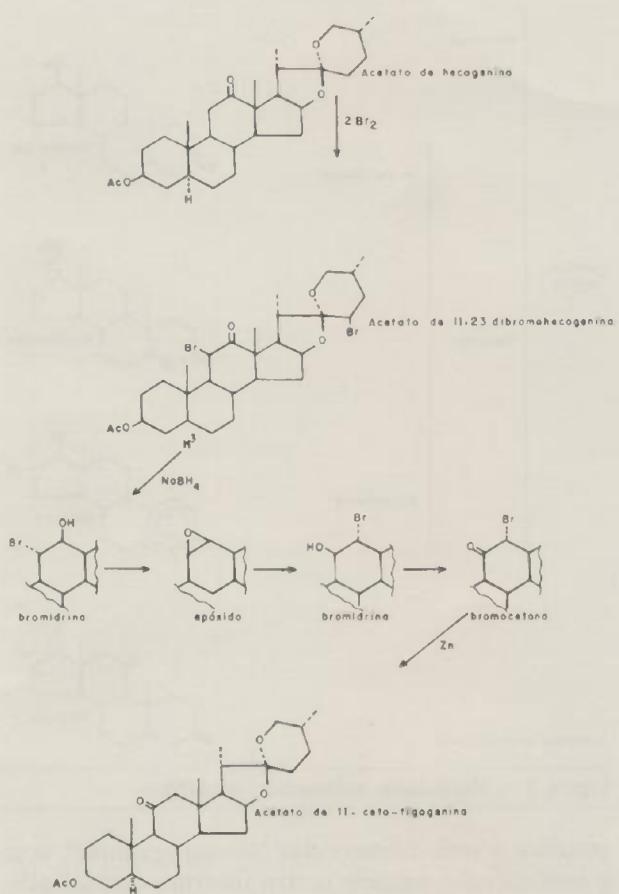


Figura 3 — Exemplo da transposição da carbonila da posição 12 para 11

Tal eliminação torna-se necessária, se o objetivo é a fabricação de hormônios sexuais. Realiza-se, convenientemente, pela conhecida reação de Wolff-Kishner. O produto resultante é a tigogenina, outra isosapogenina que também, normalmente, acompanha a hecogenina nas folhas do sisal (Fig. 4).

- d) Introdução de uma insaturação no anel A da molécula

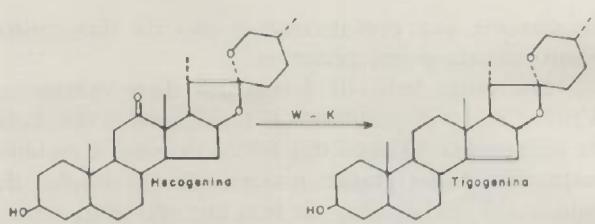


Figura 4 — Conversão de hecogenina em tigogenina pela reação de Wolff-Kishner

Esta operação é difícil, geralmente dispendiosa e de rendimento não muito satisfatório. A dificuldade prende-se ao fato de os anéis A e B, na hecogenina, apresentarem-se ligados em *trans*. Mesmo assim, vários processos já foram elaborados para contornar o inconveniente. Uma bromação do 3-ceto-esteróide (obtido por oxidação do álcool) produz, inicialmente,

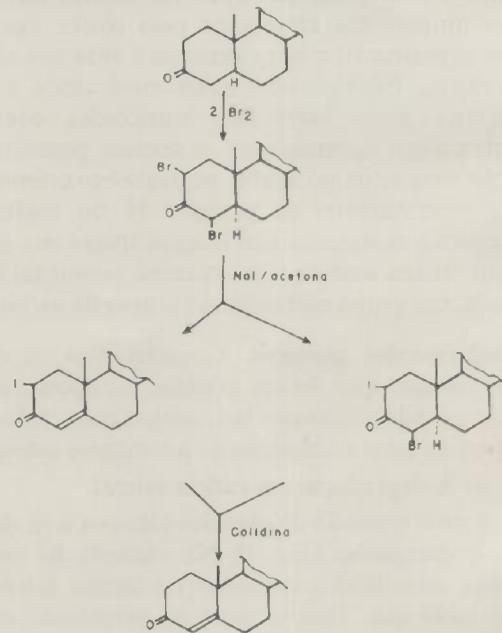


Figura 5 — Introdução de insaturação no anel A de um esteróide A/B *trans*

o 2,4-dibromo-derivado. Este, por tratamento com iodeto de sódio, em acetona, fornece dois produtos intermediários, os quais não são isolados, mas logo submetidos à ação da colidina. O produto final apresenta a dupla ligação na posição desejada (7). A Fig. 5 mostra esquematicamente este caminho.

O panorama econômico. A produção de hormônios esteroidais encontra-se em constante ascensão. A matéria-prima mais importante sempre foi, e continua sendo, a diosgenina, extraída do "barbasco" mexicano. No entanto, a hecogenina, não obstante ocupar um lugar modesto, tem sustentado sua posição na altura de 4% do total (Tab. IV).

	1963	1968
Diosgenina	395	660
Estigmasterol	60	150
Ácidos biliares	25	60
Hecogenina	20	40
Síntese total	—	50
Esmilagenina	—	10
Total	500	970

Tabela IV — Matérias-primas para produção de hormônios esteroidais (t/ano) (5)

As razões que determinam a manutenção da hecogenina por fabricantes britânicos, a despeito do inconveniente que representa sua molécula totalmente saturada, são de ordem que se pode chamar de estratégica: na hipótese nada impossível de se esgotarem, ou diminuírem drasticamente, as fontes de diosgenina, estarão os detentores da hecogenina aptos a operar com uma matéria-prima alternativa. Além disso, a proveniência desta é de um país pertencente à Comunidade Britânica — a Tanzânia — onde a influência inglesa é absoluta. Finalmente, pertence à área da libra, e não à do dólar, como é o caso do México.

Razões da mesma ordem, além de outras, podem ser invocadas ao pretender-se implantar, no Brasil, uma indústria de hormônios baseada na hecogenina.

A matéria-prima, enquanto existir lavoura e indústria sisaleira, é superabundante. O consumo de medicamentos hormonais está em ascensão e os esteróides chegam a nós na sua forma final, mais refinada, ou seja, mais cara. A cifra de 2,5 milhões de dólares do dispêndio brasileiro para a finalidade apontada por si só justifica o estudo da questão. A obtenção de hecogenina, unicamente, talvez não apresente interesse econômico por ser pequeno o seu mercado. Os industriais ingleses que dela se servem têm suas fontes próprias. Usada, porém, como substância de partida para a fabricação da gama de produtos esteroidais que o nosso país adquire no exterior, tem a hecogenina a potencialidade de se constituir em fundamento de uma indústria química orgânica e farmacêutica viável. Tal indústria, bem sucedida, lançaria seus reflexos favoráveis sobre a economia do sisal. Por outro lado, sua implantação acarretaria necessariamente um grande impulso à pesquisa nas áreas da química especializada dos esteróides, da sua farmacologia e das suas aplicações clínicas. O terreno dos esteróides está em movimentação dinâmica, intensamente pesquisado no mundo inteiro, com novas substâncias sendo produzidas continuamente, ensaiadas, estudadas e, eventualmente, lançadas no mercado. As aplicações não se limitam à medicina humana. No terreno da veterinária pode ser citado trabalho recente, executado nos Estados Unidos e na Austrália, obtendo-se a sincronização do estro em gado bovino e ovino, com o auxílio de drogas de ação hormonal. Assim, por exemplo, torna-se possível o estro simultâneo de todas as vacas de um rebanho, permitindo a inseminação artificial com grande eficiência e em um mínimo de tempo. Outra aplicação diz respeito a ovelhas, geralmente estéreis durante metade do ano, mas que podem se tornar férteis durante este período com um tratamento hormonal adequado.

A reprodução de insetos pode ser, também, influenciada por hormônios esteroidais. Um dos tipos de hormônios que regem a ontogenia dos insetos pertence à classe dos esteróides. São os "hormônios de

muda", que determinam a metamorfose das larvas em animais adultos. Abrem-se aqui novas perspectivas no combate aos insetos nocivos, através da aplicação de tais hormônios ("ecdisonas") durante certos períodos vulneráveis de seu ciclo biológico.

Citando as observações do Professor Carl Djerassi, anexadas ao Relatório da Reunião Brasileiro-Norte-Americana sobre Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento, de abril de 1966(4), concluímos que, "estimulando a pesquisa química em uma área onde existe uma matéria-prima brasileira e, inclusive utilizando-a, industrialmente, para a obtenção de produtos conhecidos, estimula-se a pesquisa original em farmacologia, medicina humana e veterinária, e no campo dos insetos. É o tipo de dividendo que resultaria do estabelecimento da pesquisa em um determinado setor".

A usina piloto. Foram ponderações desta ordem que levaram o Conselho Nacional de Pesquisas a estimular, e em parte subvencionar, um projeto de instalação de uma usina piloto para obtenção de hecogenina, em região produtora de sisal. O projeto foi elaborado ainda em 1966 pelo então Instituto de Tecnologia Agrícola e Alimentar do Ministério da Agricultura — hoje incorporado ao Centro de Tecnologia Agrícola e Alimentar — e foi aprovado na Reunião Anual dos Diretores da Pesquisa Agropecuária Federal. Dentro da programação do naquela época chamado Escritório de Pesquisa e Experimentação — hoje Departamento Nacional de Pesquisa Agropecuária —, foi subordinado ao Projeto 4.2.2, tomando a numeração de subprojeto ITA 4/66. A Sudene, através do seu Departamento de Industrialização, também vinha estudando, na mesma época, as possibilidades de produção de hormônios partindo de rejeitos do beneficiamento do sisal. Um relatório circunstanciado foi dado à publicidade, em 1967, pela Divisão de Pesquisa e Programação Industrial, abordando o assunto sob vários ângulos(8). A Sudene conservou vivo o seu interesse, a par dos trabalhos

do Ministério da Agricultura, e em comum acordo com o Conselho Nacional de Pesquisas. As experiências preliminares foram realizadas em escala de laboratório, no Instituto de Tecnologia Agrícola e Alimentar. Utilizou-se, inicialmente, suco de folhas de sisal do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e, mais tarde, trazido de plantações da Bahia. Os resultados de então já deixavam entrever a viabilidade do projeto, pois verificou-se ser a hecogenina a iso-sapogenina predominante na composição das amostras analisadas. Acompanha-a, em menor proporção, a tigogenina, cuja presença, porém, não constitui obstáculo à industrialização.

A fim de conhecer melhor o que já existia no campo em estudo, um dos autores deste trabalho (N. Sharapin) foi enviado ao México, em maio de 1967, com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas. A viagem foi empreendida a convite da Compañía Syntex S.A., a maior produtora de intermediários esteroidais do mundo. Interessada em outra época na exploração de *Agave* para produção de esteróides, adquiriu a Syntex considerável experiência no assunto. Abandonou, porém, o *henequén* em favor das *Dioscoreas*, pelas razões já acima explicadas. A colaboração da empresa mexicana foi valiosíssima, tendo permitido poupar tempo precioso em observações, estudos e tentativas preliminares. Antes de passar-se à escala semi-industrial, era preciso avaliar o suco das folhas de sisal de várias procedências e escolher o local para implantação do projeto em sua nova fase. Várias coletas de material foram realizadas em 1967-68 nos Estados da Bahia, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte. As amostras apresentavam, de um modo geral, composição química favorável, pois mostrou-se que o sisal brasileiro, como o africano do qual ele descende, encerra em proporção predominante a hecogenina e, como acompanhante, tigogenina, ao lado de proporção diminuta de outros esteróides. Como já foi dito, a ocorrência conjunta daquelas duas substâncias não apresenta inconveniente. Visando-se a produção de hormônios corticóides, será necessário

proceder a sua separação, exequível por vários métodos. Se o objetivo for a obtenção de hormônios sexuais, a hecogenina é primeiramente convertida em tigogenina, desaparecendo assim a heterogeneidade. Na escolha do local destinado à usina piloto influíram vários critérios: o método de desfibramento adotado; o volume de lama obtido; o rendimento em torta, absoluto e calculado sobre a lama; e a porcentagem de iso-sapogeninas apurada. Tendo-se em vista que o aproveitamento do suco das folhas só se faz com rendimento satisfatório em locais dotados de desfibradoras automáticas, a existência destas era a primeira condição a ser satisfeita. Outra exigência é que o suco seja disponível em estado natural, não diluído com água, como acontece em algumas instalações onde o desfibramento é acompanhado de lavagem. Analisados os resultados obtidos por ocasião do exame das amostras de suco, foram estes considerados conjuntamente com as condições de desfibramento e levados em conta todos os demais fatores indispensáveis à instalação de uma unidade piloto, tais como existência de água corrente, energia elétrica e facilidade de acomodação da aparelhagem a ser instalada.

A escolha recaiu sobre a Fazenda Zabelê, então de propriedade da Companhia Sackraft Indústria de Celulose do Nordeste S.A., localizada nos municípios de Touros e João Câmara, no Estado do Rio Grande do Norte. A empresa ofereceu ao projeto toda a sua cooperação, franqueando as facilidades disponíveis na fazenda, como água corrente, eletricidade gerada por um conjunto Diesel e fornecendo toda a matéria-prima necessária para os trabalhos.

A usina foi montada em 1969, começando a operar em fins daquele ano. Em sua instalação foram aplicadas verbas orçamentárias do Ministério da Agricultura, recursos do Fundo Federal Agropecuário e vários auxílios do Conselho Nacional de Pesquisas. Em decorrência de grande instabilidade financeira da Companhia Sackraft, foi a Fazenda Zabelê adquirida em hasta pública, pelo Grupo Financeiro Tabajara, em 1971. Numa demonstração de desprendido espírito

público, os novos donos da fazenda continuaram a oferecer todas as facilidades para a manutenção do funcionamento da usina.

A operação industrial. Foi principalmente P. C. Spensley quem aplicou ao processamento industrial os conhecimentos existentes sobre o comportamento e separação de hecogenina (9). Foi o trabalho deste pesquisador inglês que permitiu a obtenção da hecogenina das plantações africanas de sisal, como até hoje ela é processada.

Em traços gerais, consiste o método de cinco etapas:

a) a expressão do suco das folhas; b) a autólise do suco, determinando a hidrólise parcial das sapogeninas. Por hidrólise parcial entende-se aqui o desdoblamento de algumas das unidades de açúcares que se encontram ligadas às moléculas das sapogeninas em ligação glicosídica; o produto desta hidrólise se deposita no fundo dos tanques, em forma de "lama"; c) a hidrólise ácida, total, da lama: esta hidrólise pode ser efetuada em condições diversas, com ácidos minerais, à temperatura elevada, com ou sem pressão; o objetivo é retirar os açúcares restantes das sapogeninas, as quais se obtêm em forma de uma massa sólida, a que se chamou de "torta", internacionalmente conhecida como "concentrado de sisal" ou ACSH (*acid coagulated sludge hydrolyzate*); d) a purificação das geninas existentes na torta, por extração com solventes; e) a acetilação das sapogeninas e purificação final dos acetatos obtidos.

Vamos discorrer sobre cada um destes estágios, um pouco mais detalhadamente.

Expressão do suco das folhas. O cultivo do sisal em grandes plantações quase sempre é bem organizado, escolhendo-se para o corte plantas da mesma idade. Em plantações menores e menos organizadas tal não ocorre, cortando-se folhas de idade não determinada. Devido à variação do teor em hecogenina de folhas de idade diferente, aconselha-se produzir a genina

somente com plantas de mais de quatro anos de idade. O uso de folhas novas, juntamente com as velhas, faz baixar o rendimento da produção. Na operação desfibramento com máquinas do tipo Corona, sem lavagem, o suco permanece absorvido no resíduo de fibra curta, ou "bagaço", podendo ser retirado por expressão. Convenientemente, faz-se uma canalização de cimento liso, levando o suco diretamente para a usina, como foi feito em Zabelê. A época do ano tem sua influência, pois após prolongada seca, o bagaço sai da máquina desfibradora quase seco, melhorando tal situação com a chegada das chuvas.

A técnica da expressão do bagaço é um fator dos mais importantes. A pressão manual é muito eficiente, porém dispendiosa em grande escala. Ademais, o suco é desagradável ao contato com a pele, em parte devido à sua acidez e, em parte, porque deixa sobre a pele uma película irritante, quando seco, obrigando o uso de luvas de borracha. A modalidade de expressão mais apropriada é o uso de rolos prensantes, os quais, porém, precisam ser de material inoxidável.

Autólise da lama. A hidrólise parcial, enzimática, das saponinas, é determinada por enzimas presentes no próprio suco. Fermentações secundárias, causadas por fungos ou bactérias, devem ser evitadas. Por isso o suco não deve ser abandonado à autólise por tempo superior a uma semana. A autólise causa a precipitação da hecogenina (e demais geninas) principalmente em forma de mono e diglicosideos. O precipitado se deposita no fundo do tanque, consistindo assim este procedimento uma maneira natural de concentrar o material contendo hecogenina. A "lama" resultante representa cerca de 1/5 a 1/7 do volume inicial do suco. Dada a natureza corrosiva do suco, tanques de cimento ou aço comum são atacados com o tempo. Por isso os tanques de autólise devem ser revestidos com material ácido-resistente. Em Zabelê a escolha recaiu sobre um revestimento plástico (resina epóxi).

Hidrólise ácida. A lama é transferida para uma caldeira — revestida de chumbo — e a ela se adiciona

metade do seu volume de ácido sulfúrico 3 N. (Este ácido é subproduto da segunda hidrólise e é recuperado após filtração.) A mistura lama-ácido é aquecida à ebullição, durante 6-7 horas. Depois deixa-se em repouso, com o que se deposita uma lama mais concentrada do que a primeira. Esta lama concentrada é, então, transferida para uma segunda caldeira, e a ela se adiciona ácido sulfúrico concentrado (cerca de 26 N), de modo que a mistura fique 3 N. Repete-se a fervura por tempo idêntico à primeira. Depois de fria, é a mistura bombeada para um filtro de sucção de madeira, do tipo conhecido por *nutsche*, e o filtrado é desviado para tambores plásticos com a finalidade de fornecer ácido para a primeira hidrólise. O resíduo sólido, sobre o filtro, é lavado com água, em seguida com uma solução aquosa de carbonato de sódio a 15% e depois mais uma vez com água, até eliminação de toda a acidez da torta.

Da lama obtém-se 3,4% de torta seca, contendo esta cerca de 10% a 14% de iso-sapogeninas.

Extração da hecogenina. De todos os solventes experimentados, foi o metanol o que deu melhores resultados. O etanol não pode substituí-lo satisfatoriamente. Apesar de não ser um solvente específico para a hecogenina, o metanol apresenta a vantagem de fazer cristalizar a hecogenina em suas soluções mais concentradas. A extração pode ser feita na presença de carvão ativo; mas o processamento em presença de hidróxido de sódio e cloreto de cálcio é mais eficiente. Este método, patenteado pelos Laboratórios Glaxo em 1956, é hoje geralmente empregado. Uma modificação interessante deste processo foi estudada e posta em prática na usina piloto de Zabelê (10). Serviu a mesma para contornar dois inconvenientes inerentes ao processo tradicional: a) o elevado custo dos reagentes — hidróxido de sódio e cloreto de cálcio — nos locais onde a operação deverá ser executada, isto é, nas plantações de sisal, no interior nordestino; b) a grande dificuldade da filtração do extrato, que rapidamente obstrui os filtros, prejudicando seria-

mente a eficiência da operação. Os dois problemas foram eliminados, empregando-se duas matérias-primas de fácil acesso na região: a cal e a diatomita. Cal é matéria de disponibilidade geral, dados os seus múltiplos empregos; e a diatomita ou terra infusória ocorre em grandes jazidas precisamente no Estado do Rio Grande do Norte, onde é comercialmente explorada. O uso combinado destas duas matérias permite rápida filtração, com obtenção de um extrato limpo, comparável ao obtido pelo processo tradicional. A hecogenina assim obtida é suficientemente pura para dispensar sua recristalização antes da acetilação.

Acetilação. Esta operação faz-se por método convencional, com anidrido acético, como qualquer acetilação industrial, não precisando ser comentada.

Rendimento. Diante da existência de fatores interferentes, como a época do ano, a idade das folhas e outros, não é possível adiantar cifras de rendimento precisas e reproduzíveis. Todavia, a experiência adquirida em cinco anos permite apresentar o valor médio aproximado de 0,67 g de iso-sapogeninas, extraíveis de 1 litro de suco de sisal. Isto significa que uma usina do tamanho da erigida em Zabelê, posta em pleno funcionamento e processando 15 000 litros de suco por semana, daí produzirá 3 000 kg de lama que, por sua vez convertidos em 100 kg de torta, resultarão em 10 kg de iso-sapogeninas.

Produção de hormônios, a próxima etapa. Assegurado um suprimento regular de hecogenina, estão sendo iniciadas as pesquisas das suas transformações em hormônios esteroidais. Associou-se ao Instituto de Tecnologia Agrícola e Alimentar, nesta nova etapa, a Divisão de Química Orgânica do Instituto Nacional de Tecnologia. Entra em jogo, aqui, uma química orgânica refinada, de alto grau de especialização. Mais uma vez, os estudos iniciais estão sendo conduzidos em escala de laboratório, para mais tarde serem transferidos à escala industrial.

A fase inicial mais importante é a obtenção de progesterona. É precisamente a fase mais dificultada pela natureza saturada da hecogenina. Trata-se de conseguir: a eliminação da carbonila do carbono 12; a degradação da cadeia lateral; a oxidação do grupo hidroxila da posição 3 a carbonila; e a introdução da insaturação do anel A da molécula — tudo isto com um mínimo de operações químicas. Uma vez encontrado o caminho economicamente aceitável para a produção de progesterona, estará transposto o maior obstáculo para o ingresso nas sínteses de hormônios sexuais, em geral. A Fig. 6 exemplifica como os próximos estágios seriam exequíveis (sem significar que na prática futura devam ser seguidos exatamente os mesmos passos).

Da progesterona chega-se à testosterona em uma só operação. A reação foi efetuada por Marker, por oxidação com ácido persulfúrico. Da testosterona chega-se inicialmente à 19-nortestosterona, intermediária para o estradiol (idêntico ao estrógeno natural) e o etinil-estradiol (estrógeno sintético). Igualmente da 19-nortestosterona obtém-se a noretisterona, que permite chegar ao mestranol. Esta última substância é um éter metílico do etinil-estradiol, podendo também ser obtida por metilação deste. Quase todos os anovulatórios atualmente em uso são combinações de um progestagêno com um estrógeno, e os únicos estrógenos neles empregados são o etinil-estradiol e o mestranol (5).

Corticosteróides. É na síntese de corticosteróides que entra em jogo, como grande inconveniência, a existência de uma função oxigenada no anel C da hecogenina. É possível que esta feição molecular venha a determinar a fabricação de hormônios adrenocorticais, no Brasil, mesmo antes da de hormônios sexuais. Assim como a eliminação da função oxigenada da posição 12 da hecogenina é passo obrigatório para se chegar aos hormônios sexuais, sua transposição para o carbono vizinho (já discutida atrás) é operação básica na seqüência de reações que leva aos adreno-

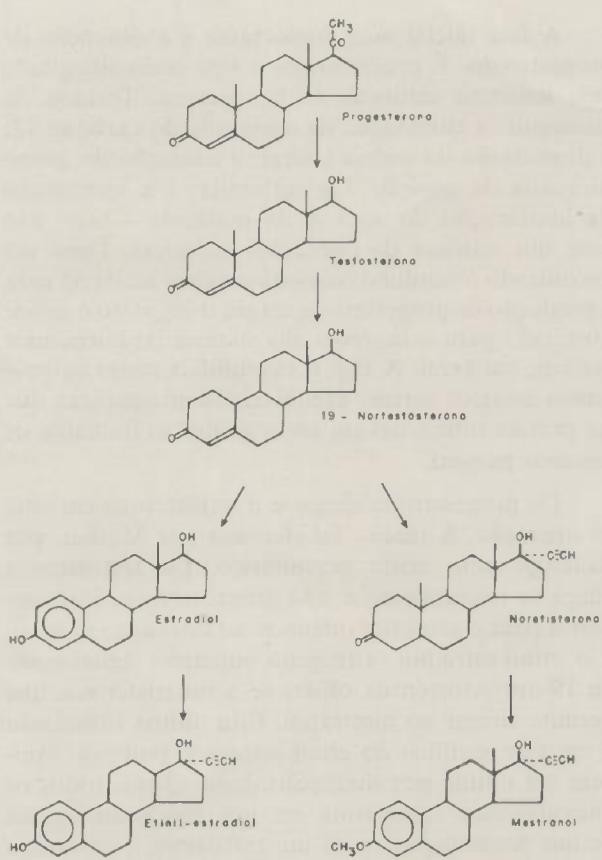


Figura 6 — Esteróides que podem ser obtidos a partir da progesterona

corticais. Os problemas restantes são em princípio análogos aos já expostos em relação à síntese da progesterona: degradação da cadeia lateral; oxidação da hidroxila em 3; e introdução da insaturação no anel A. A Fig. 7 mostra três exemplos de corticosteróides dos mais importantes: a corticosterona, hidrocortisona e cortisona.

Transformações microbiológicas. Outra possibilidade interessantíssima que se apresenta, e que é largamente

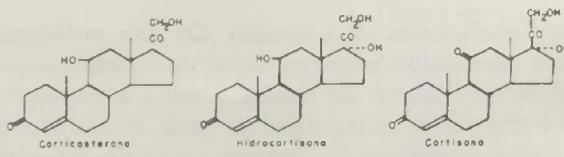


Figura 7 — Exemplos de hormônios adrenocorticais

explorada hoje em dia, é a modificação dos esteróides pela ação metabólica de microrganismos. Esta técnica consiste em se incubarem as substâncias em culturas de certos fungos que delas passam a fazer substrato para as mais diversas modificações químicas. Desta forma, consegue-se obter a cortisona mediante uma série de reações microbiológicas, a partir da própria progesterona. Um exemplo é apresentado na Fig. 8: progesterona, incubada em uma cultura de determinada espécie de *Rhizopus*, é por este organismo hidroxilada na posição 11, passando a 11-hidroxiprogesterona. Esta substância é oxidada quimicamente a 11-ceto-progesterona. Depois continuam as oxidações biológicas: o organismo *Ophiobolus herbotrichus* introduz uma hidroxila na posição 21, e outro, *Trichothecium roseum*, faz a hidroxilação no carbono 17. Assim chega-se em quatro etapas da progesterona à cortisona, sendo três delas transformações operadas

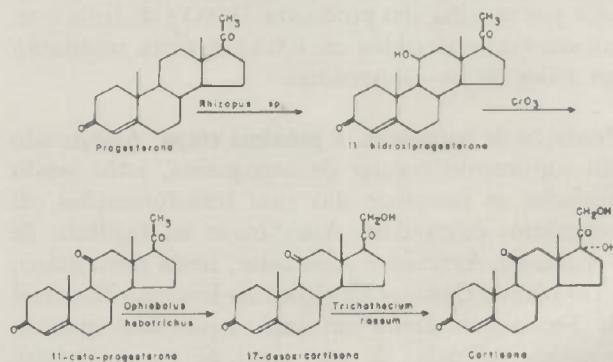


Figura 8 — Exemplo de uma seqüência de transformações microbiológicas

por microrganismos. Esta técnica abre novas e imensas possibilidades à pesquisa, podendo-se divisar transformações químicas as mais variadas, provocadas pelos mais diversos microrganismos.

Considerações finais. A meta alcançada nesta primeira etapa — a produção de hecogenina — é por sua vez ponto de partida para novas e fascinantes realizações. Não podemos nos contentar com êxitos momentâneos, nem tampouco repetir o que outros já fizeram. O campo da química dos esteróides e de suas aplicações práticas é eminentemente dinâmico, sujeito a contínuas modificações. A simples existência de uma matéria-prima brasileira, assegurada em quantidades suficientes, deverá desencadear uma série de atividades do maior alcance, com reflexos em química, farmacologia, medicina humana e veterinária, controle de insetos e outros campos da pesquisa pura e aplicada.

Agradecimentos. Os autores agradecem ao Prof. Carl Djerassi, da Universidade de Stanford, pelo contínuo estímulo que desde o início deu à realização deste trabalho; à Compañía Syntex S.A., México, pela acolhida e oferecimento de inúmeros dados úteis para o projeto; à Sackraft Indústria de Celulose do Nordeste S.A., (hoje extinta) e ao Grupo Financeiro Tabajara, atual proprietário da Fazenda Zabelê, pela hospitalidade e facilidades oferecidas na instalação e operação da usina piloto; e ao Conselho Nacional de Pesquisas pelo constante apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- (1) Instituto Brasileiro de Estatística: Anuário Estatístico do Brasil, vol. 32. Ministério do Planejamento e Coordenação Geral, Fundação IBGE. Rio de Janeiro, 1971.
- (2) Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO): Anuário de Produção, vol. 24. Roma, 1970.
- (3) Conselho Nacional de Pesquisas e Academia Nacional de Ciências de Washington: Relatório da Reunião Brasileiro-Norte-Americana sobre Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento. Itatiaia, abril de 1966.
- (4) Lima Filho, J. Sant'Anna, "Sisal tem futuro no papel". *Química & Derivados*, p. 51, setembro de 1968.
- (5) Applezweig, N., "Steroids". *Chemical Week*, p. 58, 17 de maio de 1969.
- (6) Marker, R. E. e outros, Steroidal sapogenins. *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 2167 (1947).
- (7) Rosenkranz, G. e outros, Steroids. IV Cl — Iodoketones. A method for the conversion of allosteroids into A⁴-3-ketosteroids. *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4077 (1950).
- (8) Oliveira, G., Comentários sobre a hecogenina do sisal. Sudene, Recife, 1967 (mimeografado).
- (9) Spensley, P. C., A source of hecogenin. *Chem. & Ind.*, 426 (1952).
- (10) Patente brasileira depositada.

Manuscrito recebido em 26/12/72. Aprovado em 1/3/73 pelo Prof. Pérsio de Souza Santos, IPT e EPUSP.

N.º DE BOLSAS PEDIDAS E CONCEDIDAS EM AGOSTO 1973

SETORES	IC		AP		PG		Pesq.		Total	
	SOLI.	NOVAS								
AGRICULTURA	151	68		72		87		378		
	75		44		62		21		202	
BIOLOGIA	219	379		947		74		1 619		
	70		131		127		42		370	
C. SOCIAIS	44	48		260		51		403		
	7		42		33		2		84	
C. TERRA	56	60		53		13		182		
	48		48		48		12		144	
FÍSICA AST.	160	60		131		3		354		
	62		26		80		1		169	
MATEMÁTICA	121	70		171		—		362		
	62		33		81		—		171	
QUÍMICA	63	29		95		7		194		
	32		10		51		3		96	
VETERINÁRIA	74	52		17		26		169		
	62		29		10		18		119	
TECNOLOGIA	166	68		709		31		974		
	102		8		172		5		287	
TOTAL	1 054	834		2 455		292		4 635		
	520		371		652		104		1 647	

NIB/AMS

BOLSAS NO EXTERIOR EM JULHO DE 1973

Setor	N	I	S	Vigentes
AG.	2	2	4	7
BC.	8	26	34	12
CS.	2	8	10	2
CT.	5*	2	7	13
FA.	17	6	23	30
MA.	8 + 6*	22	36	26
QU.	5 + 1*	7	13	12
TC.	21*	24	45	48
VT.	2	1	3	2
TOTAL	44 + 33*	98	175	152

*Condicionadas a disponibilidades financeiras

N — Novas

I — Indeferidas

S — Solicitadas

BOLETINS ANTERIORES DO CTAA

1. **BIBLIOGRAFIA SELECIONADA DA MANDIOCA.** Aspectos tecnológicos e nutricionais, com ênfase nas contribuições brasileiras
2. **CONTROLE DA ORIGEM E PUREZA DE GORDURA BOVINA COMERCIAL BRASILEIRA, VISANDO SUA POSSÍVEL PARTICIPAÇÃO NO MERCADO INTERNACIONAL.** Herta Laszlo, Dalva Alves Pereira e Maria Helena Luna de Mello Massa
3. **OBTENÇÃO DO ÓLEO DE COCO A PARTIR DA POLPA FRESCA.** Armando B. Seixas, Dionílio S. Lima, Carlos G. de Alencastro e Ayresina T. B. Castro
4. **ESTUDO QUÍMICO COMPARATIVO DAS VARIEDADES DE MILHO CULTIVADAS EM DIVERSAS REGIÕES DO PAÍS.** Dalva D. Mendes
5. **PESQUISAS SOBRE MANDIOCA.** Farinha de mandioca enriquecida com farinha de soja especial. Adilson Nobre e José Camões Orlando
Mandioca Var. amarela da Amazônia. Adilson Nobre
Seleção de variedades e clones de mandioca visando um melhoramento protéico. Adilson Nobre, Emilia Constantino e Waldir de O. Nunes
Teor protéico e mineral em raízes e folhas de variedades de mandioca. Antônio de A. Figueiredo e Manoel Maciel do Rêgo
Aparelho para dosagem do ácido cianídrico em mandioca e seus produtos. José Jóia
A zona mandioqueira e as indústrias de farinha de mandioca do Norte Fluminense. Adilson Nobre e Dinah Mochel de Menezes
6. **ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DA FARINHA DE MANDIOCA COM PROTEÍNA DE SOJA.** Equipe Técnica do CTAA
7. **ESTUDO TECNOLÓGICO DE VARIEDADES E LINHAGENS DE TRIGOS BRASILEIROS.** Gunther Pape, José Camões Orlando, José Emílio Campos, Marilza Lima Guimarães e Tânia Barreto Simões Correia
8. **DEFICIÊNCIAS MINERAIS EM PASTAGENS DO RIO DE JANEIRO.** Joacir da Silva Barbosa, Wanda V. Santos, Fany H. Jablonka e Olga R. Barbosa
9. **VIABILIDADE TÉCNICA-ECONÔMICA DO ENRIQUECIMENTO PROTÉICO DA FARINHA DE MANDIOCA.** Adilson Nobre, José Camões Orlando e Miguel Tavares. REGIÃO DE PRODUÇÃO, CULTURA E INDUSTRIALIZAÇÃO DA MANDIOCA NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO. Adilson Nobre e Dinah Mochel de Menezes
10. **CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DE SOJA NO BRASIL.** Equipe Técnica do CTAA