

## DEFESA CONTRA ARMAS QUÍMICAS

*José Daniel Figueroa-Villar*

Um dos mais importantes problemas atuais na segurança mundial é a utilização de armas químicas e biológicas por alguns países ou organizações terroristas, motivo pelo qual a defesa contra armas químicas e biológicas é um dos principais assuntos de interesse do Ministério da Defesa do Brasil.

A utilização de armas biológicas é proibida desde 1972 pela Convenção de Armas Biológicas (Biological Weapons Convention, BWC) estabelecido pela Organização das Nações Unidas (ONU) (1). Este acordo internacional tem sido alterado intensamente por vários anos, procurando procedimentos mais apropriados no seu controle e eficiência. Por outro lado, a não permissão do uso de armas químicas foi estabelecido através da Convenção de Armas Químicas (Chemical Weapons Convention, CWC) em 1993 (2), sendo esse processo responsabilidade da Organização pela Proibição de Armas Químicas (Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons, OPCW), que é uma organização intergovernamental independente, mas que possui fortes interações com a ONU.

Apesar da existência desses convênios mundiais, o uso de armas químicas e biológicas continua sendo uma ameaça para o planeta. Esta preocupação deve-se a vários aspectos, principalmente à relativa facilidade e baixo custo para a fabricação de armas químicas e biológicas e o sério impacto que podem ter, tanto em ambientes civis como militares (3). De fato, essas armas, que por seu baixo custo (Tabela 1) são chamadas de “bombas atômicas dos pobres”, além dos

**Tabela 1 – Custo do emprego de diferentes tipos de armas para destruição ou contaminação de áreas por quilômetro quadrado**

Tipo de Armamentp	Custo por km2 (US\$)
Convencionais (altos explosivos)	2.000,00
Atômicas (bomba de hidrogênio)	800,00
Químicas (organofosforados neurotóxicos)	600,00
Biológicas	1,00

danos e mortes que podem causar, têm um impacto psicológico muito maior que as armas convencionais devido a seus efeitos diretos nas pessoas.

Atualmente, existem quantidades apreciáveis de armas químicas e biológicas, pois diversos países não assinaram as convenções que tratam deste assunto e outros que as assinaram ainda estão em processo de destruição dos seus estoques de armas químicas e das suas grandes coleções de agentes infecciosos. De fato, a atual manutenção de amostras de agentes infecciosos por países como os Estados Unidos e a Rússia é justificada por eles como a necessária manutenção de fontes para o preparo de vacinas e quimioterápicos, mas, infelizmente, isso não deixa de ser um risco sobre a ocorrência de acidentes ou, ainda, o uso desses agentes como armas (3).

O exemplo mais recente da utilização de armas químicas aconteceu no Japão em 1995, no metrô na área de Tóquio-Yokohama, por parte da seita Aum Shinrikyo utilizando sarin (organofosforado neurotóxico usado como arma química de guerra e que foi sintetizado, pela primeira vez, em 1936). Este episódio causou a morte de 12 indivíduos e ferimentos em mais de 5.500 pessoas, muitas das quais atualmente ainda sofrem de uma forte incapacidade física.

Felizmente, esse ataque foi realizado de forma ineficiente e com uma quantidade bem limitada de sarin na sua forma impura. Do contrário, o número de mortos e feridos teria sido muito maior (4).

Pode-se afirmar que atualmente nenhum país está em condições ideais para enfrentar um ataque com armas químicas ou biológicas. Surpreendentemente, nenhum grupo terrorista ou para-militar tem feito uso eficiente desse tipo de armas nos últimos cinco anos, mas, na situação política atual do nosso planeta, ataques com essa classe de armas não convencionais, é só uma questão de tempo. Nesse sentido, todos os esforços são válidos para desenvolver meios de detecção, processos de descontaminação e controle, antídotos e tratamentos de resposta para esse tipo de armas.

As armas biológicas são as mais baratas e de fácil fabricação. Estima-se que seu uso seja 800 vezes mais barato que as armas nucleares e 2.000 vezes que as armas convencionais (altos explosivos) para a destruição de uma área de 1 km<sup>2</sup> (Tabela 1). Essas armas são microorganismos infecciosos, principalmente bactérias e vírus, mas também são incluídas nessa classe as toxinas obtidas de seres vivos, principalmente de plantas e bactérias (3).

**LUTA HISTÓRICA** Durante toda sua existência, a humanidade tem estado em forte combate contra microorganismos. Ainda que a maior parte da população não perceba esse conflito, essa batalha ainda vai continuar de forma intensa durante todo o século XXI. Durante muitos períodos da nossa história, tivemos derrotas violentas causadas por esses seres vivos microscópicos, como a morte de 25 milhões de pessoas de 1347 a 1351 DC no oeste da Europa, causada pela peste bubônica, doença provocada pela bactéria *Yersinia pestis*, que é um dos agentes patológicos mais agressivos contra humanos e que já matou mais de 150 milhões de pessoas nos últimos 1.500 anos. Atualmente, o maior temor da população mundial está focado em doenças causadas por vírus, como dengue, Aids e gripe (H1N1) e por bactérias como *Bacillus anthracis* (antraz), *Yersinia pestis*, *Brucella suis* (brucelose) e *Coxiella burnetii* (rickettsiose ou febre Q), e vírus como *Orthopoxvirus variolae* (varíola) (3).

Desenvolver agentes para a defesa contra armas biológicas é basicamente descobrir novos agentes antivirais, antibióticos e antiparasitários, assim como desenvolver

metodologias para proteção contra a contaminação por microorganismos e processos de esterilização e proteção do meio ambiente. Essas atividades acontecem intensamente na atualidade e são de amplo interesse civil e militar.

Por outro lado, as pesquisas para defesa contra armas químicas são atividades muito mais limitadas. As armas químicas são substâncias de toxidez diversificada, desde lacrimogêneos e gás mostarda até os chamados “gases de guerra”, e são classificados em cinco grupos. No primeiro grupo estão os vesicantes, compostos que causam irritação e destruição da pele e de membranas mucosas, especialmente nos pulmões, sendo os principais os chamados “gases de mostarda” que, normalmente, não causam morte, mas levam a fortes efeitos incapacitantes e requerem longos períodos de internação em hospitais. No segundo grupo estão os tóxicos pulmonares, que atacam os tratos respiratórios, sendo o principal deles o fosgênio (COCl<sub>2</sub>). No terceiro grupo estão os chamados cianetos, que são substâncias que liberam íons cianeto no organismo, com alta capacidade mortal através da inibição da enzima citocromo-c oxidase, sendo os mais conhecidos o ácido cianídrico e o cianeto de cloro. No quarto grupo estão os agentes incapacitantes ou agentes irritantes, que são compostos que levam a efeitos fisiológicos e mentais negativos, incapacitando as pessoas na realização de suas atividades normais, sendo os mais conhecidos os lacrimogênicos como cloroacetofenona e análogos, assim como compostos psicoativos como o benzilato de 3-quinoclidila. No quinto grupo estão os agentes neurotóxicos, que são compostos organofosforados (OPs) que atuam como inibidores da enzima que controla o processo de transmissão nervosa, chamada acetilcolinesterase (AChE). A inibição da AChE leva a chamada crise colinérgica, com vários efeitos, inclusive a morte por deficiência respiratória (5).

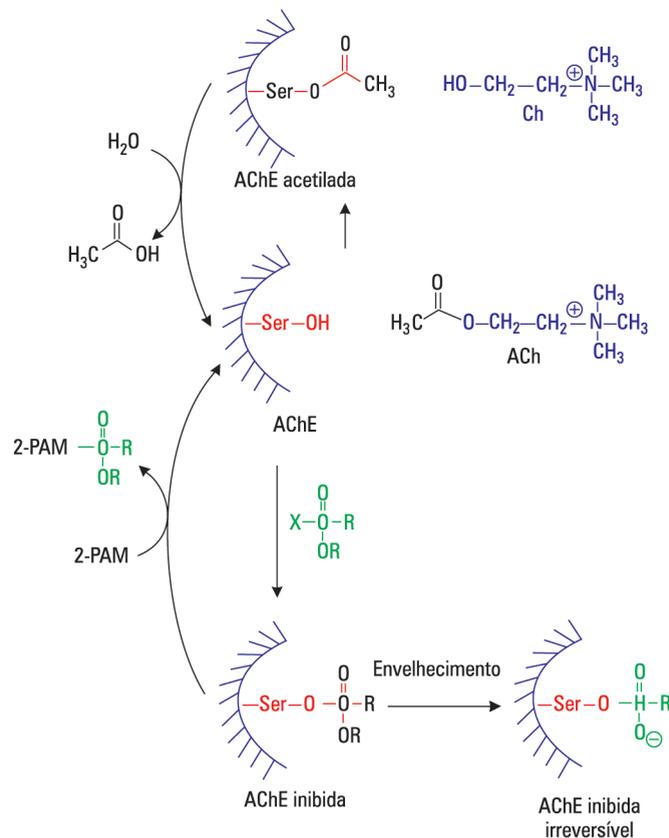
Os gases de guerra são muito mais tóxicos que todos os outros agentes de guerra química, sendo capazes de induzir a morte em baixas concentrações. Destes, os mais conhecidos são: sarin, soman, tabun e VX, sendo o VX o mais tóxico (LD<sub>50</sub> - a dose letal mediana para a população humana - de 6 a 10 mg para humanos de 70 kg) (5).

Como mencionado anteriormente, os gases de guerra e organofosforados neurotóxicos em geral são inibidores da enzima AChE, processo que acontece através da introdução de grupos fosfatados no resíduo do amino-

ácido serina presente no sítio ativo da enzima (figura 1). O resíduo serina é o que efetua a hidrólise do neurotransmissor ACh, controlando assim o processo de transmissão nervosa e evitando diversos problemas, como as convulsões. Como a inibição da AChE provoca o acúmulo do neurotransmissor ACh, essa situação leva à crise colinérgica, que induz sudoração, secreções bronquiais, salivação, miosis e paralisia muscular flácida e falha respiratória, conduzindo a danos musculares e cerebrais permanentes ou a morte. O tratamento para essa intoxicação é realizado com três tipos de fármacos. Para diminuir os efeitos da crise colinérgica pode-se utilizar um composto anticolinérgico, sendo o mais eficiente a atropina. Para o controle das convulsões é usado um depressor do sistema nervoso central, sendo que o mais recomendado é o diazepam. Porém, nenhum desses dois tratamentos permite a recuperação do funcionamento da enzima AChE, pois esses fármacos funcionam apenas como compostos para tratamento dos sintomas, mas não eliminam a intoxicação. Para resolver definitivamente esse problema é necessário reativar a enzima AChE através da eliminação do grupo fosfato que foi introduzido no seu sítio ativo pelos organofosforados (OP) (Figura 1), o que é feito usando fármacos como a pralidoxima (também chamada 2-PAM) e a toxogonina (5).

No meio da Figura 1 está a AChE pura (azul) com o resíduo serina livre (vermelho). A AChE reage com a acetilcolina (ACh), extraíndo o grupo acetato (preto) e liberando a colina (Ch, azul) e forma a enzima acetilada (AChE acetilada). A AChE acetilada é depois reconvertida na AChE através da hidrólise com água (preto), formando ácido acético (preto). Esse processo é o que controla os impulsos nervosos. Quando a AChE reage com um organofosforado neurotóxico (verde), como mostrado na parte inferior da figura 1, acontece a introdução do grupo fosfato (verde) no resíduo da serina (vermelho), formando a enzima inibida (AChE inibida), que não tem condições de liberar a colina, levando a aumentos da concentração da acetilcolina e a crise colinérgica. A reativação da AChE inibida mostrada é realizada através da pralidoxima (2-PAM) um dos fármacos usados na atualidade para esse problema. A 2-PAM reage com a AChE inibida extraíndo o grupo fosfato (verde). Infelizmente a 2-PAM fosfatada também é tóxica, mas é facilmente hidrolisada pela água presente em nosso corpo. Quando o processo de reativação da AChE é demorado

**Figura 1.** Funcionamento, inibição e reativação da enzima acetilcolinesterase (AChE), processo que acontece nas sinapses (terminações nervosas) no sistema nervoso central (SNC) e no sistema nervoso periférico (SNP).



acontece um processo de transformação do grupo fosfato (verde) para um sistema com um oxigênio com carga negativa, levando a uma forma da enzima inibida que não é reversível. Esse processo, chamado de envelhecimento, leva a completa eliminação da função da AChE, e não são conhecidos tratamentos para reativação da enzima nessas condições (5).

Infelizmente, para o caso da AChE fosfatada que pode ser revertida, ainda não existem fármacos com alta eficiência para a reativação eficiente. Atualmente, os antídotos utilizados não são capazes de reativar a AChE inibida por qualquer OP. Assim, para um tratamento eficiente é primeiro necessário identificar o agente intoxicante, sendo que esse processo requer um tempo relativamente prolongado, o que normalmente leva a morte dos pacientes. Por esse motivo, um dos principais assuntos atuais de pesquisa para

defesa contra guerra química é o desenvolvimento de novos agentes reativadores da AChE inibida por OP, visando a obtenção de um antídoto eficiente e independente da identificação do agente inibidor utilizado.

No Brasil, esse tipo de pesquisa está atualmente em desenvolvimento no Instituto Militar de Engenharia (IME) e no Centro de Tecnologia do Exército Brasileiro (CTEx) em colaboração com grupos de pesquisa da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e com apoio do Ministério da Defesa e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes). Os potenciais novos reativadores da AChE, inibida por OPs, são planejados por modelagem molecular, onde a estrutura tridimensional da AChE humana é usada para realizar simulações computacionais do processo de interação e reação dos potenciais reativadores com o grupo fosfato ligado a serina da enzima inibida (6). Uma vez que esses compostos planejados mostram potencial para funcionar como reativadores da AChE eles são preparados nos laboratórios de síntese orgânica e sua estrutura confirmada através de estudos por espectroscopia. Os compostos sintetizados são então testados como inibidores e reativadores da AChE através do monitoramento da ação da AChE e da cinética de inibição ou reativação por ressonância magnética nuclear (RMN). A RMN permite observar com alta precisão o efeito da presença dos potenciais fármacos na hidrólise do neurotransmissor ACh, indicando se a enzima é reativada e qual é seu nível de reativação por cada composto. Os resultados são ainda confirmados através do teste de Ellman, que é um processo biológico realizado com a AChE humana usando como substrato da enzima a acetilcolina, cuja hidrólise é monitorada por espectroscopia de ultravioleta-visível.

Atualmente estamos procurando o desenvolvimento de novos reativadores da AChE diferentes das oximas, como hidrazonas e outros derivados (5;7).

**INTOXICAÇÕES** O desenvolvimento de agentes para defesa contra gases de guerra é também um processo de grande importância para problemas civis, porque vários pesticidas utilizados em agropecuária são também organofosforados com neurotoxicidade, e que levam a cerca de 300 mil intoxicações por ano (7). Em princípio, os agentes para defesa contra gases de guerra também devem funcionar para o tratamento de intoxicações com pesticidas organofosforados,

como o paration. De fato, além das intoxicações acidentais com pesticidas, também existem vários casos de tentativas de assassinato ou suicídio usando pesticidas organofosforados. Por isso, o desenvolvimento de agentes para defesa contra armas de guerra química também é um assunto de forte interesse civil.

Finalmente, nosso objetivo geral é formar cientistas e grupos de pesquisa capacitados para realizar ações rápidas para defesa contra agentes de guerra química e biológica. Este tipo de ação é necessário se países que não fazem parte do pacto sobre a proibição de armas químicas e biológicas ou grupos terroristas venham a utilizar novas e desconhecidas armas químicas e biológicas. Em situações como essas será necessário identificar as armas e estudar suas características e forma de ação para desenvolver, da maneira mais rápida possível, os agentes para defesa, desintoxicação e tratamento das vítimas e a proteção do meio ambiente. Estas ações são também fundamentais em casos do aparecimento de epidemias e surgimento de novas doenças infecciosas, assim como no caso de acidentes com produtos químicos, problemas que acontecem regularmente no mundo.

*José Daniel Figueroa-Villar é pesquisador e chefe do Grupo de Química Medicinal do Departamento de Química do Instituto Militar de Engenharia (IME).*

#### NOTAS E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Unog, The United Nations Office at Geneva Biological Weapon Convention. The Biological Weapons Convention, 1993. Disponível no site <http://www.unog.ch>.
2. Burnett, J. C.; Henchal, E. A.; Schmaljohn, A. L.; Bavari, S. "The evolving field of organisation for the prohibition of chemical weapons". Artigos da Convenção de Armas Químicas. <http://www.opcw.org/chemical-weapons-convention/articles/>.
3. "Biodefence: therapeutic developments and diagnostics". *Nature Reviews in Drug Discovery*, Vol.4, pp.281-297. 2005.
4. Miyaki, K.; Nishiwaki, Y.; Maekawa, K.; Ogawa, Y.; Asukai, N.; Yoshimura, K.; Etoh, N.; Matsumoto, Y.; Kikuchi, Y.; Kumagai, N.; Omae, K. "Effects of sarin on the nervous system of subway workers seven years after the Tokyo subway sarin attack". *Journal of Occupational Health*, Vol.47, pp.229-304. 2005.
5. Delfino, R. T.; Ribeiro, T. S.; Figueroa-Villar, J. D. "Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review". *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol.20, pp.407-428. 2009.
6. A. S. Gonçalves, T. C. C. França, J. D. Figueroa-Villar, P. G. Pascutti. "Molecular dynamics simulations and QM/MM studies of the reactivation by 2-PAM of tabun inhibited human acetylcholinesterase". *Journal of the Brazilian Chemical Society*, Vol. 22, pp.155-165, 2011.
7. Yang, Y. C.; Baker, J. A.; Ward, J. R. "Decontamination of chemical warfare agents". *Chemical Reviews*, Vol.92, pp.1729-1743. 1992.