

P. A. 1184.282

4.

JOHN M. STEWART e RAYMOND J. VAVREK

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE PÉPTI
DOS ANTAGONISTAS DA BRADIQUININA"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a novos peptidos activos sob o ponto de vista biológico que actuam co-
mo antagonistas das actividades biológicas da bradiquinina nos
seus sais aceitáveis sob o ponto de vista terapêutico e às
suas aplicações como agentes terapêuticos.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Vinte e cinco anos depois da descrição e síntese da sequência do péptido bradiquinina, potente vasodi-
latador dos mamíferos (Boissonas et al., Experientia 16: 326,
1960), sintetizaram-se e ensaiaram-se em sistemas biológicos
muitas centenas de análogos de péptidos relacionados com a se-
quência de bradiquinina citada antes [Schroeder, em Handbook
of Experimental Pharmacology, Vol. 25, (Springer Verlag) pág.
324-350, 1970] [Stewart, Handbook of Experimental Pharmacolo-
gy, Vol. 25 (Suplemento), (Springer Verlag) pág. 227-272,
1979]. Nestes estudos o objectivo era investigar as diversas
funções fisiológicas e farmacológicas da bradiquinina.

A bradiquinina e os peptidos calidina (Lys-
-bradiquinina) e Met-Lys-bradiquinina, importantes sob o ponto
de vista fisiológico e com ela relacionados, contraem o múscu-
lo liso (causando, por exemplo, diarreia e inflamação intesti-

nal e asma), diminuem a pressão sanguínea, intervêm em processos inflamatórios como alergias, artrite e asma, participam no organismo em reacções de coagulação sanguínea e em reacções em que intervêm como complemento, intervêm na rinite (viral, alérgica e não alérgica) e são produzidas em excesso em situações patológicas tais como choque séptico, pancreatite aguda, edema angioneurótico hereditário, síndrome depressivo("dumping") após uma gastrectomia, síndrome carcinóide, choque anafilático, motilidade reduzida do espermatozóide e algumas outras situações. A produção de bradiquinina a partir do plasma provoca dor no local patologicamente afectado e a produção em excesso intensifica a dor directamente ou mediante estimulação pela bradiquinina da activação do ciclo do ácido araquidónico que produz prostaglandinas e leucotrienos, os mais antigos e eficazes mediadores da inflamação. Em Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 25, Springer-Verlag, 1970 e Vol. 25 Suplemento, 1979, encontram-se referências a trabalhos científicos que descrevem estas acções da bradiquinina e peptídeos relacionados.

Conforme já foi dito observou-se que a bradiquinina é produzida em reacções inflamatórias no intestino provocando a contracção do músculo liso e a secreção de fluido e iões.

Em Nature, 229:256-259, 1982, Manning et al., revelando a influência da bradiquinina em concentrações muito baixas, sobre a secreção de fluido e iões, demonstraram a existência de receptores específicos da bradiquinina no revestimento mucoso do intestino e no músculo liso intestinal.

Kimura, et al., em American Heart Journal

(85: 635-647, 1973) e Staszewska - Barczak et al., em Cardio-vascular Research (10:314-327, 1976), relataram estudos sobre a produção de bradiquinina e a dor que a acompanha na angina. A acção da bradiquinina, citada antes, e simultaneamente a actuação das prostaglandinas são o estímulo natural que provoca a excitação dos receptores sensoriais que assinalam a dor durante a isquémia do miocárdio.

A bradiquinina e as quininas com ela relacionadas são não só produzidas pelo animal como também podem ser injectadas por meio de picadas e mordeduras. Sabe-se que insectos como, por exemplo, vespões e vespas injectam peptidos relacionados com a bradiquinina que também provocam dor, inchaço e inflamação.

A ausência de antagonistas da bradiquinina competitivos e específicos relacionados com a sua sequência tem impedido seriamente a compreensão do mecanismo de acção da bradiquinina, essencial para o desenvolvimento de agentes de diagnóstico e agentes terapêuticos destinados a aliviar a dor intensa provocada pela produção, por vezes em excesso, de bradiquinina.

Entre compostos tão diversos como analgésicos e substâncias anti-inflamatórias tem-se descrito um grande número de antagonistas não selectivos, não específicos e de natureza não peptídica de uma ou mais das actividades biológicas da bradiquinina que actuam através do sistema da prostaglandina e não directamente sobre os receptores biológicos da bradiquinina (Rocha e Silva, e Leme, Med. Exp. 8:287, 1963). Como exemplo podemos citar anti-histamínicos (Gecse et al., J. Pharm. Pharmacol. 21: 544, 1969); anticorpos contra a bra

diquinina (Gre^z et al., Eu. J. Pharmacol. 29: 35, 1974); deriva dos da benzodiazepina (Leme e Rocha e Silva, Br. J. Pharmacol. 25: 50, 1965); polímeros de óxido de etileno de peso molecular elevado (Wilkins e Back, Arch. Intl. Pharmacodynam. 209: 305, 1974); ésteres do ácido gálico (Posati et al., J. Agri. Food Chem. 18: 632, 1970) e inibidores da serotonina (Gomazkon e Shimkovich, Bull. Exptl. Biol. Med. 80: 6, 1975). Nenhum destes compostos individualmente nem nenhuma classe de compostos inibem especificamente a bradiquinina.

Têm sido apresentadas como substâncias com acção antagónica da bradiquinina ésteres heptílicos de diversas substâncias que contêm aminoácidos como, por exemplo, aminoácidos básicos isolados tal como Arg e Lys (Gecse, Adv. Exptl. Biol. Med. 70: 5, 1976), o dipeptido Phe - Gly (Gecse et al., Int. Arch. Allergy 41: 174, 1971), e análogos de fragmentos de peptidos em posição C-terminal da bradiquinina tal como Pro-Phe-Arg (Claesson et al., Adv. Exptl. Med. Biol. 120B: 691, 1979). Quando verificadas em sistemas de ensaio com bradiquinina e dependendo da dose utilizada, estas substâncias provam ser fracos e parciais agonistas/antagonistas exibindo diminuta especificidade no que respeita à acção inibidora da bradiquinina.

Existem informações de preparações de tecido vascular danificado que respondem aos análogos de bradiquinina que não possuem o resto de Arg em posição C-terminal, mas não respondem à bradiquinina pelo que se tem desenvolvido análogos destas bradiquininas que não possuem o aminoácido Arg em posição 9, como antagonistas da actividade não fisiológica da bradiquinina. Estes antagonistas não possuem signifi-

cativos efeitos agonistas semelhantes aos da bradiquinina, nem qualquer efeito antagonista, sobre qualquer dos sistemas de resposta das quininas, significativos sob o ponto de vista fisiológico (Regoli e Barabe, Pharmacol. Reys. 32:1,1980).

Tem sido descrito um grande número de análogos de bradiquinina que comportam o éter O-metílico dos restos da Tyr nas posições 5 e/ou 8 como produzindo uma acção mista agonista/antagonista sobre o útero isolado de ratos galactosémicos mas não sobre o de ratos normais. Nestes animais não se reproduziu com segurança este antagonismo (Stewart e Woolley, em Hypotensive Peptides, Springer Verlag, pág. 23-33, 1966).

Outras alterações que se têm produzido na molécula da bradiquinina são as adições de aminoácidos na extremidade N-terminal que afectam o grau de degradação enzimática da bradiquinina in vivo.

O tempo de semi-vida da bradiquinina na circulação sistémica é inferior a 30 segundos (S.H. Ferreira & J.R. Vane, Br. J. Pharmacol. Chemotherap. 30:417, 1967). Uma única passagem através da circulação pulmonar provoca uma destruição da bradiquinina compreendida entre 98 e 99% (J. Roblero, J.W. Ryan e J.M. Stewart, Res. Commun. Pathol. Pharmacol. 6:207, 1973), conforme avaliação no rato anestesiado medindo os efeitos depressores de um agonista administrado por via intraaórtica (IA), evitando a circulação pulmonar e via endovenosa (IV). Mediante a adição de restos de aminoácidos básicos singulares, tal como, D-Arg-, D-Lys-, Lys- e duplos, tal como, D-Lys-Lys- à extremidade N-terminal da sequência de bradiquinina estimula-se, in vivo, a resistência dos agonistas

da bradiquinina à destruição pela quininase pulmonar. A adição do dipeptido Lys-Lys à extremidade N-terminal dos agonistas da bradiquinina confere-lhes, in vivo, uma total resistência à destruição, no que respeita à passagem inicial através da circulação pulmonar (Roblero, Ryan e Stewart, Res. Comm. Pathol. Pharmacol. 6:207, 1973).

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito à modificação da sequência da bradiquinina, uma hormona peptídica dos mamíferos (Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) e dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico no resto de Iro situado em posição 7, utilizando um método invulgar que pela primeira vez produz análogos relacionados com a sequência de bradiquinina, citada antes, que actuam como inibidores competitivos e específicos das actividades biológicas da bradiquinina. A presente invenção diz respeito especificamente à substituição da L-Pro em posição 7 por aminoácidos aromáticos com a configuração D, uma troca que converte os agonistas da bradiquinina em antagonistas e inclui modificações adicionais em outras posições de um antagonista de bradiquinina modificado em posição 7 que conferem aumento de potência como antagonista, resistência à degradação enzimática e/ou especificidade tecidual em relação à sequência de bradiquinina que contém um aminoácido com a configuração D. Mais especificamente a presente invenção diz respeito a peptidos de fórmula geral

Fórmula I

A-Arg-B-C-D-W-X-Y-Z-Arg

(0 1 2 3 4 5 6 7 8 9)

(número de posição)

na qual

- A representa um átomo de hidrogénio ou um resto de aminoácido singular ácido, básico, neutro ou aromático com a configuração D ou L, tal como, D-Arg, D-Lys ou L-Thi ou um grupo protector do átomo de azoto terminal do enzima do tipo acil uretano aromático ou alquilo ou alternativamente A representa um di- ou polipeptido contendo aminoácidos com a configuração D ou L como, por exemplo, Lys-Lys, Met-Lys ou Gly-Arg-Met-Lys;
- B representa um resto de L-Pro, ou outro resto de aminoácido alifático não cíclico ou D- ou L-cíclico, tal como, a L-hidroxirolina ou de aminoácido L-aromático ou aromático substituído;
- C representa um resto de D- ou L-Pro ou de outro aminoácido aromático eventualmente substituído, alifático ou cíclico com a configuração D ou L;
- D representa um resto de Gly ou de outro aminoácido alifático ou aromático eventualmente substituído com a configuração L tal como a Ala;
- W representa um resto de Phe com a configuração L, de Phe substituído ou de outro aminoácido alifático ou aromático como, por exemplo, Leu, β -2-tienil-alanina (Thi) ou 2-piridil-alanina (Pal);
- X representa um resto de Ser com a configuração L, de Gly ou de outro aminoácido alifático ou aromático eventualmente substituído com a configuração D ou L, tal como, pCl-D-Phe

ou D-Phe;

Y representa um resto de aminoácido aromático com a configuração D ou de aminoácido aromático substituído como D-Phe, β -(2-tienil)-D-Ala (DThi), β -(2-piridil)-D-Ala (D-Pal), β -2-naftil-D-Ala (D-Nal), DHis, D-homo-Phe (DhPhe), O-metil-DTyr (DOMT), D-alfafenil-Gly (DPhg), DTrp, Dtyr ou pCl-DPhe (CDF);

Z representa um resto de Phe com a configuração L, de Phe substituído ou de outro aminoácido aromático ou alifático como, por exemplo, Leu, Thi ou Pal.

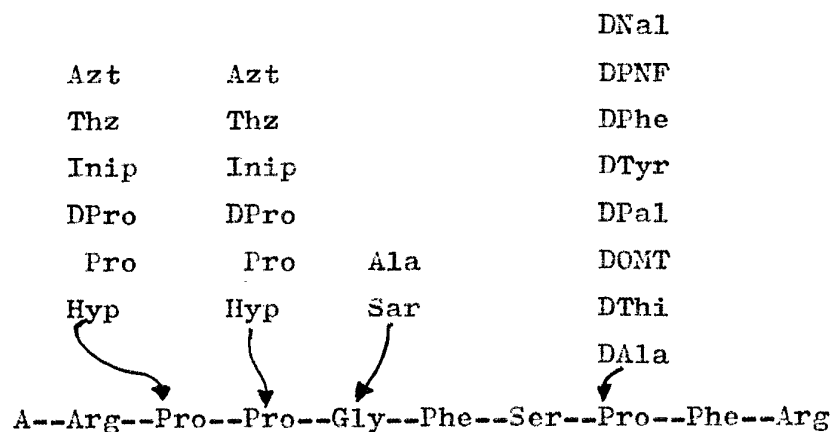
Prefere-se os compostos de fórmula geral I na qual A representa um átomo de hidrogênio, B e C representam, cada um, o aminoácido Pro ou Hyp, D representa o aminoácido Gly, W e Z representam, cada um, o aminoácido Phe ou Thi, X representa o aminoácido Ser e Y representa um aminoácido qualquer com a configuração D.

Os sais de peptidos de fórmula geral I incluem sais derivados do ácido clorídrico, do ácido trifluoroacético e do ácido acético bem como outros sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico.

Nos Quadros I e II pode observar-se as substituições que se podem realizar na bradiquinina e os resultados dessas substituições. Substituindo, tal como se indica, 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 8 restos de aminoácidos da bradiquinina obtêm-se os antagonistas preferidos da bradiquinina.

QUADRO I

Substituições em Antagonistas da Bradiquinina



DArg	Thi	Gly	Thi
Lys-Lys	OMT	DPhe	OMT
DLys-Lys	Pal	CDF	Pal
Phe, Thi	GLF	DNaL	CLF
	PNF	DPa1	PNF
	NaL	DThi	NaL

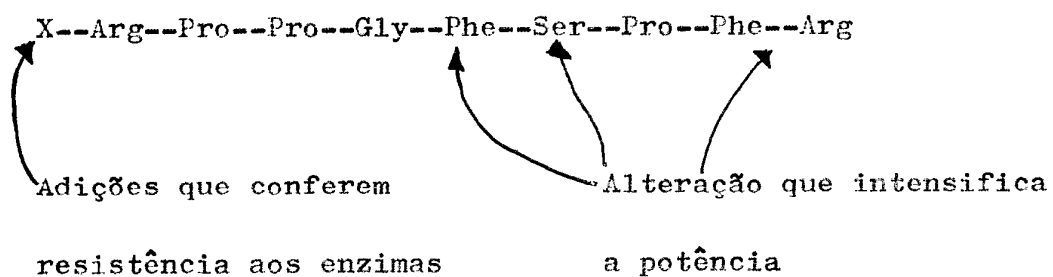
Thi= -(2-Tienil)alanina
 Pal= -(2-Piridil)alanina
 Hyp=4-Hidroxiprolina
 Azt=Ácido azetidina-2-carboxílico
 Thz=Ácido tiazolidina-2-carboxílico
 Inip=Ácido isonipecótico
 OMT=0-metil tirosina
 CDF=para-cloro-D-difenilalanina
 Nal= -(2-Naftil)-alanina
 GLF=para-cloro-L-fenilalanina
 PNF=para-nitrofenilalanina
 Pro=2, 3-Dihidroprolina

QUADRO II

Características dos Antagonistas da Bradiquinina

Alterações que conferem
selectividade tecidular

Alteração crítica em rela
ção à acção antagonista



DESCRIÇÃO PORMENORIZADA

A síntese dos peptidos de fórmula geral I, inclusivé a derivatização, a activação, o acoplamento de restos de aminoácidos protegidos e a sua purificação e os métodos analíticos utilizados na identificação e determinação da pureza estão incluídos na Parte Geral da Química dos Peptidos como descrito em "Methoden der Organische Chemie" Vol. 16, partes I e II, por Houben Weyl (1974), para a síntese por via húmida e em "Solid Phase Peptide Synthesis" por Stewart e Young (1984) para a síntese por via sólida utilizando o método de Merrifield. Qualquer químico com conhecimentos de síntese peptídica pode sintetizar os peptidos de fórmula geral I utilizando métodos convencionais por via húmida ou métodos manuais ou automáticos por via sólida.

Os símbolos e abreviaturas utilizados quer para os aminoácidos, seus derivados e grupos protectores quer para os peptidos e seus sais são os que habitualmente se utilizam na química dos peptidos (Biochem. J., 126:773, 1972, jornal citado a título de referência). Por conveniência muitas abreviaturas encontram-se definidas no Quadro III. Todos os restos de aminoácidos, excepto o de Gly, descritos na memória descritiva da presente invenção mas não nas reivindicações, apresentam a configuração L, salvo indicação em contrário.

QUADRO III ABREVIATURAS QUE DESIGNAM OS RESTOS DE AMINOÁCIDOS

Aib	- ácido alfa-aminoisobutírico
Azt	- ácido azetidina-2-carboxílico
CDF	- para-cloro-D-fenilalanina
CLF	- para-cloro-L-fenilalanina
hPhe	- homo-fenilalanina
Hyp	- 4-hidroxi-prolina
Inip	- ácido isonipecótico
MDY	- O-metil-D-tirosina
Nal	- beta-(2-naftil)-alanina
Δ Pro	- 2,3-desidroprolina
Pal	- beta-(3-piridil)-alanina
Phg	- alfa-fenilglicina
Sar	- sarcosina
Thi	- beta-(2-tienil)-alanina
Thz	- ácido tiazolidina-2-carboxílico

(Todas as outras abreviaturas estão de acordo com o estabelecido pela IUPAC para os restos de aminoácidos).

Os exemplos seguintes ilustram os compostos de fórmula geral I de acordo com a presente invenção mas não a limitam. Relativamente a compostos sólidos todas as percentagens e proporções estão referidas em peso e em volume quando referidas a compostos líquidos.

Exemplo 1

Preparação de Arg-Iro-Pro-Gly-Ihe-Ser-DPhe-
-Phe-Arg (DPhe₇ -BK).

Dissolve-se uma mistura de 6,4 g (15 mmoles) de t-butiloxicarbonil- (g-paratolueno-sulfonilo)-Arg [BOC- Arg (Tos)] e 183 mg (1,5 mmoles) de N,N-dimetilaminopiridina em uma mistura de 20 ml de dimetilformamida (DMF) e 125 ml de diclorometano (DCM). Adiciona-se, à temperatura ambiente, 15 g de hidroximetil-polistireno-divinil-benzeno (com 1% de reticulação, contendo 0,74 mmole do grupo hidroxil livre por g de resina) e depois 60 ml de uma solução de diciclohexilcarbodiimida (DCC) 0,25M em diclorometano (DCM). Agita-se a suspensão resultante durante uma noite, à temperatura ambiente, filtra-se e lava-se a resina com 3 x 60 ml de diclorometano, 3 x 60 ml de álcool metílico e reintumesce-se com 120 ml de diclorometano. O acoplamento de uma outra porção de BOC-Arg (Tos) realiza-se sobre a resina como anteriormente. Após filtração e lavagem da resina esta é reintumescida com 120 ml de diclorometano e adiciona-se 2,1 ml de cloreto de benzoílo e 1,5 ml de trietilamina. Agita-se a suspensão durante 30 minutos, à temperatura ambiente, depois do que se filtra a resina, se lava com 3 x 60 ml de diclorometano, 3 x 60 ml de álcool metílico e finalmente com 3 x 60 ml de diclorometano. Seca-se a resina ao ar

até peso constante obtendo-se 18,5 g de BOC-Arg(Tos)-hidroximetil-resina com um teor em aminoácido de 0,272 mmole de Arg por g de resina como se determina analisando quantitativamente o aminoácido de uma amostra do complexo aminoácido-resina que se submete durante 4 horas a uma hidrólise com a mistura ácido clorídrico 6N/ácido propiónico, à temperatura de 130°C.

Introduz-se 1,5 g de resina contendo 0,4 mmole de Arg no reactor de um sintetizador automático (Beckman modelo 900) que opera por via sólida, submetendo-a ao seguinte ciclo de adição para realizar o acoplamento de BOC-Phe:

PROGRAMA A. ACOPLAMENTO PADRÃO COM DICICLOHEXILCARBODIIMIDA (DCC)

Lava-se a resina com 3 x 20 ml de diclorometano e equilibra-se depois, durante 1,5 minutos, com 20 ml de uma mistura a 1:3 de ácido trifluoroacético com diclorometano contendo 0,1% de indol. Reequilibra-se novamente a resina durante 30 minutos. Lava-se depois a resina com 6 x 20 ml de diclorometano, neutraliza-se com uma solução de trietilamina a 10% em diclorometano durante 1,5 minutos depois do que se repete novamente a fase de neutralização. Lava-se a resina com 6 x 20 ml de diclorometano depois do que se equilibra durante 1,5 minutos com uma solução de BOC-Phe 1,0 mmole em diclorometano. Adiciona-se depois 4 ml de diciclohexilcarbodiimida 0,25 N em diclorometano e agita-se a mistura reaccional resultante durante 2 horas. Lava-se depois a resina com 3 x 20 ml de diclorometano.

De acordo com o Programa B realiza-se um

segundo ciclo de adição:

PROGRAMA B. ADIÇÃO INVERSA:

Repete-se a técnica do Programa A através de uma neutralização seguida de lavagens. Adiciona-se depois 1,0 mMele de diciclohexilcarbodiimida (DCC) em 4 ml de diclorometano e agita-se a resina e a solução durante 1,5 minutos. Adiciona-se depois 1,0 mMele de BOC-D-Phe em 12 ml de diclorometano e agita-se a resina e a solução durante 2 horas. Lava-se depois a resina com 6 x 20 ml de diclorometano.

De acordo com a sequência seguinte elimina-se o grupo protector do átomo de azoto situado na extremidade:

PROGRAMA C. DESPROTECÇÃO DO TERMINAL:

Repete-se a técnica do PROGRAMA A até à neutralização com trietilamina. Lava-se depois a resina com 6 x 20 ml de álcool etílico e seca-se ao ar o complexo peptido-resina obtendo-se 1,66 g de D Phe-Phe-Arg-Resina sob a forma de sal do ácido trifluoroacético. Prossegue-se com a síntese utilizando 410 mg de DPhe-Phe-Arg-Resina sob a forma de sal do ácido trifluoroacético. De acordo com o PROGRAMA D adiciona-se o resto seguinte.

PROGRAMA D. REACOPLEMENTO:

Lava-se primeiro o complexo peptido-resina sob a forma de um sal com 3 x 20 ml de diclorometano, neutraliza-se depois, durante 1,5 minutos, com trietilamina a 10% em diclorometano. Repete-se depois a neutralização e lava-se o complexo peptido-resina sob a forma de um sal com 6 x 20 ml

de diclorometano. Equilibra-se depois o complexo peptido-resina, durante 1,5 minutos, com uma solução de BOC-Ser(OBzl) 1,0 mMole em dimetilformamida. Adiciona-se 4 ml de diciclohexilcarbodiimida (DCC) 0,25 N e mistura-se com a resina durante 2 horas. Lava-se o produto resultante 3 vezes com diclorometano.

De acordo com os Programas especificados adicionou-se à cadeia peptídica em crescimento os seguintes derivados de aminoácidos: BOC-Phe(A), BOC-Gly (A), BOC-Pro (A), BOC-Pro(A), seguindo-se primeiro o reacoplamento de BOC-Pro (D), BOC-Arg (Tos), dissolvido em 2 ml de dimetilformamida e 9 ml de diclorometano, e depois o Programa C. Obtêm-se 530 mg do complexo nonapeptído-resina protegido, sob a forma de sal derivado do ácido trifluoroacético.

Efectua-se uma suspensão de 510 mg do complexo peptido-resina, citado antes, em 10 ml de ácido fluorídrico líquido anidro contendo 1 ml de anisol, à temperatura de -70°C, e agita-se durante 45 minutos à temperatura de 0°C. Eliminou-se o ácido fluorídrico e o anisol sob vácuo (tromba de água 1 hora, bomba de vácuo 1 hora), lava-se o peptido e a resina com 3 x 20 ml de éter etílico e extrai-se o peptido com 3 x 6 ml de ácido acético glacial. Liofiliza-se a solução de ácido acético obtendo-se 185 mg de peptido bruto desprotegido.

Purificou-se o peptido mediante distribuição por contracorrente (CCD) $\int$ 100 passagens da fase superior através de um aparelho situado depois da coluna destinada à distribuição por contracorrente (CCD) $\int$ no sistema de solventes n-butanol/ácido trifluoroacético (1:1). Separa-se o conteúdo dos tubos correspondente ao pico principal que con-

tém o peptido, determinado quantitativamente pelo reagente de Sakaguchi, evapora-se o dissolvente sob pressão reduzida, dissolve-se o resíduo em ácido acético glacial e liofiliza-se para se obter 140 mg de peptido com um coeficiente de partição (K) de 5,7 por distribuição em contracorrente. Repetindo a distribuição em contracorrente no sistema de dissolventes n-butanol/ácido acético glacial/água (4:1:5) obtém-se, seguindo o processo de detecção e a técnica citada antes, 73 mg de Arg-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg sob a forma de sal derivado do ácido trifluoroacético (K = 0,2). A cromatografia em camada fina realizada sobre placas de vidro revestidas com gel de sílica Merck e utilizando os sistemas de dissolventes n-butanol/ácido acético glacial/água (8:3:4) e acetato de etilo/piridina/ácido acético glacial/água (5:5:1:3) fornece em relação ao peptido puro um R_f (834) de 0,17 e um R_f (5513) de 0,36 mediante visualização com o "spray" utilizado na identificação de peptidos e constituído por cloro-tolidina. Uma análise quantitativa utilizando um instrumento Beckman 120 e realizada após hidrólise ácida (17 horas em ampôlas de vidro fechadas sob atmosfera de azoto à temperatura de 110°C em 2 ml de ácido clorídrico 6N contendo 2 gotas de 2-mercaptoetanol e 40 µl de fenol) fornece as seguintes quantidades de aminoácidos: Arg (2,12); Pro (1,93); Gly (1,01); Phe (2,98); Ser (0,96).

Exemplo 2

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DThi-Phe-Arg (DThi₇-BK).

Prepara-se este peptido utilizando o método descrito no Exemplo 1 mas utiliza-se em vez de BOC-DPhe, BOC-

- β -2-tienil-D-Ala (BOC-DThi): K(415) = 0,24; Arg (2,02),
Pro(2,18), Gly(1,00), Phe(1,99), Ser(0,89), Thi(0,99).

Exemplo 3

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DPal-
-Phe-Arg (DPal₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 1, utilizando BOC-2-piridil-DAla (BOC-D-Pal) em vez de BOC-DPhe: k(1:1) = 0,22; Arg(2,03), Pro(2,01), Gly(1,02), Phe(1,99), Pal(1,02).

Exemplo 4

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DPhe-DPhe-
-Phe-Arg (DPhe_{6,7}-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 1, utilizando BOC-DPhe em vez de BOC-Ser (Bzl):
k(415) = 1,3; Arg (2,12), Pro (1,94), Gly (1,00), Phe (3,94).

Exemplo 5

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DPhe-CDF-
-Phe-Arg (DPhe₆CDF₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 1, utilizando BOC-DPhe em vez de BOC-Ser (Bzl) e BOC-p ϵ 1-D-Phe (BOC-CDF) em vez de BOC-DPhe: k(415) = 0,82; Arg(1,98), Pro(1,93), Gly(0,97), Phe(3,10), CDF(1,02).

Exemplo 6

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-

-Thi-Arg (Thi_{5,8}^{DPhe}₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 1, utilizando nos dois ciclos de adição BOC-β-2-tienil-Ala (BOC-Thi) em vez de BOC-Phe: k(415) = 0,21; Arg(1,98), Pro(1,94), Gly(1,04), Phe(1,04), Ser(0,96), Thi(2,05).

Exemplo 7

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DThi-
-Thi-Arg (Thi_{5,8}^{DThi}₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 6, utilizando BOC-DThi em vez de BOC-DPhe: k(415) = 0,18; Arg(2,07), Pro(2,08), Gly(1,00), Ser(0,93), Thi(2,88).

Exemplo 8

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPal-
-Thi-Arg (Thi_{5,8}^{DPal}₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 6, utilizando BOC-DPal em vez de BOC-DPhe: k(1:1) = 0,15; Arg(2,00), Pro(2,20), Gly(1,09), Ser (0,89), Thi(1,92), Pal(0,89).

Exemplo 9

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DPhe-
-CDF-Thi-Arg (Thi_{5,8}^{DPhe}₆^{CDF}₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 5, utilizando nos dois ciclos de adição BOC-Thi em vez de BOC-Phe: k(415) = 0,75; Arg(1,89), Pro(2,08), Gly(1,06), Phe(1,02), Thi(1,88), CDF(1,07).

Exemplo 10

Preparação de DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (DArg₀DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 1, excepto que se realiza um ciclo adicional que utiliza BOC-(TOS)-DArg com o Programa A seguindo-se a desprotecção terminal com o Programa C: $k(1:1) = 3,55$; Arg(2,89), Pro(2,07), Gly(1,02), Phe(3,05), Ser(0,98).

Exemplo 11

Preparação de DArg-Arg-Pro-DPro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (DArg₀Pro₃DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 10, utilizando BOC-DPro em vez de BOC-Pro quando da primeira adição deste: $k(415) = 0,15$; Arg(3,12); Pro(1,90), Gly(1,05), Phe(3,02), Ser(0,92).

Exemplo 12

Preparação de Arg-Pro-DPro-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (DPro₃Thi_{5,8}DPhe₆CDF₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 9, utilizando BOC-DPro em vez de BOC-Pro quando da primeira adição deste: $k(415) = 0,18$; Arg(2,00), Pro(1,98), Gly(1,04), Phe(0,99), Thi(1,89), PCF(1,11).

Exemplo 13

Preparação de Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Lys-Lys-DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método des-

crito no Exemplo 1, excepto que se realizam mais dois ciclos de adição com BOC-(e-ClZ)Lys, o primeiro com o Programa D e o segundo com o Programa A seguido pelo Programa C: $k(1:1) = 0,52$; Arg(2,04), Pro(1,99), Gly(0,96), Phe(3,00), Ser(0,96), Lys(2,01).

Exemplo 14

Preparação de Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Lys-Lys-Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 13, utilizando BOC-Thi em vez de BOC-Phe nos dois ciclos de adição de BOC-Phe: $k(1:1) = 0,33$; Arg(1,98), Pro(1,97), Gly(1,01), Phe(1,03), Ser(0,97), Thi(1,96), Lys(2,08).

Exemplo 15

Preparação de DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (DArg₀Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 6, excepto que se realiza com o Programa D mais um ciclo de adição com BOC-(Tos)DArg, seguido pelo Programa C: $k(1:1) = 2,33$; Arg (3,00), Pro (1,99), Gly(0,96), Phe(0,99), Ser(0,95), Thi(2,11).

Exemplo 16

Preparação de DArg-Arg-Pro-DPro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (DArg₀DPro₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Produz-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 15, utilizando BOC-DPro em vez de BOC-Pro na primeira adição deste: $k(415) = 0,22$; Arg(2,10), Pro(1,96), Gly(1,05),

Phe(0,98), Ser(0,94), Thi(1,96).

Exemplo 17

Preparação de Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg- (Lys-Lys-Hyp₃DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 13, utilizando BOC-(4-hidroxi)-Pro (BOC-Hyp) em vez de BOC-Pro na primeira adição deste: k(1:1) = 0,35; Arg(2,00), Pro(1,03), Gly(1,00), Phe(3,08), Ser(0,94), Lys(1,95), Hyp(1,01).

Exemplo 18

Preparação de Arg-Hyp-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Hyp₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 6, utilizando BOC-Hyp em vez de BOC-Pro quando da segunda adição deste, incluindo o reacoplamento com o Programa D: k(1:1) = 2,45; Arg(2,03), Pro(0,98), Gly(1,06), Phe(1,05), Ser(0,95), Thi(1,97), Hyp(0,95).

Exemplo 19

Preparação de Lys-Lys-Arg-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Lys-Lys-Hyp₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 18, excepto que se realiza mais dois ciclos de adição com BOC-(e-ClZ)Lys, o primeiro com o Programa D e o segundo com o Programa A seguido pelo Programa C: k(1:1) = 0,27; Arg(2,07); Pro(0,92), Gly(0,99), Phe(1,03), Ser(0,93), Thi(1,92), Lys(2,06), Hyp(1,10).

Exemplo 20

Preparação de Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Hyp₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 6, utilizando BOC-Hyp em vez de BOC-Pro na primeira adição deste: k(1:1) = 2,23; Arg(2,08), Pro(0,98), Gly(1,04), Phe(1,01), Ser(0,99), Thi(1,95), Hyp(0,94).

Exemplo 21

Preparação de DArg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (DArg₀-Hyp₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 20, realizando com o Programa D mais um ciclo de adição com BOC-(Tos)DArg, seguido pelo Programa C: k(1:1) = 0,18; Arg(3,01), Pro(1,02), Gly(0,98), Phe(1,02), Ser(0,92), Thi(2,07), Hyp(0,97).

Exemplo 22

Preparação de Arg-Hyp-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Hyp_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 6, utilizando BOC-Hyp em vez de BOC-Pro nos ciclos em que se utilizava este último: k(1:1) = 1,56; Arg(2,04), Gly(1,06), Phe(1,02), Ser(1,01), Thi(1,94), Hyp(1,93).

Exemplo 23

Preparação de Arg-Hyp-Hyp-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Hyp_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₆CDF₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 9, utilizando BOC-Hyp em vez de BOC-Pro nos ci-

clos em que se utilizava este último: $k(415) = 0,89$; Arg(2,06), Gly(1,00), Phe(1,03), PCF(1,05), Thi(1,92), Hyp(1,93).

Exemplo 24

Preparação de Arg-Pro-Pro-Gly-Leu-Gly-DPhe-Leu-Arg (Gly₆Leu_{5,8}DPhe₇-BK).

Prepara-se este peptido pelo método descrito no Exemplo 1, utilizando BOC-Leu em vez de BOC-Phe nos ciclos em que se utilizava este último e BOC-Gly em vez de BOC-(OBzl)Ser: $k(415) = 0,30$; Arg(2,04), Pro(2,05), Gly(1,98), Phe(0,98), Leu(1,95).

Exemplos 25 a 103

Nos exemplos seguintes, que não são limitativos, preparam-se peptidos substituídos muito semelhantes, utilizando métodos idênticos aos citados antes:

25. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DNaI-Phe-Arg (DNaI₇-BK): $k(415) = 0,37$; Arg(2,09), Pro(2,02), Gly(0,98), Phe(2,06), Ser(0,96), NaI(0,95).

26. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-MDY-Phe-Arg (MDY₇-BK): $k(1:1) = 4,88$; Arg(2,10), Pro(1,91), Gly(0,96), Phe(2,08), Ser(0,94), MDY(1,04).

27. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhg-Phe-Arg (DPhg₇-BK): $k(1:1) = 3,55$; Arg(2,01), Pro(1,90), Gly(1,03), Phe(2,07), Ser(0,99), Phg(0,98).

28. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DHis-Phe-Arg (DHis₇-BK): $k(1:1) = 0,30$; Arg(2,04), Pro(2,09), Gly(0,94), Phe(2,00), Ser(1,00),

His(0,93).

29. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DTrp-Phe-Arg (DTrp₇-BK): k(415)
= 0,30; Arg(2,04), Pro(1,95), Gly(1,02), Phe(2,05), Ser(0,95),
Trp(0,98).

30. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DTyr-Phe-Arg (DTyr₇-BK): k(1:1)
= 2,70; Arg(1,94), Pro(1,88), Gly(1,04), Phe(2,10), Ser(0,97),
Tyr(1,08).

31. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DhPhe-Phe-Arg (DhPhe₇-BK):
k(415) = 0,37; Arg(1,99), Pro(1,94), Gly(0,97), Phe(2,02),
Ser(0,88), hPhe(1,20).

32. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DPhe-DThi-Phe-Arg (DPhe₆DThi₇-BK):
k(415) = 0,59; Arg(2,14), Pro(1,87), Gly(1,00), Phe(3,01),
Thi(0,98).

33. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DThi-DThi-Phe-Arg (DThi_{6,7}-BK):
k(415) = 0,54; Arg(2,04), Pro(2,00), Gly(1,01), Phe(2,04),
Thi(1,91).

34. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DPhe-DNal-Phe-Arg (DPhe₆DNal₇-BK):
k(415) = 1,04; Arg(2,02), Pro(2,04), Gly(1,01), Phe(2,94),
Nal(0,99).

35. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DPhe-MDY-Phe-Arg (DPhe₆MDY₇-BK):
k(415) = 0,59; Arg(2,11), Pro(1,90), Gly(0,97), Phe(3,02),
MDY(1,01).

36. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-DPhe-DPal-Phe-Arg (DPhe₆DPal₇-BK):
k(415) = 0,16; Arg(1,86), Pro(2,12), Gly(1,07), Phe(2,90),
Pal(1,05).

37. Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Gly-DVal-Phe-Arg (Gly₆DVal₇-BK):

$k(415) = 0,20$; Arg(2,08), Pro(2,00), Gly(1,96), Phe(1,98), Val(0,98).

38. Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Hyp₂DPhe₇-BK):
 $k(1:1) = 3,76$; Arg(2,00), Pro(0,93), Gly(1,02), Phe(3,16), Ser(0,94), Hyp(0,94).

39. Arg-Pro-Hyp-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Hyp₃DPhe₇-BK):
 $k(1:1) = 3,35$; Arg(1,96), Pro(0,97), Gly(1,01), Phe(3,10), Ser(0,94), Hyp(1,02).

40. Arg-Hyp-Hyp-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Hyp_{2,3}DPhe₇-BK):
 $k(1:1) = 2,33$; Arg(2,03), Gly(1,02), Phe(3,10), Ser(0,94), Hyp(1,91).

41. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DPhe-DPhe-Thi-Arg (Thi_{5,8}DPhe_{0,7}-BK).

42. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DThi-DThi-Thi-Arg (Thi_{5,8}DThi_{6,7}-BK):
 $k(415) = 0,37$; Arg(2,08), Pro(2,08), Gly(0,99), Thi(3,86).

43. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DThi-DPal-Thi-Arg
 (Thi_{5,8}DThi₆DPal₇-BK): $k(1:1) = 0,70$; Arg(1,93), Pro(2,11), Gly(1,08), Thi(2,86), Pal(1,02).

44. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DThi-DNal-Thi-Arg
 (Thi_{5,8}DThi₆DNal₇-BK): $k(415) = 0,59$; Arg(2,19), Pro(2,08), Gly(1,00), Nal(0,93), Thi(2,88).

45. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DThi-CDF-Thi-Arg (Thi_{5,8}DThi₆CDF₇-BK):
 $k(415) = 0,54$; Arg(2,16), Pro(1,97), Gly(1,00), PCF(1,06), Thi(2,81).

46. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DPhe-DAla-Thi-Arg
 (Thi_{5,8}DPhe₆DAla₇-BK): $k(415) = 0,32$; Arg(2,06), Pro(1,89), Gly(0,97), Phe(1,02), Ala(0,96), Thi(2,12).

47. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-CDF-DAla-Thi-Arg (Thi_{5,8}^{CDF}₆DAla₇-BK): $k(415) = 0,39$; Arg(1,96), Pro(1,93), Gly(1,00), Ala(0,99), Thi(2,05), PCF(1,08).
48. Thi-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thi₀-Thi_{5,8}^{DPhe}₇-BK): $k(415) = 0,27$; Arg(2,16), Pro(1,89), Gly(1,03), Phe(1,04), Ser(0,93), Thi(2,95).
49. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhg-Phe-Arg (DArg₀-DPhg₇-BK): $k(1:1) = 2,03$; Arg(3,05), Pro(2,00), Gly(0,97), Phe(2,04), Ser(0,94), Phg(1,00).
50. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DTrp-Phe-Arg (DArg₀-DTrp₇-BK): $k(1:1) = 4,88$; Arg(3,07), Pro(1,99), Gly(1,00), Phe(2,04), Ser(0,89), Trp(0,97).
51. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DTyr-Phe-Arg (DArg₀-DTyr₇-BK): $k(1:1) = 1,56$; Arg(2,96), Pro(2,09), Gly(1,03), Phe(1,99), Ser(0,90), Tyr(1,04).
52. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DHis-Phe-Arg (DArg₀-DHis₇-BK): $k(1:1) = 0,18$; Arg(3,08), Pro(1,99), Gly(1,02), Phe(2,07), Ser(0,89), His(0,96).
53. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DhPhe-Phe-Arg (DArg₀-DhPhe₇-BK): $k(415) = 0,18$; Arg(3,06), Pro(1,98), Gly(0,95), Phe(2,05), Ser(0,86), DhPhe(1,11).
54. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Lys-Lys-DPhe₇-BK): $k(1:1) = 0,52$; Arg(2,04), Pro(2,01), Gly(0,96), Phe(3,00), Ser(0,96).
55. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DTrp-Phe-Arg (Lys-Lys-DTrp₇-BK): $k(1:1) = 0,67$; Arg(2,01), Pro(2,00), Gly(1,01),

Phe(2,03), Ser(0,91), Trp(0,88), Lys(2,03).

56. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DTyr-Phe-Arg (Lys-Lys-DTyr₇-BK): $k(1:1) = 0,21$; Arg(2,01), Pro(2,11), Gly(0,99), Phe(2,02), Ser(0,97), Tyr(1,02), Lys(1,90).

57. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DHis-Phe-Arg (Lys-Lys-DHis₇-BK): $k(1:1) = 0,08$; Arg(1,91), Pro(2,06), Gly(0,94), Phe(2,08), Ser(0,93), His(0,95), Lys(2,12).

58. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-DhPhe-Phe-Arg (Lys-Lys-DhPhe₇-BK): $k(1:1) = 1,13$; Arg(1,99), Pro(1,93), Gly(0,98), Phe(2,06), Ser(0,92), DhPhe(1,11), Lys(2,01).

59. Arg-Pro-DPro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (DPro₃DPhe₇-BK): $k(415) = 0,27$; Arg(2,07), Pro(1,97), Gly(0,98), Phe(3,02), Ser(0,95).

60. Arg-Pro-DPro-Gly-Phe-CDF-DAla-Phe-Arg (DPro₃CDF₆DAla₇-BK): $k(415) = 0,59$; Arg(1,99), Pro(2,03), Gly(0,97), Phe(2,02), Ala(0,99), PCF(1,02).

61. Arg-Pro-DPro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (DPro₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,22$; Arg(2,10), Pro(1,96), Gly(1,05), Phe(0,98), Ser(0,94), Thi(1,96).

62. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DPhe-DAla-Thi-Arg (DArg₀-Thi_{5,8}DPhe₆DAla₇-BK): $k(1:1) = 4,00$; Arg(2,89), Pro(1,95), Gly(1,03), Phe(0,98), Ala(1,01), Thi(2,14).

63. DArg-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-CDF-DAla-Thi-Arg (DArg₀-Thi_{5,8}CDF₆DAla₇-BK): $k(415) = 0,19$; Arg(3,00), Pro(1,99), Gly(1,00), Ala(0,96), Thi(2,03), PCF(1,02).

64. DArg-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg

(DArg₀Hyp₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK): k(1:1) = 1,50; Arg(3,11),
Pro(0,97), Gly(1,03), Phe(1,04), Ser(0,95), Thi(1,88),
Hyp(1,02).

65. DArg-Arg-Hyp-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (DArg₀-
Hyp_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK): k(1:1) = 0,96; Arg(3,19), Gly(0,97),
Phe(0,98), Ser(1,00), Thi(1,95), Hyp(1,90).

66. Thi-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thi₀-
Hyp₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK)

67. Thi-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thi₀-
Hyp₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK)

68. Thi-Arg-Hyp-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thi₀-
Hyp_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK)

69. Arg-Hyp-Pro-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Hyp₂Thi_{5,8}DPhe₆
CDF₇-BK): k(415) = 1,04; Arg(2,02), Pro(1,01), Gly(1,00),
Phe(1,01), PCF(1,09), Thi(1,89), Hyp(0,98)

70. Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Hyp₃Thi_{5,8}
DPhe₆CDF₇-BK): k(1:1) = 0,96; Arg(2,01), Pro(1,11), Gly(0,97),
Phe(1,06), Thi(1,86), PCF(1,06), Hyp(0,95)

71. Arg-Hyp-DPro-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Hyp₂Pro₃Thi_{5,8}
DPhe₆CDF₇-BK)

72. Lys-Lys-Arg-Hyp-Pro-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Lys-Lys-
Hyp₂DPhe₇-BK): k(1:1) = 0,37; Arg(1,99), Pro(0,96),
Gly(0,99), Phe(3,13), Ser(0,94), Hyp(0,98), Lys(2,00)

73. Lys-Lys-Arg-Hyp-Hyp-Gly-Phe-Ser-DPhe-Phe-Arg (Lys-Lys-
Hyp_{2,3}DPhe₇-BK): k(1:1) = 0,28; Arg(2,03), Gly(0,95),
Ser(0,94), Phe(3,08), Lys(2,08), Hyp(1,92)

74. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DThi-Thi-Arg (Lys-Lys-Thi_{5,8}^{DThi₇}-BK): $k(1:1) = 0,22$; Arg(2,07), Pro(2,01), Gly(1,04), Ser(0,89), Thi(3,02), Lys(1,96)

75. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPal-Thi-Arg (Lys-Lys-Thi_{5,8}^{DPal₇}-BK): $k(1:1) = 0,06$; Arg(2,12), Pro(1,94), Gly(1,01), Ser(0,87), Thi(1,81), Pal(0,98), Lys(2,22)

76. Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Lys-Lys-Thi_{5,8}^{DPhe₆CDF₇}-BK): $k(415) = 0,11$; Arg(2,02), Pro(2,00), Gly(1,02), Phe(1,00), PCF(1,06), Thi(1,85), Lys(2,06)

77. Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Lys-Lys-Hyp₃Thi_{5,8}^{DPhe₇}-BK): $k(1:1) = 0,22$; Arg(2,05), Pro(0,96), Gly(1,04), Phe(1,03), Ser(0,94), Hyp(1,10), Thi(1,84), Lys(2,04)

78. Lys-Lys-Arg-Hyp-Hyp-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Lys-Lys-Hyp_{2,3}Thi_{5,8}^{DPhe₇}-BK): $k(1:1) = 0,15$; Arg(2,00), Pro(2,06), Gly(1,01), Phe(1,03), Ser(0,94), Thi(1,92), Hyp(2,04)

79. Lys-Lys-Arg-Hyp-Pro-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Lys-Lys-Hyp₂Thi_{5,8}^{DPhe₆CDF₇}-BK): $k(1:1) = 6,69$; Arg(1,96), Pro(1,14), Gly(0,96), Phe(1,03), Thi(1,77), PCF(1,06), Lys(1,93), Hyp(1,14)

80. Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Lys-Lys-Hyp₃Thi_{5,8}^{DPhe₆CDF₇}-BK): $k(1:1) = 6,14$; Arg(2,04), Pro(0,97), Gly(1,01), Phe(0,98), PCF(1,06), Thi(1,89), Hyp(1,01), Lys(2,05)

81. Lys-Lys-Arg-Hyp-Hyp-Gly-Thi-DPhe-CDF-Thi-Arg (Lys-Lys-Hyp_{2,3}Thi_{5,8}^{DPhe₆CDF₇}-BK): $k(1:1) = 4,88$; Arg(2,02), Gly(0,99), Phe(0,96), PCF(1,10), Thi(1,84), Hyp(2,01), Lys(2,06)

82. Arg-Thz-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thz₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,24$; Arg(1,97), Pro(1,04), Gly(1,02), Phe(1,06), Thi(1,91)

83. Arg-Pro-Thz-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thz₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(1:1) = 5,25$

84. Arg-Thz-Thz-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Thz_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $K(1:1) = 6,69$

85. Arg-Aib-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Aib₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,18$

86. Arg-Pro-Aib-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Aib₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,24$; Arg(2,09), Pro(0,99), Gly(1,05), Ser(0,95), Phe(1,07), Thi(1,94), Aib(0,91)

87. Arg-Aib-Aib-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Aib_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 4,00$

88. Arg-Azt-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Azt₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,18$; Arg(2,07), Pro(0,99), Gly(1,02), Phe(1,04), Ser(0,95), Thi(1,97), Azt(0,99)

89. Arg-Pro-Azt-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Azt₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK)

90. Arg-Azt-Azt-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Azt_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK)

91. Arg-Inip-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Inip₂Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,21$

92. Arg-Pro-Inip-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg (Inip₃Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,18$; Arg(2,10), Pro(0,95), Gly(1,04), Phe(1,03), Ser(0,93), Thi(1,95)

93. Arg-Inip-Inip-Gly-Thi-Ser-DPhe-Thi-Arg
(Inip_{2,3}Thi_{5,8}DPhe₇-BK): $k(415) = 0,18$
94. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DNal-Thi-Arg (Thi_{5,8}DNal₇-BK):
 $k(415) = 0,32$
95. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-CDF-Thi-Arg (Thi_{5,8}CDF₇-BK):
 $k(415) = 0,28$
96. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DTyr-Thi-Arg (Thi_{5,8}DTyr₇-BK):
 $k(415) = 0,12$
97. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DVal-Thi-Arg (Thi_{5,8}DVal₇-BK):
 $k(415) = 0,11$
98. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DIle-Thi-Arg (Thi_{5,8}DIle₇-BK):
 $k(415) = 0,16$
99. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DLeu-Thi-Arg (Thi_{5,8}DLeu₇-BK)
100. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DTrp-Thi-Arg (Thi_{5,8}DTrp₇-BK)
101. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DPhg-Thi-Arg (Thi_{5,8}DPhg₇-BK)
102. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DHis-Thi-Arg (Thi_{5,8}DHis₇-BK)
103. Arg-Pro-Pro-Gly-Thi-Ser-DOMT-Thi-Arg (Thi_{5,8}DOMT₇-BK):
 $k(415) = 0,18$

EXEMPLOS DA ACTIVIDADE DOS ANTA- GONISTAS DA BRADIQUININA

De acordo com os métodos habitualmente aceites para ensaiar a bradiquinina e quininas relacionadas, como descreveu Trautshold (Handbook of Expt. Pharmacol. Vol. 25, Springer Verlag, pág. 53-55, 1970) em relação à inibição da acção miotrópica da bradiquinina, ensaiaram-se antagonis-

tas deste composto em úteros estrus natural ou induzido de rato e no íleo de cobaia. Determinou-se as capacidades de inibição no útero de rato (RUT) e no íleo de cobaia (GPI) isolados, como descreveu Schild em relação aos antagonistas de compostos activos sob o ponto de vista biológico (Br. J. Pharmacol. 2: 189, 1947), utilizando métodos habitualmente aceites. Nestes ensaios determina-se a curva dose-resposta para a substância de referência, a bradiquinina. A dose de bradiquinina que produz 50% da contracção máxima do tecido é a dose DE_{50} . Administra-se ao tecido 30 segundos antes do início da sua incubação com uma dose de antagonista uma quantidade de bradiquinina equivalente a duas vezes a dose DE_{50} . Neste protocolo aumenta-se as doses do antagonista até que a pré-incubação com uma dose do mesmo reduza a contracção provocada pela dose dupla DE_{50} de bradiquinina até se conseguir uma reacção igual à provocada por uma única dose de bradiquinina. O valor PA_2 representa o logaritmo negativo da concentração molar de antagonista necessário para reduzir a resposta de uma dose dupla DE_{50} de bradiquinina até à de uma dose DE_{50} . Uma unidade do valor PA_2 representa uma situação de alteração de magnitude na capacidade. Semelhantemente o logaritmo negativo da dose de bradiquinina que provoca 50% da contracção máxima dos tecidos é, habitualmente conhecido como o valor pD_2 . A bradiquinina tem um valor de pD_2 de 7,9 quando actua no útero do rato e de 7,4 quando actua no íleo da cobaia.

POTÊNCIA DE ANTAGONISTAS DA BRADIQUININA

EXEMPLO #	ESTRUTURA	PA_2/RUT	PA_2/GPI
1	D Phe_7 -BK		5,0

2	DThi ₇ -BK		4,6
3	DPal ₇ -BK	5,0	4,8
4	DPhe _{6,7} -BK		5,2
5	DPhe ₆ CDF ₇ -BK	4,9	5,8
6	Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	6,5	6,3
7	Thi _{5,8} DThi ₇ -BK	4,2	5,8
8	Thi _{5,8} DPal ₇ -BK	4,2	
10	DArg ₀ -DPhe ₇ -BK		5,6
11	DArg ₀ -DPro ₃ DPhe ₇ -BK	4,0	
13	Lys-Lys-DPhe ₇ -BK		5,1
14	Lys-Lys-Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	6,0	5,3
15	DArg ₀ -Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	5,5	6,1
16	DArg ₀ -DPro ₃ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	5,2	
18	Hyp ₂ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	5,6	
19	Lys-Lys-Hyp ₂ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	5,8	
20	Hyp ₃ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	7,0	4,7
21	DArg ₀ -Hyp ₃ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	7,2	
22	Hyp _{2,3} Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	6,7	
23	Hyp _{2,3} Thi _{5,8} DPhe ₆ CDF ₇ -BK	6,5	
64	DArg ₀ -Hyp ₂ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	5,7	
65	DArg ₀ -Hyp _{2,3} Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	7,1	
72	Lys-Lys-Hyp ₂ DPhe ₇ -BK	5,6	
77	Lys-Lys-Hyp ₃ Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	6,7	

EXEMPLO DA ESPECIFICIDADE DO ANTAGONISMO NO MÚSCULO LISO
EM RELAÇÃO ÀS QUININAS

Demonstra-se a especificidade dos antagonistas da bradiquinina, de acordo com a presente invenção, pela capacidade que exibem de inibir a actividade miotrópica da bradi-

quinina (BK) e de duas quininas relacionadas com a primeira e importantes sob o ponto de vista fisiológico, a calidina (KAL, Lys-BK) e a metionil-lisil-BK (MK-BK), mas não a actividade miotrópica induzida pelos peptidos relacionados com as quininas como, por exemplo, a angiotensina II (ANG) ou substância P (SP). Em cada um destes casos, como se demonstra, os antagonistas relacionados com a bradiquinina inibem as contracções produzidas pelos agonistas com ele relacionados mas não exercem efeito sobre as substâncias peptídicas miotrópicas não relacionadas com a quinina. As capacidades de inibição que se apresentam no quadro seguinte designam-se por valores pa_2 .

Avaliação da Especificidade dos antagonistas da bradiquinina no íleo de cobaia

EXEMPLO # ESTRUTURA		ÍLEO DE COBAIA				
		<u>BK</u>	<u>KAL</u>	<u>MK-BK</u>	<u>ANG</u>	<u>SP</u>
1	DPhe ₇ -BK	5,0	5,6	6,0	Não	Não
6	Thi _{5,8} DPhe -BK	6,3	6,4	5,2	Não	Não
10	DArg ₀ -DPhe ₇ -BK	5,6	6,0	6,3	Não	Não
15	DArg ₀ -Thi _{5,8} DPhe ₇ -BK	6,1	6,7	6,4	Não	Não

EXEMPLO DO ANTAGONISMO EXERCIDO PELOS ANTAGONISTAS DA BRADIQUININA SOBRE A PRESSÃO SANGUÍNEA NO RATO

De acordo com os ensaios descritos por Roblero, Ryan e Stewart (Res. Commun. Pathol. Pharmacol. 6:207, 1973), avaliou-se, in vivo, os efeitos dos antagonistas da bradiqui-

nina sobre a pressão sanguínea no rato anestesiado. Quando se administra os compostos nºs. 6 (Thi_{5,8} DPhe₇-BK), nº 10 (DArg₀-DPhe₇-BK) e nº 15 (DArg₀-Thi_{5,8}DPhe₇-BK) numa concentração de 25 µg/min, reduz-se a resposta a uma dose depressora de 25 mm (DE₂₅mm) de bradiquinina de 25 mm para 10 mm. Cinco minutos depois de terminar a administração do antagonista o efeito depressor da bradiquinina retorna a uma resposta normal. Estes antagonistas produzem também inibição da resposta à bradiquinina quando injectados sob a forma de uma mistura concentrada de bradiquinina e antagonistas, quer pela via intra-aórtica quer pela via intravenosa.

EXEMPLOS DE APARECIMENTO DE RESISTÊNCIA À DEGRADAÇÃO ENZIMÁTICA PELO AUMENTO DA EXTREMIDADE N-TERMINAL DOS ANÁLOGOS DA BRADIQUININA.

Pode avaliar-se convenientemente a capacidade dos análogos de bradiquinina para resistir à degradação enzimática, in vivo, causada, por exemplo, pelas quininasas, determinando, por exemplo, a acção residual vasodepressora de um dado análogo após uma única passagem na circulação pulmonar no rato anestesiado (J. Roblero, J.W. Ryan e J.M. Stewart, Res. Commun. Pathol. Pharmacol. 6:207, 1973) depois de administrado por via intraaórtica e intravenosa. Neste sistema e utilizando análogos de bradiquinina substituídos na extremidade N-terminal (agonistas) obtêm-se os resultados seguintes:

DESTRUIÇÃO PULMONAR NO RATO DE ANÁLOGOS DE
BRADIQUININA MODIFICADOS NA EXTRE-
MIDADE N-TERMINAL

ESTRUTURA PEPTÍDICA	% DESTRUIÇÃO
Bradiquinina (BK)	98
Lys-BK	95
DArg-BK	92
DLys-BK	89
Lys-Lys-BK	0
Thi _{5,8} -BK	95
Lys-Lys-Thi _{5,8} -BK	0

A resistência dos análogos de bradiquinina aumentados na extremidade N-terminal à degradação pela quinina-se, especialmente os que exibem alongamentos Lys-Lys, sugere que se pode obter antagonistas da actividade da bradiquinina que actuam durante muito tempo modificando os inibidores da $\square$ D-Phe₇-BK com um alongamento Lys-Lys . Além disso, tendo-se observado que a adição de um resto de D-Arg à extremidade N-terminal dos agonistas da bradiquinina dava origem a um aumento da potência uterina sem afectar a actividade do íleo procedeu-se à síntese de análogos de D-Phe₇-BK aumentados com um resto D-Arg que actuam como inibidores tecidulares específicos.

O alongamento da extremidade N-terminal da

D-Phe₇-BK com Lys-Lys ou com o resíduo de D-Arg reduziu a capacidade agonista no ensaio uterino mas não produziu qualquer efeito sobre o antagonismo observado no ensaio do íleo. De um modo semelhante diminuiu-se a acção inibitória da Thi_{5,8}-DPhe₇-BK sobre o útero adicionando à extremidade N-terminal quer um alongamento Lys-Lys quer um resto de D-Arg. No ensaio com o íleo a adição de um resto de D-Arg ao antagonista da Thi_{5,8}-DPhe₇-BK, que é muito potente, produziu apenas uma acção ligeira sobre a potência inibitória.

EXEMPLOS DE APARECIMENTO DE SELECTIVIDADE
TECIDULAR MODIFICANDO OS ANTAGONIS-
TAS DA BRADIQUININA NAS POSIÇÕES
2 E 3

Os agonistas da bradiquinina preparados modificando a sequência nonapeptídica da bradiquinina exibem, nos clássicos ensaios no útero de rato (RUT) e no íleo de cobaia (GPI), capacidades semelhantes às da bradiquinina. Recentemente tem sido descrita a dissociação das actividades do músculo liso pelos análogos da bradiquinina contendo ácido aminoisobutírico (Aib) na posição 7 (R. J. Vavrek e J.M. Stewart, Peptides 1:231, 1980) e pelos análogos da bradiquinina com múltiplas substituições por aminoácidos com a configuração D em posição 6 e 7 (R.J. Vavrek e J.M. Stewart, in Kinins 1984, L.M. Greenbaum, cd., Plenum Press, NY, 1985) no que respeita à actividade uterina significativamente intensa vs a actividade do íleo.

A adição de um resto de aminoácido com a configuração D, como por exemplo D-Arg, à extremidade N-terminal de

um antagonista da bradiquinina, selectivo do íleo, tal como DPhe₇-BK, de que resulta a DArg₀-DPhe₇-BK, não altera a selectividade em relação à actividade inibitória da bradiquinina sobre este órgão. A modificação da DPhe₇-BK em posição 3 adicionando um resto de DPro de que resulta a DPro₃-DPhe₇-BK elimina a actividade antagonista no ensaio do íleo e destrói a actividade agonista no ensaio uterino. A substituição do resto de Pro em posição 3 na DArg₀-DPhe₇-BK inverte o espectro de actividade do músculo liso em relação ao antagonismo selectivo no útero, com perda total do antagonismo da bradiquinina no ensaio do íleo. Do mesmo modo a substituição de um resto de Pro em posição 3 no antagonista não específico DArg₀-Thi_{5,8}-DPhe₇-BK, pelo resto de DPro elimina o antagonismo à acção da bradiquinina no íleo, mas a acção antagónica no ensaio uterino permanece total.

ESPECIFICIDADE ANTAGONISTA NOS ENSAIOS COM MÚSCULO
LISO MEDIANTE MODIFICAÇÃO DA POSIÇÃO 3

EXEMPLO #	ESTRUTURA	RUT	GPI
1	DPhe ₇ -BK	(1% AG)	pA ₂ = 5,0
10	DArg ₀ -DPhe ₇ -BK	(0,1% AG)	pA ₂ = 5,0
59	DPro ₃ -DPhe ₇ -BK	0	0
11	DArg ₀ -DPro ₃ -DPhe ₇ -BK	pA ₂ = 4,6	0
15	DArg ₀ -Thi _{5,8} -DPhe ₇ -BK	pA ₂ = 5,2	pA ₂ = 6,1
16	DArg ₀ -DPro ₃ -Thi _{5,8} - DPhe ₇ -BK	pA ₂ = 5,2	0

AG = capacidade agonista em relação a 100 partes de bradiquinina. PA_2 é a capacidade de inibição de acordo com a definição de Schild (Br.J. Pharmacol. 2:189, 1947).

Também se pode alterar a selectividade tecidular dos análogos da bradiquinina modificando o resto de Pro em posição 2. Observou-se que as substituições realizadas com Val, Sar, Pro, Ala, Hyp e Aib (α -aminoisobutirato) em posição 2 conferem uma selectividade tecidular diferente da dos análogos de bradiquinina utilizados no ensaio da actividade miotrópica avaliada no íleo de cobaia versus útero de rato (R.J. Vavrek e J.M. Stewart, Peptides, 231-235, 1980). A selectividade tecidular que estas substituições em posição 2 conferem a diversos análogos de bradiquinina sugere que uma substituição semelhante em qualquer análogo da bradiquinina, incluindo os que exibem actividade antagonista, confere selectividade tecidular.

As aplicações terapêuticas dos novos antagonistas da bradiquinina incluem o tratamento relacionado não só com a produção, pelo próprio animal, de bradiquinina ou quininas relacionadas, mas também com a injeção no animal de peptídeos relacionados com a bradiquinina como consequência de mordeduras e picadas. Pode utilizar-se a aplicação tópica individualmente ou em associação com uma administração subcutânea dos antagonistas da bradiquinina de acordo com a presente invenção, para tratar os efeitos dos peptídeos relacionados com a bradiquinina como dor, inflamação e inchaço.

Pode utilizar-se terapêuticamente com êxito, an

tagonistas da bradiquinina de acordo com a presente invenção em outras situações de traumatismo, inflamação ou patológicas que se sabe sofrerem a intervenção da bradiquinina ou serem exarcebadas por uma produção em excesso da mesma. Estas condições incluem traumatismos locais como, por exemplo, feridas, queimaduras e erupções, angina, artrite, asma, alergias, rinite, choque, inflamações estomacais, pressão sanguínea baixa, tratamento sistêmico da dor e da inflamação e motilidade reduzida do esperma que origina esterilidade masculina. Como se referiu pode administrar-se vantajosamente os antagonistas da bradiquinina de acordo com a presente invenção através de vias de administração diversas incluindo a absorção sublingual tal como se administra a nitroglicerina ou por meio de sistemas terapêuticos transdérmicos que utilizam agentes que favorecem a absorção através da pele como se utiliza no tratamento da angina. Com base nos valores de PA_2 e DE_{50} de acordo com a presente invenção e nos trabalhos científicos já realizados e relacionados com a capacidade agonista é possível aos especialistas na matéria calcular a dose dos novos agonistas da bradiquinina de acordo com a presente invenção.

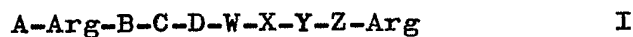
Consequentemente avaliou-se que a dose característica administrada em situações de dor e inflamação de feridas, queimaduras e erupções deveria estar compreendida entre 0,1 e 5 mg/ml; nas apresentações sob a forma de "spray" para administração nasal e apropriadas para o tratamento da rinite, alergias e asma a dose conveniente deveria estar compreendida entre 0,1 e 5 mg/ml; nas apresentações para administrar por via intravenosa e apropriadas para o tratamento de inflamação sistêmica, choque, artrite, alergias e asma e para aumentar a

motilidade do esperma a dose conveniente deveria estar compreendida entre 0,1 e 10 mg/kg; nas apresentações para administração oral e apropriadas para o tratamento da inflamação estomacal ou dor e inflamação geral a dose conveniente deveria estar compreendida entre 10 e 100 mg/kg. Os antagonistas da bradiquinina também se podem administrar através da vagina, recto, boca ou através de outra via interna aceitável.

Como reconhecem os especialistas na matéria a presente invenção exhibe uma grande área de aplicação fornecendo os inibidores competitivos com as actividades biológicas da bradiquinina produzida pelo organismo doente, traumatizado e em estado de choque. As vantagens da presente invenção ao substituir a L-Pro em posição 7 por aminoácidos com a configuração D, para converter os agonistas da bradiquinina em antagonistas consistem em proporcionar uma grande variedade de antagonistas específicos e competitivos que reduzem os efeitos conhecidos da bradiquinina. As vantagens adicionais de acordo com a presente invenção, modificando a posição 7 da L-Pro em conjunção com modificações em outras posições dos novos antagonistas consistem em proporcionar uma variedade de compostos úteis. Poderá ainda observar-se que a presente invenção é susceptível destas e de outras modificações dentro dos parâmetros da mesma sem se afastar do âmbito das suas reivindicações.

R e i v i n d i c a ç õ e s

1.- Processo para a preparação de péptidos derivados da bradiquinina de fórmula geral



na qual

A representa um átomo de hidrogénio, um resto de amino-ácido com a configuração D ou L, um dipéptido que contém amino-ácidos com a configuração D ou L, um polipeptido que compreende amino-ácidos com a configuração D ou L, um grupo protector do átomo de azoto terminal de tipo acilo, uretano aromático ou um grupo protector de tipo alquilo;

B representa um grupo D ou L-prolina (Pro), D ou L-amino-ácido alifático cíclico, D ou L-amino-ácido alifático, D ou L-amino-ácido aromático ou D ou L-amino-ácido aromático substituído;

C representa um grupo D-prolina (Pro), L-prolina (Pro), D ou L-amino-ácido cíclico, D ou L amino-ácido alifático, D ou L-amino-ácido aromático ou D ou L-amino-ácido aromático substituído;

D representa um grupo glicina (Gly), L-amino-ácido alifático, L-amino-ácido aromático ou L-amino-ácido aromático substituído;

W representa um grupo L-fenilalanina (Phe), L-fenil-alanina (Phe) substituído, L-amino-ácido alifático, L-amino-ácido aromático ou L-amino-

-ácido aromático substituído;

X representa um grupo L-serina (Ser), glicina (Gly), D ou L-amino-ácido alifático, D ou L-amino-ácido aromático ou D ou L-amino-ácido aromático substituído;

Y representa um grupo D-amino-ácido aromático, D-amino-ácido aromático substituído ou D-amino-ácido alifático; e

Z representa um grupo L-fenilalanina (Phe), L-fenilalanina substituído, L-amino-ácido alifático, L-amino-ácido aromático ou L-amino-ácido aromático substituído; e

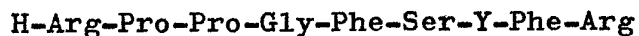
dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se substituir um grupo L-prolina em posição 7 com amino-ácidos de configuração D, para se obterem compostos com actividade antagónica da bradiquinina, de se reforçar esta acção e de se conferir resistência aos enzimas e/ou especificidade tecidular mediante substituições adicionais em outras posições.

2.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de compostos de fórmula geral I, na qual o símbolo Y representa

DPhe, beta-2-tienil-DAla (DThi), beta-2-piridil-DAla (DPal), beta-2-naftil-DAla(DNal), DHis, D-homo-Phe(DhPhe), O-metil-DTyr(DOMT), D-alfa-fenil-Gly(DPhg), DTrp, DTyr, pNO₂-DPhe (PNF) ou pCl-DPhe(CDF),

caracterizado pelo facto de se partir dos compostos iniciais correspondentemente substituídos.

3.- Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, para a preparação de compostos de fórmula geral I com a seguinte sequência



e dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

4.- Processo de acordo com a reivindicação 3, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual o símbolo Y representa um grupo D-fenilalanina (DPhe) e dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

5.- Processo de acordo com as reivindicações 1 ou 2, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual o símbolo Y representa um resto de um D-amino-ácido simples, W representa um amino-ácido que compreende um grupo tienilo e Z representa um amino-ácido que comporta um grupo tienilo, e dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

6.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual:

a. o símbolo A representa um átomo ou grupo escolhido entre:

- i) um átomo de hidrogénio,
- ii) um resto de um amino-ácido com a configuração D ou L,
- iii) um grupo protector N-terminal,

iv) um dipéptido, e

v) um polipéptido:

b. B representa um resto de um L-amino-ácido;

c. C representa um resto de um amino-ácido;

d. D representa um resto de um L-amino-ácido;

e. W representa um resto de um amino-ácido;

f. X representa um resto de um amino-ácido;

g. Y representa um resto de um amino-ácido D-aromático; e

h. Z representa um resto de um amino-ácido,

e dos seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

7. - Processo de acordo com a reivindicação 6, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual:

A representa um grupo escolhido entre D-Arg, D-Lys, L-Thi, Lys-Lys, Met-Lys e Gly-Arg-Met-Lys;

B representa um grupo escolhido entre L-Pro, L-hidroxi-prolina, ácido aminoisobutírico (Aib), ácido L-azetidina-2-carboxílico (Azt), ácido L-tiazolidina-2-carboxílico (Thz), ácido isonipecótico (Inip) e L-dehidroprolina;

C representa um grupo D- ou L-prolina (Pro);

D representa um grupo glicina (Gly) ou L-alanina (L-Ala);

W representa um grupo escolhido entre L-fenilalanina (L-Phe) ou fenilalanina substituída, leucina (Leu), beta-2-tienilalanina(Thi), beta-2-naftil-alinina(Nal), 2-

-piridil-alanina (Pal) e O-metil-tirosina (OMT);

X representa um grupo escolhido entre L-serina (Ser), glicina (Gly), p-cloro-D-fenilalanina (pCl-DPhe) ou D-fenilalanina (D-Phe);

Y representa um grupo escolhido entre D-fenilalanina(D-Phe), beta-2-tienil-D-alanina (D-Thi), beta-2-piridil-D-alanina, beta-2-naftil-D-alanina, D-histidina (D-His), D-homo-fenilalanina, orto-metil-D-tirosina (DOMT), D-alfa-fenil-glicina (DPhg), D-triptofano (DTrp), D-tirosina (D-Tyr) e para-cloro-D-fenilalanina (CDF); e

Z representa um grupo escolhido entre Leu, Thi, Pal, Phe, ou Phe substituído, Thi, O-metil-Tyr (OMT) ou beta-2-naftil-Ala-(Nal),

caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

8.- Processo de acordo com a reivindicação 6, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual A representa um átomo de hidrogénio, B representa um grupo Pro, C representa um grupo Pro, D representa um grupo Gly, X representa um grupo Ser, W representa um grupo Phe e Z representa um grupo Phe, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

9.- Processo de acordo com a reivindicação 6, para a preparação de compostos de fórmula geral I, na qual o símbolo Y representa

DPhe, beta-2-tienil-DAla,(DThi), beta-2-piridil-DAla(DPal), 2-naftil-DAla(DNal), DHis, D-homo-

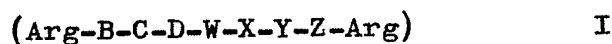
-Phe(DhPhe), O-metil-DTyr(DOMT), D-alfafenil-Gly(DPhg), DTrp, DTyr ou pCl-DPhe(CDF),

caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

10.- Processo de acordo com a reivindicação 6, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual Y representa um D-amino-ácido simples, W representa um resto de um amino-ácido que comporta um grupo tienilo e Z representa um amino-ácido que compreende um grupo tienilo, e dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

11.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 6, 9 ou 10, para a preparação de compostos de fórmula geral I na qual o símbolo B representa hidroxiprolina e/ou o símbolo C representa hidroxiprolina, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

12.- Processo de acordo com a reivindicação 1, para a preparação de péptidos antagonistas modificados de fórmula geral



na qual

A representa arginina;

B representa L-Pro, um L-amino-ácido alifático cíclico, um L-amino-ácido alifático, um L-amino-ácido aromático ou um L-amino-ácido aromático substituído;

C representa um grupo D-Pro, um grupo L-Pro, um amino-

-ácido cíclico, um amino-ácido alifático, um amino-ácido aromático ou um amino-ácido aromático substituído com a configuração D;

D representa um grupo Gly, um amino-ácido alifático, um amino-ácido aromático ou um amino-ácido aromático substituído com a configuração L;

W representa um grupo L-Phe ou Phe substituído, um amino-ácido alifático ou amino-ácido aromático;

X representa um grupo L-Ser, um grupo Gly, um D- ou L-amino-ácido alifático, um D- ou L-amino-ácido aromático ou um D- ou L-aminoácido aromático substituído;

Y representa um D-amino-ácido aromático ou um D-amino-ácido aromático substituído; e

Z representa um grupo L-Phe ou Phe substituído, um amino-ácido alifático ou um amino-ácido aromático;

e dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

13.- Processo de acordo com a reivindicação 12, para a preparação de péptidos antagonistas modificados de fórmula geral I na qual o símbolo Y representa:

(DPhe), beta-2-tienil-DAla (DThi), beta-2-piridil-DAla (DPal), beta-2-naftil-DAla(D-Nal), DHis, D-homo-Phe(DhPhe), O-metil-DTyr(DOMT), D-alfa-fenil-Gly(DPhg), DTrp, DTyr ou pCl-DPhe (CDF); e dos seus sais aceitáveis em farmácia,

caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais cor

respondentemente substituídos.

14.- Processo de acordo com as reivindicações 12 ou 13, para a preparação de compostos peptídicos antagonistas modificados de fórmula geral

(Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Y-Phe-Arg)

e dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

15.- Processo de acordo com a reivindicação 14, para a preparação dos compostos peptídicos antagonistas modificados aí referidos em cuja fórmula geral o símbolo Y representa um grupo D-Phe e dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

16.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 12 ou 13, para a preparação de compostos peptídicos antagonistas modificados com a fórmula geral aí referida na qual o símbolo Y representa um D-amino-ácido simples e W e Z representam, cada um, um amino-ácido que compreende um grupo tienilo, ou dos seus sais aceitáveis em farmácia, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

17.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 12 ou 13, para a preparação de compostos peptídicos antagonistas modificados com a fórmula geral aí definida, na qual o símbolo B representa L-hidroxiprolina, D representa alanina (Ala), W representa leucina (Leu), beta-2-tienil-alanina (Thi) ou 2-piridil-alanina (PaL), X representa pa

ra-cloro-D-fenilalanina (pCl-D-Phe) ou D-Phe e Z representa Leu, Thi ou Pal, caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

18.- Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 12 ou 13, para a preparação de compostos com a fórmula geral aí definida, na qual os símbolos B e C representam, cada um, hidroxiprolina, W representa beta-2-tienil-alanina (Thi), Y representa um D-amino-ácido aromático eventualmente substituído e Z representa beta-2-tienilalanina (Thi), caracterizado pelo facto de se utilizar compostos iniciais correspondentemente substituídos.

19.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula geral I, preparado pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 ou 2, que possui resistência reforçada à degradação enzimática e em que o símbolo A representa D-Arg, D-Lys, Lys-Lys, L-Thi, Met-Lys ou Gly-Arg-Met-Lys ou os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

20.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto de fórmula geral I, preparado pelo processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, que possui selectividade tecidular reforçada e em que os símbolos A e/ou C representam grupos escolhidos entre L-Pro, L-hidroxiprolina, D-Pro, Δ -Pro, D-valina, L-valina, ácido alfa-aminoisobutírico (Aib), L-Ala, D-Ala, Sar, D-Gly,

L-Gly e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

21.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade eficaz de um composto de fórmula geral I, preparado pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 ou 2, que possui potência reforçada, e em que os símbolos W e/ou Z representam grupos escolhidos entre

Phe, O-metil-Tyr(OMT), p-cloro-Phe(CLF), p-nitro-Phe(PNF), beta-2-naftil-Ala (NAL), Tyr, Thi e Pal,

e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

22.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto preparado pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 6 ou 9, que possui resistência reforçada à degradação enzimática, em que o símbolo A representa um grupo D-Arg, D-Lys, Lys-Lys, Met-Lys ou Gly-Arg-Met-Lys ou os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

23.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto preparado pelo processo de acordo com uma das reivindicações 6 ou 9, que possui selectividade tecidular reforçada e em que os sím-

bolos B e/ou C representam, cada um, um grupo escolhido entre L-Pro, L-hidroxiprolina, D-Pro, -Pro, D-valina, L-valina, ácido alfa-aminoisobutírico (Aib), L-Ala, D-Ala, Sar, D-Gly ou L-Gly e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

24.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapeuticamente eficaz de um composto preparado pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 6 ou 9, que possui potência reforçada e em que os símbolos W e/ou Z representam grupos escolhidos entre Phe, Thi, Tyr, Pal, O-metil-Tyr(OMT), para-cloro-Phe(CLF), para-nitro-Phe(PNF) e Beta-2-naftil-Ala(Nal), e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

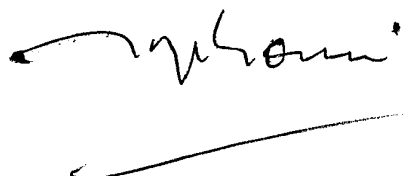
25.- Processo para a preparação de composições farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um péptido antagonista modificado preparado pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 12 ou 13, que possui selectividade tecidular reforçada e em que os símbolos B e/ou C representam grupos escolhidos entre L-Pro, L-hidroxiprolina, D-Pro ou D-Pro, D-valina, L-valina, ácido alfa-aminoisobutírico (Acb), L-Ala D-Ala, Sar, D-Gly ou L-Gly, e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

26.- Processo para a preparação de composições

farmacêuticas, caracterizado pelo facto de se combinar uma quantidade terapêuticamente eficaz de um péptido antagonista modificado preparado pelo processo de acordo com uma qualquer das reivindicações 12 ou 13, que possui potência reforçada e em que os símbolos W e/ou Z representam grupos escolhidos entre Thi, Pal, Nal, OMT, PNF, CLF, e os seus sais aceitáveis sob o ponto de vista farmacêutico, como ingrediente activo, com um veículo aceitável em farmácia.

Lisboa, 12 de Fevereiro de 1987

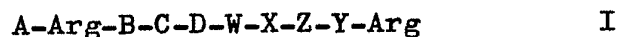
O Agente Oficial da Propriedade Industrial



R E S U M O

"Processo para a preparação de péptidos
antagonistas da bradiquinina"

Descreve-se um processo para a preparação de
péptidos derivados da hormona bradiquinina de fórmula geral



ou derivados de análogos da bradiquinina, que consiste em
substituir o grupo L-prolina em posição 7 por um grupo amino-
-ácido aromático ou com a configuração D, eventualmente subs-
tituídos, convertendo-se assim os compostos de bradiquinina
agonistas em compostos antagonistas da bradiquinina.

A presente invenção também inclui modificações
adicionais em outras posições nos compostos antagonistas obti-
dos antes que conferem resistência enzimática reforçada, maior
potência antagonista e/ou especificidade tecidular a estes no
vos compostos antagonistas da bradiquinina.

Os compostos análogos assim obtidos são utili-
záveis no tratamento de condições e doenças dos mamíferos, in
cluindo o homem, resultantes de um excesso de bradiquinina ou
de outras quininas relacionadas produzidas ou infectadas no
organismo, por exemplo por mordeduras.

Lisboa, 12 de Fevereiro de 1987

O Agente Oficial da Propriedade Industrial

