

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

②①

N° 80 17523

⑤④ Nouveaux peptides et leur application en thérapeutique.

⑤① Classification internationale (Int. Cl.³). C 07 C 103/52; A 61 K 37/02.

②② Date de dépôt..... 8 août 1980.

③③ ③② ③① Priorité revendiquée :

④① Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 6 du 12-2-1982.

⑦① Déposant : ROQUES Bernard et LECOMTE Jeanne-Marie, résidant en France.

⑦② Invention de : Bernard Roques et Jeanne-Marie Lecomte.

⑦③ Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Cabinet Lavoix,
2, place d'Estienne-d'Orves, 75441 Paris Cedex 09.

La présente invention concerne de nouveaux peptides ayant une activité importante sur les récepteurs opiacés δ , leur procédé de préparation et leur application en thérapeutique notamment comme analgésiques.

5 La présente invention concerne plus spécialement des penta et hexa peptides ayant une action importante sur les récepteurs opiacés δ .

On a déjà décrit des pentapeptides présentant une certaine analogie de structures dans le brevet FR 78 12 543. Toutefois, ces
10 composés connus n'ont pratiquement pas d'activité sur les récepteurs opiacés δ .

On sait qu'il existe au moins deux types de récepteurs opiacés (μ et δ) dans le cerveau (KOSTERLITZ et al. (1980), Brit. J. Pharmacol., 68, 333-42, CHANG et al. (1979), J. Biol. Chem., 254,
15 2610-18).

Ces deux types de récepteurs sont impliqués dans l'analgésie mais les récepteurs δ semblent également être impliqués dans le comportement, les états émotionnels, etc... (RISTER et al. (1980) Life Sciences 26, 337-42).

20 Les substances ayant une activité spécifique sur les récepteurs δ présentent normalement des effets d'accoutumance et de dépendance très inférieurs à ceux engendrés par les opiacés classiques (morphine, pethidine) ou par les dérivés d'enképhalines actuellement décrits.

25 La présente invention vise donc à fournir des composés ayant une activité spécifique importante sur un seul type de récepteurs, à savoir les récepteurs δ .

La présente invention a pour objet des dérivés de peptides répondant à la formule générale

30 Tyr - A - Gly - B - C - D (I)

dans laquelle

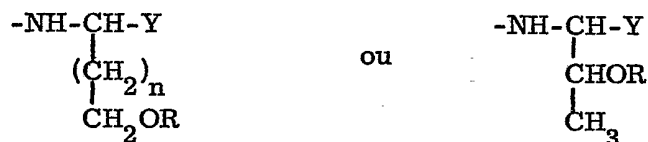
A est un reste D. Ala, AzaGly, Aib, D. Ser, D. Thr, D. Cys, homo Sérine, β Phe Ser, β OH Leu, 4OH Ile, α , β , γ OHNor Val ou OH Val dont les groupes OH ou SH latéraux, lorsqu'ils existent, peuvent

être libres ou protégés i) par un radical alkyle simple ou ramifié ayant de 1 à 6 atomes de carbone, ii) par un radical phénylène substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes de fluor, iii) par un radical benzylène substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes de fluor, iv) par un radical acyle aliphatique ayant de 1 à 6 carbones ou par un radical acyle COX dans lesquels X est un radical phényle, benzyle ou benzyhydyle, éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes de fluor,

B est un reste L.Phe, pF.L.Phe ou pentafluoro L.Phe,

10 C est un reste Leu, N.Leu ou Ile,

D représente un groupe



15 dans lequel $n = 0, 1$ ou 2 ,

R est un atome d'hydrogène ou un radical tel que défini pour la protection du groupe OH du reste A,

Y est un atome d'hydrogène, un groupe hydroxy, carboxy, carbamoyle, un groupe OR_1 , COOR_1 ou CONHR_1 dans lequel R_1 représente un radical tel que défini pour la protection du groupe OH du reste A, une chaîne phosphatidyléthanolamine

ou une chaîne $\text{NH}-(\text{CH}_2)_n \text{N} \begin{array}{l} \text{R}_3 \text{---} \text{R}_2 \\ \text{---} \text{R}_2 \end{array}$ dans laquelle n est un nombre entier de 0 à 3, R_2 est un atome d'hydrogène ou un radical alkyle simple ayant de 1 à 4 atomes de carbone et

25 R_3 est un atome d'hydrogène ou d'oxygène ou un reste alkyle simple ayant de 1 à 4 atomes de carbone ainsi que leurs sels pharmaceutiquement acceptables.

Les composés de formule (1) peuvent être préparés par les procédés classiques de la synthèse peptidique. Ainsi, on peut les obtenir par condensation fragmentaire ou par couplage en série d'acides aminés convenablement choisis et protégés. La réaction de couplage s'effectue par les méthodes d'activation habituelles et les méthodes de déprotection classiquement utilisées en synthèse peptidique.

3.

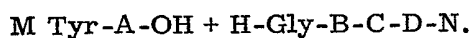
Des détails concernant ces techniques classiques peuvent être trouvés dans les références bibliographiques suivantes :

1. C. GARBAY-JAUREGUIBERRY, B.P. ROQUES, R. OBERLIN, M. ANTEUNIS et A.K. LALA B.B.R.C., 71, 558-565, 1976.
- 5 2. C. GARBAY-JAUREGUIBERRY, B.P. ROQUES, R. OBERLIN, M. ANTEUNIS, S. COMBRISSE et J.Y. LALLEMAND FEBS Letters, 76, 93-98, 1977.
3. J.D. BOWER et al, J. Chem. Soc. Perkin Trans I, 2488-92.
4. W. WOELTER et al, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 15, 297(1976).
- 10 5. E. PIETRZIK et al., Liebigs. Ann. Chem. p. 609 (1977).

A titre d'exemple général, les composés de la formule I peuvent être préparés par condensation d'un résidu M Tyr-OH dans lequel M représente un groupe de protection de la fonction amino (tertiobutyloxycarbonyle, benzyloxycarbonyle, fluorénylméthyl-oxycarbonyle) avec un résidu H-A-N où N est un groupe protecteur de la fonction acide (ester par exemple). La combinaison s'effectue par utilisation des agents d'activation classique et plus particulièrement du dicyclohexylcarbodiimide et de l'hydroxybenzotriazole.

20 L'élimination sélective du groupe protecteur N permet de continuer la synthèse par condensation successive jusqu'à l'obtention du peptide désiré.

Dans le cas de la synthèse par fragment les procédés utilisés sont semblables mais des ensembles de résidus sont alors couplés selon le schéma.



L'invention est illustrée par les exemples suivants.

Dans ces exemples, les abréviations suivantes ont été utilisées.

- Boc = tertio-butyloxycarbonyle
- 30 t.bu = tertibutyle
- DCC = dicyclohexylcarbodiimide
- HOBT = hydroxybenzotriazole
- Z = benzyloxycarbonyle
- DCU = dicyclohexylurée
- 35 AcOEt = acétate d'éthyle

4

THF = tétrahydrofuranne

NET₃ = triéthylamine

TFA = acide trifluoroacétique

Les divers composés obtenus ont été caractérisés par résonance magnétique nucléaire (270-MHz) et leur pureté testée par chromatographie en couche mince (CCM) dans les solvants suivants :

C₁ = BuOH/ACOH/H₂O, 4/1/1C₂ = CHCl₃/MeOH, 7/3C₃ = CHCl₃/MeOH, 9/1.

ou par chromatographie liquide haute performance (HPLC).

EXEMPLE 1L. Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Thr (XI)

On prépare ce composé en suivant le schéma suivant :

	Tyr	D. Ser	Gly	Phe	Leu	Thr
15			Boc-OH	H-OCH ₃		
			III			
			Boc	OCH ₃		
		Otbu	IV			
20	Boc-OH	H-OCH ₃	Boc	OH	H-OCH ₃	
	I	Otbu	V			
	Boc	OCH ₃	Boc		OCH ₃	
	II	Otbu	VI			
	Boc	OH	H		OCH ₃	
25		Otbu	VII			
	Boc	Otbu	VIII		OCH ₃	
	Boc				OH	H-OCH ₃
30		Otbu		IX		Otbu
	Boc					OCH ₃
	Boc	Otbu		X		Otbu
						OH
35	H			XI		OH

N-Boc-L. Tyrosyl-(Otbu) D. Sérine méthyl ester I

- On place 3,37 g de Boc L. Tyr dans 20 ml de THF anhydre. On ajoute à 0° C successivement 2,54 g de chlorhydrate de (Otbu) D. Sérine méthyl ester et 1,88 g de NEt_3 en solution dans 20 ml de CHCl_3 anhydre, puis 1,84 g de HOBT dans 10 ml de CHCl_3 anhydre et enfin 2,47 g de DCC en solution dans 20 ml de CHCl_3 sec. On agite 1 h à 0° C puis 12 h à temps ordinaire. On filtre la DCU, on évapore à sec sous vide. On reprend par 50 ml de AcOEt. On filtre la DCU insoluble. On lave avec 3 x 20 ml d'acide citrique, 1 x 20 ml de H_2O , 3 x 20 ml de NaHCO_3 solution saturée puis 2 x 20 ml de H_2O . On sèche sur Na_2SO_4 sec. On évapore à sec. On obtient un produit blanc. (4,68 g), Rdt 89 %, $R_f=0,55$ (C_3).

N-Boc-L. Tyrosyl-(Otbu) D. Sérine II

- 2,19 g (5mM) de Boc Tyr-D.Ser (Otbu) méthyl ester sont dissous dans 10 ml de méthanol et agités à 0° C durant 3 h avec 10 ml de NaOH 2N. On évapore MeOH, on ajoute 10 ml d'eau, filtre la DCU et acidifie par HCl (pH 2). On extrait avec AcOEt (3 x 30 ml). On sèche le solvant organique et évapore à sec. On obtient un solide blanc. $R_f = 0,52$ (C_2).

20 Boc-Glycyl-L. Phénylalanine méthyl ester III

- On dissout à 0° C 5,25 g de Boc glycine dans 25 ml de THF anhydre. On ajoute successivement 6,47 g de L.Phe méthyl ester dans 20 ml de CHCl_3 sec, puis 4,2 ml de NEt_3 dans 10 ml de CHCl_3 . Après agitation 10 mn, on ajoute 4,6 g de HOBT dans 20 ml de THF puis 6,19 g de DCC dissous dans 50 ml de CHCl_3 . On agite 1 h à 0° C puis 12 h à température ordinaire. On traite comme pour l'obtention du composé I. On obtient 10 g de produit. $R_f = 0,45$ (C_3).

Boc-Glycyl-L. Phénylalanine IV

- 30 10 g du composé précédent sont dissous dans 60 ml de MeOH. On agite à sec durant 1 h puis 3 h à temps ordinaire. On traite comme pour l'obtention de Boc-Tyr-(Obtu) D. Ser. On obtient un solide recristallisé dans AcOEt - (7,2 g).

Boc-Gly-L.Phe-L.Leu méthyl ester V

La réaction de condensation est effectuée comme pour le composé I à partir de 6,7 g de tboc Gly-Phe OH et 3,81 g de L.Leu méthyl ester (chlorhydrate). On obtient 7,64 g d'un composé recristallisé dans AcOEt. Rf = 0,7 (C₃).

Trifluoroacétate de Boc-Gly-L.Phe-L.Leu-OCH₃ VI

4,64 g du composé V sont mis en solution dans 15 ml de TFA. On laisse agiter 30 mn à 0° C puis 30 mn à température ordinaire. On chasse TFA sous vide poussé (0,1 mmHg). Le résidu sirupeux est agité avec 20 ml d'éther sec (10 fois successivement) et l'éther est séparé par filtration. Lorsque l'éther est neutre, la poudre blanche obtenue est essorée rapidement puis séchée sous vide poussé. On obtient 3,07 g de produit. Rf = 0,5 (C₂).

Boc-Tyr-(Otbu) D.Ser-Gly-Phe-Leu-OCH₃ VII

1,69 g du composé II sont dissous dans 15 ml de THF sec. On ajoute à 0° C, une solution de 1,85 g de VI et 0,56 ml de NET₃ dans 15 ml de CHCl₃. Après 10 mn, on ajoute successivement 0,61 g de HOBT dans 5 ml de THF puis 0,82 g de DCC dans 5 ml de CHCl₃. On agite à 0° C 1 h, puis 20 h à température ordinaire. On traite comme dans l'exemple I. On obtient 1,75 g d'un solide blanc. Rdt = 60 % - Rf = 0,65 (C₃).

Boc-Tyr-(Otbu) D.Ser-Gly-Phe-Leu-OH VIII

1,73 g de VII sont agités à 0°C dans 70 ml de MeOH et 4,6 ml de NaOH N. Après 1 h à 0°C, on laisse 12 h à température ambiante. On obtient un solide (1,33 g) - Rdt = 80 % - Rf = 0,45 (C₂).

Boc-Tyr-(Otbu) D.Ser-Gly-Phe-Leu-(Otbu)Thr-OCH₃ IX

Le couplage est effectué entre 1,33 g de VIII et 0,41 g de l'ester méthylique de la L. Threonine (HCl) dans des conditions similaires à l'obtention de I ou VII.

On obtient 7,5 g d'un solide blanc. - Rdt = 90 % - Rf = 0,67 (C₃).

Boc-Tyr-(Otbu)D.Ser-Gly-Phe-Leu(Otbu)Thr-OH X

La saponification est effectuée sur 1,5 g du composé IX et donne, selon la méthode fournissant le composé VIII, un produit solide (1,26 g) - Rf = 0,8 (C₁).

H-Tyr-D.Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-OH XI

0,96 g de X sont mis à agiter 30 mn à 0° C dans 1 ml de TFA saturé d'HCl gazeux. On évapore à sec sous 0,1 mm Hg. On ajoute de l'éther sec et on triture 15 fois avec 10 ml.

- 5 On obtient un produit blanc crème (0,41 g). Le composé est purifié par passage sur une colonne de LH 20, en utilisant le MeOH comme solvant. Le produit blanc obtenu est lyophilisé. Sa pureté est contrôlée par HPLC. (Colonne microbondapak C₁₈) solvant : $\text{ACO}^{(-)}\text{NH}_4^{(+)}$ 10^{-2}M , pH = 4,2 (80 %) et CH_3CN (20 %). Débit 1,2 ml mn⁻¹. Temps
- 10 rétention 10,2 mn.

EXEMPLE 2Tyr-D.Ala-Gly-Phe-Leu-Thr XVIII

On prépare ce composé en suivant le schéma suivant.

15	Tyr	D.Ala	Gly	Phe	Leu	Thr
	Boc-OH	H-OCH ₃	Boc-	XIII	OH	Otbu / OCH ₃
20	Boc-	OCH ₃	Boc-	XIV		Otbu / OCH ₃
	XII			XV		Otbu / OCH ₃
	Boc-	OH	H-			Otbu / OCH ₃
	Boc-		XVI			Otbu / OCH ₃
25	Boc-		XVII			Otbu / OCH ₃
			XVIII			
	H-					OH

30 Boc-Tyr-D.Ala méthyl ester XII

Il est obtenu par condensation de 4,2 g de Boc Tyr avec 1,74 g de chlorhydrate de l'ester méthylique de D. alanine dans les conditions d'obtention du composé I. On obtient un produit solide qui est saponifié par la soude N pour donner XII (3,92 g) - Rf = 0,51 (C₂).

Boc-Gly-Phe-Leu XIII

Il est obtenu comme pour le composé IV en partant de 6,4 g de V.
On obtient 5,2 g. Il cristallise dans AcOEt. Rf = 0,48 (C₃).

Boc-Gly-Phe-Leu-(OtBu)Thr-OCH₃ XIV

- 5 Il est obtenu comme pour le composé VIII en condensant 5,2 g de XIII avec 1,70 g de chlorhydrate de l'ester méthylique de la (OtBu) thréonine. On obtient un solide jaune pâle (3,27 g) - Rf = 0,61 (C₃).

Gly-Phe-Leu-(OtBu)Thr-OCH₃ XV

- Le composé XIV est agité dans le TFA (1,8 ml) à 0°C durant 1 h
10 puis traité dans les mêmes conditions que celles utilisées pour obtenir VI.

La suite de la synthèse emprunte les méthodes illustrées dans l'exemple 1.

Le composé final, XVIII, est un solide blanc - Rf = 0,33 (C₁).

- 15 Le tableau I suivant donne les formules des composés de formule générale I que l'on a préparés selon les procédés des exemples détaillés précédemment ou par des variantes des techniques classiquement employées dans la synthèse des peptides.

TABLEAU I

20

N°	FORMULE	Rf
1	Tyr-D.Ser-Gly-Phe-Leu-Thr	0,51 (C ₁)
2	Tyr-D.Ala-Gly-Phe-Leu-Thr	0,33 (C ₁)
25 3	Tyr-D.Ser-Gly-Phe-Leu-Ser	0,62 (C ₁)
4	Tyr-D.Thr-Gly-Phe-Leu-Ser	0,58 (C ₁)
5	Tyr-Aib-Gly-Phe-Leu-Ser	0,35 (C ₁)
6	Tyr-AzaGly-Gly-Phe-Leu-Ser	0,44 (C ₁)
7	Tyr-Aib-Gly-Phe-Leu-Thr	0,57 (C ₁)
30 8	Tyr-AzaGly-Gly-Phe-Leu-Thr	0,40 (C ₁)
9	Tyr-D.Ser-Gly-Phe-Leu-NH(CH ₂) ₂ OH	0,30 (C ₁)
10	Tyr-D.Ser-Gly-Phe-Leu-NH(CH ₂) ₃ OH	0,30 (C ₁)
11	Tyr-D.Ser-Gly-Phe-Leu-Thr NH ₂	0,12 (C ₁)
12	Tyr-D.Ser (Obenzyl)-Gly-Phe-Leu-Thr	0,50 (C ₂)

N°	FORMULE	Rf
5	13 Tyr-D. Ser(Obenzyl)-Gly-Phe-Leu-Thr(Obenzyl)	0,47 (C ₃)
	14 Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr OMe	0,30 (C ₂)
	15 Tyr-D. Ser (Obenzyl)-Gly-Phe-Leu-Thr OMe	0,52 (C ₃)
	16 Tyr-D. Ser(Op.fluorobenzyl)-Gly-Phe-Leu-Thr. O hexa fluorobenzyl	0,61 (C ₃)
	17 Tyr-D. Ser-Gly-p.F. Phe-Leu-Thr	0,57 (C ₁)
10	18 Tyr-AzaGly-Gly-Phe-p.F. -Leu-Thr	0,46 (C ₁)
	19 Tyr-AzaGly-Gly-Phe-Leu-Thr-O hexafluorobenzyle	0,80 (C ₂)
	20 Tyr-D. Ser (OCO p.fluorophényl)-Gly-Phe-Leu-Thr-Obenzyle	0,75 (C ₃)
15	21 Tyr-D. Ser (OCO p.fluorophényl)-Gly-Phe-Leu-Thr (OCO p. fluorophényl)O-benzyle	0,81 (C ₃)
	22 Tyr-Aib-Gly-Phe-Leu-Thr-O hexafluorobenzyle	0,50 (C ₂)
	23 Tyr-Aib-Gly-penta fluoro Phe-Leu-Thr-O hexafluorobenzyle	0,55 (C ₂)
20	24 Tyr-D. Ser (OCO p.fluorobenzyle)-Gly-p.F. Phe-Leu-Thr-O Me	0,48 (C ₃)
	25 Tyr-D. Ser-Gly-Phe-N. Leu-Thr	0,50 (C ₁)
	26 Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Ile-Thr	0,50 (C ₁)
25	27 Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Ile-Ser	0,58 (C ₁)
	28 Tyr-D. Ser-(OCO p.fluorobenzyle)-Gly-Phe-Leu-Ser-O hexafluorobenzyle	0,75 (C ₃)
	29 Tyr-D. Ser (OCOCH ₃)-Gly-Phe-Leu-Ser (OCOCH ₃) O hexafluorobenzyle	0,70 (C ₃)
30	30 Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-NH (CH ₂) ₂ -OCO hexafluorobenzyle	ND
	31 Tyr-D. Ser(OCOCH ₃)-Gly-Phe-Leu-Thr-O hexafluorobenzyle	ND

N°	FORMULE	Rf
32	Tyr-D. Cys-Gly-Phe-Leu-Thr	0,25 (C ₁)
33	Tyr-D. Cys (SCOC ₆ H ₅)-Gly-Phe-Leu-Thr-Ohexafluorobenzyle	ND
34	Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-NH-CH ₂ -C ₆ H ₅	0,40 (C ₁)
35	Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-NH-CH ₂ -C ₆ F ₅	ND
36	Tyr-D. Ser (OCO p. fluorophényl) Gly-Phe-Leu-Thr-NH CH ₂ C ₆ F ₅	0,62 (C ₃)
37	Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-NH-phosphatidyléthanoline	ND
38	Tyr-β Phe. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr	ND
39	Tyr-β OH Leu-Gly-Phe-Leu-Thr	ND
40	Tyr-4 OH ILe-Gly-Phe-Leu-Thr	ND
41	Tyr-α OH Nor Val-Gly-Phe-Leu-Thr	ND
42	Tyr-β OH Nor Val-Gly-Phe-Leu-Thr	ND
43	Tyr-γ OH Nor Val-Gly-Phe-Leu-Thr.	ND
44	Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr-NH(CH ₂) ₂ N ⁰ _↑ (CH ₃) ₂	0,50 (C ₂)

Dans ce tableau, les groupes entre parenthèses correspondent à des substituants fixés sur les chaînes latérales.

Comme indiqué précédemment, les composés de formule I présentent des propriétés pharmacologiques particulièrement intéressantes, à savoir principalement une action préférentielle sur les récepteurs δ des opiacés et une action analgésique. Leur toxicité n'apparaît qu'à des doses très supérieures aux doses pharmacologiquement actives, ce qui permet leur utilisation en thérapeutique, notamment comme analgésiques, psychotropes et antidiarrhéiques.

On donnera ci-après des résultats des études pharmacologiques et toxicologiques qui mettent en évidence ces propriétés.

1) Action in vitro sur les récepteurs μ et δ

L'étude de l'action soit sur les récepteurs μ soit sur les récep-

teurs δ a été faite en fonction de l'effet sur l'iléon isolé de cobaye ou sur le vas deferens de souris.

L'action sur les récepteurs μ a été déterminée par mesure de la concentration inhibitrice 50 % (IC 50) de la contraction de l'iléon isolé de cobaye, induite par stimulation coaxiale (PATON W.D.M., Brit. J. Pharm. 1959, 12, 119).

L'action sur les récepteurs δ a été déterminée par mesure de la concentration inhibitrice 50 % (IC 50) de la contraction du vas deferens de souris induite par stimulation électrique.

Les concentrations inhibitrices 50 sont exprimées en concentration nanomolaire/litre. Chaque produit est testé par rapport à la Met-Enképhaline comme substance de référence et le résultat est exprimé également en % d'activité par rapport à la Met-Enképhaline = 100.

Le rapport $R = \frac{\text{IC 50 iléon}}{\text{IC 50 vas deferens}}$ permet de voir si le produit étudié est μ ou δ spécifique. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant. Dans ce tableau, le nombre d'essais est indiqué entre parenthèses.

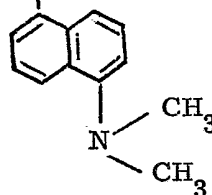
TABLEAU II

20

PRODUIT	ILEON		VAS DEFERENS		R
	IC 50 (nM)	Act. relative	IC 50 (nM)	Act. relative	$\frac{\text{IC 50 iléon}}{\text{IC 50 V.D}}$
25 Met-Enképhaline	354 (6)	100	18 (4)	100	19,6
Exemple 2	500 (3)	80	2 (2)	900	250
Exemple 25	1050 (2)	34	1,2 (2)	1500	875
Exemple 13 du					
30 brevet FR	320	110	650	2,7	0,49
78 12 543 (*)					

(*) Composé de formule :

12

Tyr-D. Ala-Gly-Phe-Met-NH-(CH₂)₅-SO₂ NH

5

Ce tableau met en évidence l'effet δ spécifique des composés de formule I.

2) Activité analgésique

10 Les composés ont été testés "in vivo" par voie intraveineuse (i.v.) dans l'épreuve de la plaque chaude à 65°C chez la souris, selon la méthode de JACOB et BLOZOVSKI (Arch. Int. Pharmacodyn. 1961, 33, 296) par mesure du réflexe de léchement à 15 minutes, de bond à 30 minutes et de saut ajusté à 69 et à 90 minutes.

15 La substance de référence était le DAla₂Met-Enképhaline.
Les résultats sont donnés au Tableau III.

TABLEAU III

Traitement	N	Temps de réaction (s)			
		15'	30'	60'	90'
		Lèchement	Bond	Saut ajusté	Saut ajusté
Témoins i.v.	6	4,5 + 0,8	2,9 + 2,2	13,4 + 6,6	13,4 + 5,3
D. Ala ₂ Met-Enképhaline 100 mg/kg i.v.	6	5,5 + 1	5,5 + 1,6	5,5 + 1,2	5,6 + 2
Ex. 2 100 mg/kg i.v.	6	38,2 ^{x+} - 4,5	35,7 ^{x+} - 6,4	34,9 ^{x+} - 5,1	29,8 ^{x+} - 2,6
Ex. 25 75 mg/kg i.v.	6	37,4 ^{x+} - 1,6	34,6 ^{x+} - 6,3	35,4 ^{x+} - 8	30,4 ^{x+} - 9

 $x_p < 0,05$

3) Action antidiarrhéique

Elle a été recherchée par l'épreuve à l'huile de ricin chez le rat selon la méthode de Niemegeers et coll. (Arzn. - Forsch. 22, 516-518, 1972).

5 Ces essais ont été réalisés avec des rats mâles de 160 à 220 g. Après un jeûne de 18 heures, chaque animal a reçu par voie orale, un millilitre d'huile de ricin.

Ces composés en solution dans l'eau ont été administrés par voie orale sous un volume de 0,5 ml pour 100 grammes, une heure avant l'huile de ricin.

Les résultats sont donnés dans le Tableau IV.

TABLEAU IV

Séries	Nombre de rats	Nombre d'animaux non diarrhéiques	
		2 heures	4 heures
Témoin ^x	30	8	2
Exemple 25 3 mg/kg	10	10	6
Codéine base 3 mg/kg	10	7	4
10 mg/kg	10	10	7
Morphine (chlorhydrate) 1 mg/kg	10	9	4
3 mg/kg	10	10	6

^x Huile de ricin seule.

4) Toxicité aigue

La détermination de la mortalité chez la souris est réalisée à la suite de l'administration unique par voie intra-veineuse de doses croissantes des composés à tester.

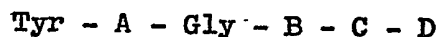
5 La DL_{50} pour tous les composés de formule I étudiés est supérieure à 300 mg/kg i.v.

Les composés de formule I sont administrables à l'homme par voie orale, parentérale et rectale.

10 Chaque dose unitaire contient avantageusement de 0,2 mg à 100 mg de principe actif, les doses administrables journellement pouvant varier de 0,5 mg à 200 mg de principe actif.

REVENDICATIONS

1 - Dérivés de peptides de formule



(I)

dans laquelle

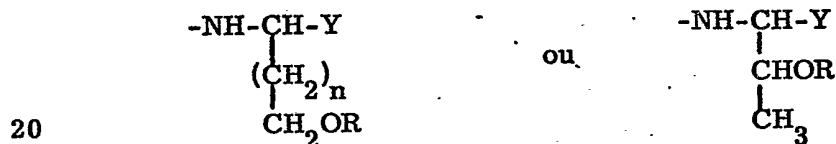
A est un reste D. Ala, AzaGly, Aib, D. Ser, D. Thr, D. Cys, homo

- 5 Sérine, β Phe Ser, β OH Leu, 4OH Ile, α , β , γ OHNor Val ou OH Val dont les groupes OH ou SH latéraux, lorsqu'ils existent, peuvent être libres ou protégés i) par un radical alkyle simple ou ramifié ayant de 1 à 6 atomes de carbone, ii) par un radical phényl non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes de fluor, iii) par un
- 10 radical benzyl non substitué ou substitué par un ou plusieurs atomes de fluor, iv) par un radical acyle aliphatique ayant de 1 à 6 carbones ou par un radical acyle COX dans lesquels X est un radical phényle, benzyle ou benzyhydryle, éventuellement substitué par un ou plusieurs atomes de fluor,

- 15 B est un reste L. Phe, pF. L. Phe ou pentafluoro L. Phe,

C est un reste Leu, N. Leu ou Ile,

D représente un groupe

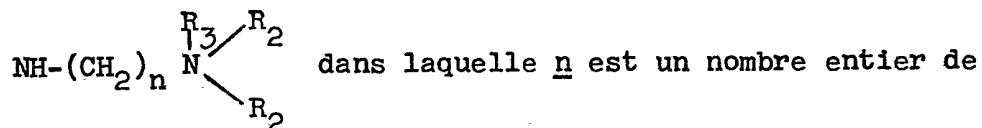


dans lequel $n = 0, 1$ ou 2 ,

R est un atome d'hydrogène ou un radical tel que défini pour la protection du groupe OH du reste A,

Y est un atome d'hydrogène, un groupe hydroxy, carboxy, carbamoy-

- 25 le, un groupe OR_1 , COOR_1 ou CONHR_1 dans lequel R_1 représente un radical tel que défini pour la protection du groupe OH du reste A, une chaîne phosphatidyléthanolamine ou une chaîne



- 0 à 3, R_2 est un atome d'hydrogène, ou un radical alkyle simple ayant de 1 à 4 atomes de carbone et R_3 est un atome d'hydrogène ou d'oxygène ou un reste alkyle simple ayant
- 30

de 1 à 4 atomes de carbone.

2 - Peptide de formule Tyr-D. Ser-Gly-Phe-Leu-Thr.

3 - Peptide de formule Tyr-D.Ala-Gly-Phe-Leu-Thr.

4 - Composition thérapeutique, caractérisée en

5 ce qu'elle contient à titre de principe actif un composé
selon l'une quelconque des revendications 1 à 3.