

Do fator de potenciação da bradicinina (BPF) aos inibidores da ECA

SERGIO H. FERREIRA

Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto — Ribeirão Preto — SP

É pouco reconhecido que a descoberta dos inibidores da ECA se deve, em grande parte, à pesquisa básica associada à bradicinina. Rocha e Silva e colaboradores,⁽¹⁾ em 1949, descobriram que o plasma, quando incubado com o veneno da *Bothrops jararaca*, gerava novo fator hipotensor e espasmogênico para musculatura lisa, que foi então denominado bradicinina. Posteriormente, quando sintetizado, observou-se que seus efeitos hipotensores eram menos intensos quando comparados com aqueles da “bradicinina natural”.

A DESCOBERTA DO FATOR DE POTENCIAÇÃO DA BRADICININA (BPF)

Curiosamente, os primeiros potenciadores da bradicinina descobertos foram os agentes queladores de metais, como o dimecaptopropanol (BAL). Esses agentes intensificavam os efeitos da bradicinina tanto “in vivo” como “in vitro”⁽²⁻⁶⁾. Esses achados foram baseados na descoberta de que as carboxipeptidases eram zinco-enzimas⁽⁷⁾ e que a inativação da bradicinina no plasma era devida a uma atividade carboxipeptidásica⁽⁸⁾. Durante um experimento no qual testávamos a habilidade do veneno da *Bothrops jararaca* em potencializar a atividade espasmogênica da bradicinina na preparação isolada do fêto de cobaia, observamos que no veneno propriamente dito havia um potente fator de potenciação da bradicinina.

O fator de potenciação da bradicinina (BPF) foi descrito como uma família de pequenos peptídeos presente nesse veneno, os quais especificamente potenciavam as atividades biológicas da bradicinina: atividades espasmogênicas em preparações de músculo liso, edema, efeitos hipotensores^(3, 9-12). A atividade potenciadora do BPF “in vivo” foi correlacionada com a inibição de enzimas inativadoras da bradicinina^(3, 10, 13).

O BPF foi utilizado como instrumento farmacológico para demonstrar: o bloqueio da inativação da bradicinina durante uma passagem através do pulmão^(13, 14); a desassociação entre a vasodilatação funcional da glândula salivar e a presença de bradicinina no fluxo venoso e fluente⁽¹⁵⁾; e a liberação de atividade do tipo de bradicinina no sangue circulante pela quimotripsina⁽¹⁶⁾.

Havia a coincidência de que o maior sítio de inativação plasmática da bradicinina e da conversão da angiotensina era a remoção dos aminoácidos carboxiterminais. A cininase II

plasmática era uma carboxipeptidase⁽⁶⁾. Portanto, era uma boa idéia que uma única enzima fosse responsável por ambas as atividades e que o BPF pudesse ser um inibidor da conversão da angiotensina I. Essa sugestão de Vane foi confirmada pelo bloqueio da conversão no pulmão da angiotensina II circulante pelo BPF. Esses experimentos preliminares nunca foram publicados, mas estimularam a demonstração de que nossa preparação de BPF era capaz de inibir a formação da angiotensina II a partir da angiotensina I sintética por peptidases “in vitro”^(17, 18).

PEPTÍDEOS POTENCIADORES DA BRADICININA (BPP)

Em 1967, comecei uma colaboração extremamente produtiva com L. Greene, no Brok Haven National Laboratories, nos Estados Unidos. Iniciamos com isolamento, caracterização e definição da potência relativa de 9 peptídeos de pequeno peso molecular extraídos do BPF. Os peptídeos isolados foram utilizados para demonstrar o paralelismo entre inibição da conversão da angiotensina e potenciação da bradicinina (inibição da cininase tecidual). O nona-peptídeo (BPP_{9a}) era o mais ativo⁽¹⁹⁻²¹⁾. Em seqüência, foi determinada a estrutura do menor peptídeo do BPF, PCA-LYS-TRY-ALA-PRO: BPP_{5a}. A estrutura foi confirmada por síntese, assim como foi demonstrada a habilidade dessa molécula em inibir a conversão da angiotensina I e a inativação da bradicinina pelo pulmão do rato⁽²²⁾. Finalmente, com o BPF, foi realizada a primeira demonstração de que um peptídeo potenciador da bradicinina tinha efeito hipotensor em modelos de hipertensão em virtude da intensa atividade do sistema renina-angiotensina⁽²³⁾.

A estrutura e a síntese do BPP_{9a} (SQ 20881) foram realizadas pelo grupo de pesquisadores da Squibb⁽²⁴⁾. O BPP_{9a} era mais efetivo e tinha efeito mais duradouro que o do BPP_{5a} na pressão arterial, tanto para a potenciação da bradicinina como para a inibição da conversão da angiotensina I⁽²⁵⁾. O BPP_{9a} foi utilizado na primeira demonstração clínica da utilidade dos peptídeos potenciadores da bradicinina no controle da hipertensão humana. A proposta nomenclatura de peptídeos potenciadores da bradicinina (BPP) para indicar os peptídeos sintéticos originários do veneno da *Bothrops jararaca* foi substituída pelo grupo da Squibb por peptídeos inibidores da ECA.

CONTRIBUIÇÃO DOS AGENTES QUELADORES DE METAL E DO BPP_{5a} PARA O DESENVOLVIMENTO DE CAPTOPRIL

O BPP_{9a} era inaceitável do ponto de vista clínico, pois não era oralmente ativo e sua síntese, muito cara. A descoberta, por Byers e Wolfenden⁽²⁶⁾, da possibilidade de sintetizar inibidores não-peptídicos da carboxipeptidase-A deu o passo fundamental para o desenvolvimento do captopril. Segundo esses cientistas, o aminoácido carboxiterminal do substrato interagia intensamente com o sítio ativo da enzima e o carbonil da ligação peptídica também interagia intensamente com o íon zinco da enzima. Esse enfoque orientou os cientistas da

Squibb para o desenvolvimento de um inibidor não-peptídico da cininase II (enzima conversora da angiotensina I).

O captopril foi sintetizado pela adição a uma prolina (aminoácido carboxiterminal do BPP_{5a}) de um radical quelador de metais⁽²⁷⁾.

Eu gostaria, como comentário final, de indicar que o desenvolvimento dos inibidores da ECA é uma história na qual a chance, a visão experimental educada e o raciocínio científico claro uniram o trabalho de vários cientistas. É um exemplo clássico de desenvolvimento de drogas, cuja pesquisa básica inicial, incluindo as descobertas dos protótipos BPP_{5a} e BPP_{9a}, foi feita na Universidade e em Institutos de Pesquisa, mas a invenção (responsável pela patente) foi desenvolvida pela indústria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rocha e Silva M, Beraldo WT, Andrade SO. A new factor (Bradykinin) released from plasma globulin by snake venom and trypsin. *Proceedures of the First International Congress of Biochemistry* 1949;p.119.
2. Ferreira SH, Rocha e Silva M. Potenciação de polipeptídeos por um fator presente no veneno de *Bothrops jararaca*. *Ciência e Cultura* 1963;15:276.
3. Ferreira SH, Rocha e Silva M. Potentiation of bradykinin and eledoisin by BPF (Bradykinin Potentiating Factor) from *Bothrops jararaca* venom. *Experientia* 1965;21:347-9.
4. Ferreira SH, Corrado AP, Rocha e Silva M. Potenciação do efeito hipotensor da bradicinina por inibição da enzima bradicinolinolítica plasmática. *Ciência e Cultura* 1962;15:276.
5. Rocha e Silva M. The physiological significance of bradykinin. *Ann NY Acad Sci* 1963;104:190-211.
6. Erdös EG, Wohler JR. Inhibition "in vivo" of the enzymatic inactivation of bradykinin and kallidin. *Biochem Pharmacol* 1963;12:1163-9.
7. Vallee BL. The active catalytic site: an approach through metalloenzymes. *Fed Proc* 1961;20(suppl 10):71-80.
8. Erdös EG, Sloane EM. An enzyme in human blood plasma that inactivates bradykinin and kallidin. *Biochemistry and Pharmacology* 1962;11:585-92.
9. Ferreira SH. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of *Bothrops jararaca*. *Br J Pharmacol* 1965;24:163-9.
10. Ferreira SH. Bradykin-potentiating factor. In: Erdös and Sicuteri, eds. *Hypotensive Peptides*. New York: Springer-Verlag, 1966;pp.356-67.
11. Graeff FG, Ferreira SH, Corrado AP, et al. Potentiation of the cerebral vascular action of bradykinin by three "Bradykinin Potentiating Factor" (BPF) in the dog. *Experientia* 1965;21:607-8.
12. Amorim DS, Ferreira SH, Manço JC et al. Potentiation of circulatory effects of bradykinin by a factor contained in the *Bothrops jararaca* venom. *Cardiologia* 1967;50:23-32.
13. Ferreira SH, Vane JR. The disappearance of bradykinin and eledoisin in the circulation and vascular beds of the cat. *Br J Pharmacol Chemother* 1967;30:417-24.
14. Ferreira SH, Vane JR. The detection and estimation of bradykinin in the circulating blood. *Br J Pharmacol Chemother* 1967;29:367-77.
15. Ferreira SH, Smaje LH. Bradykinin and functional vasodilation in the salivary gland. *Br J Pharmacol* 1976;58:201-9.
16. Ferreira SH, Rocha e Silva M. Liberation of a bradykinin-like substance in the circulating blood of dogs: trypsin, chymotrypsin, and nagarse. *Br J Pharmacol* 1969;36:611-22.
17. Bahkle YS. Conversion of angiotensin I to angiotensin II by a cell-free extracts of drug lung. *Nature* 1968;220:919-21.
18. Bahle YS, Reynard AM, Vane JR. Metabolism of the angiotensins in isolated perfused tissues. *Nature* 1969;222:956.
19. Ferreira SH, Bartelt DC, Greene LJ. Isolation of bradykinin-potentiating peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Biochemistry* 1970;9:2583-93.
20. Ferreira SH, Greene LJ, Alabaster VA et al. Activity of various fractions of bradykinin potentiating factor against angiotensin I converting enzyme. *Nature* 1970;225:379-80.
21. Greene LJ, Stewart JM, Ferreira SH. Bradykinin-potentiating peptides from the venom of *Bothrops jararaca*. In: Sicuteri, Rocha e Silva, Back, eds. *Bradykinin and Related Kinins: Cardiovascular, Biochemical and Neural Actions*. New York: Plenum Press, 1970;pp.81-7.
22. Stewart JM, Ferreira SH, Greene LJ. Bradykinin potentiating peptide PCA-Lys-TRP-Ala-Pro. An inhibitor of the

-
- pulmonary inactivation of bradykinin and conversion of angiotensin I and II. *Biochem Pharmacol* 1971;20:1557-67.
23. Krieger EM, Salgado HC, Assan CJ et al. Potential screening test for detection of overactivity of renin-angiotensin system. *Lancet* 1971;1:269-71.
24. Ondetti MA, Williams NJ, Sabo EF, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of *Bothrops jararaca*. Isolation, elucidation of structure and synthesis. *Biochemistry* 1971;10:4033-9.
25. Greene LJ, Camargo ACM, Krieger EM, et al. Inhibition of the conversion of angiotensin I to II and potentiation of bradykinin by small peptides present in *Bothrops jararaca* venom. *Circ Res* 1972;30(suppl 2):62-71.
26. Byers LD, Wolfenden R. A potent reversible inhibitor of carboxypeptidase A. *J Biol Chem* 1972;247:606-8.
27. Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF et al. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochemistry* 1977;16:5484-91.