



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0713153-4 A2**



(22) Data de Depósito: 12/06/2007
(43) Data da Publicação: 27/03/2012
(RPI 2151)

(51) *Int.Cl.:*
C07K 14/78
C07K 5/10

(54) **Título:** FRAGMENTOS DE PEPTÍDEO PARA INDUZIR A SÍNTESE DE PROTEÍNAS DE MATRIZ EXTRACELULAR

(30) **Prioridade Unionista:** 13/06/2006 US 60/813.284

(73) **Titular(es):** Helix Biomedix Inc.

(72) **Inventor(es):** Lijuan Zhang, Scott M. Harris, Timothy J. Falla

(74) **Procurador(es):** Orlando de Souza

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2007013748 de 12/06/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/146269de 21/12/2007

(57) **Resumo:** FRAGMENTOS DE PEPTÍDEO PARA INDUZIR A SÍNTESE DE PROTEÍNAS DE MATRIZ EXTRACELULAR. São revelados tetrapeptídeos biologicamente ativos curtos que são compreendidos das seqüências GxxG e PxxP, onde G (glicina) e P (prolina) são mantidas e x é um aminoácido variável. Os peptídeos podem ser usados individualmente ou em combinação para estimular a produção de proteínas da matriz extracelular na pele. É revelado um método rápido e barato de produção de formulações heterogêneas de tetrapeptídeos.

MGPRLSVWLL LLPAALLLHE EHSRAAAKGG CAGSGCGKCD CHGVKQKGE
RGLPGLQGV I GFFPMQGPFG PQGPPGQKGD TGEPLGPGTK GTRGPPGASG
YFNGFGLPGI PQDGGPPGP GTPGNGTKG ERGPLGPGGL PGFAGNPGFP
GLPGMKGDPG ETLGHVPGML LKGERGPPGI PGTGPPGLF GLOGPVGPPG
FTGPPGPPGP PGPPEGKGM GLSFQGPFGD KGDQGVSGEP GVEQAQVOE
KGDFTATKGEK GOKGEPGFG MPGVGEGKEP GKPGRGKFG KGDGKKEKGS
PFPPEPFGY GLIGRQGPQG EKGEAGPPGP FGIVIGTGFL GERGERGYFG
TPGPRGEPGP KGPGLPGQP GPPGLFVPG AGAPGFEGER GEKGRGFFG
TSLPGPSGRD GLPGPPGSPG PFGQPGYTNG IVECPGPPG DQGPFGIPGQ
PGFTGEIGEK GOKGESCLIC DIDGYRGPPG PQGPPGEIGF PGQPGAKGDR
GLPGRDGVAG VEPGPGTGL IQGPGAKGEP GEFYFDLRK GDRGDPGPPG
QPGMPGRAGS PGRDGHPLGL GPKGSPGSGV LKGERGPPG VGFPGSRGDT
GPPGPPGYGP AGPIGDKGQA GPPGPPGSPG LPPGKGEFGK IVFLPGPPGA
EGLPGSPGFP GPQGDGPPG TFGPRGPPG KGAVGPFGIG PFGPPGPPGV
DGLPGDMGPP GTPGRPGFNG LPPGPPGVOGO KGERGVGLPG LKGLGGLPGI
PGTPGKGGST GVPVPGEPHG AIGPPGLQGI RGEPPGEPGP GSVGSPVFG
IGPPGARGPP GGQPPGGLSG PPGIKGEGEP PGFGLDMPG PKGDKGAQGL
PGITGQSGLP GLPGQGGAPG LPGPPGSKGE MGVNCTPGQ GSGPVGAPG
LEGGKGRGP PGSSGPRGDP GLKGDGDPV LPPGKPGSMDK VDMGSKKCK
GQCGKKAIG PTEGKGRGD PGTGVPCKD GQAGQPGQPG PKGDGPGISGT
PGATGLPGPK GSVGGMCLPG TPGEKGVPGI PGQGSPPGLP GDKGAKGEG
QAGPPGIGIP GLRGEKGDQG IAGPPGPPGE KGEKSGTGP GMPGSPGLKG
SPGSGVYVGS PGLPGEKGDK GLPGLDGPV VKGEAGLPGT FGPTGPAGQK
GEPGSDGIPG SAGEKGPGL PGRGFPFPFG AKGDKGSKGE VGFPLAGSP
GTPGSKGEQG FMGPPGPPGQ PGLPGSPGHA TEGPKGDRCP QGPPGLPGLF
GPMGPPGIPG IDGVKGDKN PGWPGAPGV GPKGDPGFG MPGIGGSPGI
TSGKDMGPP GVPGFQGPFG LPGLQGIKGD QGDQGVGAK GLPGPPGPPG
PYDIIKGEFG LPGPPEGPPGL KGLQGLPGPK GQGVGTGLV IPGPPGPPGF
DGAPGQKGM GPAGPTGPRG PPGPPGPDGL PGSMGPPGTP SVDHGFIVR
HSQTIIDPQC PSGTKILYHG YSLLYVQNE RAHQDLGTA GSKLRKFTM
PFLFCNINNV CNFASRNDYS YWLTPEPMP MSMAPITGEN IRPFISRCV
CEAPAMVMV HSQTIQIPP PGWSSLIWIG YSFVMHTSAG AEGSGQALAS
PGSCLLEFRS APFIECHGRG TCNYYANAYS FWLATIERSE MFKKPTPSTL
KAGELRTHVS RCQVCMRRT

FRAGMENTOS DE PEPTÍDEO PARA INDUZIR A SÍNTESE DE PROTEÍNAS DE MATRIZ EXTRACELULAR

Esse pedido reivindica o benefício de prioridade ao Pedido Provisório Americano No. de Série 60/813.284, depositado em 13 de junho de 2006, o qual é aqui incorporado por referência na sua totalidade.

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção se refere aos tetrapeptídeos com a porção aminoácido GxxG ou PxxP, onde G (glicina) e P (prolina) são mantidos e x é um aminoácido variável. A invenção também se refere aos tetrapeptídeos de mudança de quadro ativos (frame shift), os quais são seqüências de tetrapeptídeos com uma estrutura alterada de um tetrapeptídeo GxG ou PxxP numa proteína ECM. Particularmente, a invenção se refere ao GxxG, PxxP ou aos peptídeos de mudança de quadro ativos que estimulam a produção de proteínas da matriz extracelular e intensificam o fechamento de ferimentos da monocamada de células epiteliais da pele humana ferida por raspagem. As composições peptídicas podem ser usadas em formulações para reparar a pele danificada ou na manutenção da pele saudável.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

O envelhecimento da pele é comumente visto como a formação de rugas e a cicatrização de ferimentos prejudicada. Um ferimento é definido como uma ruptura na integridade epitelial da pele. A cicatrização normal de feridas envolve uma série de eventos complexa e dinâmica, porém magnificamente orquestrada levando ao reparo de tecidos danificados. O maior componente da pele normal é a matriz extracelular (ECM), uma matriz tipo gel produzida

pelas células que ela rodeia. A ECM é composta de duas classes principais, incluindo proteínas estruturais fibrosas e proteoglicanas. Alterações na composição e estado reticulado da ECM são conhecidas como estando associadas com o envelhecimento e numa faixa de distúrbios de pele adquiridos e hereditários. Tem sido bem documentado que ECM não somente fornece suporte estrutural como também influencia o comportamento celular, tal como a diferenciação e proliferação. Também cada vez mais grupos de pesquisa sugerem que os componentes da matriz podem ser uma fonte de sinais celulares para facilitar a proliferação de células epiteliais e a migração e, deste modo, aumentar a cicatrização de feridas.

A maior classe de moléculas ECM fibrosas é a família do colágeno, a qual inclui pelo menos 16 tipos diferentes de colágeno. Colágeno na matriz dérmica é composto primariamente dos colágenos tipo I (80 - 85%) e tipo III (8 - 11%), ambos sendo fibrilares, ou colágenos em forma de bastão. A força elástica da pele é originada predominantemente por essas moléculas de colágeno fibrilares, as quais se automontam em microfibrilas numa disposição cabeça-cauda e lateral lado a lado escalonada. Moléculas de colágeno se tornam reticuladas às moléculas de colágeno adjacentes, gerando força e estabilidade adicional nas fibras de colágeno. O dano à rede de colágeno (por exemplo, por enzimas ou destruição física) ou o seu total colapso faz com que a cicatrização ocorra por reparo.

Vários peptídeos bioativos que estimulam a produção de proteínas ECM foram reportados tanto na literatura científica quanto em patentes emitidas. Historicamente,

peptídeos têm sido isolados a partir de fontes naturais e têm sido recentemente o assunto de estudos de relação estrutura-função. Peptídeos naturais também serviram como pontos de partida para o design de análogos de peptídeos sintéticos.

Seqüências específicas nas proteínas ECM podem estimular elementos úteis na pele, tais como colágeno tipo I, colágeno tipo III e fibronectina (Katayama et. al., J. Biol. Chem. 288: 9941 - 9944 (1983)). Katayama et al. identificaram o pentapeptídeo KTTKS (SEQ ID NO: 17), no propeptídeo carboxiterminal (resíduos 197 - 241) do colágeno tipo I. O propeptídeo é clivado durante a produção da proteína de colágeno madura. O propeptídeo clivado pode participar na regulação da produção de colágeno através de um mecanismo de retroalimentação de biossíntese, com o segmento KTTKS desempenhando um papel ativo. Maquart et al. (J Soc Biol. 193: 423-28 (1999)) reportaram que os peptídeos GHK e CNYYSNS também estimulam a síntese de ECM. Essas seqüências podem ser liberadas durante a renovação de ECM, deste modo sinalizando a necessidade por reparo de ECM. As seqüências de peptídeos curtos liberadas por qualquer mecanismo são geralmente chamadas de "matricinas" (Maquart et al., J. Soc. Biol. 193: 423-28 (1999)).

Apesar da existência de uma variedade de peptídeos naturais e sintéticos, existe uma necessidade por peptídeos biologicamente ativos melhorados e métodos para seus usos.

RESUMO DA INVENÇÃO

São revelados tetrapeptídeos que são caracterizados pela porção da seqüência de aminoácidos GxxG ou PxxP, onde os resíduos de G (glicina) e P (prolina) são mantidos e x é

um aminoácido variável. Os tetrapeptídeos são derivados das seqüências que ocorrem várias vezes por toda a seqüência primária da proteína ECM, colágeno tipo IV. As seqüências reveladas induzem a produção de todas as formas de colágeno maior do que as seqüências de peptídeos anteriormente conhecidas, incluindo KTTKS, vendida sob a marca comercial MATRIXYL™ por SEDERMA SAS (França). Além disso, uma composição compreendendo uma combinação de várias seqüências multiplicadoras-repetentes induz uma resposta produtora de colágeno ainda maior. Podem ser esperados benefícios adicionais a partir das combinações de peptídeos presentes numa variedade de proteínas ECM.

A produção de uma combinação específica de tetrapeptídeos para a reconstrução da ECM pode ser, sob um ponto de vista de custo, comercialmente proibitiva. É revelada uma forma relativamente simples e barata de produzir uma combinação diversa de tetrapeptídeos biologicamente ativos. Pela produção de uma biblioteca combinatorial de tetrapeptídeos com a porção GxxG ou PxxP, uma variedade de tetrapeptídeos biologicamente ativos pode ser gerada na mesma série de produção (por exemplo, GEPG, GPEG, GPPG e GEEG). A combinação dos tetrapeptídeos pode induzir uma maior formação de proteínas ECM do que os peptídeos individuais. As composições compreendendo os tetrapeptídeos revelados, sozinhas ou em combinação, são úteis nos mercados de cuidados com a pele incluindo, porém sem se limitar, àquelas que tratam de rugas, tónus, firmeza e perda de firmeza da pele. A estimulação do colágeno pelos tetrapeptídeos revelados pode melhorar significativamente a saúde e aparência da pele danificada e envelhecida.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

FIG. 1 é a SEQ ID NO: 45, a qual é a seqüência de aminoácidos do colágeno IV ilustrando as ocorrências dos tetrapeptídeos GxxG. Todas as seqüências em negrito estão sublinhadas e as seqüências que se sobrepõem estão duplamente sublinhadas.

FIG. 2 é a SEQ ID NO: 46, a qual é a seqüência de aminoácidos do colágeno III ilustrando as ocorrências das mudanças de quadro ativas PGPR e GAGP. Todas as seqüências de mudança de quadro ativas estão em negrito e sublinhadas e as seqüências GxxG que ocorrem numa distância de uma mudança de quadro estão duplamente sublinhadas.

FIG. 3 também é a SEQ ID NO: 45, a seqüência de aminoácidos de colágeno IV, ilustrando as ocorrências do tetrapeptídeo PGPP.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A invenção é de um modo geral direcionada para tetrapeptídeos que estimulam a produção de proteínas ECM e modulam a cicatrização de feridas, e aos usos de tais tetrapeptídeos.

Peptídeos

Uma modalidade da invenção é direcionada para um tetrapeptídeo isolado compreendendo a porção GxxG ou PxxP. Nessa modalidade, G (glicina) ou P (prolina) é mantida e x é um aminoácido variável. O peptídeo pode ser geralmente qualquer peptídeo que esteja dentro da descrição acima, e mais preferivelmente ser SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 ou SEQ ID NO: 16.

Outra modalidade da invenção é direcionada para um tetrapeptídeo isolado compreendendo a porção GxPG, onde x é P em qualquer posição variável ou ambas. Nessa modalidade, G (glicina) e P (prolina) são mantidas e x é um aminoácido variável. O peptídeo pode ser geralmente qualquer peptídeo que esteja dentro da descrição acima, e mais preferivelmente é a SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 ou SEQ ID NO: 7.

Outra modalidade da invenção é direcionada para um tetrapeptídeo isolado compreendendo a porção GExG. Nessa modalidade, G (glicina) e E (ácido glutâmico) são mantidos e x é um aminoácido variável. O peptídeo pode ser geralmente qualquer peptídeo que esteja dentro da descrição acima, e mais preferivelmente ser SEQ ID NO: 5 ou SEQ ID NO: 8.

Outra modalidade da invenção é direcionada para um tetrapeptídeo isolado compreendendo a porção PGxP. Nessa modalidade, P (prolina) e G (glicina) são mantidas e x é um aminoácido variável. O peptídeo pode ser geralmente qualquer peptídeo que esteja dentro da descrição acima, e mais preferivelmente SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 ou SEQ ID NO: 16.

Outra modalidade da invenção é direcionada para um tetrapeptídeo isolado compreendendo a porção PExP. Nessa modalidade, P (prolina) e E (ácido glutâmico) são mantidos e x é um aminoácido variável. O peptídeo pode ser geralmente qualquer peptídeo que esteja dentro da descrição acima, e mais preferivelmente ser SEQ ID NO: 1 ou SEQ ID NO: 9.

Outra modalidade da invenção é direcionada para um

tetrapeptídeo de mudança de quadro ativo. Nessa modalidade, o tetrapeptídeo ocorre numa mudança de quadro de um tetrapeptídeo GxxG ou PxxP numa proteína ECM. O peptídeo pode ser de um modo geral qualquer peptídeo que esteja dentro da descrição acima, e mais preferivelmente ser SEQ ID NO: 4 ou SEQ ID NO: 6.

Cada um dos peptídeos acima descritos podem compreender D- ou L-aminoácidos. Os peptídeos podem compreender todos os D-aminoácidos ou L-aminoácidos. Os peptídeos podem ter um ácido C-terminal ($-\text{CO}_2\text{H}$) ou, preferivelmente, uma amida C-terminal ($-\text{CONH}_2$, $-\text{CONHR}$ ou $-\text{CONR}_2$). Os peptídeos podem ser ainda aumentados ou modificados, seja quimicamente ou enzimaticamente. Por exemplo, os peptídeos podem ser amidados ($-\text{NH}_2$) no C-terminal, o que pode tornar o tetrapeptídeo menos suscetível à degradação pela protease e aumentar as suas solubilidades em comparação com as formas de ácido livre. Os peptídeos também podem ser "lipidados", o que pode proporcionar uma maior penetração na pele.

Os peptídeos acima descritos podem conter os seguintes aminoácidos: R (arginina), L (leucina), P (prolina), F (fenilalanina), Q (glutamina), E (ácido glutâmico), I (isoleucina), K (lisina), S (serina), V (valina), A (alanina), N (asparagina), D (ácido aspártico), T (treonina), Y (tirosina) e G (glicina). Os peptídeos acima descritos não incluem os seguintes: M (metionina), C (cisteína), H (histidina) ou W (triptofano). Concordeantemente, numa modalidade, x não é selecionado de (metionina), C (cisteína), H (histidina) ou W (triptofano).

Métodos de uso

Uma modalidade adicional da invenção é direcionada para os métodos de uso dos peptídeos acima descritos. Os métodos de uso podem envolver o uso de um único peptídeo, ou podem envolver o uso de dois ou mais peptídeos em
5 combinação.

Uma modalidade da invenção é um método de promoção de reparo da pele danificada e de manutenção da saúde da pele usando tetrapeptídeos que estimulam a produção de proteínas ECM. O método é geralmente direcionado para o contato das
10 células da derme (pele) com uma composição contendo o peptídeo. As composições podem ser um aerossol, emulsão, líquido, loção, creme, pasta, ungüento, espuma ou outra formulação farmacêuticamente aceitável. Geralmente, uma formulação farmacêuticamente aceitável poderia incluir
15 qualquer veículo aceitável adequado para uso na pele humana, por exemplo, um veículo cosmeticamente aceitável e um veículo dermatologicamente aceitável. As composições podem conter outros agentes biologicamente ativos, tais como retinóides ou outros peptídeos. As composições podem
20 conter veículos ou adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis. O passo de contato pode ser efetuado *in vivo*, *in situ*, *in vitro* ou por qualquer método conhecido pelas pessoas versadas na técnica. Mais preferivelmente, o passo de contato é para ser efetuado topicamente numa concentração
25 suficiente para induzir uma resposta estimulatória. A concentração do peptídeo na composição pode ser de cerca de 0,01 µg/mL até cerca de 100 µg/mL, de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 50 µg/mL e de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 1 µg/mL. O passo de contato pode ser efetuado num mamífero,
30 num gato, num cachorro, numa vaca, num cavalo, num porco ou

num ser humano. Uma composição preferida para promover a produção da proteína ECM compreende a SEQ ID NO: 8; mais preferivelmente, a composição compreende SEQ ID NO: 8 numa mistura heterogênea com pelo menos um outro tetrapeptídeo.

5 Numa modalidade mais preferida, os tetrapeptídeos individuais na composição poderiam causar a produção de colágeno sustentada por um período de pelo menos 48 horas.

Uma modalidade adicional da invenção é direcionada para um método de promoção da cicatrização de feridas da
10 pele danificada pelo envelhecimento normal, doenças, injúria, trauma ou por cirurgia ou outros procedimentos médicos. O método pode compreender a administração à ferida de um animal de uma composição, em que a composição compreende qualquer um dos peptídeos acima descritos,
15 individualmente ou em combinação. As composições podem ser um líquido, loção, creme, pasta, unguento, espuma ou qualquer outra formulação farmacologicamente aceitável. As composições podem conter veículos ou adjuvantes farmacologicamente aceitáveis. As composições podem conter
20 outros agentes biologicamente ativos, tais como agentes antimicrobianos ou fatores de crescimento. As composições podem também ser usadas em combinação com outros agentes terapêuticos, tais como enxertos de tecido, produtos de cultura de tecido, oxigênio ou curativos. A concentração do
25 peptídeo na composição pode ser de cerca de 0,01 µg/mL até cerca de 100 µg/mL, de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 50 µg/mL e de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 1 µg/mL. A composição pode ser administrada ao ferimento topicamente. O animal pode, de um modo geral, ser geralmente qualquer
30 tipo de animal, e preferivelmente é um mamífero, e mais

preferivelmente é um ser humano, vaca, cavalo, gato, cachorro, porco, cabra ou ovelha. Uma composição preferida para aplicações de cicatrização de feridas nas quais a produção de proteína ECM é promovida compreende a SEQ ID NO: 8; mais preferivelmente a composição compreende SEQ ID NO: 8 numa mistura heterogênea com pelo menos um outro tetrapeptídeo. Numa modalidade mais preferida, os tetrapeptídeos individuais na composição poderiam causar a produção de colágeno sustentada por um período de pelo menos 48 horas.

Uma modalidade adicional da invenção é direcionada para um método de redução da cicatriz da pele danificada pelo envelhecimento normal, doença, injúria, trauma ou por cirurgia ou outros procedimentos médicos. O método pode compreender a administração à ferida de um animal de uma composição, em que a composição compreende qualquer um dos peptídeos acima descritos, individualmente ou em combinação. As composições podem ser um líquido, loção, creme, pasta, unguento, espuma ou outra formulação farmacêuticamente aceitável. As composições podem conter veículos ou adjuvantes farmacêuticamente aceitáveis. As composições podem conter outros agentes biologicamente ativos, tais como agentes antimicrobianos ou fatores de crescimento. As composições podem também ser usadas em combinação com outros agentes terapêuticos, tais como enxertos de tecido, produtos de cultura de tecido, oxigênio ou curativos. A concentração do peptídeo na composição pode ser de cerca de 0,01 µg/mL até cerca de 100 µg/mL, de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 50 µg/mL e de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 1 µg/mL. A composição pode ser administrada ao

ferimento topicamente. O animal pode ser geralmente qualquer tipo de animal, e preferivelmente é um mamífero, e mais preferivelmente é um ser humano, vaca, cavalo, gato, cachorro, porco, cabra ou ovelha. Uma composição preferida para aplicações de cicatrização de feridas nas quais a produção de proteína ECM é promovida compreende a SEQ ID NO: 8; mais preferivelmente a composição compreende SEQ ID NO: 8 numa mistura heterogênea com pelo menos um outro tetrapeptídeo. Numa modalidade mais preferida, os tetrapeptídeos individuais na composição poderiam causar a produção de colágeno sustentada por um período de pelo menos 48 horas.

Outra modalidade da invenção é direcionada para um método de produção dos tetrapeptídeos revelados em combinação. Os peptídeos podem ser produzidos usando qualquer método conhecido pelas pessoas versadas na técnica, tais como aqueles revelados em Merrifield, R. B., *Solid Phase Peptide Synthesis I.*, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-2154 (1963); Carpino, L. A. et al., [(9-Fluorenylmethyl)oxy] Carbonyl (Fmoc) Amino Acid Chlorides: *Synthesis, Characterization, And Application To The Rapid Synthesis Of Short Peptides*, J. Org. Chem. 37:51:3732-3734; Merrifield, R. B. et al., *Instrument For Automated Synthesis Of Peptides*, Anal. Chem. 38: 1905-1914 (1966); ou Kent, S. B. H. et al., *High Yield Chemical Synthesis Of Biologically Active Peptides On An Automated Peptide Synthesizer Of Novel Design*, em: PEPTIDES 1984 (Ragnarsson U., ed.) Almquist e Wiksell Int., Estocolmo (Suécia), pp. 185-188, todos os quais são aqui incorporados por referência nas suas totalidades. Preferivelmente, os

peptídeos serão produzidos por uma máquina capaz de efetuar a adição seqüencial dos aminoácidos numa cadeia peptídica em crescimento. Entretanto, os peptídeos também podem ser produzidos usando a metodologia da fase de solução padrão.

- 5 Tem sido observado que a adição de uma mistura de aminoácidos livres, ao invés de misturas de peptídeos homogêneas durante a síntese da cadeia peptídica, resulta na incorporação variada de aminoácidos livres, de modo que uma combinação de peptídeos resulta das reações de síntese.
- 10 A freqüência de incorporação relativa de um aminoácido particular incluído numa mistura de dois ou mais aminoácidos adicionados durante a síntese pode ser ajustada. O ajuste é tornado possível pela modificação da proporção de um aminoácido livre disponibilizado durante o
- 15 processo de síntese em relação aos outros aminoácidos na mistura (isso é chamado de uma mistura isocinética).

Os Exemplos a seguir são incluídos para demonstrar modalidades preferidas da invenção. Deve ser percebido pelas pessoas versadas na técnica que as técnicas reveladas

20 nos exemplos que se seguem representam técnicas descobertas pelo inventor para funcionar bem na prática da invenção, e deste modo podem ser consideradas como constituintes de modos preferidos para a sua prática. Entretanto, as pessoas versadas na técnica deveriam, à luz da presente descoberta,

25 perceber que muitas alterações podem ser feitas nas modalidades específicas, as quais são reveladas e ainda obter um resultado semelhante ou similar sem sair do espírito e escopo da invenção.

EXEMPLOS

- 30 Exemplo 1: Identificação de repetições de seqüências

tetrapeptídicas no colágeno

Uma proporção relativamente alta de seqüências de repetição do tetrapeptídeo de colágeno IV tem a porção GxxG (onde x é qualquer aminoácido). Uma variedade dessas é mostrada *in situ* como parte da seqüência de colágeno IV completa ilustrada na Figura 1 como SEQ ID NO: 45. Colágeno IV foi examinado primeiramente devido ao seu papel de interação com outros componentes ECM especializados (ver Gregory Schultz et al., 2005). Existem onze seqüências com a porção GxxG no colágeno IV que aparecem mais de dez vezes (GxxG, onde xx é representado por: vp, ek, fp, lp, pp, sp, ep, ip, pk, qp e tp). Dessas seqüências de tetrapeptídeos, oito das onze seqüências contêm prolina na posição 3, duas das onze seqüências contêm P na posição 2, uma das onze seqüências contêm prolina nas posições 2 e 3, e uma das onze seqüências não contêm prolina. As seqüências reveladas são referidas como REPLIKINES™. "REPLIKINE" é definido como uma seqüência curta nas proteínas ECM que ocorre várias vezes (isto é, é replicada). Essa seqüência pode estar presente numa proteína ECM (por exemplo, colágeno IV). Preferivelmente, a seqüência está presente em múltiplas proteínas ECM (por exemplo, todos os colágenos, elastina, laminina, etc.). A presença da seqüência em várias proteínas ECM aumenta a probabilidade de que o fragmento possa ser capaz de promover a síntese ou reparo de ECM.

As onze seqüências GxxG aparecendo no colágeno IV listadas acima são destacadas na seqüência do colágeno IV humano ilustrada na Figura 1. Nessa figura, todas as seqüências em negrito estão sublinhadas e as seqüências que se sobrepõem estão duplamente sublinhadas. Todas, à exceção

de uma dessas seqüências, também aparecem nos colágenos I, II, III e IV. Esse fato contribui para a capacidade dos peptídeos revelados de estimular a produção de todos os tipos de colágeno, particularmente quando os peptídeos são usados em combinação. Tabela 1 mostra a freqüência de várias repetições de tetrapeptídeo nas proteínas ECM. As seqüências em negrito na Tabela 1 são aquelas que aparecem no colágeno IV dez ou mais vezes.

Tabela 1: Freqüência dos tetrapeptídeos nas proteínas

10 **ECM**

SEQ ID NO:	Seqüê ncia	Colág eno I	Colág eno II	Colág eno III	Colág eno IV	Colág eno V	Elast ina	Precu rsor da elast ina
19	GAAG	10	5	7		2	4	5
20	GAKG	3	4	3	5	5		
21	GAPG	13	21	25	6	9		
22	GDKG	2	2	4	9	3		
23	GDRG	2	5	2	4	1		
8	GEKG	3	5	4	22	15		
5	GEPG	11	15	10	11	4		
24	GERG	10	11	14	6	7		
2	GFPG	4	8	6	22	5	1	1
25	GIPG	2	2	6	14	6	5	5
26	GKDG	1	4	5	2	2		
27	GKPG	2	3	3	4	1		
28	GLKG	2	1	1	5	4		
29	GLPG	15	10	9	42	15	1	1
30	GNPG	3	5	3	2	1		

31	GPAG	16	20	20	3	6		
32	GPKG	3	11	4	12	9		
7	GPPG	33	40	40	46	43		
33	GPQG	7	11	9	7	5		
34	GPRG	11	13	10	4	7		
35	GPSG	10	11	5	1	5		
36	GPTG	4	3	2	2	6		
37	GPVG	9	3	3	2	5		
38	GQPG	3	4	6	12	7		
39	GRDG	4	2	3	3			
40	GRPG	3	3	4	2	5		
3	GSPG	4	6	21	16	3		
41	GTPG	3	4	2	11	2		
42	GVKG	1	3	2	3	1		
43	GVPG		1	3	10	1	14	15
44	GYPG	1	1	1	4	2		

Conforme é evidente a partir de uma revisão da sequência de colágeno IV, SEQ ID NO: 45, também há muitas ocorrências das seqüências com a porção PxxP. Por exemplo, a seqüência PGPP ocorre não menos do que quinze vezes
5 conforme ilustrado na Figura 3. Conseqüentemente, essa seqüência revelada também é referida como REPLIKINE™. Preferivelmente, essa seqüência está presente em várias proteínas ECM (por exemplo, em todos os colágenos, elastina, laminina, etc.) uma vez que a presença dessa
10 seqüência em várias proteínas ECM aumenta a probabilidade de que o fragmento possa ser capaz de promover a síntese ou reparo de ECM. As quinze seqüências PGPP aparecendo no colágeno IV listadas acima estão destacadas e sublinhadas na seqüência do colágeno IV humano ilustrada na Figura 3.

Exemplo 2: Identificação das mudanças de quadro ativas

Além da proporção relativamente alta das seqüências de repetições de tetrapeptídeo de colágeno IV com a porção GxxG, outras seqüências de tetrapeptídeos ocorrendo numa mudança de quadro de aminoácido de distância de uma seqüência de tetrapeptídeo GxxG ou PxxP foram identificadas. Essas seqüências podem se repetir ou ocorrer somente uma vez numa proteína ECM, e podem estar localizadas numa posição de aminoácido de distância de uma seqüência de tetrapeptídeo GxxG ou PxxP, conforme aqui descrito. Essas seqüências de tetrapeptídeos são referidas como mudanças de quadro ativas. Tais mudanças de quadro ativas podem, concordantemente, conter qualquer um dentre G ou P em qualquer uma dentre a segunda ou terceira posição dependendo da direção da mudança de quadro. Foi ainda reconhecido que as mudanças de quadro ativas podem ser combinadas com outras seqüências de tetrapeptídeo reveladas nesse pedido, formando uma combicina. Um exemplo de tal combicina é H06 e H15.

Um exemplo de uma mudança de quadro ativa é GAGP ou H12 (SEQ ID NO: 6). H12 (GAGP) aparece um resíduo (ou estrutura) modificado do tetrapeptídeo GxxG GGAG no colágeno III (SEQ ID NO: 46) conforme ilustrado na Figura 2. Nessa figura, todas as seqüências de mudança de quadro ativas estão em negrito e sublinhadas e as seqüências GxxG ocorrendo a uma mudança de quadro de distância estão duplamente sublinhadas. Além disso, conforme mostrado na Tabela 5, esse tetrapeptídeo (GAGP) alcança bons resultados para a produção de colágeno em 48 horas. Outro exemplo é a seqüência PGPR, a qual é H10 (SEQ ID NO: 4), a qual ocorre

onze vezes nos colágenos I - IV. Uma vez que ela aparece várias vezes numa proteína ECM individual, esse tetrapeptídeo poderia ainda ser considerado uma REPLIKINE. Figura 2 (SEQ ID NO: 46) ilustra vários exemplos desse tetrapeptídeo com cada um ocorrendo uma mudança de quadro do tetrapeptídeo GxxG GPRG. Essa mudança de quadro ativa particular aparece em várias proteínas ECM e, deste modo, aumenta a probabilidade de que o fragmento possa ser capaz de promover a síntese ou reparo de ECM.

10 Exemplo 3: Identificação de seqüências repetidas que estimulam a produção de colágeno

Várias seqüências identificadas nos Exemplos 1 e 2 foram sintetizadas usando química peptídica padrão e avaliadas quanto à estimulação de colágeno a partir de fibroblastos dérmicos. Os peptídeos sintetizados foram amidados no C-terminal, o que tornou os tetrapeptídeos menos suscetíveis à degradação pela protease e aumentou as suas solubilidades em comparação com as formas de ácido livre. Fibroblastos dérmicos humanos foram incubados em placas de 96 poços a 37 °C e CO₂ 5% por 24 e 48 horas em 150 µL de meio de cultura de células completo (Cascade Biologics, Portland, OR; No. Cat. M-106-500), suplementado com Suplemento de Crescimento com Pouco Soro (Cascade Biologics, Portland, OR; No. Cat. S-003-10) contendo peptídeos de amostra numa concentração de peptídeo final de 50 µg/mL. Cada poço foi semeado com 10.000 células. Após a incubação, amostras de 100 µL de meio foram recuperadas de cada poço e avaliadas quanto à produção de colágeno.

Os ensaios foram efetuados pelos laboratórios Tebu-bio (França) usando o Kit de Ensaio de Colágeno SIRCOL™

(Biocolor Assays, Reino Unido) seguindo o protocolo do fabricante. O Ensaio de Colágeno SIRCOL™ é um método de ligação a corante quantitativo projetado para a análise de colágenos solúveis liberados em meio de cultura por células de mamíferos durante a cultura *in vitro*. O colágeno das amostras testadas se liga ao corante SIRCOL™ aniônico. Os complexos colágeno-corante precipitam para fora da solução e são peletizados por centrifugação. O pélete de colágeno-corante recuperado foi dissolvido numa solução alcalina antes das medições de absorvância. Medições em duplicata foram tomadas nos tempos de 24 e 48 horas a partir de duas amostras separadas. Foi feita uma média com as quatro medições para cada amostra. As absorvâncias dos brancos com reagente, padrões de colágeno e amostras foram medidas a 560 nm. A absorvância do branco do reagente foi subtraída a partir da absorvância de cada amostra em 24 e 48 horas.

Dois grupos de dados separados foram usados para gerar duas curvas de calibração de padrões de colágeno. A primeira curva de calibração foi gerada para propósitos do cálculo da quantidade de colágeno nas amostras H6 (combinação das SEQ ID NOS: 1 - 4), H7-H14 (SEQ ID NOS: 1 - 8, respectivamente) e H15 (combinação das SEQ ID NOS: 5 - 8). A segunda curva de calibração foi gerada para calcular a quantidade de colágeno nas amostras H16 (SEQ ID NO: 9), H21-23 (SEQ ID NOS: 10 - 12, respectivamente), H25-26 (SEQ ID NOS: 13-14, respectivamente) ou H29-30 (SEQ ID NOS: 15 - 16, respectivamente), H32 (SEQ ID NO: 17), H33 (combinação das SEQ ID NOS: 9-12), H34 (combinação das SEQ ID NOS: 11 - 14), H35 (combinação das SEQ ID NOS: 13-16), H36 (combinação das SEQ ID NOS: 1, 6, 5, 8), H37 (SEQ ID NO:

17) e H38 (SEQ ID NO: 8) a partir das medições de absorvância e foi criada pela demarcação da $Abs_{560\text{ nm}}$ dos padrões de colágeno conhecidos *versus* as concentrações respectivas dos padrões de colágeno (em microgramas) cada vez que uma série de ensaios foi efetuada. Em relação a cada grupo de dados, a mesma curva de calibração foi usada para as amostras tomadas nos tempos de 24 e 48 horas (Tabelas 2A e 2B). Concordantemente, diferentes curvas de padrões foram preparadas imediatamente antes de efetuar cada série de ensaios.

Tabela 2A: Curva de calibração para avaliar a produção de colágeno pelos peptídeos HA-H15

Padrões de colágeno (μg)	$A_{560\text{ nm}}$ Teste de 24h	$A_{560\text{ nm}}$ Teste de 48h
0	0,00	0,00
5	0,08	0,10
10	0,11	0,15
25	0,32	0,35
50	0,66	0,65

Tabela 2B: Curva de calibração para ensaiar a produção de colágeno pelos peptídeos H16, H21-23, H25-26 e H29-38.

Padrões de colágeno (μg)	Data de ensaio 1	Data de ensaio 2
	$A_{560\text{ nm}}$	$A_{560\text{ nm}}$
0	0,00	0,00
5	0,12	0,09
10	0,14	0,15
25	0,48	0,42
50	0,88	0,80

Foi efetuada uma regressão linear a partir da demarcação dos valores de $Abs_{560\text{ nm}}$ *versus* as concentrações

dos respectivos padrões de colágeno usando MICROSOFT EXCEL™. A regressão resultou nas linhas descritas pela fórmula $y = 0,013x$ para ambos os tempos de incubação verificados na Tabela 2A. Uma vez que os resultados foram
 5 idênticos, somente o período de tempo de 24 horas foi usado para a segunda série de curvas de calibração. A fórmula da linha obtida na data de ensaio 1 e na data de ensaio 2 da segunda série de amostras foi $y = 0,0178x$ e $y = 0,0162x$, respectivamente. O peptídeo LL-37 (SEQ ID NO: 18) foi usado
 10 como controle positivo, uma vez que ele foi amplamente reportado como tendo um impacto na cura de ferimentos em homens (Heilborn et al., The Cathelicidin Anti-Microbial Peptide LL-37 Is Involved In The Re-Epithelialization Of Human Skin Wounds And Is Lacking In Chronic Ulcer
 15 Epithelium, *J. Invest. Dermato.* 120: 379-89 (2003)). O limite de detecção do ensaio definido pelo fabricante é de 2,5 µg.

A quantidade total de colágeno produzida nas amostras contendo peptídeos foi calculada a partir da média dos
 20 valores de absorvância tomados em 24 horas (Tabela 3A) e 48 horas (Tabela 3B) usando a equação linear derivada da curva padrão. A quantidade total de colágeno produzido nas amostras contendo os peptídeos H16 (SEQ ID NO: 9), H21-23 (SEQ ID NOS: 10 - 12, respectivamente), H25-26 (SEQ ID NOS:
 25 13-14, respectivamente) ou H29-30 (SEQ ID NOS: 15 - 16, respectivamente), H32 (SEQ ID NO: 17), H33 (combinação das SEQ ID NOS: 9-12), H34 (combinação das SEQ ID NOS: 11 - 14), H35 (combinação das SEQ ID NOS: 13-16), H36 (combinação das SEQ ID NOS: 1, 6, 5, 8), H37 (SEQ ID NO:
 30 17) e H38 (SEQ ID NO: 8) foi calculada a partir dos valores

de absorvância tomados em 24 horas (Tabela 4A) e 48 horas (Tabela 4B) usando a equação linear derivada da curva padrão. Esses valores foram comparados com o peptídeo LL37 (SEQ ID NO: 18), um peptídeo conhecido por estimular o colágeno. Em cada tabela, as amostras marcadas por um asterisco (*) podem não ser significativas, uma vez que o limite de detecção do ensaio é de 2,5 µg.

Tabela 3A: Medições de absorvância e quantificação do colágeno nas amostras de teste H6-H15 em 24 horas.

SEQ ID NO:	Peptídeos	A ₅₆₀ nm		Média	Média menos branco	Colágeno (µg)
18	LL37	0,102	0,136	0,12	0,04	3,0
-	H6	0,084	0,140	0,11	0,03	2,5
1	H7	0,098	0,063	0,08	0,00	0,0*
2	H8	0,122	0,078	0,10	0,02	1,5*
3	H9	0,147	0,104	0,13	0,05	3,5
4	H10	0,103	0,146	0,12	0,04	3,4
5	H11	0,110	0,168	0,14	0,06	4,5
6	H12	0,063	0,101	0,08	0,00	0,2*
7	H13	0,114	0,093	0,10	0,02	1,8*
8	H14	0,115	0,122	0,12	0,04	3,0
-	H15	0,132	0,093	0,11	0,03	2,5
-	Branco	0,074	0,076	0,08	0,00	0,0

Tabela 3B: Medições de absorvância e quantificação do colágeno nas amostras de teste H6-H15 em 48 horas.

SEQ ID NO:	Peptídeos	A ₅₆₀ nm		Média	Média menos branco	Colágeno (µg)
18	LL37	0,262	0,113	0,19	0,07	5,2

-	H6	0,086	0,189	0,14	0,02	1,3*
1	H7	0,192	0,189	0,19	0,07	5,4
2	H8	0,137	0,126	0,13	0,01	0,9*
3	H9	0,117	0,061	0,09	0,00	0,0*
4	H10	0,136	0,085	0,11	0,00	0,0*
5	H11	0,113	0,181	0,15	0,03	2,1*
6	H12	0,106	0,231	0,17	0,05	3,7
7	H13	0,100	0,145	0,12	0,00	0,2*
8	H14	0,132	0,176	0,15	0,03	2,6
-	H15	0,177	0,174	0,18	0,06	4,3
-	Branco	0,120	0,115	0,12	0,00	0,0

Tabela 4A: Medições de absorvância e quantificação do colágeno em amostras de teste H16, H21-23, H25-26 ou H29-38 em 24 horas.

SEQ NO:	ID	Peptídeos	A _{560 nm}		Média	Média menos branco	Colágeno (µg)
9		H16	0,133	0,137	0,14	0,06	3,1
10		H21	0,129	0,119	0,12	0,04	2,5
11		H22	0,192	0,085	0,14	0,06	3,3
12		H23	0,090	0,073	0,08	0,00	0,1*
13		H25	0,129	0,076	0,10	0,02	1,3*
14		H26	0,114	0,149	0,13	0,05	2,9
15		H29	0,111	0,063	0,09	0,01	0,4*
16		H30	0,099	0,092	0,10	0,02	0,9*
17		H32 (cristais e toxicidade)	0,087	0,055	0,07	-0,01	-0,5*

	ade celular)					
-	H33	0,086	0,125	0,11	0,03	1,4*
-	H34	0,117	0,120	0,12	0,04	2,2*
-	H35	0,103	0,090	0,10	0,02	0,9*
-	H36	0,105	0,128	0,12	0,04	2,1*
17	H37	0,099	0,100	0,10	0,02	1,1*
8	H38	0,103	0,159	0,13	0,05	2,9
-	Branco	0,072	0,086	0,08	0,00	0,0

Tabela 4B: Medições de absorvância e quantificação do colágeno em amostras de teste H16, H21-23, H25-26 ou H29-38 em 48 horas.

SEQ NO:	ID	Peptíde os	A ₅₆₀ nm		Média	Média menos branco	Colágen o (µg)
9		H16	0,065	0,064	0,06	0,00	0,3*
10		H21	0,089	0,126	0,11	0,05	2,9
11		H22	0,102	0,087	0,09	0,03	2,1*
12		H23	0,093	0,082	0,09	0,03	1,7*
13		H25	0,059	0,084	0,07	0,01	0,7*
14		H26	0,081	0,153	0,12	0,06	3,5
15		H29	0,086	0,094	0,09	0,03	1,9*
16		H30	0,083	0,101	0,09	0,03	2,0*
17		H32 (crista is e toxicid ade celular	0,088	0,072	0,08	0,02	1,2*

	)					
-	H33	0,096	0,092	0,09	0,03	2,1*
-	H34	0,076	0,155	0,12	0,06	3,4
-	H35	0,120	0,074	0,10	0,04	2,3*
-	H36	0,154	0,082	0,12	0,06	3,6
17	H37	0,078	0,114	0,10	0,04	2,2*
8	H38	0,123	0,089	0,11	0,05	2,8
-	Branco	0,106	0,0106	0,06	0,00	0,0

Devido aos tamanhos das amostras serem de 100 μL , a concentração do colágeno produzido em cada amostra em microgramas por mililitro é determinada pela multiplicação da quantidade de colágeno detectada por dez. Os resultados de todas as amostras testadas estão resumidos na Tabela 5.

Tabela 5: Síntese de colágeno induzida por peptídeos.

SEQ NO	ID	Nome	Seqüência primária	[Peptídeo] ($\mu\text{g/mL}$)	Colágeno produzido ($\mu\text{g/mL}$)	
					24 h	48 h
1		H07	PEGP	50	0	54
2		H08	GFPG	50	15	9
3		H09	GSPG	50	35	0
4		H10	PGPR	50	34	0
-		H06	H7, H8, H9, H10 (SEQ ID NOS: 1, 2, 3, 4)	50	25	13
5		H11	GEPPG	50	45	21
6		H12	GAGP	50	2	37

7	H13	GPPG	50	18	2
8	H14	GEKG	50	30	26
8	H38	GEKG	0, 3	29	28
-	H15	H11, H12, H13, H14 (SEQ ID NOS: 5, 6, 7, 8)	50	25	43
9	H16	PEKP	50	31	3
10	H21	PKGP	50	25	29
11	H22	PGQP	50	33	21
12	H23	PGTP	50	1	17
13	H25	PMGP	50	13	7
14	H26	PGPP	50	29	35
15	H29	PQGP	50	4	19
16	H30	PGNP	50	9	20
17	H32	KTTKS (peptide o SEDERMA™)	50	Na	12
17	H37	KTTKS (peptide o SEDERMA™)	0, 3	11	22
-	H33	H16, H21, H22, H23	50	14	21

		(SEQ ID NOS: 9, 10, 11, 12)			
-	H34	H22, H23, H25, H26 (SEQ ID NOS: 11, 12, 13, 14)	50	22	34
-	H35	H25, H26, H29, H30 (SEQ ID NOS: 13, 14, 15, 16)	50	9	23
-	H36	H7, H12, H11, H14 (SEQ ID NOS: 1, 6, 5, 8)	50	21	36
18	LL37	LLGDFFRK SKEKIGKE FKRIVQRI DFLRNLVP RTES	50	30	52

Todos os tetrapeptídeos testados estimularam a produção de colágeno solúvel. Das seqüências testadas,

tetrapeptídeos GxxG com um ácido glutâmico na posição 2 melhor estimulam o colágeno em ambos os pontos de tempo de 24 e 48 horas. Essas seqüências são H11 (GEPG; SEQ ID NO: 5), H14 (GEKG; SEQ ID NO: 8) e H38 (GEKG; SEQ ID NO: 8). Os
5 peptídeos foram inicialmente varridos usando uma concentração peptídica de 50 µg/mL. Para avaliar a concentração eficaz para estimular a produção de colágeno, H14 (SEQ ID NO: 8) também foi testada em 0,3 µg/mL como H38. Conforme demonstrado na Tabela 5, a estimulação de
10 colágeno induzida por H38 não foi diminuída na concentração mais baixa, indicando que a concentração estimulatória máxima da SEQ ID NO: 8 está em ou abaixo de 0,3 µg/mL.

Para testar a sua eficácia, a SEQ ID NO: 8 (H14 e H38) foi comparada com o peptídeo LL37 (SEQ ID NO: 18), o qual é
15 conhecido por estimular a produção de colágeno. Baseando-se na quantidade de colágeno liberada por fibroblastos em resposta ao LL37, 25 µg/mL foi considerada uma quantidade significativa de colágeno liberada devido ao contato com um tetrapeptídeo. SEQ ID NO: 8 induziu aproximadamente a mesma
20 quantidade de colágeno que LL37 (SEQ ID NO: 18) em 24 horas. De um modo importante, o colágeno produzido como resultado do contato com a SEQ ID NO: 8 foi substancialmente mantido por pelo menos 48 horas. SEQ ID NO: 8 também foi comparada com um peptídeo de cuidado de
25 pele principal conhecido por estimular a produção de colágeno, KTTKS (SEQ ID NO: 17) (Katayama et. al., J. Biol. Chem. 288: 9941-9944 (1983)). KTTKS é um ingrediente no produto MATRIXYL™ (SEDERMA SAS, França). SEQ ID NO: 8 estimulou mais a produção de colágeno do que o peptídeo
30 KTTKS (SEQ ID NO: 17) (Tabela 5) em 24 e 48 horas.

Exemplo 4: Identificação das combinações de peptídeos que intensificam sinergisticamente a estimulação de colágeno - COMBICINAS

Populações heterogêneas dos tetrapeptídeos ativos
5 podem estimular a produção de colágeno num nível mais elevado do que as amostras homogêneas de tetrapeptídeos. Os componentes da composição heterogênea são chamados de COMBICINAS™. COMBICINAS é um grupo de REPLIKINES combinadas para produzir um efeito maior ou mais amplo em um ou mais
10 tipos de células alvo. Os peptídeos H11 (SEQ ID NO: 5), H12 (SEQ ID NO: 6), H13 (SEQ ID NO: 7) e H14 (SEQ ID NO: 8) foram combinados até uma concentração final de 50 µg/mL e avaliados usando o mesmo protocolo dos peptídeos individuais. Conforme esperado, o resultado obtido no ponto
15 de tempo de 24 horas se igualou à média das pontuações de indução individuais. A combinação de peptídeos em 48 horas, entretanto, induziu o colágeno até um nível de 43 µg/mL. Surpreendentemente, esta quantidade foi muito excessiva em relação à média antecipada (21 µg/mL) dos quatro peptídeos
20 individuais (ver Tabela 5). Deste modo, combinações específicas dos peptídeos podem estimular a produção de colágeno até um grau maior do que os peptídeos individuais na mesma concentração. Além disso, os tetrapeptídeos de uma variedade de fontes ECM tais como colágeno, laminina e
25 elastina podem produzir uma indução intensificada de uma variedade de proteínas ECM (ver Tabelas 1 e 5).

Exemplo 5: Produção de COMBICINA barata para intensificar a estimulação da produção de colágeno

O alto custo da síntese de peptídeos limita a
30 possibilidade de produção de composições heterogêneas dos

peptídeos bioativos. A presente invenção abranda muito esta limitação. Devido ao fato das seqüências atualmente reveladas terem atributos comuns (por exemplo, uma glicina ou prolina em ambos os terminais), uma faixa de 5 tetrapeptídeos variados nas posições 2 e 3 podem ser sintetizados numa única série de produção. Os peptídeos sintéticos podem ser feitos por qualquer método conhecido na técnica. (Benoiton, N., *Chemistry of Peptide Synthesis*, CRC (2005)). Durante a produção dos peptídeos, misturas de 10 aminoácidos são adicionadas ao invés das amostras homogêneas. A química para determinar as proporções corretas das concentrações de aminoácidos adicionados nas posições misturadas para obter a proporção desejada dos peptídeos resultantes foi anteriormente descrita (Greenbaum 15 et al., *Molecular and Cellular Proteomics* 1: 60-68, 2002; Krstenansky et al., *Letters in Drug Design and Discovery* 1: 6-13, 2004; ambas as referências são aqui incorporadas na sua totalidade). Usando esta metodologia, uma biblioteca de peptídeos heterogêneos pode ser feita por aproximadamente o 20 mesmo custo da síntese de um peptídeo.

A aplicação deste processo de produção permite a produção barata de combicinas bioativas. Isso é possibilitado pela composição única dos tetrapeptídeos revelados. As misturas de tetrapeptídeos são mais bem 25 adequadas para incorporação em formulações de uso tópico do que os peptídeos mais longos. Devido ao seu comprimento, os tetrapeptídeos têm vantagens práticas e químicas em peptídeos mais longos, incluindo os seguintes: incorporação mais fácil e dissolução em formulações, maior 30 permeabilidade na pele e nos poros e maiores rendimentos de

produção com métodos mais fáceis de produzir combinações de peptídeos. Embora não seja requerido, as formulações ideais dos tetrapeptídeos, individualmente ou em combinação, são formulações que mantêm uma significativa produção de colágeno em 24 horas por até 48 horas. Mais preferivelmente, as formulações poderiam induzir a síntese de ECM por todo o período de 48 horas, de modo que mais colágeno seja produzido por 48 horas do que em 24 horas. Embora dentro do escopo da atual invenção, os tetrapeptídeos que promovem a produção de proteínas ECM em 24 horas, porém apresentam produção diminuída em 48 horas, são menos favorecidos. Sob esse aspecto, Tabela 6 mostra os resultados dos peptídeos atualmente revelados. Os peptídeos preferidos estão em negrito.

15 **Tabela 6: Peptídeos revelados**

SEQ NO	ID	Peptíde os	Colágen o liberad o (µg/mL) 24 h	Colágen o liberad o (µg/mL) 48 h	Liberaç ão signifi cativa de colágen o em 24 h e 48 h	Aumento na liberaç ão de colágen o em 24 h v. 48 h	Redução na liberaç ão de colágen o em 24 h v. 48 h
18		LL37	30	52	√	√	
-		H6	25	13			
1		H7	0	54		√	
2		H8	15	9			
3		H9	35	0			√
4		H10	34	0			√

5	H11	45	21			√
6	H12	2	37		√	
7	H13	18	2			
8	H14	30	26	√		
8	H38	29	28	√		
-	H15	25	43	√	√	
9	H16	31	3			√
10	H21	25	29	√		
11	H22	33	21			√
12	H23	1	17		√	
13	H25	13	7			√
14	H26	29	35	√		
15	H29	4	19		√	
16	H30	9	20		√	
17	H32 (crista is e toxicid ade celular)	NA	12			
17	H37	11	22		√	
-	H33	14	21		√	
-	H34	22	34		√	
-	H35	9	23		√	
-	H36	21	36		√	

Exemplo 6: Estimuladores de colágeno também servem como moléculas multiefetoras intensificando o fechamento das feridas das células epiteliais da pele

Colágenos são componentes chave de todas as fases da cicatrização de feridas. A estimulação da produção de colágeno reflete que o dano ocorreu à rede de colágeno (por exemplo, por enzimas ou destruição física). Realmente, o colapso total da rede de colágeno de fato faz com que a cicatrização ocorra. Conseqüentemente, um estimulador de colágeno também pode servir como uma molécula multiefetora orquestrando certa remodelagem da matriz e intensificando a cicatrização de feridas.

Experimentos de cicatrização de feridas foram efetuados em monocamadas das células epiteliais da pele humana (CRL-2592) plaqueadas em placas de 12 poços. As células foram privadas de soro por 24 horas antes da experimentação. As monocamadas confluentes de CRL-2592 foram feridas usando uma ponta de pipeta P200 (200 µL). As feridas foram lavadas e documentadas por fotografia antes do tratamento com peptídeo. Os peptídeos foram adicionados até uma concentração final de 20 a 40 µg/mL. As células foram mantidas num incubador a 37 °C, CO₂ 5% e 92% de umidade, exceto quando as imagens foram sendo capturadas por um curto período em temperatura ambiente. O fechamento da ferida foi acompanhado nos pontos de tempo de 6 horas e 10 horas. Feridas tratadas com PBS foram usadas como controles negativos para propósitos de comparação.

Tabela 7: Efeito dos peptídeos no fechamento de feridas epiteliais da pele humana *in vitro*

	0 h	6 h		10 h	
Composto	Tamanho W*	Tamanho W	% de fechamen to	Tamanho W	% de fechamen to

PBS-1	36	29	19,40%	21	41,70%
PBS-2	52	42	19,20%	30	42,30%
SEQ ID NO: 14	25	12	52%	2,75	89%
SEQ ID NO: 5	48	39	19%	30	37,50%
Tamanho W*: Tamanho da ferida (arbitrário)					

O fechamento da ferida da monocamada *in vitro* é um resultado da migração celular, a qual é importante em muitos processos biológicos tais como embriogênese, angiogênese, reações inflamatórias e reparo de feridas.

5 Esses processos são considerados como sendo regulados pelas interações com outras células, citocinas e proteínas ECM. Conforme demonstrado na Tabela 7, SEQ ID NO: 14 induz significativamente o fechamento de feridas em comparação com os efeitos do PBS sozinho. Tal atividade é peptídeo-

10 específica, assim como específica do tipo celular, uma vez que SEQ ID NO: 14 não induz o fechamento de ferida numa monocamada de fibroblasto de pele humana (dados não apresentados). SEQ ID NO: 5 também é uma indutora de colágeno, porém não intensifica o fechamento de feridas ou

15 a migração de células epiteliais até qualquer grande extensão em comparação com os efeitos do PBS sozinho. O fato de que a SEQ ID NO: 14 induziu a migração celular ou o fechamento de feridas de um modo específico para as células epiteliais da pele (isto é, não recruta os fibroblastos)

20 pode adicionar uma vantagem para o uso deste peptídeo para cuidados de pele, uma vez que se acredita que o recrutamento de grandes quantidades de fibroblastos ativos

num sítio ferido resulte numa deposição excessiva e contração do tecido resultando em cicatrização.

Todas as composições ou métodos revelados e reivindicados aqui podem ser feitos e executados sem
5 experimentação demasiada à luz da presente descoberta. Enquanto as composições e métodos da invenção foram descritos em termos das modalidades preferidas, será aparente para as pessoas versadas na técnica que variações podem ser aplicadas às composições e/ou métodos e nos
10 passos ou na seqüência de passos dos métodos aqui descritos sem sair do conceito, espírito e escopo da invenção. Mais especificamente, será aparente que certos agentes, os quais são tanto quimicamente quanto fisiologicamente relacionados podem ser substituídos para os agentes aqui descritos,
15 enquanto os mesmos resultados ou similares poderiam ser alcançados. Todos os tais substitutos e modificações similares aparentes para as pessoas versadas na técnica são considerados como estando dentro do espírito, escopo e conceito da invenção.

LISTAGEM DE SEQUÊNCIA

Harris, Scott M.

Falla, Timothy J.

Zhang, Lijuan

FRAGMENTOS DE PEPTÍDEOS PARA INDUZIR A SÍNTESE DE PROTEÍNAS
DA MATRIZ EXTRACELULAR

Synthetic Peptide = Peptídeo Sintético

<130> 11181.0034.00PC00

<150> US 60/813,284

<151> 2006-06-13

<160> 46

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H7

<400> 1

Pro Glu Gly Pro

1

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H8

<400> 2

Gly Phe Pro Gly

1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H9

<400> 3

Gly Ser Pro Gly

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide H10

<400> 4

Pro Gly Pro Arg
1

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide H11

<400> 5

Gly Glu Pro Gly
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide H12

<400> 6

Gly Ala Gly Pro
1

<210> 7
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide H13

<400> 7

Gly Pro Pro Gly
1

<210> 8
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide H14

<400> 8

Gly Glu Lys Gly

1

<210> 9
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H16

<400> 9

Pro Glu Lys Pro

1

<210> 10
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H21

<400> 10

Pro Lys Gly Pro

1

<210> 11
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H22

<400> 11

Pro Gly Gln Pro

1

<210> 12
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H23

<400> 12

Pro Gly Thr Pro

1

<210> 13
<211> 4
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H25

<400> 13

Pro Met Gly Pro

1

<210> 14

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H26

<400> 14

Pro Gly Pro Pro

1

<210> 15

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H29

<400> 15

Pro Gln Gly Pro

1

<210> 16

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H30

<400> 16

Pro Gly Asn Pro

1

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide H32

<400> 17

Lys Thr Thr Lys Ser
1 5

<210> 18
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Peptide LL37

<400> 18

Leu Leu Gly Asp Phe Phe Arg Lys Ser Lys Glu Lys Ile Gly Lys Glu
1 5 10 15

Phe Lys Arg Ile Val Gln Arg Ile Asp Phe Leu Arg Asn Leu Val Pro
20 25 30

Arg Thr Glu Ser
35

<210> 19
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 19

Gly Ala Ala Gly
1

<210> 20
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 20

Gly Ala Lys Gly
1

<210> 21
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 21

Gly Ala Pro Gly

1

<210> 22
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 22

Gly Asp Lys Gly
1

<210> 23
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 23

Gly Asp Arg Gly
1

<210> 24
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 24

Gly Glu Arg Gly
1

<210> 25
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 25

Gly Ile Pro Gly
1

<210> 26
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 26

Gly Lys Asp Gly
1

<210> 27
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 27

Gly Lys Pro Gly
1

<210> 28
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 28

Gly Leu Lys Gly
1

<210> 29
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 29

Gly Leu Pro Gly
1

<210> 30
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 30

Gly Asn Pro Gly
1

<210> 31
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 31

Gly Pro Ala Gly
1

<210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 32

Gly Pro Lys Gly
1

<210> 33
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 33

Gly Pro Gln Gly
1

<210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 34

Gly Pro Arg Gly
1

<210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide

<400> 35

Gly Pro Ser Gly
1

<210> 36

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide

<400> 36

Gly Pro Thr Gly
1

<210> 37

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide

<400> 37

Gly Pro Val Gly
1

<210> 38

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide

<400> 38

Gly Gln Pro Gly
1

<210> 39

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Peptide

<400> 39

Gly Arg Asp Gly
1

<210> 40
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 40

Gly Arg Pro Gly
1

<210> 41
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 41

Gly Thr Pro Gly
1

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 42

Gly Val Lys Gly
1

<210> 43
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 43

Gly Val Pro Gly
1

<210> 44
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Synthetic Peptide

<400> 44

Gly Tyr Pro Gly
1

<210> 45

<211> 1669

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Gly Pro Arg Leu Ser Val Trp Leu Leu Leu Leu Pro Ala Ala Leu
1 5 10 15

Leu Leu His Glu Glu His Ser Arg Ala Ala Ala Lys Gly Gly Cys Ala
20 25 30

Gly Ser Gly Cys Gly Lys Cys Asp Cys His Gly Val Lys Gly Gln Lys
35 40 45

Gly Glu Arg Gly Leu Pro Gly Leu Gln Gly Val Ile Gly Phe Pro Gly
50 55 60

Met Gln Gly Pro Glu Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Gln Lys Gly Asp
65 70 75 80

Thr Gly Glu Pro Gly Leu Pro Gly Thr Lys Gly Thr Arg Gly Pro Pro
85 90 95

Gly Ala Ser Gly Tyr Pro Gly Asn Pro Gly Leu Pro Gly Ile Pro Gly
100 105 110

Gln Asp Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ile Pro Gly Cys Asn Gly Thr
115 120 125

Lys Gly Glu Arg Gly Pro Leu Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Phe Ala
130 135 140

Gly Asn Pro Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Met Lys Gly Asp Pro Gly
145 150 155 160

Glu Ile Leu Gly His Val Pro Gly Met Leu Leu Lys Gly Glu Arg Gly
165 170 175

Phe Pro Gly Ile Pro Gly Thr Pro Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Leu
180 185 190

Gln Gly Pro Val Gly Pro Pro Gly Phe Thr Gly Pro Pro Gly Pro Pro
195 200 205

Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Glu Lys Gly Gln Met Gly Leu Ser Phe
210 215 220

Gln Gly Pro Lys Gly Asp Lys Gly Asp Gln Gly Val Ser Gly Pro Pro
225 230 235 240

Gly Val Pro Gly Gln Ala Gln Val Gln Glu Lys Gly Asp Phe Ala Thr

245										250					255				
Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Gln	Lys	Gly	Glu	Pro	Gly	Phe	Gln	Gly	Met	Pro				
			260					265					270						
Gly	Val	Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Pro	Gly	Lys	Pro	Gly	Pro	Arg	Gly	Lys				
		275					280					285							
Pro	Gly	Lys	Asp	Gly	Asp	Lys	Gly	Glu	Lys	Gly	Ser	Pro	Gly	Phe	Pro				
	290					295					300								
Gly	Glu	Pro	Gly	Tyr	Pro	Gly	Leu	Ile	Gly	Arg	Gln	Gly	Pro	Gln	Gly				
305					310					315					320				
Glu	Lys	Gly	Glu	Ala	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Ile	Val	Ile	Gly				
				325					330					335					
Thr	Gly	Pro	Leu	Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Arg	Gly	Tyr	Pro	Gly	Thr	Pro				
			340					345					350						
Gly	Pro	Arg	Gly	Glu	Pro	Gly	Pro	Lys	Gly	Phe	Pro	Gly	Leu	Pro	Gly				
		355					360					365							
Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Leu	Pro	Val	Pro	Gly	Gln	Ala	Gly	Ala	Pro				
	370					375					380								
Gly	Phe	Pro	Gly	Glu	Arg	Gly	Glu	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Phe	Pro	Gly				
385					390					395					400				
Thr	Ser	Leu	Pro	Gly	Pro	Ser	Gly	Arg	Asp	Gly	Leu	Pro	Gly	Pro	Pro				
				405					410					415					
Gly	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Gln	Pro	Gly	Tyr	Thr	Asn	Gly	Ile	Val				
			420					425					430						
Glu	Cys	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Asp	Gln	Gly	Pro	Pro	Gly	Ile	Pro				
		435					440					445							
Gly	Gln	Pro	Gly	Phe	Ile	Gly	Glu	Ile	Gly	Glu	Lys	Gly	Gln	Lys	Gly				
	450					455					460								
Glu	Ser	Cys	Leu	Ile	Cys	Asp	Ile	Asp	Gly	Tyr	Arg	Gly	Pro	Pro	Gly				
465					470					475					480				
Pro	Gln	Gly	Pro	Pro	Gly	Glu	Ile	Gly	Phe	Pro	Gly	Gln	Pro	Gly	Ala				
				485					490					495					
Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Leu	Pro	Gly	Arg	Asp	Gly	Val	Ala	Gly	Val	Pro				
			500					505					510						
Gly	Pro	Gln	Gly	Thr	Pro	Gly	Leu	Ile	Gly	Gln	Pro	Gly	Ala	Lys	Gly				
		515					520					525							
Glu	Pro	Gly	Glu	Phe	Tyr	Phe	Asp	Leu	Arg	Leu	Lys	Gly	Asp	Lys	Gly				
	530					535					540								
Asp	Pro	Gly	Phe	Pro	Gly	Gln	Pro	Gly	Met	Pro	Gly	Arg	Ala	Gly	Ser				
545					550				555						560				

Pro Gly Arg Asp Gly His Pro Gly Leu Pro Gly Pro Lys Gly Ser Pro
 565 570 575
 Gly Ser Val Gly Leu Lys Gly Glu Arg Gly Pro Pro Gly Gly Val Gly
 580 585 590
 Phe Pro Gly Ser Arg Gly Asp Thr Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Tyr
 595 600 605
 Gly Pro Ala Gly Pro Ile Gly Asp Lys Gly Gln Ala Gly Phe Pro Gly
 610 615 620
 Gly Pro Gly Ser Pro Gly Leu Pro Gly Pro Lys Gly Glu Pro Gly Lys
 625 630 635 640
 Ile Val Pro Leu Pro Gly Pro Pro Gly Ala Glu Gly Leu Pro Gly Ser
 645 650 655
 Pro Gly Phe Pro Gly Pro Gln Gly Asp Arg Gly Phe Pro Gly Thr Pro
 660 665 670
 Gly Arg Pro Gly Leu Pro Gly Glu Lys Gly Ala Val Gly Gln Pro Gly
 675 680 685
 Ile Gly Phe Pro Gly Pro Pro Gly Pro Lys Gly Val Asp Gly Leu Pro
 690 695 700
 Gly Asp Met Gly Pro Pro Gly Thr Pro Gly Arg Pro Gly Phe Asn Gly
 705 710 715 720
 Leu Pro Gly Asn Pro Gly Val Gln Gly Gln Lys Gly Glu Pro Gly Val
 725 730 735
 Gly Leu Pro Gly Leu Lys Gly Leu Pro Gly Leu Pro Gly Ile Pro Gly
 740 745 750
 Thr Pro Gly Glu Lys Gly Ser Ile Gly Val Pro Gly Val Pro Gly Glu
 755 760 765
 His Gly Ala Ile Gly Pro Pro Gly Leu Gln Gly Ile Arg Gly Glu Pro
 770 775 780
 Gly Pro Pro Gly Leu Pro Gly Ser Val Gly Ser Pro Gly Val Pro Gly
 785 790 795 800
 Ile Gly Pro Pro Gly Ala Arg Gly Pro Pro Gly Gly Gln Gly Pro Pro
 805 810 815
 Gly Leu Ser Gly Pro Pro Gly Ile Lys Gly Glu Lys Gly Phe Pro Gly
 820 825 830
 Phe Pro Gly Leu Asp Met Pro Gly Pro Lys Gly Asp Lys Gly Ala Gln
 835 840 845
 Gly Leu Pro Gly Ile Thr Gly Gln Ser Gly Leu Pro Gly Leu Pro Gly
 850 855 860
 Gln Gln Gly Ala Pro Gly Ile Pro Gly Phe Pro Gly Ser Lys Gly Glu
 865 870 875 880

Met Gly Val Met Gly Thr Pro Gly Gln Pro Gly Ser Pro Gly Pro Val
 885 890 895
 Gly Ala Pro Gly Leu Pro Gly Glu Lys Gly Asp His Gly Phe Pro Gly
 900 905 910
 Ser Ser Gly Pro Arg Gly Asp Pro Gly Leu Lys Gly Asp Lys Gly Asp
 915 920 925
 Val Gly Leu Pro Gly Lys Pro Gly Ser Met Asp Lys Val Asp Met Gly
 930 935 940
 Ser Met Lys Gly Gln Lys Gly Asp Gln Gly Glu Lys Gly Gln Ile Gly
 945 950 955 960
 Pro Ile Gly Glu Lys Gly Ser Arg Gly Asp Pro Gly Thr Pro Gly Val
 965 970 975
 Pro Gly Lys Asp Gly Gln Ala Gly Gln Pro Gly Gln Pro Gly Pro Lys
 980 985 990
 Gly Asp Pro Gly Ile Ser Gly Thr Pro Gly Ala Pro Gly Leu Pro Gly
 995 1000 1005
 Pro Lys Gly Ser Val Gly Gly Met Gly Leu Pro Gly Thr Pro Gly
 1010 1015 1020
 Glu Lys Gly Val Pro Gly Ile Pro Gly Pro Gln Gly Ser Pro Gly
 1025 1030 1035
 Leu Pro Gly Asp Lys Gly Ala Lys Gly Glu Lys Gly Gln Ala Gly
 1040 1045 1050
 Pro Pro Gly Ile Gly Ile Pro Gly Leu Arg Gly Glu Lys Gly Asp
 1055 1060 1065
 Gln Gly Ile Ala Gly Phe Pro Gly Ser Pro Gly Glu Lys Gly Glu
 1070 1075 1080
 Lys Gly Ser Ile Gly Ile Pro Gly Met Pro Gly Ser Pro Gly Leu
 1085 1090 1095
 Lys Gly Ser Pro Gly Ser Val Gly Tyr Pro Gly Ser Pro Gly Leu
 1100 1105 1110
 Pro Gly Glu Lys Gly Asp Lys Gly Leu Pro Gly Leu Asp Gly Ile
 1115 1120 1125
 Pro Gly Val Lys Gly Glu Ala Gly Leu Pro Gly Thr Pro Gly Pro
 1130 1135 1140
 Thr Gly Pro Ala Gly Gln Lys Gly Glu Pro Gly Ser Asp Gly Ile
 1145 1150 1155
 Pro Gly Ser Ala Gly Glu Lys Gly Glu Pro Gly Leu Pro Gly Arg
 1160 1165 1170
 Gly Phe Pro Gly Phe Pro Gly Ala Lys Gly Asp Lys Gly Ser Lys

1175	1180	1185
Gly Glu Val Gly Phe Pro 1190	Gly Leu Ala Gly Ser Pro 1195	Gly Ile Pro 1200
Gly Ser Lys Gly Glu Gln 1205	Gly Phe Met Gly Pro 1210	Gly Pro Gln 1215
Gly Gln Pro Gly Leu Pro 1220	Gly Ser Pro Gly His 1225	Ala Thr Glu Gly 1230
Pro Lys Gly Asp Arg Gly 1235	Pro Gln Gly Gln Pro 1240	Gly Leu Pro Gly 1245
Leu Pro Gly Pro Met Gly 1250	Pro Gly Leu Pro 1255	Gly Ile Asp Gly 1260
Val Lys Gly Asp Lys Gly 1265	Asn Pro Gly Trp Pro 1270	Gly Ala Pro Gly 1275
Val Pro Gly Pro Lys Gly 1280	Asp Pro Gly Phe Gln 1285	Gly Met Pro Gly 1290
Ile Gly Gly Ser Pro Gly 1295	Ile Thr Gly Ser Lys 1300	Gly Asp Met Gly 1305
Pro Pro Gly Val Pro Gly 1310	Phe Gln Gly Pro Lys 1315	Gly Leu Pro Gly 1320
Leu Gln Gly Ile Lys Gly 1325	Asp Gln Gly Asp Gln 1330	Gly Val Pro Gly 1335
Ala Lys Gly Leu Pro Gly 1340	Pro Pro Gly Pro Pro 1345	Gly Pro Tyr Asp 1350
Ile Ile Lys Gly Glu Pro 1355	Gly Leu Pro Gly Pro 1360	Glu Gly Pro Pro 1365
Gly Leu Lys Gly Leu Gln 1370	Gly Leu Pro Gly Pro 1375	Lys Gly Gln Gln 1380
Gly Val Thr Gly Leu Val 1385	Gly Ile Pro Gly Pro 1390	Pro Gly Ile Pro 1395
Gly Phe Asp Gly Ala Pro 1400	Gly Gln Lys Gly Glu 1405	Met Gly Pro Ala 1410
Gly Pro Thr Gly Pro Arg 1415	Gly Phe Pro Gly Pro 1420	Pro Gly Pro Asp 1425
Gly Leu Pro Gly Ser Met 1430	Gly Pro Pro Gly Thr 1435	Pro Ser Val Asp 1440
His Gly Phe Leu Val Thr 1445	Arg His Ser Gln Thr 1450	Ile Asp Asp Pro 1455
Gln Cys Pro Ser Gly Thr 1460	Lys Ile Leu Tyr His 1465	Gly Tyr Ser Leu 1470

Leu Tyr Val Gln Gly Asn Glu Arg Ala His Gly Gln Asp Leu Gly
 1475 1480 1485
 Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Thr Met Pro Phe Leu
 1490 1495 1500
 Phe Cys Asn Ile Asn Asn Val Cys Asn Phe Ala Ser Arg Asn Asp
 1505 1510 1515
 Tyr Ser Tyr Trp Leu Ser Thr Pro Glu Pro Met Pro Met Ser Met
 1520 1525 1530
 Ala Pro Ile Thr Gly Glu Asn Ile Arg Pro Phe Ile Ser Arg Cys
 1535 1540 1545
 Ala Val Cys Glu Ala Pro Ala Met Val Met Ala Val His Ser Gln
 1550 1555 1560
 Thr Ile Gln Ile Pro Pro Cys Pro Ser Gly Trp Ser Ser Leu Trp
 1565 1570 1575
 Ile Gly Tyr Ser Phe Val Met His Thr Ser Ala Gly Ala Glu Gly
 1580 1585 1590
 Ser Gly Gln Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Cys Leu Glu Glu Phe
 1595 1600 1605
 Arg Ser Ala Pro Phe Ile Glu Cys His Gly Arg Gly Thr Cys Asn
 1610 1615 1620
 Tyr Tyr Ala Asn Ala Tyr Ser Phe Trp Leu Ala Thr Ile Glu Arg
 1625 1630 1635
 Ser Glu Met Phe Lys Lys Pro Thr Pro Ser Thr Leu Lys Ala Gly
 1640 1645 1650
 Glu Leu Arg Thr His Val Ser Arg Cys Gln Val Cys Met Arg Arg
 1655 1660 1665

Thr

<210> 46
 <211> 1466
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 46

Met Met Ser Phe Val Gln Lys Gly Ser Trp Leu Leu Leu Ala Leu Leu
 1 5 10 15
 His Pro Thr Ile Ile Leu Ala Gln Gln Glu Ala Val Glu Gly Gly Cys
 20 25 30
 Ser His Leu Gly Gln Ser Tyr Ala Asp Arg Asp Val Trp Lys Pro Glu
 35 40 45
 Pro Cys Gln Ile Cys Val Cys Asp Ser Gly Ser Val Leu Cys Asp Asp

50					55					60					
Ile 65	Ile	Cys	Asp	Asp	Gln 70	Glu	Leu	Asp	Cys	Pro 75	Asn	Pro	Glu	Ile	Pro 80
Phe	Gly	Glu	Cys	Cys 85	Ala	Val	Cys	Pro	Gln 90	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro 95	Thr
Arg	Pro	Pro	Asn 100	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln 105	Gly	Pro	Lys	Gly	Asp 110	Pro	Gly
Pro	Pro	Gly 115	Ile	Pro	Gly	Arg	Asn 120	Gly	Asp	Pro	Gly	Ile 125	Pro	Gly	Gln
Pro	Gly 130	Ser	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly 135	Pro	Pro	Gly	Ile 140	Cys	Glu	Ser	Cys
Pro 145	Thr	Gly	Pro	Gln	Asn 150	Tyr	Ser	Pro	Gln 155	Tyr	Asp	Ser	Tyr	Asp	Val 160
Lys	Ser	Gly	Val	Ala 165	Val	Gly	Gly	Leu	Ala 170	Gly	Tyr	Pro	Gly	Pro 175	Ala
Gly	Pro	Pro	Gly 180	Pro	Pro	Gly	Pro	Pro 185	Gly	Thr	Ser	Gly	His 190	Pro	Gly
Ser	Pro	Gly 195	Ser	Pro	Gly	Tyr	Gln 200	Gly	Pro	Pro	Gly	Glu 205	Pro	Gly	Gln
Ala 210	Gly	Pro	Ser	Gly	Pro	Pro	Gly 215	Pro	Pro	Gly	Ala 220	Ile	Gly	Pro	Ser
Gly 225	Pro	Ala	Gly	Lys	Asp 230	Gly	Glu	Ser	Gly 235	Arg	Pro	Gly	Arg	Pro	Gly 240
Glu	Arg	Gly	Leu	Pro 245	Gly	Pro	Pro	Gly	Ile 250	Lys	Gly	Pro	Ala	Gly 255	Ile
Pro	Gly	Phe	Pro 260	Gly	Met	Lys	Gly	His 265	Arg	Gly	Phe	Asp 270	Gly	Arg	Asn
Gly	Glu	Lys 275	Gly	Glu	Thr	Gly	Ala 280	Pro	Gly	Leu	Lys	Gly 285	Glu	Asn	Gly
Leu 290	Pro	Gly	Glu	Asn	Gly	Ala 295	Pro	Gly	Pro	Met	Gly 300	Pro	Arg	Gly	Ala
Pro 305	Gly	Glu	Arg	Gly	Arg	Pro	Gly	Leu	Pro	Gly 315	Ala	Ala	Gly	Ala	Arg 320
Gly	Asn	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Ser	Asp	Gly 330	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro 335	Gly
Pro	Pro	Gly 340	Thr	Ala	Gly	Phe	Pro	Gly 345	Ser	Pro	Gly	Ala	Lys 350	Gly	Glu
Val	Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Pro	Gly 360	Ser	Asn	Gly	Ala	Pro 365	Gly	Gln	Arg

Gly Glu Pro Gly Pro Gln Gly His Ala Gly Ala Gln Gly Pro Pro Gly
 370 375 380
 Pro Pro Gly Ile Asn Gly Ser Pro Gly Gly Lys Gly Glu Met Gly Pro
 385 390 395 400
 Ala Gly Ile Pro Gly Ala Pro Gly Leu Met Gly Ala Arg Gly Pro Pro
 405 410 415
 Gly Pro Ala Gly Ala Asn Gly Ala Pro Gly Leu Arg Gly Gly Ala Gly
 420 425 430
 Glu Pro Gly Lys Asn Gly Ala Lys Gly Glu Pro Gly Pro Arg Gly Glu
 435 440 445
 Arg Gly Glu Ala Gly Ile Pro Gly Val Pro Gly Ala Lys Gly Glu Asp
 450 455 460
 Gly Lys Asp Gly Ser Pro Gly Glu Pro Gly Ala Asn Gly Leu Pro Gly
 465 470 475 480
 Ala Ala Gly Glu Arg Gly Ala Pro Gly Phe Arg Gly Pro Ala Gly Pro
 485 490 495
 Asn Gly Ile Pro Gly Glu Lys Gly Pro Ala Gly Glu Arg Gly Ala Pro
 500 505 510
 Gly Pro Ala Gly Pro Arg Gly Ala Ala Gly Glu Pro Gly Arg Asp Gly
 515 520 525
 Val Pro Gly Gly Pro Gly Met Arg Gly Met Pro Gly Ser Pro Gly Gly
 530 535 540
 Pro Gly Ser Asp Gly Lys Pro Gly Pro Pro Gly Ser Gln Gly Glu Ser
 545 550 555 560
 Gly Arg Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ser Gly Pro Arg Gly Gln Pro Gly
 565 570 575
 Val Met Gly Phe Pro Gly Pro Lys Gly Asn Asp Gly Ala Pro Gly Lys
 580 585 590
 Asn Gly Glu Arg Gly Gly Pro Gly Gly Pro Gly Pro Gln Gly Pro Pro
 595 600 605
 Gly Lys Asn Gly Glu Thr Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Pro Thr Gly
 610 615 620
 Pro Gly Gly Asp Lys Gly Asp Thr Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Leu
 625 630 635 640
 Gln Gly Leu Pro Gly Thr Gly Gly Pro Pro Gly Glu Asn Gly Lys Pro
 645 650 655
 Gly Glu Pro Gly Pro Lys Gly Asp Ala Gly Ala Pro Gly Ala Pro Gly
 660 665 670
 Gly Lys Gly Asp Ala Gly Ala Pro Gly Glu Arg Gly Pro Pro Gly Leu
 675 680 685

Ala Gly Ala Pro Gly Leu Arg Gly Gly Ala Gly Pro Pro Gly Pro Glu
 690 695 700
 Gly Gly Lys Gly Ala Ala Gly Pro Pro Gly Pro Pro Gly Ala Ala Gly
 705 710 715 720
 Thr Pro Gly Leu Gln Gly Met Pro Gly Glu Arg Gly Gly Leu Gly Ser
 725 730 735
 Pro Gly Pro Lys Gly Asp Lys Gly Glu Pro Gly Gly Pro Gly Ala Asp
 740 745 750
 Gly Val Pro Gly Lys Asp Gly Pro Arg Gly Pro Thr Gly Pro Ile Gly
 755 760 765
 Pro Pro Gly Pro Ala Gly Gln Pro Gly Asp Lys Gly Glu Gly Gly Ala
 770 775 780
 Pro Gly Leu Pro Gly Ile Ala Gly Pro Arg Gly Ser Pro Gly Glu Arg
 785 790 795 800
 Gly Glu Thr Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Phe Pro Gly Ala Pro Gly
 805 810 815
 Gln Asn Gly Glu Pro Gly Gly Lys Gly Glu Arg Gly Ala Pro Gly Glu
 820 825 830
 Lys Gly Glu Gly Gly Pro Pro Gly Val Ala Gly Pro Pro Gly Gly Ser
 835 840 845
 Gly Pro Ala Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Val Lys Gly Glu Arg Gly
 850 855 860
 Ser Pro Gly Gly Pro Gly Ala Ala Gly Phe Pro Gly Ala Arg Gly Leu
 865 870 875 880
 Pro Gly Pro Pro Gly Ser Asn Gly Asn Pro Gly Pro Pro Gly Pro Ser
 885 890 895
 Gly Ser Pro Gly Lys Asp Gly Pro Pro Gly Pro Ala Gly Asn Thr Gly
 900 905 910
 Ala Pro Gly Ser Pro Gly Val Ser Gly Pro Lys Gly Asp Ala Gly Gln
 915 920 925
 Pro Gly Glu Lys Gly Ser Pro Gly Ala Gln Gly Pro Pro Gly Ala Pro
 930 935 940
 Gly Pro Leu Gly Ile Ala Gly Ile Thr Gly Ala Arg Gly Leu Ala Gly
 945 950 955 960
 Pro Pro Gly Met Pro Gly Pro Arg Gly Ser Pro Gly Pro Gln Gly Val
 965 970 975
 Lys Gly Glu Ser Gly Lys Pro Gly Ala Asn Gly Leu Ser Gly Glu Arg
 980 985 990
 Gly Pro Pro Gly Pro Gln Gly Leu Pro Gly Leu Ala Gly Thr Ala Gly

995					1000					1005				
Glu	Pro	Gly	Arg	Asp	Gly	Asn	Pro	Gly	Ser	Asp	Gly	Leu	Pro	Gly
1010						1015					1020			
Arg	Asp	Gly	Ser	Pro	Gly	Gly	Lys	Gly	Asp	Arg	Gly	Glu	Asn	Gly
1025						1030					1035			
Ser	Pro	Gly	Ala	Pro	Gly	Ala	Pro	Gly	His	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly
1040						1045					1050			
Pro	Val	Gly	Pro	Ala	Gly	Lys	Ser	Gly	Asp	Arg	Gly	Glu	Ser	Gly
1055						1060					1065			
Pro	Ala	Gly	Pro	Ala	Gly	Ala	Pro	Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Arg	Gly
1070						1075					1080			
Ala	Pro	Gly	Pro	Gln	Gly	Pro	Arg	Gly	Asp	Lys	Gly	Glu	Thr	Gly
1085						1090					1095			
Glu	Arg	Gly	Ala	Ala	Gly	Ile	Lys	Gly	His	Arg	Gly	Phe	Pro	Gly
1100						1105					1110			
Asn	Pro	Gly	Ala	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Pro	Ala	Gly	Gln	Gln	Gly
1115						1120					1125			
Ala	Ile	Gly	Ser	Pro	Gly	Pro	Ala	Gly	Pro	Arg	Gly	Pro	Val	Gly
1130						1135					1140			
Pro	Ser	Gly	Pro	Pro	Gly	Lys	Asp	Gly	Thr	Ser	Gly	His	Pro	Gly
1145						1150					1155			
Pro	Ile	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Arg	Gly	Asn	Arg	Gly	Glu	Arg	Gly
1160						1165					1170			
Ser	Glu	Gly	Ser	Pro	Gly	His	Pro	Gly	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly
1175						1180					1185			
Pro	Pro	Gly	Ala	Pro	Gly	Pro	Cys	Cys	Gly	Gly	Val	Gly	Ala	Ala
1190						1195					1200			
Ala	Ile	Ala	Gly	Ile	Gly	Gly	Glu	Lys	Ala	Gly	Gly	Phe	Ala	Pro
1205						1210					1215			
Tyr	Tyr	Gly	Asp	Glu	Pro	Met	Asp	Phe	Lys	Ile	Asn	Thr	Asp	Glu
1220						1225					1230			
Ile	Met	Thr	Ser	Leu	Lys	Ser	Val	Asn	Gly	Gln	Ile	Glu	Ser	Leu
1235						1240					1245			
Ile	Ser	Pro	Asp	Gly	Ser	Arg	Lys	Asn	Pro	Ala	Arg	Asn	Cys	Arg
1250						1255					1260			
Asp	Leu	Lys	Phe	Cys	His	Pro	Glu	Leu	Lys	Ser	Gly	Glu	Tyr	Trp
1265						1270					1275			
Val	Asp	Pro	Asn	Gln	Gly	Cys	Lys	Leu	Asp	Ala	Ile	Lys	Val	Phe
1280						1285					1290			

Cys	Asn	Met	Glu	Thr	Gly	Glu	Thr	Cys	Ile	Ser	Ala	Asn	Pro	Leu
	1295					1300					1305			
Asn	Val	Pro	Arg	Lys	His	Trp	Trp	Thr	Asp	Ser	Ser	Ala	Glu	Lys
	1310					1315					1320			
Lys	His	Val	Trp	Phe	Gly	Glu	Ser	Met	Asp	Gly	Gly	Phe	Gln	Phe
	1325					1330					1335			
Ser	Tyr	Gly	Asn	Pro	Glu	Leu	Pro	Glu	Asp	Val	Leu	Asp	Val	Gln
	1340					1345					1350			
Leu	Ala	Phe	Leu	Arg	Leu	Leu	Ser	Ser	Arg	Ala	Ser	Gln	Asn	Ile
	1355					1360					1365			
Thr	Tyr	His	Cys	Lys	Asn	Ser	Ile	Ala	Tyr	Met	Asp	Gln	Ala	Ser
	1370					1375					1380			
Gly	Asn	Val	Lys	Lys	Ala	Leu	Lys	Leu	Met	Gly	Ser	Asn	Glu	Gly
	1385					1390					1395			
Glu	Phe	Lys	Ala	Glu	Gly	Asn	Ser	Lys	Phe	Thr	Tyr	Thr	Val	Leu
	1400					1405					1410			
Glu	Asp	Gly	Cys	Thr	Lys	His	Thr	Gly	Glu	Trp	Ser	Lys	Thr	Val
	1415					1420					1425			
Phe	Glu	Tyr	Arg	Thr	Arg	Lys	Ala	Val	Arg	Leu	Pro	Ile	Val	Asp
	1430					1435					1440			
Ile	Ala	Pro	Tyr	Asp	Ile	Gly	Gly	Pro	Asp	Gln	Glu	Phe	Gly	Val
	1445					1450					1455			
Asp	Val	Gly	Pro	Val	Cys	Phe	Leu							
	1460					1465								

REIVINDICAÇÕES

1. Tetrapeptídeo capaz de induzir a produção das proteínas da matriz extracelular, caracterizado pelo fato de compreender a fórmula GxxG, em que G é glicina e x é um aminoácido variável.

2. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo ainda compreende a fórmula GExG, em que E é ácido glutâmico.

3. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo é a SEQ ID NO: 5 ou a SEQ ID NO: 8.

4. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo ainda compreende a fórmula GxPG, em que P é prolina.

5. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 4, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo é selecionado do grupo consistindo de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5 e SEQ ID NO: 7.

6. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo é amidado nos terminais carbóxi.

7. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que x é selecionado do grupo compreendendo R, L, P, F, Q, E, I, K, S, V, A, N, D, T, Y e G.

8. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a proteína da matriz extracelular é colágeno.

10. Composição, caracterizada pelo fato de compreender pelo menos um tetrapeptídeo da Reivindicação 1 e um

veículo farmacêuticamente aceitável.

11. Composição, de acordo com a Reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o tetrapeptídeo está presente numa concentração eficaz variando de cerca de 0,01 µg/mL até cerca de 100 µg/mL.

12. Composição, de acordo com a Reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o tetrapeptídeo está presente numa concentração eficaz variando de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 1 µg/mL.

13. Composição, de acordo com a Reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que a composição está na forma de um aerossol, emulsão, líquido, loção, creme, pasta, ungüento ou espuma.

14. Método para estimular a produção de colágeno em humanos, o método sendo caracterizado pelo fato de compreender a administração ao referido humano de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição da Reivindicação 9.

15. Método, de acordo com a Reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que a concentração terapeuticamente eficaz está na faixa de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 50 µg/mL do tetrapeptídeo.

16. Método, de acordo com a Reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que a administração ao referido humano de uma quantidade terapeuticamente eficaz da composição promove a cicatrização de feridas ou da pele danificada.

17. Tetrapeptídeo capaz de induzir a produção das proteínas da matriz extracelular, caracterizado pelo fato de compreender a fórmula PxxP, em que P é prolina e x é

um aminoácido variável.

18. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo ainda compreende a fórmula PGxP, em que G é glicina.

5 19. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo é selecionado do grupo consistindo de SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14 e SEQ ID NO: 16.

10 20. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo compreende ainda a fórmula PExP, em que E é ácido glutâmico.

21. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 19, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo é a SEQ ID NO: 1 ou a SEQ ID NO: 9.

15 22. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o tetrapeptídeo é amidado no terminal carbóxi.

20 23. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que x é selecionado do grupo compreendendo R, L, P, F, Q, E, I, K, S, V, A, N, D, T, Y e G.

24. Tetrapeptídeo, de acordo com a Reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a proteína da matriz extracelular é colágeno.

25 25. Composição, caracterizada pelo fato de compreender pelo menos um tetrapeptídeo de acordo com a Reivindicação 16 e um veículo farmacêuticamente aceitável.

30 26. Composição, de acordo com a Reivindicação 24, caracterizada pelo fato de que o tetrapeptídeo está presente numa concentração eficaz variando de cerca de

0,1 µg/mL até cerca de 50 µg/mL.

27. Composição, de acordo com a Reivindicação 24, caracterizada pelo fato de que a composição está na forma de um aerossol, emulsão, líquido, loção, creme, pasta, unguento ou espuma.

28. Método para estimular a produção de colágeno em humanos, o método sendo caracterizado pelo fato de compreender a administração ao referido humano de uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição da reivindicação 24.

29. Método, de acordo com a Reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que a concentração terapêuticamente eficaz está na faixa de cerca de 0,1 µg/mL até cerca de 50 µg/mL de tetrapeptídeo.

30. Método, de acordo com a Reivindicação 27, caracterizado pelo fato de que a administração ao referido humano de uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição promove a cicatrização de feridas da pele danificada.

31. Tetrapeptídeo capaz de incluir a produção de proteínas de matriz extracelular, caracterizado pelo fato de compreender a fórmula PGPR ou GAGP.

MGPRLSVWLL LLPAALLLHE EHSRAAAKGG CAGSGCGKCD CHGVKGQKGE
 RGLPGLQGV GFPGMQGPEG PQGPPGQKGD TGEFGLPGTK GTRGPPGASG
 YPGNPGLPGI PGQDGPPGPP GIPGCNGTKG ERGPLGPPGL PGFAGNPGPP
GLPGMKGDPG EILGHVPGML LKGERGFPGI PCTPGPPGLP GLQGPVGP
FTGPPGPPGP PGPPGEKQOM GLSFQGPCKD KGDQGVSGPP GVPGQAQVQE
 KGDFATKGEK GQKGEPPGFQ MPGVGEKGE GKPGPRGKPG KDGDKEKGS
PGFPGEPPYP GLIGRQGPQG EKGEAGPPGP PGIVIGTGPL GEKGERGYPG
 TPGPRGEPP KGFPLPGQP GPPGLPVPGQ AGAPGFPGER GEKDRGFP
 TSLPGPSGRD GLPGPPGSPG PFGQPGYTNG IVECQPGPPG DQGPPIPGQ
PGFIGEIGEK GQKGESCLIC DIDGYRPPG PQGPPEIGF PGQPGAKGDR
GLPGRDGVAG VPGPGTPTGL IGQPGAKGEP GEFYFDLRLK GDKGDPGFP
QPGMPGRAGS PGRDGHPLP GPKGSPGSVG LKGERGPPGG VGFPGRGDT
GPPGPPGYGP AGPIGDKGQA GFPGPSPG LPKPKGEPGK IVPLPGPPGA
 EGLPGSPGFP GPQDGRGFP TPGRPLPGE KGAVGQPGIG FPGPPGPKGV
 DGLPGDMGPP GTPGRPGFNG LPGNPGVQGO KGEPGVGLPG LKGLPGLPGI
PGTPGEKGS GVPGVPEHG AIGPPGLQGI RGEPPGGLP GSVGSPPVPG
IGPPGARGPP GGQGPPLSG PPGIKGEKGF PGFPGLDMPG PKGDKGAQGL
PGITGQSGLP GLPGQQGAPG IPGFPGSKGE MGVMGTPGQP GSPGPPVAPG
LPGEKGDHGF PGSSGPRGDP GLKGDKGDPG LPKPGSMDK VDMGSMKGQK
 GDQGEKQIG PIGEKGSRGD PGTPGVPGKD GQAGQPGQPG PKGDPGISGT
PGAPGLPGPK GSVGGMGLPG TPGEKGVPGI PGPQSPGLP GDKGAKGEK
QAGPPGIGIP GLRGEKGDQ IAGFPSPGE KGEKSGIGIP GMPGSPGLKG
SPGSPGYPGS PGLPGEKGD GLPGLDGIPG VKGEAGLPET PGPTGPAGQK
GEFGSDGIPG SAGEKGEPL PGRGFPFPG AKGDKGSKGE VGFPGLAGSP
GIPGSKGEQG FMGPPGPGQ PGLPGSPGHA TEGPKGDRGP QGPGLPLP
GPMGPPGLPG IDGVKGDKN PGWPGAPGVP GPKGDPGFQ MPGIGGSPGI
TGSKGDMGPP GVPGFQGP LPGLQGIKGD QGDQGVPGAK GLPGPPGPPG
 PYDIIKGEPP LPGEPPGGL KGLQGLPGPK GQQGVGTGLVG IPGPPGIPGF
 DGAPGQKGE GPAGPTGPRG FPGPPGPDGL PGSMGPPGTP SVDHGFLVTR
 HSQTIDDPQC PSGTKILYHG YSLLYVQNE RAHGQDLGTA GSCLRKFSTM
 PFLFCNINNV CNEFASRNDYS YWLSTPEPMP MSMAPITGEN IRPFISRCV
 CEAPAMVMAV HSQTIQIPPC PSGWSSLWIG YSFVMHTSAG AEGSGQALAS
 PGSCLEEFRS APFIECHGRG TCNYYANAYS FWLATIERSE MFKKPTPSTL
 KAGELRTHVS RCQVCMRRT

FIG. 1

MMSFVQKGSW	LLLALLHPTI	ILAQQEAVEG	GCSHLGQSYA	DRDVWKPEPC
QICVCDSGSV	LCDDIICDDQ	ELDCPNPEIP	FGECCAVCPQ	PPTAPTRPPN
GQGPQGPCKGD	PGPPGIPGRN	GDPGIPGQPG	SPGSPGPPGI	CESCPTGPQN
YSPQYDSYDV	KSGVAVGGLA	GYPGPAGPPG	PPGPPGTSGH	PGSPGSPGYQ
GPPGEPGQAG	PSGPPGPPGA	IGPSGPAGKD	GESGRPGRPG	ERGLPGPPGI
KGPAGIPGFP	GMKGHRGFDG	RNGEKGETGA	PGLKGENGLP	GENGAPGPMG
PRGAPGERGR	PGLPGAAGAR	GNDGARGSDG	QPGPPGPPGT	AGFPSPGAK
GEVGPAGSPG	SNGAPGQRGE	PGPQGHAGAQ	GPPGPPPING	SPGGKGEMGP
AGIPGAPGLM	GARGPPGPAG	ANGAPGLRGG	AGEPGKNGAK	GE <u>PGPR</u> GERG
EAGIPGVPGA	KGEDGKDGSF	GEPGANGLP	AAGERGAPGF	RGPAGPNGIP
GEKGPAGERG	APGPAGPRGA	AGEPGRDGVF	GGPGMRGMPG	SPGGPGSDGK
PGPPGSGQES	GRPGPPGPSG	PRGQPGVMGF	PGPKGNDGAP	GKNGERGGPG
GPGPQGPFGK	NGETGPQGGP	GPTGPGGDKG	DTGPPGPQGL	QGLPGTGGPP
GENGKPGEPG	PKGDAGAPGA	PGGKGDAGAP	GERGPPGLAG	APGLR <u>GAGP</u>
PGPEGGKGA	GPPGPPGAAG	TPGLQGMPGE	RGGLGSPGPK	GDKGEPGGPG
ADGVPGKDG	RGPTGPIGPP	GPAGQPGDKG	EGGAPGLPGI	AGPRGSPGER
GETGPPGPAG	FPGAPGQNGE	PGGKGERGAP	GEKGEPPPG	VAGPPGSGSP
AGPPGPQGVK	GERGSPGGPG	AAGFPGARGL	PGPPGSGNGP	GPPGSGSPG
KDGPPGPAGN	TGAPGSPGVS	GPKGDAGQPG	EKGSPGAQGP	PGAPGPLGIA
GITGARGLAG	PPGM <u>PGPRGS</u>	PGPQGVKGES	GKPGANGLSG	ERGPPGPQGL
PGLAGTAGEP	GRDGNPGSDG	LPGRDGSPPG	KGDRGENGSP	GAPGAPGHPG
PPGPVGPAGK	SGDRGESGPA	GPAGAPGPAG	SRGAPGPQGP	RGDKGETGER
GAAGIKGHRG	FPGNPGAPGS	PGPAGQQGAI	GSPGPAGPRG	PVGPSPGPGK
DGTSGHPGPI	G <u>PPGPRGNRG</u>	ERGSEGSPPH	PGQPGPPGPP	GAPGPCCGGV
GAAAIAGIGG	EKAGGFAPYY	GDEPMDFKIN	TDEIMTSLKS	VNGQIESLIS
PDGSRKNPAR	NCRDLKFCHP	ELKSGEYWVD	PNQGCKLDAI	KVFCNMETGE
TCISANPLNV	PRKHWWTDSS	AEKKHVWFGE	SMDGGFQFSY	GNPELPEDVL
DVQLAFLRL	SSRASQNTY	HCKNSIAYMD	QASGNVKKAL	KLMGSNEGEF
KAEGNSKFTY	TVLEDGCTKH	TGEWSKTVFE	YRTRKAVRLP	IVDIAPYDIG
GPDQEFQVDV	GPVCF			

FIG. 2

MGPRLSVWLL	LLPAALLLHE	EHSRAAAKGG	CAGSGCGKCD	CHGVKQKGE
RGLPGLQGI	GFFPGMQPEG	PQGPPGQKGD	TGEPGLPGTK	GTRGPPGASG
YPGNPGLPGI	PGQDGP <u>PGPP</u>	GIPGCNGTKG	ERGPLGPPGL	PGFAGN <u>PGPP</u>
GLPGMKGDPG	EILGHVPGML	LKGERGFPGI	PGT <u>PGPP</u> GLP	GLQGPVGPFG
FTG <u>PGPP</u> GP	<u>PGPP</u> GEKGQM	GLSFQGPBGD	KGDQGVSGPP	GVFQQAQVQE
KGDFATKGEK	GQKGEFPGFQ	MPGVGEKGEP	GKPGPRGKPG	KDGDKEKGS
PGFPGEPGYP	GLIGRQGPQG	EKGEAG <u>PGP</u>	<u>PGP</u> IVIGTGPL	GEKGERGYPG
TPGPRGEPGP	KGFPGLPGQP	GPPGLPVPGQ	AGAPGFPPGER	GEKGDRGFPG
TSLPGPSGRD	GL <u>PGPP</u> SPG	PPGQPGYTNG	IVECQ <u>PGPP</u> G	DQGPPGIPGQ
PGFIGEIGEK	GQKGESCLIC	DIDGYRPPPG	PQGPPGEIGF	PGQPGAKGDR
GLPGRDGVAG	VPGPQGTPL	IGQPGAKGEP	GEFYFDLRLK	GDKGDPGFPG
QPGMPGRAGS	PGRDGHPLP	GPKGSPGSPG	LKGERGPPGG	VGFPGSRGDT
G <u>PGPP</u> GYGP	AGPIGDKGQA	GFPGGPSPG	LPGPKGEPGK	IVPL <u>PGPP</u> GA
EGLPGSPGFP	GPQGDRGFPG	TPGRPLPGE	KGAVGQPGIG	<u>PGPP</u> GPKGV
DGLPGDMGPP	GTPGRPGFNG	LPGNPGVQGG	KGEPGVGLPG	LKGLPLPGI
PGTPGEKGS	IVPGVPGEHG	AIGPPGLQGI	RGE <u>PGPP</u> GLP	GSVGSPPGVP
IGPPGARGPP	GGQGPPLSG	PPGIKGEKGF	PGFPGLDMPG	PKGDKGAQGL
PGITQSGPL	GLPGQQGAPG	IPGFPGSKGE	MGVMGTPGQP	GSPGPVGAPG
LPGEKGDHGF	PGSSGPRGDP	GLKGDKGDPG	LPGKPGSMDK	VDMGSMKGQK
GDQGEKGQIG	PIGEKGSRGD	PGTPGVPGKD	GQAGQPGQPG	PKGDPGISGT
PGAPGLPGPK	GSVGGMGLPG	TPGEKGVPGI	PGPQGSPLP	GDKGAKGEKG
QAGPPGIGIP	GLRGEKGDQG	IAGFPSPGPE	KGEKGSIGIP	GMPGSPGLKG
SPGSGVGYPGS	PGLPGEKGDG	GLPGLDGIPG	VKGEAGLPGT	PGPTGPAGQK
GEPSGSDGIPG	SAGEKGEPL	PGRGFPGFPG	AKGDKGSKGE	VGFPGLAGSP
GIPGSKGEQG	FMGPPGPQGG	PGLPGSPGHA	TEGPKGDRGP	QGQPLPLPLP
GPMGPPGLPG	IDGVKGDKN	PGWPGAPGVP	GPKGDPGFQG	MPGIGGSPGI
TGSKGDMGPP	GVPGFQGPKG	LPGLQGIKGD	QGDQGVPGAK	GL <u>PGPP</u> PPPG
PYDIIKGEPP	LPGPEGPPGL	KGLQGLPGPK	GQQGVTGLVG	<u>IPGPP</u> GIPGF
DGAPGQKGEM	GPAGPTGPRG	<u>PGPP</u> PGPDGL	PGSMGPPGTP	SVDHGFVLTR
HSQTIDDPQC	PSGTKILYHG	YSLLYVQNE	RAHGQDLGTA	GSCLRKFSTM
PFLFCNINNV	CNFASRNDYS	YWLSTPEPMP	MSMAPITGEN	IRPFISRCV
CEAPAMVMAV	HSQTIQIPPC	PSGWSSLWIG	YSFVMHTSAG	AEGSGQALAS
PGSCLEEFRR	APFIECHGRG	TCNYANAYS	FWLATIERSE	MEKKPTPSTL
KAGELRTHVS	RCQVCMRRT			

FIG. 3

RESUMO

FRAGMENTOS DE PEPTÍDEO PARA INDUZIR A SÍNTESE DE PROTEÍNAS
DE MATRIZ EXTRACELULAR

São revelados tetrapeptídeos biologicamente ativos
5 curtos que são compreendidos das seqüências GxxG e PxxP,
onde G (glicina) e P (prolina) são mantidas e x é um
aminoácido variável. Os peptídeos podem ser usados
individualmente ou em combinação para estimular a produção
de proteínas da matriz extracelular na pele. É revelado um
10 método rápido e barato de produção de formulações
heterogêneas de tetrapeptídeos.