



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I815337 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：111108172

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 12 月 02 日

(51)Int. Cl. : *A61K8/64 (2006.01)* *A61K38/04 (2006.01)*
A23L33/18 (2016.01) *C07K7/00 (2006.01)*
A61Q19/08 (2006.01) *A61P17/00 (2006.01)*
A61P17/18 (2006.01)

(30)優先權：2019/07/08 美國 62/871,216
2019/07/08 美國 62/871,260

(71)申請人：大江生醫股份有限公司 (中華民國) TCI CO., LTD. (TW)

臺北市內湖區港墘路 187 號 8 樓

(72)發明人：林詠翔 LIN, YUNG-HSIANG (TW)；王玉玲 WANG, YU-LING (TW)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

網路文獻 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/ACJ22651.1> (NCBI
GenBank ACCESSION No. ACJ22651)

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：8 項 圖式數：18 共 39 頁

(54)名稱

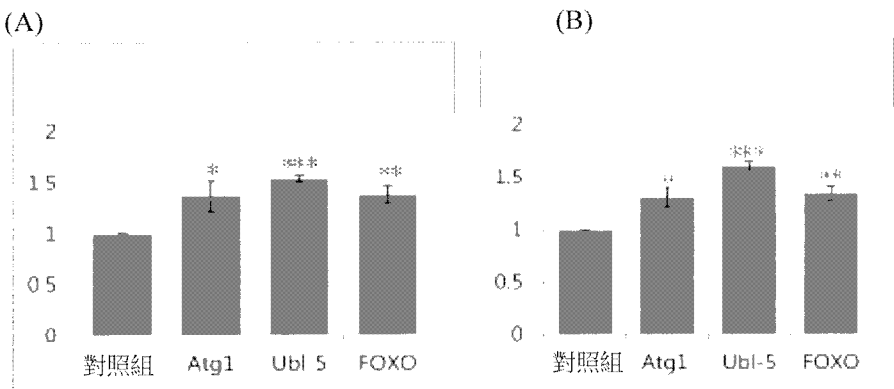
衍生自章魚生物來源之生物模擬肽及其延遲老化及改善皮膚之用途

(57)摘要

本發明提供包含具有四個胺基酸之主結構的肽，其中該序列 N 端及 C 端之該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的帶正電之側鏈，且該主結構之 N 端與 C 端之間的該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的不帶電之側鏈。本發明意外地發現，此等肽在抑制或減少膠原蛋白分解、增加膠原蛋白、彈性蛋白及/或玻尿酸產生、延遲老化、改善皮膚及抑制炎症方面具有有利作用。

The present disclosure provides peptides comprising a motif having four amino acids, wherein each of the amino acids at N-terminus and C-terminus of the sequence independently has a same or different positively charged side chain, and each of the amino acids between the N-terminal and C-terminal of the motif independently has a same or different uncharged side chain. The present disclosure surprisingly found that these peptides have advantageous effects in inhibiting or decreasing collagen breakdown, increasing production of collagen, elastin and/or hyaluronic acid, retarding aging, improving skin and inhibiting inflammation.

指定代表圖：



【圖2】



I815337

【發明摘要】

【中文發明名稱】

衍生自章魚生物來源之生物模擬肽及其延遲老化及改善皮膚之用途

【英文發明名稱】

BIOMIMETIC PEPTIDES DERIVED FROM OCTOPUS
BIOLOGICAL SOURCE AND THEIR USES IN RETARDING AGING
AND IMPROVING SKIN

【中文】

本發明提供包含具有四個胺基酸之主結構的肽，其中該序列N端及C端之該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的帶正電之側鏈，且該主結構之N端與C端之間的該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的不帶電之側鏈。本發明意外地發現，此等肽在抑制或減少膠原蛋白分解、增加膠原蛋白、彈性蛋白及/或玻尿酸產生、延遲老化、改善皮膚及抑制炎症方面具有有利作用。

【英文】

The present disclosure provides peptides comprising a motif having four amino acids, wherein each of the amino acids at N-terminus and C-terminus of the sequence independently has a same or different positively charged side chain, and each of the amino acids between the N-terminal and C-terminal of the motif independently has a same or different uncharged side chain. The present disclosure surprisingly found that these peptides have advantageous effects in inhibiting or decreasing collagen breakdown, increasing production of collagen, elastin and/or hyaluronic

acid, retarding aging, improving skin and inhibiting inflammation.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

衍生自章魚生物來源之生物模擬肽及其延遲老化及改善皮膚之用途

【英文發明名稱】

BIOMIMETIC PEPTIDES DERIVED FROM OCTOPUS
BIOLOGICAL SOURCE AND THEIR USES IN RETARDING AGING
AND IMPROVING SKIN

【技術領域】

【0001】 本發明係關於衍生自章魚生物來源之肽。詳言之，本發明係關於具有特定主結構之肽及其應用，諸如抑制或減少膠原蛋白分解、增加膠原蛋白、彈性蛋白及/或玻尿酸產生、延遲老化、改善皮膚及抑制炎症。

【先前技術】

【0002】 老化通常定義為隨年齡推進發生於細胞及組織中之不同有害變化的積累，其導致疾病及死亡風險的增加。老化過程為影響體內所有系統之動態及不可變的現象。在老化過程期間，真皮會經歷顯著變化。膠原蛋白是為胞外基質(ECM)之主要組分，其會變得片段化且粗糙地分佈，且其總量降低。

【0003】 肽具有重要信號功能且協調許多生物化學過程；因此肽廣泛應用於醫藥及化妝品行業中。US 20180360720係關於抗老化肽，其具有ProAspSerThrGluAlaLys(SEQ ID NO:16)之胺基酸序列。US 20190153030揭示包含3至10個包括至少一個肽序列K*(Ac)GH之胺基酸的肽及該等肽之化妝品用途。US 20190112336提供由15個或更少胺基酸組成之肽用於皮膚再生或

創傷癒合。US 20190040100提供一種具有藉由抑制MMP2活性來改善皮膚狀況之活性的肽。

【0004】 仍需要開發能夠延遲老化之肽。

【發明內容】

【0005】 在一個態樣中，本發明提供一種肽或其鹽，其包含具有四個胺基酸之序列，其中處於該序列之N端及C端處的該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的帶正電之側鏈，且主結構之N端與C端之間的該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的不帶電之側鏈。

【0006】 在本發明之一個實施例中，該肽之序列由式I表示： X_1 - X_2 - X_3 - X_4 (SEQ ID NO:1)，其中 X_1 選自具有帶正電之側鏈的胺基酸； X_2 選自具有不帶電之側鏈的胺基酸； X_3 選自具有不帶電之側鏈的胺基酸；及 X_4 選自具有帶正電之側鏈的胺基酸； 在一些其他實施例中， X_1 為K、R或H； X_2 及 X_3 各獨立地為T、A、I、C、S、G、Y、F、P或N；及 X_4 為K、R或H。在一些其他實施例中， X_1 為K或R； X_2 及 X_3 各獨立地為T、C、S、G、Y、I、F、P、N或A；及 X_4 為K或R。在其他實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:2 (RTCK)、SEQ ID NO:3 (KSGR)、SEQ ID NO:4 (KSGK)、SEQ ID NO:5 (KYIK)、SEQ ID NO:6 (KIFK)、SEQ ID NO:7 (RPIK)或SEQ ID NO:8 (KNAK)中。

【0007】 在本發明之一些實施例中，該式I之序列進一步包含在其N端上游或在其C端下游之一至四個額外胺基酸殘基。

【0008】 在一個實施例中，該式I之序列進一步包含在其N端上游或在其C端下游之一個額外胺基酸殘基，其中該胺基酸殘基具有不帶電之側鏈。在另一實施例中，該胺基酸殘基為L、F或P。在另一實施例中，該序

列闡述於SEQ ID NO:9 (LKSGR)、SEQ ID NO:10 (KIFKF)或SEQ ID NO:11 (PRPIK)中。

【0009】 在一個實施例中，該式I之序列進一步包含在其N端上游之一個額外胺基酸殘基及在其C端下游之一個額外胺基酸殘基，其中該額外胺基酸殘基具有不帶電之側鏈。在另一實施例中，該額外胺基酸殘基為T、F、V或Y。在另一實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:12 (TKSGKF)或SEQ ID NO:13 (VKNAKY)中。

【0010】 在一個實施例中，該式I之序列進一步包含在其N端上游之三個額外胺基酸殘基，其中自5'至3'方向，第一個為具有不帶電之側鏈的胺基酸殘基且第二個及第三個為具有帶正電之側鏈的胺基酸殘基。在另一實施例中，具有不帶電之側鏈的胺基酸殘基為Q且具有帶正電之側鏈的胺基酸殘基各獨立地為K或R。在又另一實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:14 (QKRRTCK)中。

【0011】 在一個實施例中，該式I之序列進一步包含在其N端上游之三個額外胺基酸殘基及在其C端下游之一個額外胺基酸殘基，其中該等胺基酸殘基具有不帶電之側鏈。在另一實施例中，具有不帶電之側鏈的胺基酸殘基各獨立地為Q、R、I或P。在另一實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:15 (QRIKYIKP)中。

【0012】 在一些其他實施例中，該肽包含選自由SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:15組成之群的序列

【0013】 在本發明中，該肽可為D型肽或L型肽，或僅一部分該序列由D型肽或L型肽或其外消旋形式組成之肽。

【0014】 在另一態樣中，本發明提供一種組合物，其包含本發明之

肽及至少一種載劑、稀釋劑或賦形劑。在一些實施例中，組合物為醫藥組合物、化妝品組合物或膳食補充劑。在一個實施例中，該化妝品組合物為用於面膜之溶液。

【0015】 在本發明之另一態樣中，本發明提供用於在個體內抑制或減少膠原蛋白分解及/或增加膠原蛋白合成之方法，該方法包含向該個體投與或施用本發明之肽。在一個實施例中，膠原蛋白為膠原蛋白I及/或膠原蛋白IV。在另一實施例中，該肽可抑制基質金屬肽酶-1之表現。

【0016】 在另一態樣中，本發明提供一種用於在個體內增加彈性蛋白及/或玻尿酸之產生的方法，其包含向該個體投與或施用本發明之肽。

【0017】 在又一態樣中，本發明提供一種用於在個體內延遲老化的方法，其包含向該個體投與或施用本發明之肽。

【0018】 在一個實施例中，該肽可增加端粒酶之產生，改善DNA修復及/或增加抗氧化作用。

【0019】 在一個實施例中，該肽可增加抗氧化基因之表現。在另一實施例中，該肽可增加超氧化歧化酶(SOD)及/或玻尿酸合成酶之產生。

【0020】 在一不同實施例中，該肽可增加保濕相關基因之表現。

【0021】 在本發明之另一態樣中，本發明提供一種用於改善皮膚之方法，其包含向個體投與或施用本發明之肽。在一個實施例中，皮膚之改善包括修復皮膚缺陷。皮膚缺陷之實例包括但不限於：皮膚紋理不佳、皺紋、細紋、UV誘發之皮膚損傷、皮膚老化、乾燥皮膚、毛囊惡化、禿髮、皮膚炎、濕疹、皮疹、搔癢、曬傷、燒傷、妊娠紋、痤瘡疤痕、手術疤痕、膠原蛋白含量減少、彈性蛋白含量減少、皮膚下垂、糖尿病性神經病、硬化-開裂之皮膚及硬化開裂之足跟組織。

【0022】 在又另一態樣中，本發明提供一種用於在個體內抑制炎症的方法，其包含向該個體投與或施用本發明之肽。

【圖式簡單說明】

【0023】 圖1(A)至(G)展示Latrol-5 (A)、Latrol-6 (B)、Hapa-5 (C)、Hapa-6 (D)、Chiro-5 (E)、Chiro-8 (F)及Heter-7 (G)之質譜。

【0024】 圖2(A)及(B)分別展示與對照組(Con)相比，Hapa-5 (25 µg/ml) (A)及Hapa-6 (12.5 µg/ml) (B)在24小時及6小時內增加抗老化基因(Atg1, Ubl-5及FOXO)之表現。

【0025】 圖3(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Hapa-5 (12.5 µg/ml) (A)及Hapa-6 (12.5及25 µg/ml) (B)在24小時內增加端粒酶基因(TERC)之表現。

【0026】 圖4(A)及(B)分別展示與對照組(Con)相比，Hapa-5 (12.5 µg/ml) (A)及Hapa-6 (12.5及25 µg/ml) (B)在24小時及6小時內增加DNA修復基因(ERCC1)之表現。

【0027】 圖5(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Hapa-5 (A)及Hapa-6 (25 µg/ml) (B)增加保濕相關基因(ELG -F及GBA)之表現。

【0028】 圖6(A)及(B)分別展示與對照組(Con)相比，Hapa-5 (A)在6小時內增加膠原蛋白IV基因(COL4A1)、彈性蛋白基因(ELN)及TIMP1之表現及Hapato 6 (B)在24小時內增加膠原蛋白I基因(COL1A2)、在6小時內增加彈性蛋白基因(ELN)及在6小時內增加TIMP1之表現。

【0029】 圖7(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Hapa-5 (25 µg/ml) (A)及Hapa-6 (12.5 µg/ml) (B)在24小時內抑制與膠原蛋白分解有關之基因(MMP-1)之表現。

【0030】圖8(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Latrol-5 (25 $\mu\text{g/ml}$) 在6小時內增加抗老化基因(NADSYN、CCT2及CCT8)之表現(A)及Latrol-6 (25 $\mu\text{g/ml}$) 在24小時內增加抗老化基因(NADSYN、Atg1、MRPS5)之表現。

【0031】圖9(A)及(B)分別展示與對照組(Con)相比，Latrol-5 (A)及Latrol-6 (B)在24小時及6小時內增加端粒酶基因(TERC)之表現。

【0032】圖10(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Latrol-5在6小時內增加DNA修復基因(XRCC5及/或MSH6)之表現(A)及Latrol-6在6小時或24小時內增加DNA修復基因(UNG及MSH6)之表現(B)。

【0033】圖11(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Latrol-6(25 $\mu\text{g/ml}$) 在24小時內增加膠原蛋白I基因(COL1A1)、膠原蛋白IV基因(COL4A1)及彈性蛋白基因(ELN)之表現(A)及在6小時內增加SMPD1(保濕相關基因)及/或HAS2之表現(B)。

【0034】圖12(A)及(B)展示與對照組(Con)相比，Latrol-5(25 $\mu\text{g/ml}$) 在6小時內增加膠原蛋白I基因(COL1A2)之表現，同時在6小時內抑制與膠原蛋白分解相關之基因(MMP1)之表現(B)。

【0035】圖13(A)至(D)展示與對照組(Con)相比，Heter-7 (25 $\mu\text{g/ml}$) 在12小時內增加抗老化基因(Atg1及Ubl5)之表現(A)、在12小時內增加端粒酶基因(TERC)之表現(B)及增加DNA修復基因(ERCC1及XRCC5)之表現(C)及增加抗氧化基因SOD2之表現(D)。

【0036】圖14(A)至(C)展示與對照組(Con)相比，Heter-7在12小時內增加膠原蛋白I基因(12.5 $\mu\text{g/ml}$)之表現(A)及增加TIMP1基因(25 $\mu\text{g/ml}$)之表現(B)，同時在12小時內抑制MMP1(2.5 $\mu\text{g/ml}$)(C)。

【0037】 圖15(A)及(B)分別展示與對照組(Con)相比，Chiro-8 (12.5 $\mu\text{g/ml}$) (A)及Chiro-5 (12.5 $\mu\text{g/ml}$) (B)在24小時內增加抗老化基因(NADSYN、MRPS5、Ubl-5及/或FOXO)之表現。

【0038】 圖16展示Chiro-8在24小時內抑制消炎因子IL-6之表現。

【0039】 圖17(A)至(C)展示與對照組(Con)相比，Chiro-8 (12.5 $\mu\text{g/ml}$ 及25 $\mu\text{g/ml}$)在24小時內增加保濕相關基因(SMPD1)之表現(A)及Chiro-8 (12.5 $\mu\text{g/ml}$)增加膠原蛋白I基因(COLA1)、膠原蛋白IV基因(COL4A1)及彈性蛋白基因(ELN)之表現(B)，同時在24小時內抑制MMP1之表現(C)。

【0040】 圖18(A)至(B)展示與對照組(Con)相比，Chiro-5 (25 $\mu\text{g/ml}$)增加膠原蛋白I基因(COL1A2)之表現(A)，同時抑制MMP1之表現(B)。

【實施方式】

【0041】 除非另外定義，否則本文中所使用之所有技術及科學術語皆具有如一般熟習此項技術者通常所理解之相同含義。儘管類似或等效於本文中所描述之彼等方法及材料可用於實踐或測試本發明，但適合之方法及材料如下文所描述。本文中所提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以全文引用之方式併入。另外，材料、方法及實例僅為說明性且並不意欲為限制性。

【0042】

定義

除非上下文另外清楚指示，否則單數形式「一(a)」、「一(an)」及「該」在本文中用於包括複數個指示物。

【0043】如本文中所使用之短語「及/或」應理解為意謂要素中之「任一者或兩者」。如本文中所使用，「或」應理解為具有與如上文所定義之「及/或」之相同含義。

【0044】如本文中所使用，「肽」指含有複數個胺基酸殘基(諸如天然存在及/或非天然胺基酸殘基)的單鏈聚醯胺，其經醯胺鍵連續結合。肽之實例包括全長蛋白質，諸如全長天然存在之蛋白質之較短片段。胺基酸為此項技術中所熟知且包括例如：異白胺酸、白胺酸、丙胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、離胺酸、天冬胺酸、麩胺酸、甲硫胺酸、半胱胺酸、苯丙胺酸、蘇胺酸、色胺酸、甘胺酸、纈胺酸、脯胺酸、絲胺酸、酪胺酸、精胺酸、組胺酸、正白胺酸、鳥胺酸、牛磺酸、硒半胱胺酸、硒甲硫胺酸、羊毛硫胺酸、2-胺基異丁酸、去氫丙胺酸、羥腐胺離胺酸、瓜胺酸、3-胺基丙酸、 γ -胺基丁酸、硝基精胺酸、N-甲基化白胺酸、高精胺酸、二甲基精胺酸、乙醯基離胺酸、氮雜離胺酸、吡咯離胺酸及類似者。「胺基酸側鏈」指區分一個胺基酸與另一個之各種有機取代基。具有疏水性不帶電之側鏈的胺基酸包括丙胺酸(A)、異白胺酸(I)、白胺酸(L)、甲硫胺酸(M)、苯丙胺酸(F)、色胺酸(W)、酪胺酸(Y)及纈胺酸(V)之非限制性實例。具有極性不帶電之側鏈的胺基酸包括絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)、天冬醯胺(N)及麩醯胺酸(Q)之非限制性實例。在典型生理學條件下，具有帶正電之側鏈的胺基酸包括精胺酸(R)、組胺酸(H)及離胺酸(K)之非限制性實例。在典型生理學條件下，具有帶負電之側鏈的胺基酸包括天冬胺酸(D)及麩胺酸(E)之非限制性實例。胺基酸側鏈之「衍生物」指已經結構上修飾(例如經由化學反應形成新物種、共價連接至另一分子及類似者)之胺基酸側鏈。

【0045】如本文中所使用，術語「胺基酸殘基」可衍生自天然或非

天然 α -胺基酸且在光學活性材料可能存在之情況下可為L型或D型，但L型為較佳的。

【0046】如本文中所使用，術語「個體」、「個人」及「患者」為可互換的且指接受針對如本文中所描述之特定疾病或病狀之應用或治療的生物體。

【0047】如本文中所使用，術語「醫藥學上可接受之載劑」指醫藥調配物中除活性成分之外的成分，其對於個體為無毒性的。醫藥學上可接受之載劑包括但不限於緩衝液、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0048】如本文中所使用，如本文中所使用之術語「皮膚病學上可接受」意謂所描述之該組合物或組分適用於與人類皮膚組織接觸。

【0049】如本文中所使用，在投藥之情形下，藥劑之術語「有效量」指在必需劑量/量下及必需持續時段有效以達成所需結果之量。

【0050】如本文中所使用，藥劑之術語「治療有效量」指在必需劑量下且必需持續時段有效以達成所需治療結果(諸如用於治療疾病、病狀或病症)及/或治療之藥物動力學作用或藥物效力動力學作用之量。

【0051】

本發明之肽

本發明提供衍生自來自水母(諸如*Chironex fleckeri*)、海葵(諸如*Heteractis magnifica*)、蜘蛛(諸如*Latrodectus mactans*)或章魚(諸如*Hapalochlaena maculosa*)之有毒蛋白質之合成肽。本發明之合成肽包含胺基酸序列，其可為天然存在的，或四個胺基酸(4-聚體)、五個胺基酸(5-聚體)、六個胺基酸(6-聚體)、七個胺基酸(7-聚體)或八個胺基酸(8-聚體)之肽模擬物、肽類似物及/或合成衍生物。

【0052】 本發明意外地發現，包含具有四個胺基酸之主結構的肽在抑制或減少膠原蛋白分解、增加膠原蛋白、彈性蛋白及/或玻尿酸產生、延遲老化、改善皮膚及抑制炎症方面具有有利作用。在具有四個胺基酸之主結構中，處於序列之N端及C端處的該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的帶正電之側鏈，且該主結構之N端與C端之間的該等胺基酸中之各者獨立地具有相同或不同的不帶電之側鏈。

【0053】 在一個實施例中，該4-聚體主結構序列具有以下式I：X₁-X₂-X₃-X₄ (SEQ ID NO:1)，其中X₁選自具有帶正電之側鏈的胺基酸；X₂選自具有不帶電之側鏈的胺基酸；X₃選自具有不帶電之側鏈的胺基酸；及X₄選自具有帶正電之側鏈的胺基酸。較佳地，X₁為K、R或H；X₂及X₃各獨立地為T、A、I、C、S、G、Y、F、P或N；及X₄為K、R或H；在一些其他實施例中，X₁為K或R；X₂及X₃各獨立地為T、C、S、G、Y、I、F、P、N或A；及X₄為K或R。在其他實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:2 (RTCK)、SEQ ID NO:3 (KSGR)、SEQ ID NO:4 (KSGK)、SEQ ID NO:5 (KYIK)、SEQ ID NO:6 (KIFK)、SEQ ID NO:7 (RPIK)或SEQ ID NO:8 (KNAK)中。

【0054】 此外，4-聚體主結構序列可進一步包含在其N端上游或在其C端下游之一至四個額外胺基酸殘基以形成5-聚體、6-聚體、7-聚體或8-聚體主結構序列。

【0055】 為了形成5-聚體主結構序列，可在在其N端上游或在其C端下游處向4-聚體主結構序列中添加一個額外胺基酸殘基。較佳地，該額外胺基酸殘基具有不帶電之側鏈。在一些實施例中，該胺基酸殘基為L、F或P。在另一實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:9 (LKSGR)、SEQ ID

NO:10 (KIFKF)或SEQ ID NO:11 (PRPIK)中。

【0056】 為了形成6-聚體主結構序列，4-聚體主結構序列進一步包含在其N端上游之一個額外胺基酸殘基及在其C端下游之一個額外胺基酸殘基。較佳地，該額外胺基酸殘基具有不帶電之側鏈。在一些實施例中，該額外胺基酸殘基為T、F、V或Y。在另一實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:12 (TKSGKF)或SEQ ID NO:13 (VKNAKY)中。

【0057】 為了形成7-聚體主結構序列，4-聚體主結構序列進一步包含在其N端上游之三個額外胺基酸殘基，其中自5'至3'方向，第一個為具有不帶電之側鏈的胺基酸殘基且第二個及第三個為具有帶正電之側鏈的胺基酸殘基。較佳地，具有不帶電之側鏈的胺基酸殘基為Q且具有帶正電之側鏈的胺基酸殘基各獨立地為K或R； 在一些實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:14 (QKRRTCK)中。

【0058】 為了形成8-聚體主結構序列，4-聚體主結構序列進一步包含在其N端上游之三個額外胺基酸殘基及在其C端下游之一個額外胺基酸殘基，其中該等胺基酸殘基具有不帶電之側鏈。在一些實施例中，具有不帶電之側鏈的胺基酸殘基各獨立地為Q、R、I或P。在另一實施例中，該序列闡述於SEQ ID NO:15 (QRIKYIKP)中。

【0059】 該肽可為D型肽或L型肽，或僅一部分該序列由D型肽或L型肽或其外消旋形式組成之肽。

【0060】 肽序列內胺基酸之取代基可選自胺基酸所屬之類別之其他成員。例如，非極性(疏水性)胺基酸包括：丙胺酸、白胺酸、異白胺酸、纈胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、色胺酸及甲硫胺酸。含有芳環結構之胺基酸包括：苯丙胺酸、色胺酸及酪胺酸。極性中性胺基酸包括：甘胺酸、絲胺

酸、蘇胺酸、半胱胺酸、酪胺酸、天冬醯胺及麩醯胺酸。帶正電(鹼性)之胺基酸包括精胺酸及離胺酸。帶負電(酸性)之胺基酸包括天冬胺酸及麩胺酸。

【0061】 根據本發明之肽之N端的結構不受特別限制，且例如可為氫原子之結構(即未經修飾)或藉由習知已知方法引入修飾基的結構。根據本發明之肽之C端的結構亦不受特別限制，且可為經一般用於保護羧酸之保護基修飾的結構。

【0062】 除非另外指出，否則根據習知表示本文中所描述之胺基酸序列以自N端(胺基端)側至C端(羧基端)側之方向描述。

【0063】 根據本發明之肽可藉由包括化學合成方法及重組技術之習知已知方法產生。對於藉由化學合成產生肽，可藉由通常使用在肽化學物質中之各胺基酸之方法產生肽。肽亦可藉由液相方法及固相方法中之任一者產生。此外，亦可使用管柱法及分批方法之任何方法。

【0064】 根據本發明之肽亦可例如藉由如在分子生物學中之實驗室指南中所描述之方法或使用動物細胞、昆蟲細胞、微生物或其類似物之重組技術產生。肽藉由培養細胞或微生物產生，且隨後可藉由習知已知方法純化。肽之純化及分離方法在本領域中已知。

【0065】

組合物及應用

根據本發明之肽可增加膠原蛋白產生、抑制基質金屬肽酶-1之表現、增加端粒酶之產生、改善DNA修復，增加超氧化歧化酶(SOD)及/或玻尿酸合成酶之產生，增加抗氧化作用及/或增加抗老化基因、膠原蛋白基因及/或彈性蛋白基因之表現。因此，本發明之肽可抑制或減少膠原蛋

白分解及/或增加膠原蛋白合成、增加彈性蛋白及/或玻尿酸產生、延遲老化、改善皮膚及/或抑制炎症。

【0066】 在改善皮膚的態樣中，改善包括修復皮膚缺陷。皮膚缺陷之實例包括但不限於：皮膚紋理不佳、皺紋、細紋、UV誘發之皮膚損傷、皮膚老化、乾燥皮膚、毛囊惡化、禿髮、皮膚炎、濕疹、皮疹、搔癢、曬傷、燒傷、妊娠紋、痤瘡疤痕、手術疤痕、膠原蛋白含量減少、彈性蛋白含量減少、皮膚下垂、糖尿病性神經病、硬化-開裂之皮膚及硬化開裂之足跟組織。

【0067】 根據本發明之肽可經至少一種載劑、稀釋劑或賦形劑調配成組合物。該組合物可為醫藥組合物、化妝品組合物或膳食補充劑。

【0068】 關於醫藥組合物，併入醫藥學上可接受之載劑、賦形劑及稀釋劑，其為熟習此項技術者所熟悉的。關於調配為液體溶液之組合物，可接受之載劑及/或稀釋劑包括生理鹽水及無菌水，且可視情況包括抗氧化劑、緩衝劑、抑菌劑及其他常見添加劑。組合物亦可調配為丸劑、膠囊、顆粒或錠劑，除本發明化合物以外其含有稀釋劑、分散劑及界面活性劑、黏合劑及潤滑劑。熟習此項技術者可進一步以適當方式且根據可接受之實踐調配本發明之化合物，諸如Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. 1990中所揭示之彼等內容。在一些實施例中，本發明之肽可局部投與、經皮(內)投與或透皮投與至皮膚或黏膜。典型調配物包括：凝膠、水凝膠、乳劑、溶液、乳霜、軟膏、敷料、泡沫劑、皮膚貼片、晶圓、植入物及微乳液。本發明之化合物亦可經由吸入或鼻內投與，諸如經乾粉、氣溶膠噴霧劑或以滴劑形式投與。本發明化合物之其他投與途徑包括陰道內及直腸(藉助於栓劑、

子宮托或灌腸劑)，及眼部及耳部。

【0069】 本發明之肽可包括於適用於施用至皮膚之任何調配物中。皮膚病學上可接受之載劑應安全地用於與人類皮膚組織接觸。適合之載劑可包括水及/或水可混溶性溶劑。適合之水可混溶性溶劑包括：一元醇、二元醇、多元醇、甘油、二醇、諸如聚乙二醇之聚伸烷二醇及其混合物。當皮膚護理組合物呈乳液形式時，水及/或水可混溶性溶劑為典型與水相關之載劑。適合之載劑亦包括油，其可用於溶解、分散或攜載不適合於水或水溶性溶劑之材料。適合之油包括矽酮、烴、酯、醯胺、醚及其混合物。油可為揮發性或非揮發性的。

【0070】 本發明之肽可調配為：呈軟膏、乳霜、乳劑、搽劑或其他可展塗液體或半液體製劑形式之局部用組合物；溶液；分散液；乳液，諸如微乳液、水包油乳液或油包水乳液；懸浮液；凝膠；脂質體；可噴塗組合物；氣溶膠；膜；粉末；洗滌劑；洗髮劑等。在一個實施例中，化妝品調配物為用於面膜之溶液。

【0071】 如上文所提及，組合物可呈乳液形式。乳霜及乳劑通常為呈乳液形式之組合物之實例。乳液為包含至少兩種不可混溶之液相(油相及水相)之分散系統，一種相分散於另一種相中。通常包括乳化劑以改良物理穩定性。

【0072】 如上文所提及，組合物可呈懸浮液形式。懸浮液之實例為分散液、軟膏、搽劑、噴霧劑及氣溶膠。

【0073】 如上文所提及，組合物可呈凝膠或水凝膠形式。凝膠典型地含有可膨脹聚合物，如纖維素或纖維素衍生物(如本文中先前提及之彼等衍生物)、果膠、海藻酸鹽、黃芪、卡波姆、聚乙烯醇、明膠、基於丙

烯酸酯之聚合物等。

【0074】 如上文所提及，組合物可呈軟膏形式，該軟膏為含有極少水(若存在)之油性半固體。通常，軟膏具有烴鹼，諸如蠟、石蠟脂或膠化礦物油。

【0075】 本發明之組合物亦可含有一或多種添加劑，諸如pH調節劑、緩衝劑、黏度調節劑、香精、抗氧化劑、保濕劑、防腐劑、穩定劑等。

【0076】

實例

雖然以下實例提供本發明之某些態樣及實施例的進一步詳細描述，但其應視為僅說明性的且不得以任何方式限制至申請專利範圍之範疇。

【0077】 實例1本發明之肽之製備

【0078】 使用Fmoc固相肽合成製備本發明之肽。Fmoc化學方法為此項技術中所熟知，其在1970年代末由Eric Atherton及Bob Sheppard於劍橋之分子生物實驗室研發且已由Chan及White綜述(Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis - A Practical Approach.Oxford University Press,2000)。

【0079】 以下Fmoc胺基酸用於 Latrol-5 (LKSGR; SEQ ID NO:9)：Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Ser-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH及Fmoc-Leu-OH。

【0080】 以下Fmoc胺基酸用於 Latrol-6 (TKSGKF; SEQ ID NO:12)：Fmoc-Phe-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Gly-OH、Fmoc-Ser-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH及Fmoc-Thr-OH。

【0081】 以下Fmoc胺基酸用於 Hapa-5 (PRPIK; SEQ ID NO:11) : Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH 及Fmoc-Pro-OH。

【0082】 以下Fmoc胺基酸用於Hapa-6 (VKNAKY; SEQ ID NO:13) : Fmoc-Tyr(But)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Ala-OH、Fmoc-Asn(Trt)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH及Fmoc-Val-OH。

【0083】 以下Fmoc胺基酸用於Chiro-5 (KIFKF; SEQ ID NO:10) : Fmoc-Phe(Boc)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Phe(Boc)-OH、Fmoc-Ile-OH及Fmoc-Lys(Boc)-OH。

【0084】 以下Fmoc胺基酸用於Heter-7 (QKRRTCK; SEQ ID NO:14) : Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Cys(Trt)-OH、Fmoc-Thr-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH及Fmoc-Glu(O-t-Bu)-OH。

【0085】 以下Fmoc胺基酸用於Chiro-8 (QRIKYIKP; SEQ ID NO:15) : Fmoc-Pro-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Tyr(But)-OH、Fmoc-Lys(Boc)-OH、Fmoc-Ile-OH、Fmoc-Arg(pbf)-OH 及Fmoc-Glu(O-t-Bu)-OH。

【0086】 在室溫下使用含哌啶之二甲基甲醯胺(DMF)溶液執行Fmoc移除30分鐘。經Fmoc保護之胺基酸單元之偶合藉由在室溫下使用1-甲基-2-吡咯啉酮(NMP)經(O-(7-氮雜苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸根(HATU)活化40分鐘來進行。

【0087】 隨後將Fmoc胺基酸(1 g)、HATU (1 g於NMP中)及N,N-二異丙基乙胺(DIEA)(3 mol/L)與樹脂人工混合。對於各偶合重複此程序兩

次。在合成完成後，使肽樹脂經受裂解混合液2 h。過濾樹脂且在經冷凝之空氣流下吹掉合併之濾液。用冷乙醚濕磨粗產物，得到白色懸浮液，將其離心，且隨後傾析乙醚。使用C18管柱(Gemini-NX C-18 110Å (Phenomenex, 250×4.6 mm, 5 μm))、緩衝溶液A(含0.1% TFA之100%水)及緩衝溶液B(含0.1% TFA之ACN)對剩餘固體進行HPLC純化。在HPLC純化中使用1.0 ml/min之溶離速率及30分鐘溶離時間。使用Hitachi 5410 UV偵測器在210至280 nm之波長下偵測肽。所得經純化之肽具有超過95%之純度。隨後使經純化之肽經受質譜儀(Agilent-6125B系統)且結果展示於圖1(A)至(G)中。

【0088】 實例2 對增加基因之表現之分析

【0089】 人類纖維母細胞細胞株(CCD-966SK)用來分析受本發明之肽影響之基因表現。將 1×10^5 個纖維母細胞接種且在含有2 ml X-VIVOTM 10培養基之6孔盤中培養。分別向盤中添加肽(12.5 μg/ml及25 μg/ml)、Hapa-5、Hapa-6、Latrol-5、Latrol-6、Chiro-5、Chiro-8及Heter-7)，且隨後將所得細胞混合物經肽培養6小時或24小時。僅經培養基培養6或24小時之細胞用作對照組。

【0090】 用PBS洗滌且藉由添加裂解試劑裂解所得經培養之細胞。藉由RNA萃取試劑盒(GENEzol™ 96井 三RNA純試劑盒, Geneaid)提取所得細胞裂解溶液以收集細胞中之RNA。藉由nCounter分析系統(Nano String Technologies, Inc.)偵測基因之表現。

【0091】 結果展示Hapa-5及Hapa-6增加抗老化基因(Atg1, Ubl-5及FOXO)之表現(圖2(A)及(B))、端粒酶基因(TERC)之表現(圖3(A)及(B))、DNA修復基因(ERCC1)之表現(圖4(A)及(B))、保濕相關基因(ELG-F及

GBA)(圖5(A)及(B))之表現及膠原蛋白I基因(Hapa-6)或膠原蛋白IV基因(Hapa-5)、彈性蛋白基因及TIMP1之表現(圖6(A)及(B))。此外，Hapa-5及Hapa-6抑制與膠原蛋白分解相關之基因(MMP-1)之表現(圖7(A)及(B))。

【0092】 結果展示Latrol-5及Latrol-6增加抗老化基因(NADSYN、Atg1、MRPS5、CCT2及/或CCT8)之表現(圖8(A)及(B))、端粒酶基因(TERC)之表現(圖9(A)及(B))及DNA修復基因(UNG、MSH6、XRCC5及/或MSH6)之表現(圖10(A)及(B))。此外，Latrol-6增加膠原蛋白I及IV基因、彈性蛋白基因SMPD1(保濕相關基因)及/或HSAS2(圖11(A)及(B))之表現。Latrol-6增加膠原蛋白I基因之表現，同時抑制與膠原蛋白分解相關之基因(MMP-1)之表現(圖12(A)及(B))。

【0093】 結果展示Heter-7增加抗老化基因(Atg1及Ubl5)之表現(圖13(A))、端粒酶基因(TERC)之表現(圖13(B))及DNA修復基因(ERCC1及XRCC5)之表現(圖13(C))及抗氧化基因SOD2之表現(圖13(D))。此外，Heter-7增加膠原蛋白I基因之表現(圖14(A))及TIMP1基因之表現(圖14(B))，同時抑制MMP1(圖14(C))。

【0094】 結果展示Chiro-8及Chiro-5增加抗老化基因(NADSYN、MRPS5、Ubl-5及/或FOXO)之表現(圖15(A)及(B))，且Chiro-8抑制消炎因子IL-6之表現(圖16)。此外，Chiro-8增加保濕相關基因(SMPD1)之表現(圖17(A))及膠原蛋白I及彈性蛋白基因之表現(圖17(B))，同時抑制MMP1之表現(圖17(C))；且Chiro-5增加膠原蛋白I基因之表現(圖18(A))，同時抑制MMP1之表現(圖18(B))。

【序列表】

<110> 大江生醫股份有限公司(TCI CO., LTD.)

<120> 衍生自章魚生物來源之生物模擬肽及其延遲老化及改善皮膚之用途

<150> 62/871,260
<151> 2019-07-08

<150> 62/871,216
<151> 2019-07-08

<160> 16

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<220>
<221> X1
<222> (1)..(1)
<223> X1選自具有帶正電之側鏈的胺基酸；X1為K、R或H；X1為K或R。

<220>
<221> X2
<222> (2)..(2)
<223> X2選自具有不帶電之側鏈的胺基酸；X2及X3各獨立地為T、A、I、C、S、G、Y、F、P或N；X2及X3各獨立地為T、C、S、G、Y、I、F、P、N或A。

<220>
<221> X3
<222> (3)..(3)
<223> X3選自具有不帶電之側鏈的胺基酸；X2及X3各獨立地為T、A、I、C、S、G、Y、F、P或N；X2及X3各獨立地為T、C、S、G、Y、I、F、P、N或A。

<220>
<221> X4
<222> (4)..(4)
<223> X4選自具有帶正電之側鏈的胺基酸；X4為K、R或H；X4為K或R。

<400> 1

Xaa Xaa Xaa Xaa

I815337

1

<210> 2
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 2

Arg Thr Cys Lys
1

<210> 3
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 3

Lys Ser Gly Arg
1

<210> 4
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 4

Lys Ser Gly Lys
1

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 5

Lys Tyr Ile Lys
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 6

Lys Ile Phe Lys
1

<210> 7
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽
<400> 7

Arg Pro Ile Lys
1

<210> 8
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 8

Lys Asn Ala Lys
1

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 9

Leu Lys Ser Gly Arg
1 5

<210> 10
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 10

Lys Ile Phe Lys Phe
1 5

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 11

Pro Arg Pro Ile Lys
1 5

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽

<400> 12

Thr Lys Ser Gly Lys Phe
1 5

<210> 13

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 13

Val Lys Asn Ala Lys Tyr
1 5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 14

Gln Lys Arg Arg Thr Cys Lys
1 5

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成胜肽

<400> 15

Gln Arg Ile Lys Tyr Ile Lys Pro
1 5

<210> 16

<211> 7

I815337

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成胜肽
<400> 16

Pro Asp Ser Thr Glu Ala Lys
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種衍生自來自章魚之有毒蛋白質之肽或其鹽，其包含胺基酸序列，該胺基酸序列由SEQ ID NO:11 (PRPIK)或SEQ ID NO:13 (VKNAKY)組成。

【請求項2】

如請求項1之肽或其鹽，其中該章魚係為*Hapalochlaena maculosa*。

【請求項3】

一種組合物，其包含如請求項1或2之肽或其鹽，及至少一種載劑、稀釋劑或賦形劑。

【請求項4】

如請求項3之組合物，其用於在個體內抑制或減少膠原蛋白分解及/或增加膠原蛋白合成。

【請求項5】

如請求項3之組合物，其用於在個體內增加彈性蛋白及/或玻尿酸產生。

【請求項6】

如請求項3之組合物，其用於在個體內延遲老化。

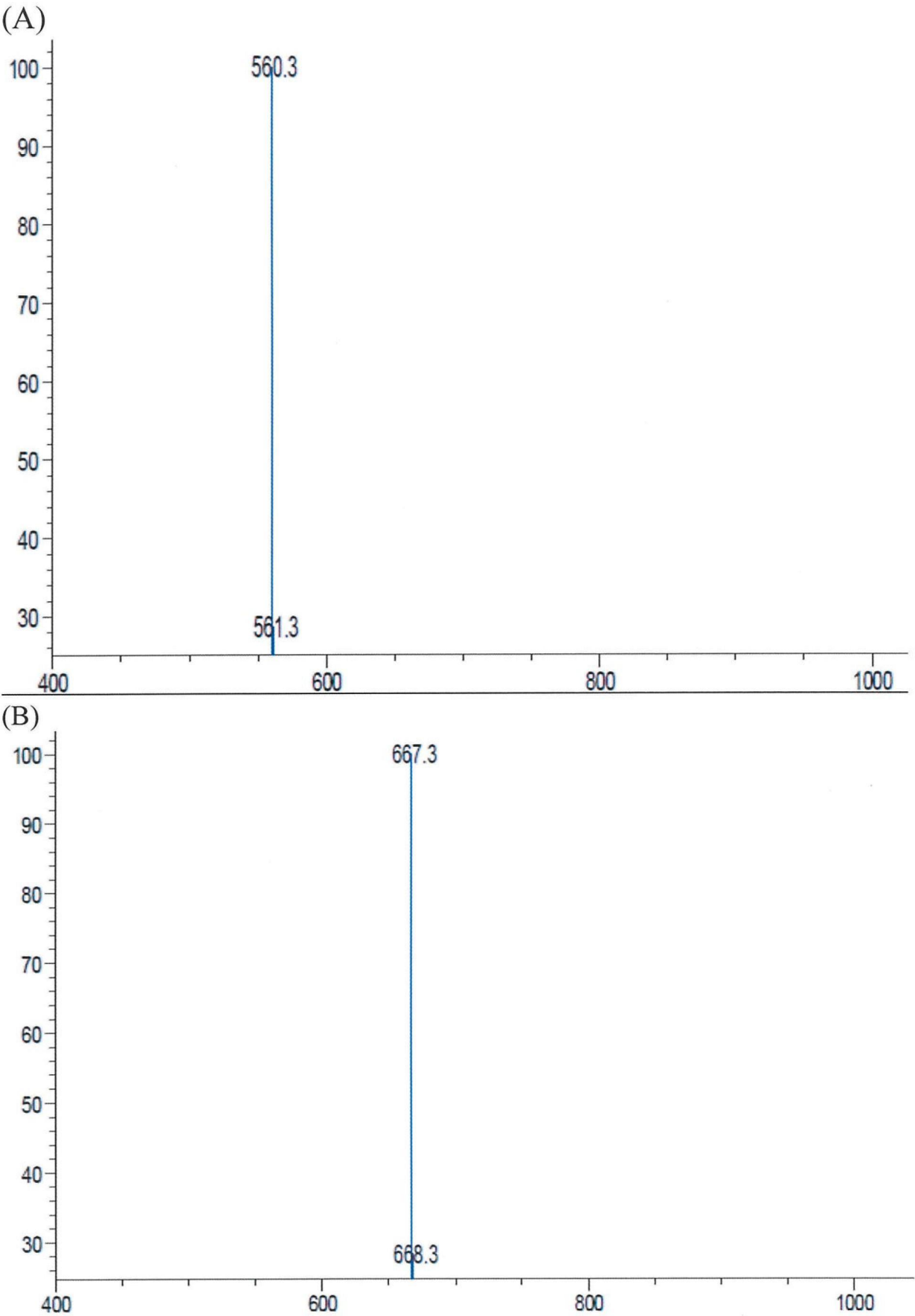
【請求項7】

如請求項3之組合物，其用於改善皮膚，其包含向該個體投與或施用本發明之肽。

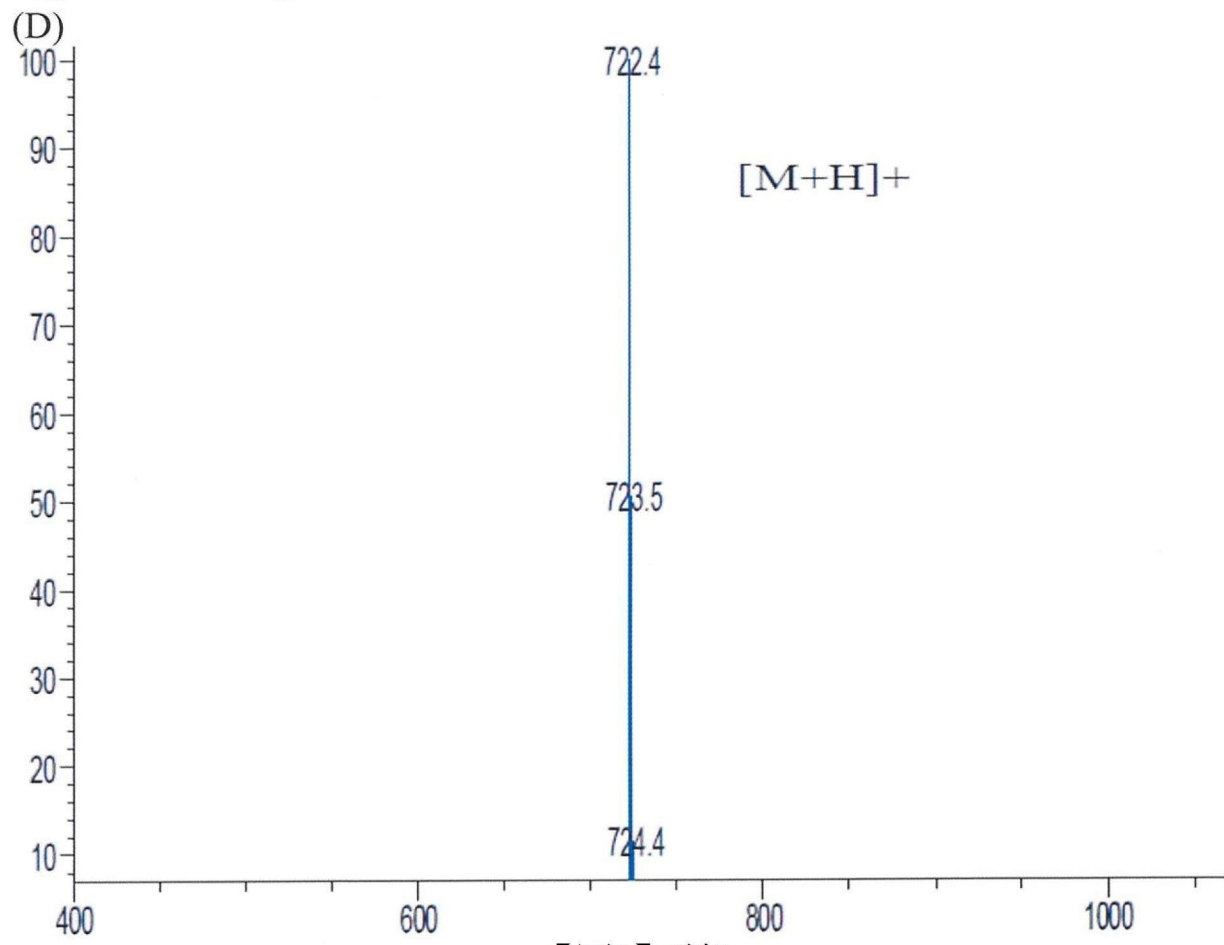
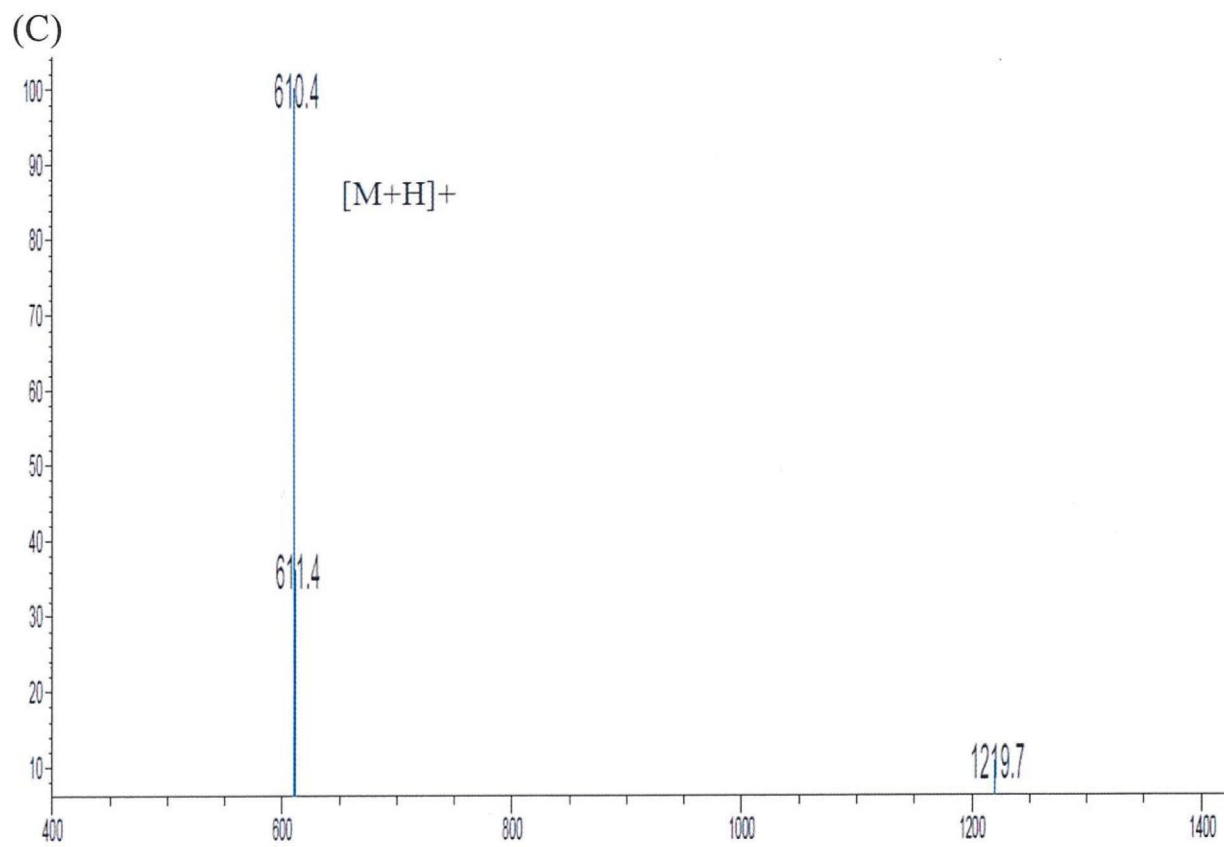
【請求項8】

如請求項3之組合物，其用於在個體內抑制炎症。

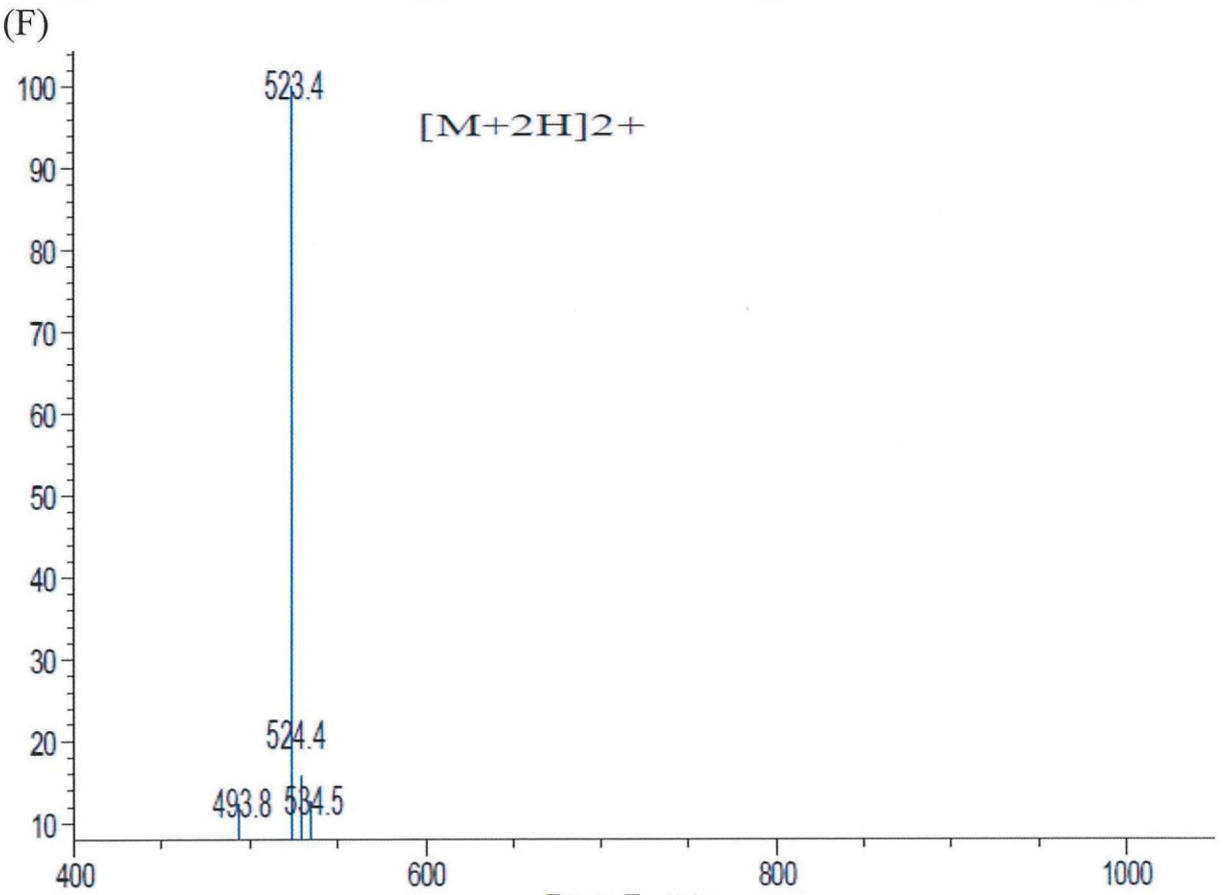
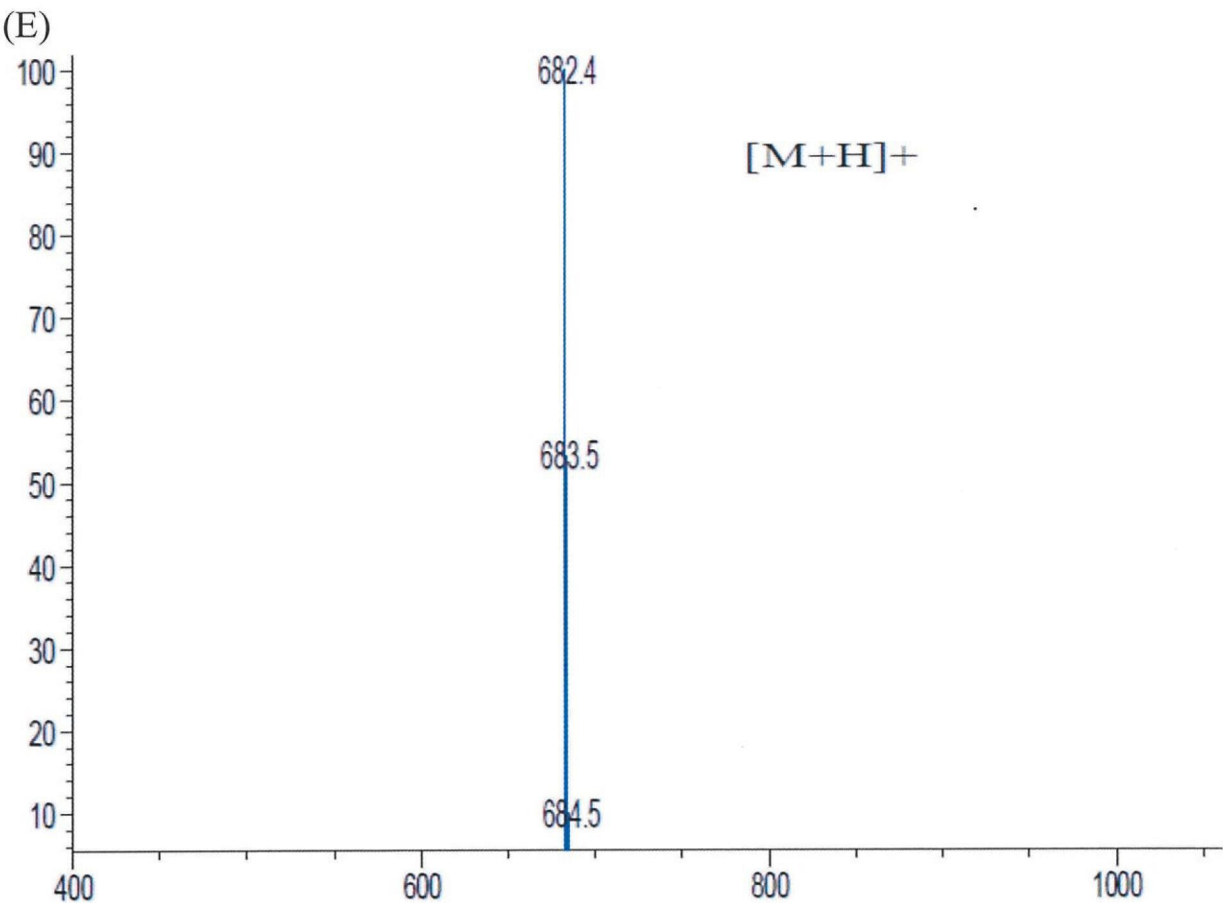
【發明圖式】



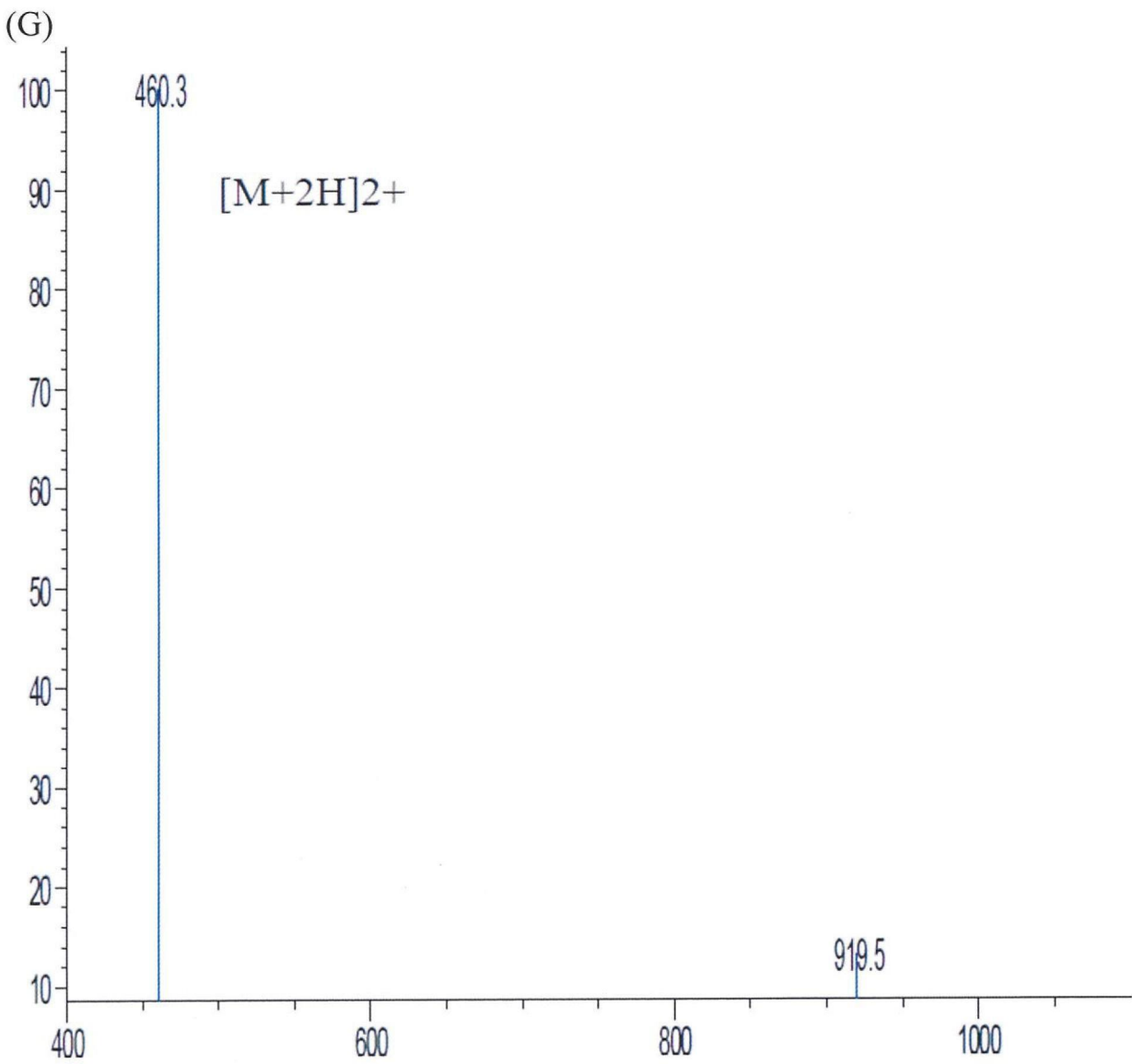
【圖1】



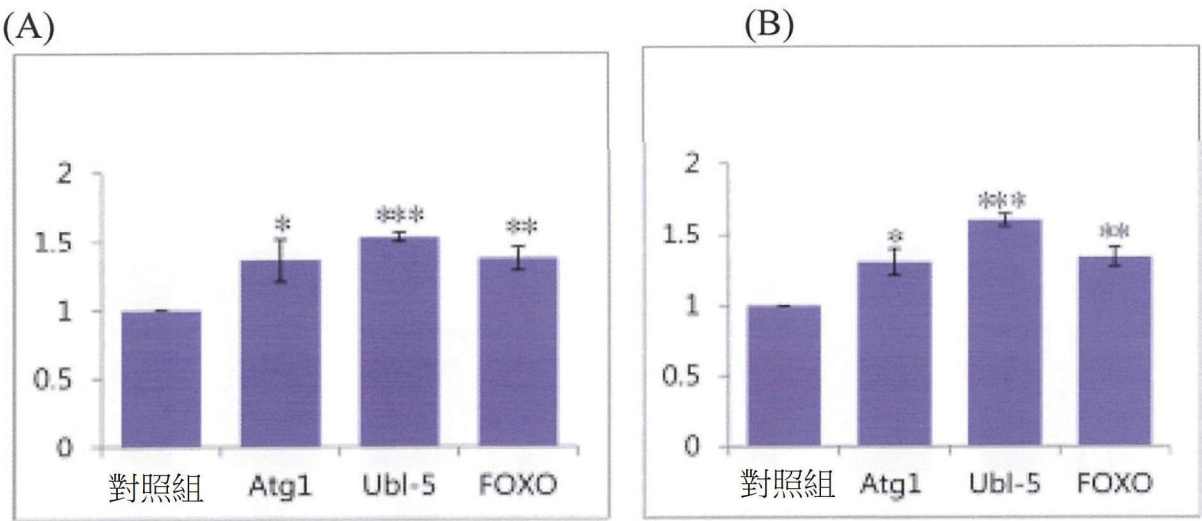
【圖1】(續)



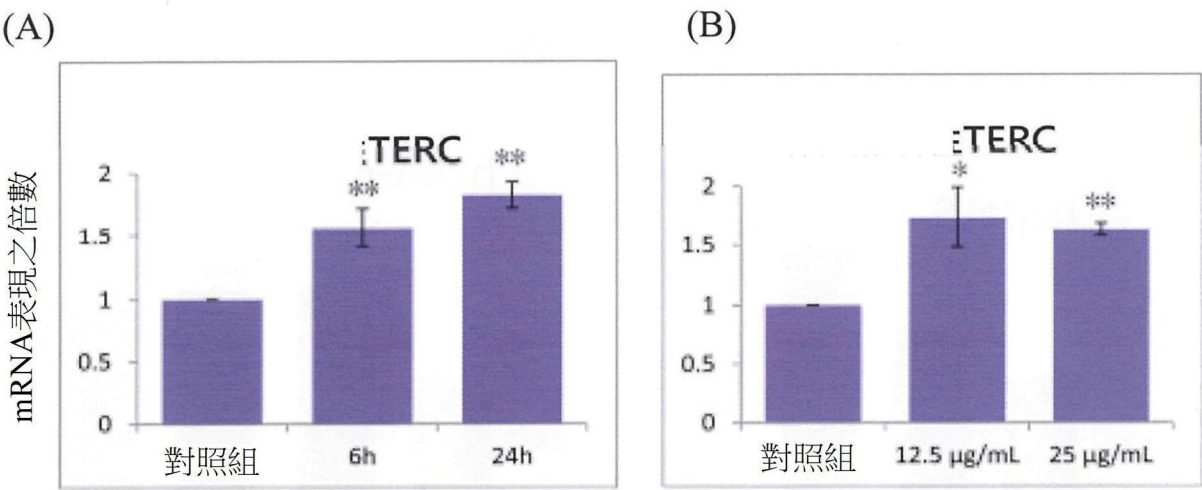
【圖1】 (續)



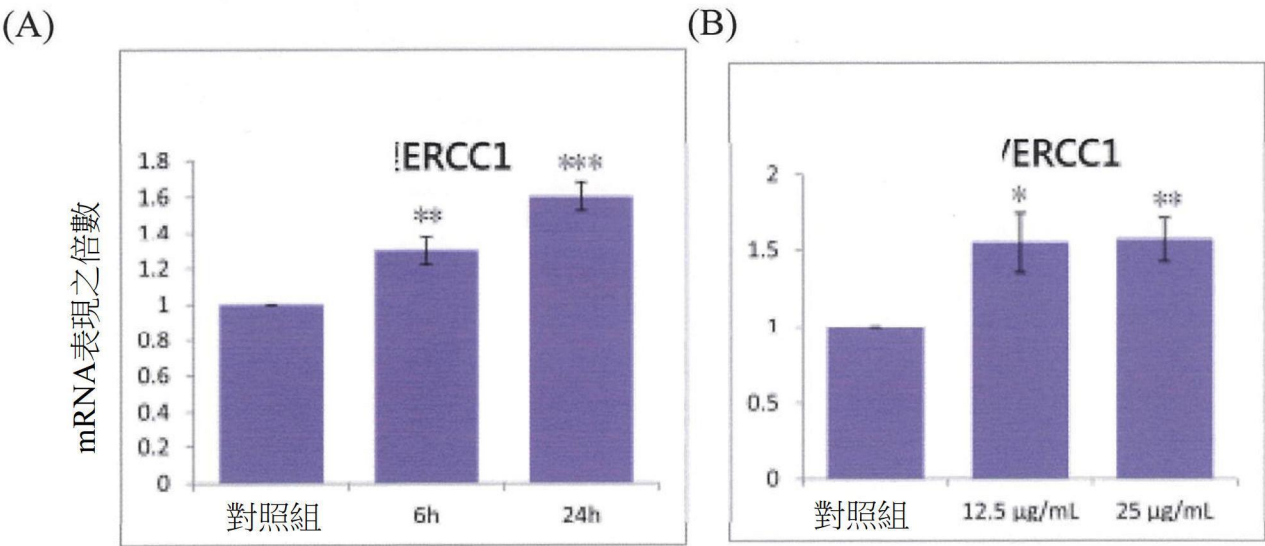
【圖1】(續)



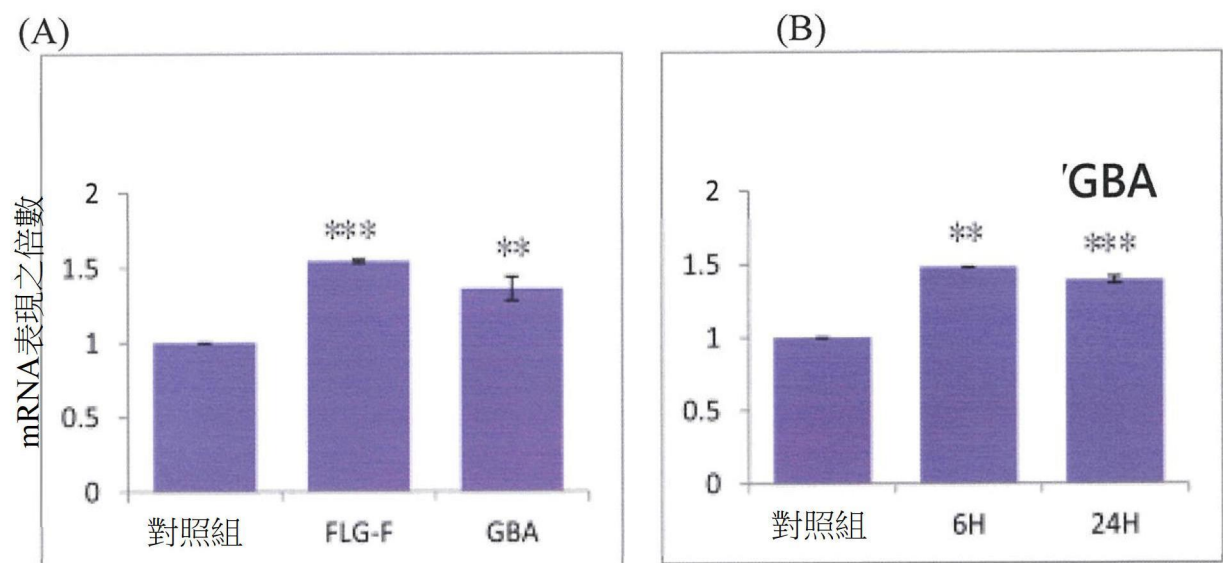
【圖2】



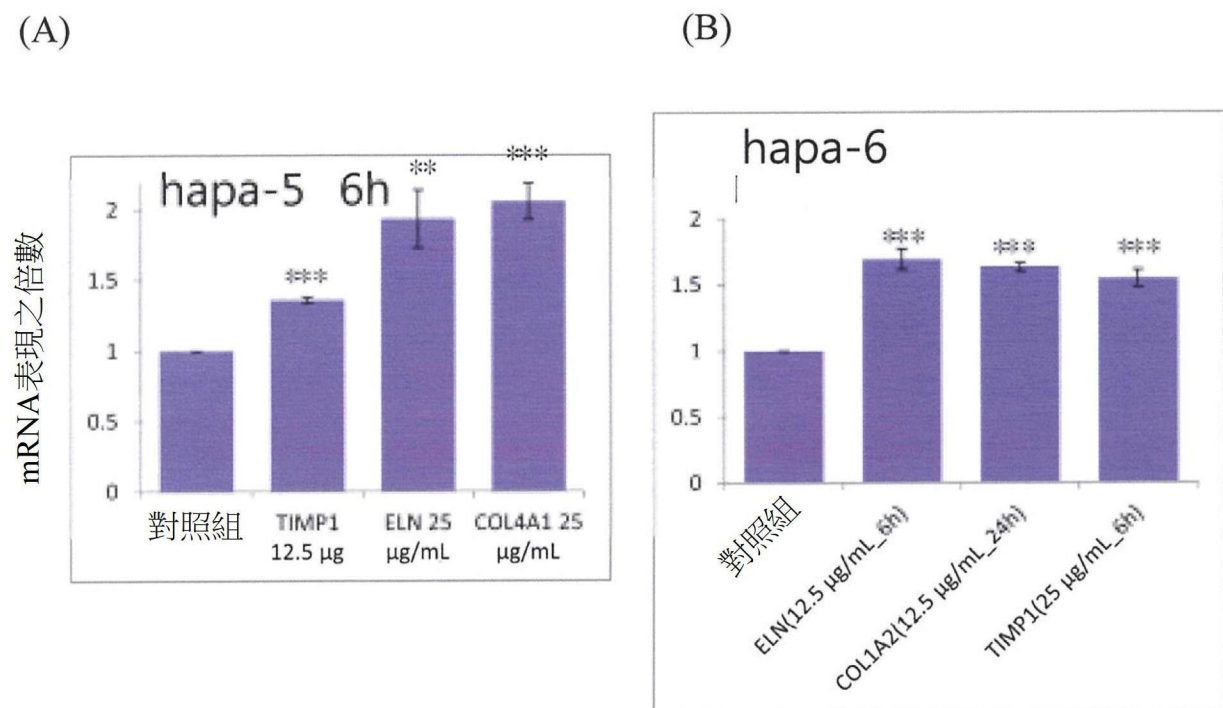
【圖3】



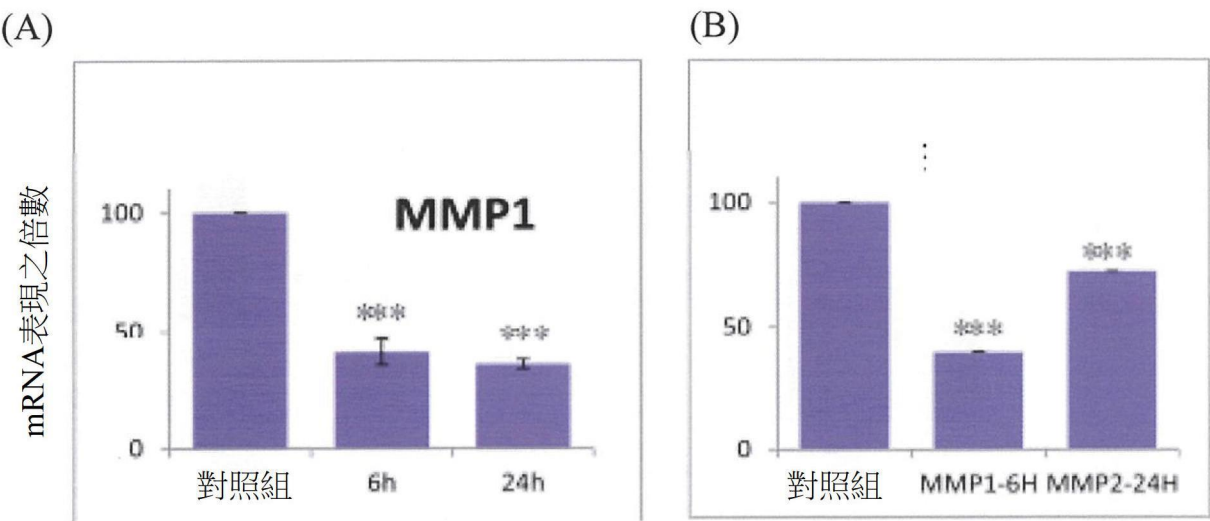
【圖4】



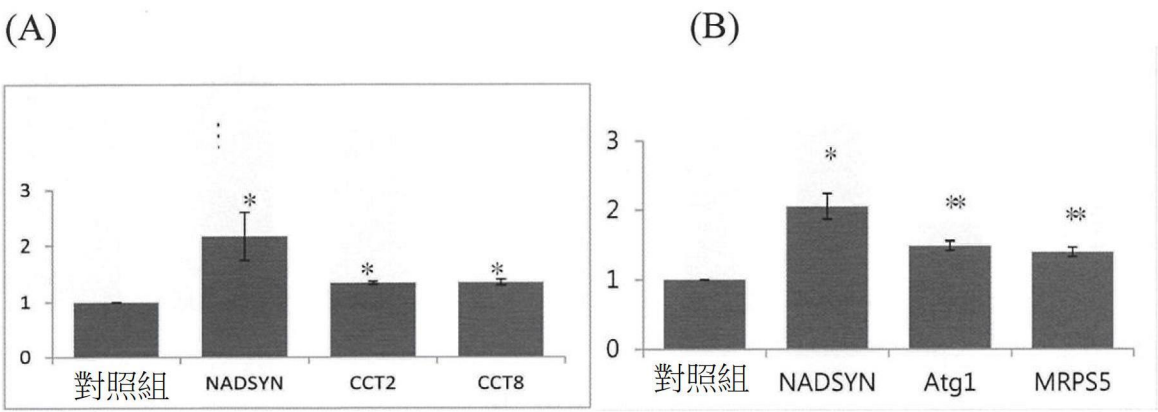
【圖5】



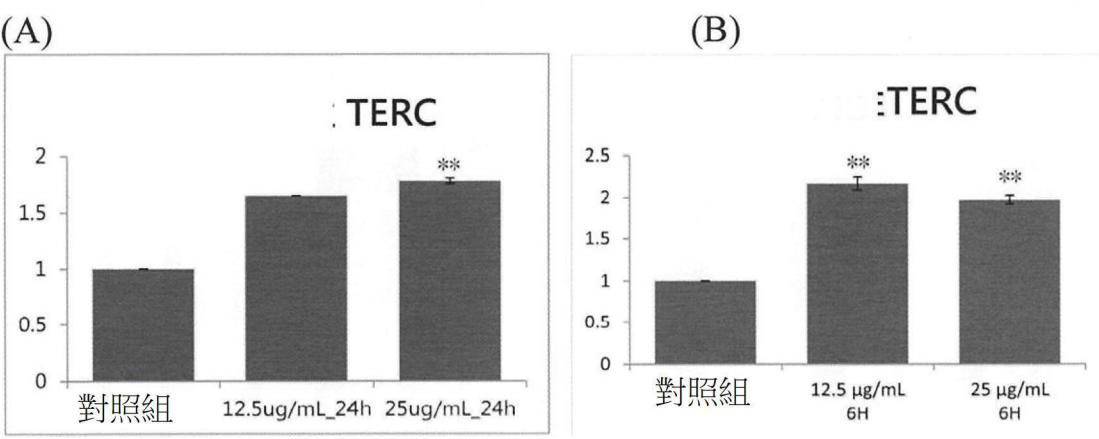
【圖6】



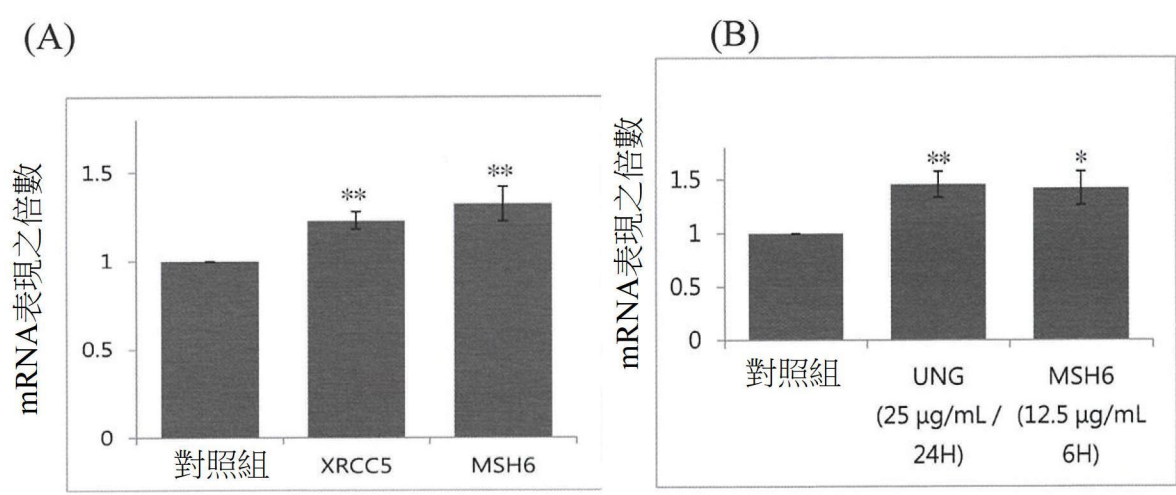
【圖7】



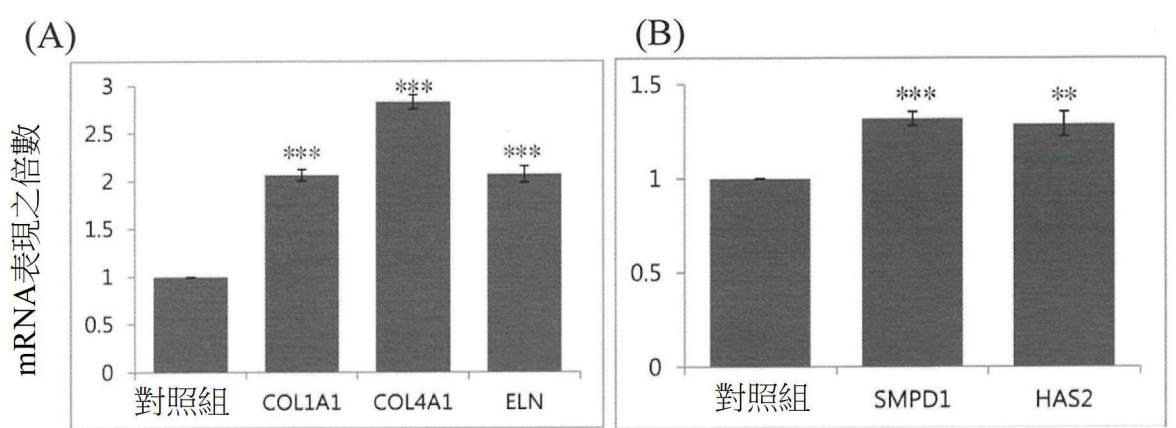
【圖8】



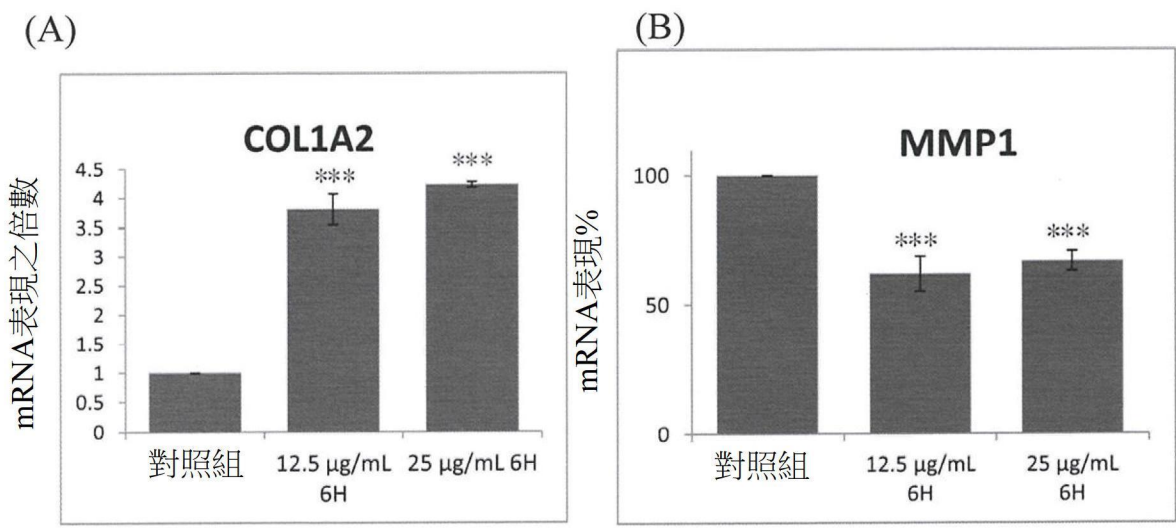
【圖9】



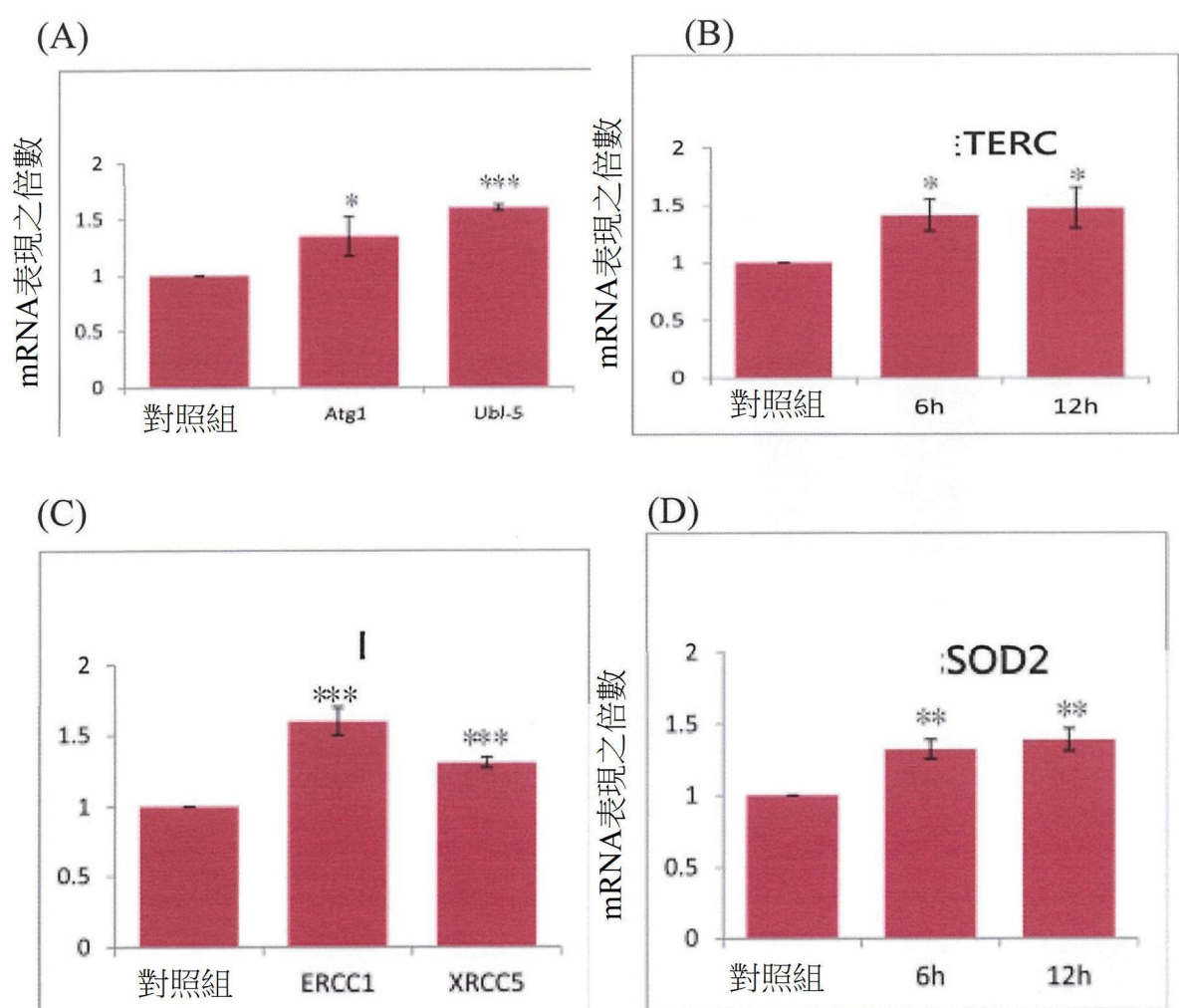
【圖10】



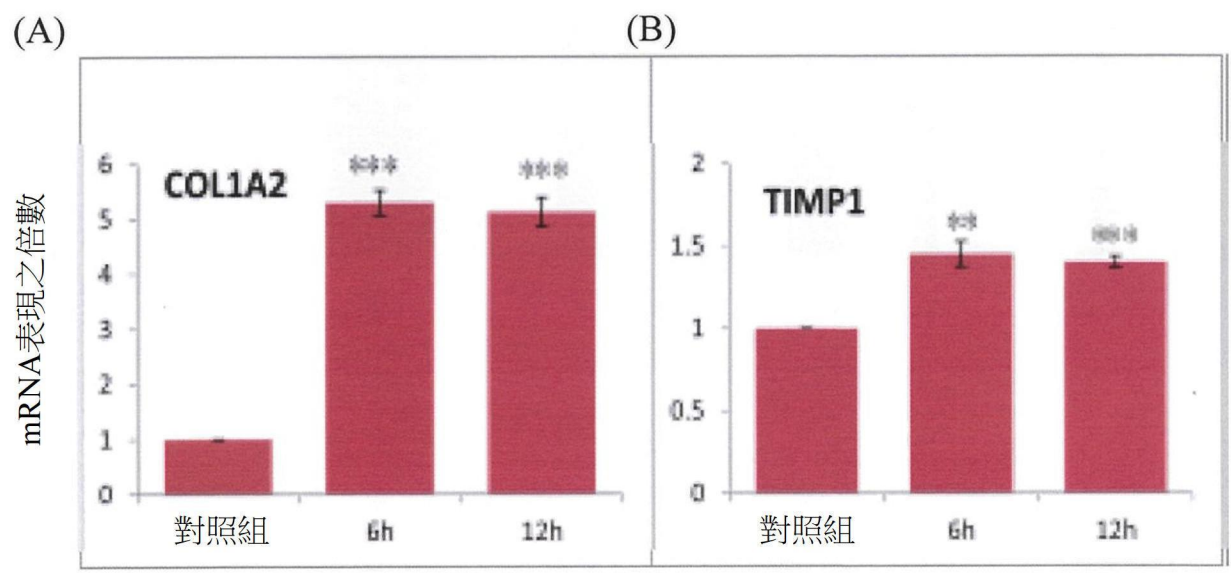
【圖11】



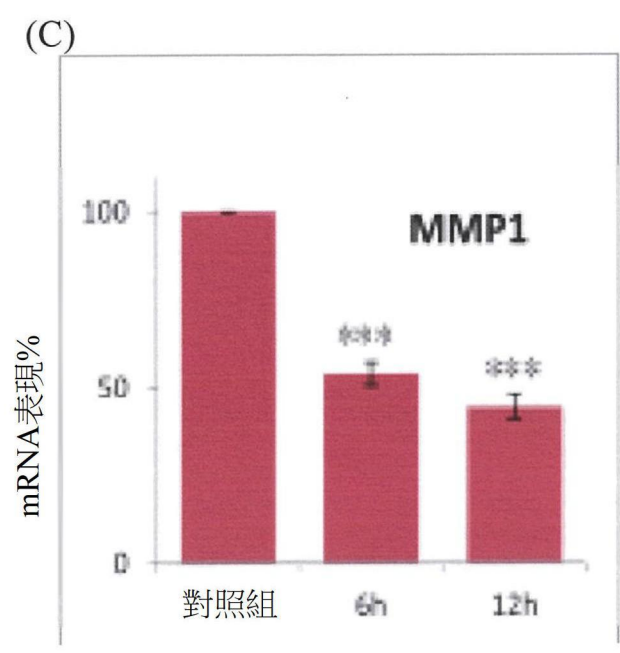
【圖12】



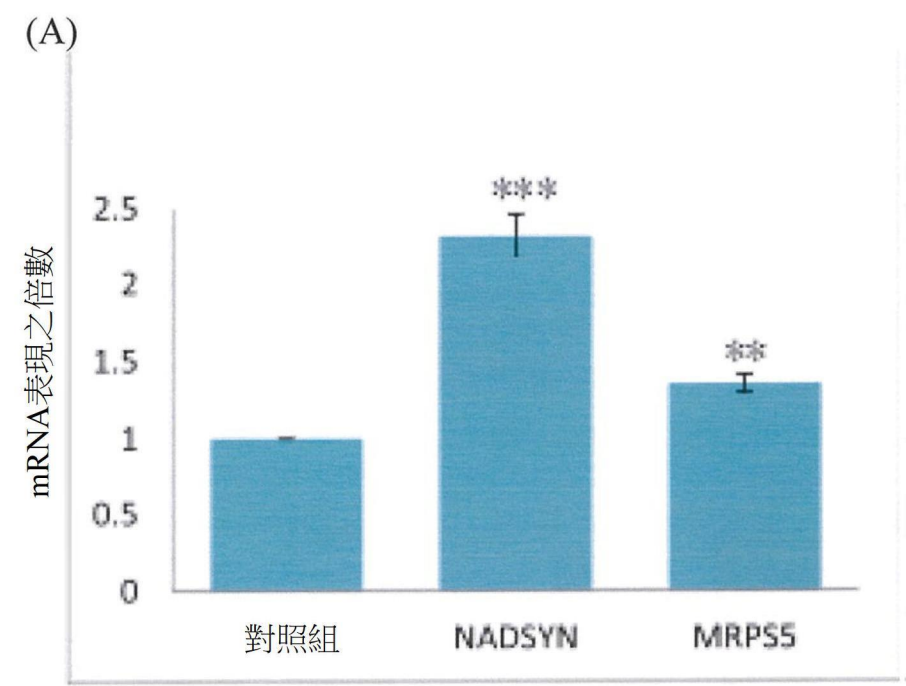
【圖13】



【圖14】

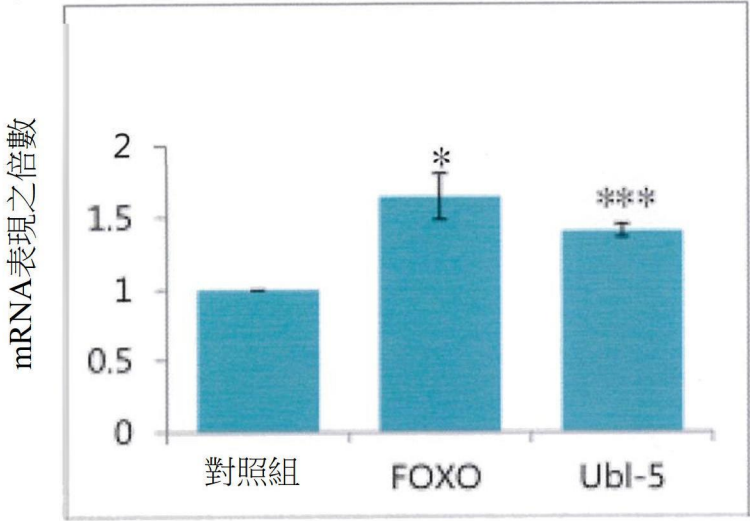


【圖14】 (續)

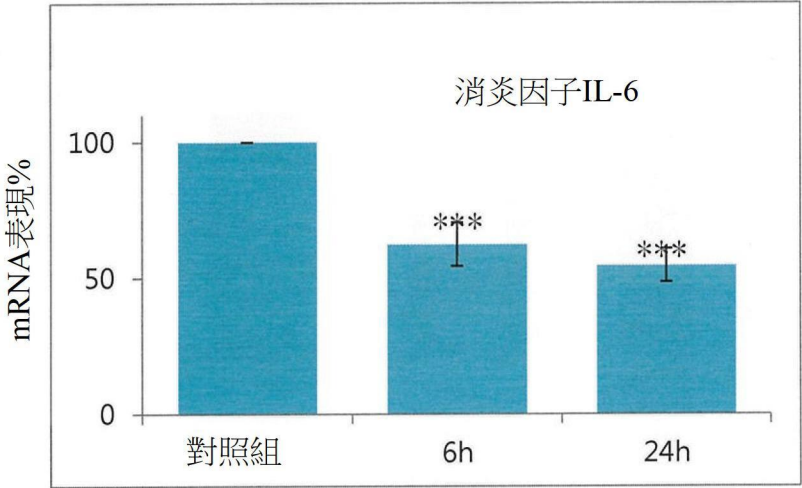


【圖15】

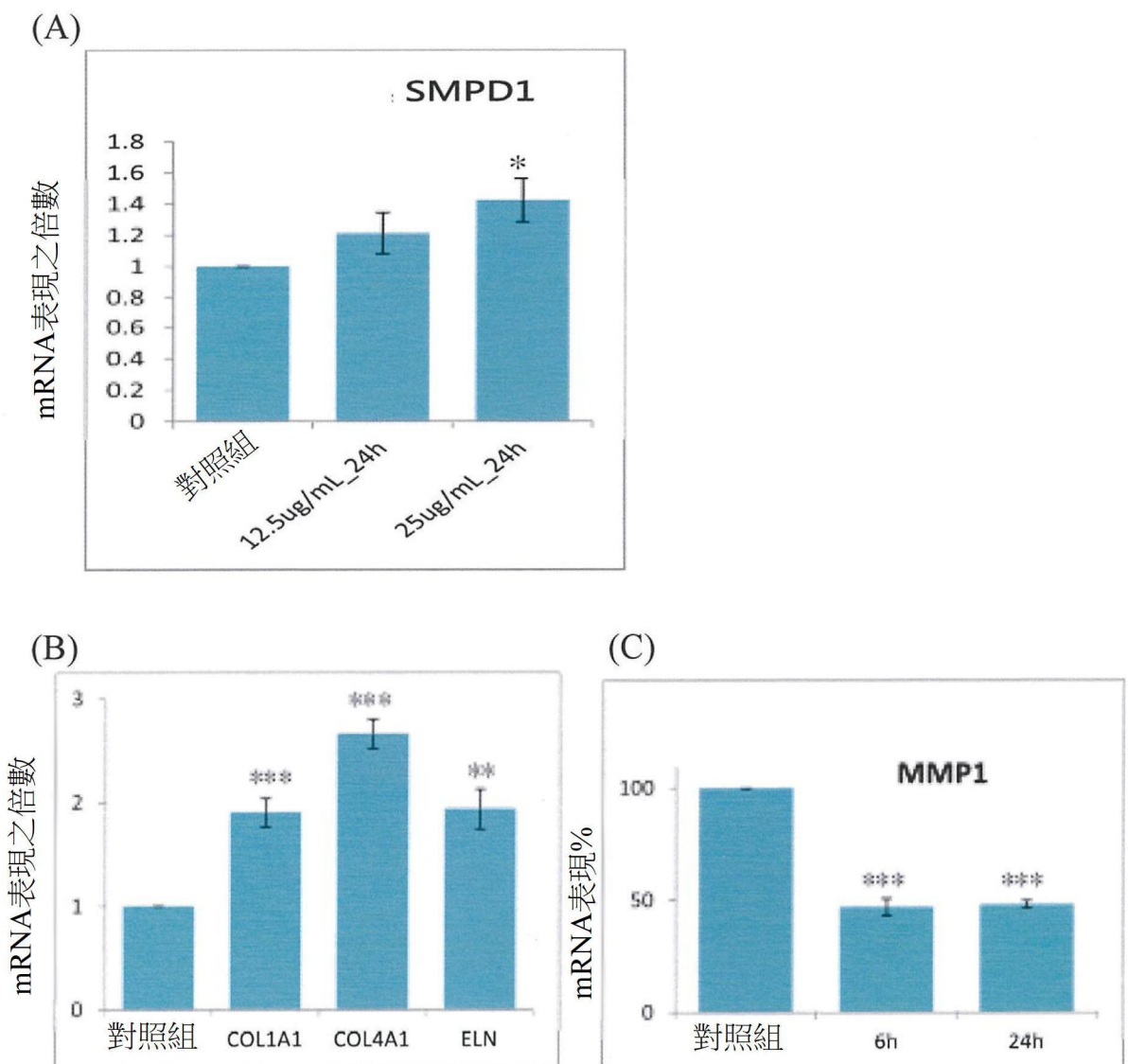
(B)



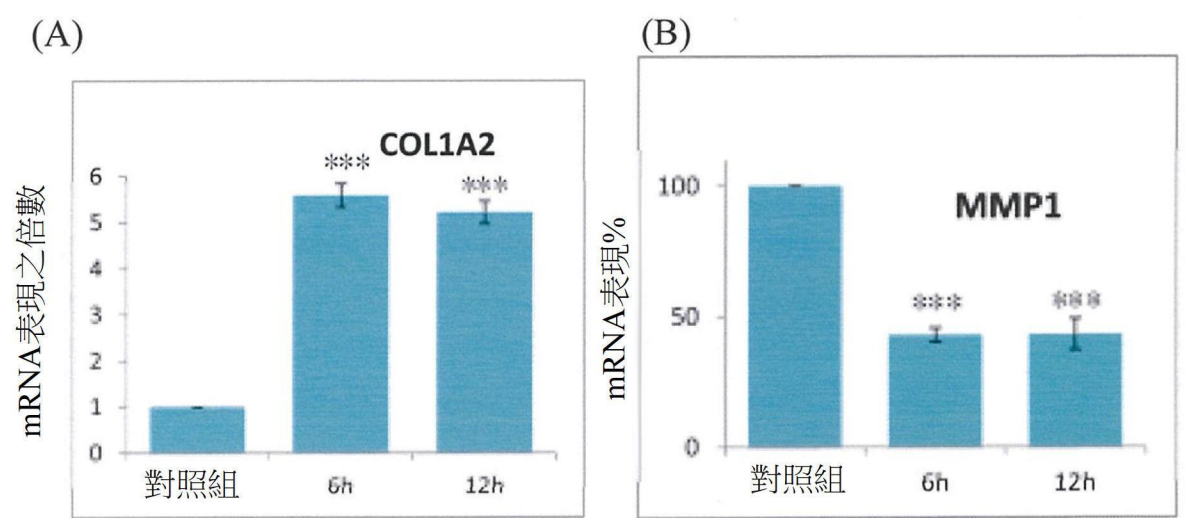
【圖15】(續)



【圖16】



【圖17】



【圖18】