

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 413**

51 Int. Cl.:  
**C07K 14/78** (2006.01)  
**C07K 5/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07796001 .1**  
96 Fecha de presentación: **12.06.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2027152**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.02.2009**

54 Título: **FRAGMENTOS PEPTÍDICOS PARA INDUCIR LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE LA MATRIZ EXTRACELULAR.**

30 Prioridad:  
**13.06.2006 US 813284 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**29.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**29.02.2012**

73 Titular/es:  
**HELIX BIOMEDIX INC.**  
**22118 20TH AVENUE SE, SUITE 204**  
**BOTHELL, WA 98021, US**

72 Inventor/es:  
**HARRIS, Scott, M.;**  
**FALLA, Timothy, J. y**  
**ZHANG, Lijuan**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 375 413 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Fragmentos peptídicos para inducir la síntesis de proteínas de la matriz extracelular

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a tetrapéptidos con el motivo de aminoácidos GxxG o PxxP, en el que se conservan la G (glicina) y la P (prolina) y x es un aminoácido variable. La invención también se refiere a tetrapéptidos activos de desplazamiento de fase que son secuencias tetrapeptídicas desplazadas una fase desde un tetrapéptido GxxG o PxxP en una proteína de la MEC. En particular, la invención se refiere a péptidos GxxG, PxxP o activos de desplazamiento de fase que estimulan la producción de proteínas de la matriz extracelular y que potencian el cierre de heridas de la monocapa celular epitelial de la piel humana lesionada por arañazos. Las composiciones peptídicas pueden usarse en formulaciones para subsanar la piel dañada o para mantener la piel sana.

15 **Antecedentes de la invención**

El envejecimiento cutáneo se aprecia normalmente por la formación de arrugas y problemas de cicatrización. Una herida se define como una rotura en la integridad epitelial de la piel. La cicatrización normal implica una serie de acontecimientos complejos y dinámicos magníficamente organizados que conduce a subsanar los tejidos lesionados. El mayor componente de la piel normal es la matriz extracelular (MEC), una matriz gelatinosa producida por las células que la rodean. La MEC está compuesta por dos clases principales de moléculas que incluyen proteínas estructurales fibrosas y proteoglicanos. Se sabe que los cambios en cuanto a la composición y al estado reticulado de la MEC están asociados con el envejecimiento y con una serie de trastornos cutáneos adquiridos y heredables. Se ha documentado bien que la MEC no solamente proporciona soporte estructural sino que también influye en el comportamiento celular, tal como diferenciación y proliferación. Además, cada vez más investigaciones sugieren que los componentes de la matriz pueden ser una fuente de señales celulares para facilitar la proliferación celular epitelial y la migración y por tanto potenciar la cicatrización.

La clase más grande de moléculas fibrosas de la MEC es la familia del colágeno, que incluye al menos 16 tipos diferentes de colágeno. El colágeno en la matriz dérmica está compuesto principalmente de colágeno de tipo I (80-85%) y de tipo III (8-11%), los cuales son colágenos fibrilares o con forma de varilla. La resistencia a la tracción de la piel se debe predominantemente a estas moléculas de colágeno fibrilares, que se autoensamblan en microfibrillas en una disposición lateral de cabeza a cola y de lado a lado escalonada. Las moléculas de colágeno se entrelazan a moléculas de colágeno adyacentes, creando una resistencia y estabilidad adicionales en las fibras de colágeno. Las lesiones en la red de colágeno (por ejemplo, por enzimas o destrucción física) o su colapso total hacen que se produzca la curación por restauración.

Se han descrito diversos péptidos bioactivos que estimulan la producción de proteínas de la MEC tanto en la bibliografía científica como en patentes publicadas. Históricamente los péptidos se han aislado a partir de fuentes naturales y recientemente han sido objeto de estudios de relación estructura-función. Los péptidos naturales también han servido como puntos de partida para el diseño de análogos peptídicos sintéticos.

Secuencias específicas dentro de las proteínas de la MEC pueden estimular elementos útiles en la piel, tales como colágeno de tipo I, colágeno de tipo III y fibronectina (Katayama et al., J. BIOL. CHEM. 288: 9941-9944 (1983)). Katayama et al. identificaron el pentapéptido KTTKS (SEC ID N°: 17), dentro del propéptido carboxi-terminal (restos 197-241) del colágeno de tipo I. El propéptido se escinde durante la producción de la proteína de colágeno madura. El polipéptido escindido puede participar en la regulación de la producción de colágeno mediante un mecanismo de retroalimentación de biosíntesis, desempeñando el segmento KTTKS una función activa. Maquart et al. (J Soc BIOL. 193:423-28 (1999)) describieron que los péptidos GHK y CNYYSNS también estimulan la síntesis de la MEC. Estas secuencias pueden liberarse durante la renovación de la MEC, indicando así la necesidad de subsanar la MEC. Las secuencias peptídicas cortas liberadas por cualquier mecanismo normalmente se denominan "matrikines" (Maquart et al., J. Soc. BIOL. 193: 423-28 (1999)).

Aunque existen diversos péptidos naturales y sintéticos, se necesitan péptidos mejorados biológicamente activos y métodos para su uso.

**Sumario de la invención**

Se describen tetrapéptidos que se caracterizan por el motivo de la secuencia de aminoácidos GxxG o PxxP, en el que se conservan los restos de G (glicina) y de P (prolina) y x es un aminoácido variable. Los tetrapéptidos derivan de secuencias que aparecen múltiples veces a lo largo de la secuencia primaria del colágeno de tipo IV, una proteína de la MEC. Las secuencias descritas inducen más la producción de todas las formas de colágeno que las secuencias peptídicas previamente conocidas, incluyendo el pentapéptido KTTKS, comercializado por SEDERMA SAS (Francia) con la marca registrada MATRIXYL™. Adicionalmente, una composición que comprende una combinación de diversas secuencias de repetición múltiples genera una respuesta productora de colágeno aún mayor. De las combinaciones peptídicas presentes en una diversidad de proteínas de la MEC pueden esperarse

beneficios adicionales.

La producción de una combinación específica de tetrapéptidos para la reconstrucción de la MEC puede ser muy costosa desde el punto de vista comercial. Se describe un medio relativamente sencillo y rentable para producir una combinación diversa de tetrapéptidos biológicamente activos. Produciendo una biblioteca combinatoria de tetrapéptidos con el motivo GxxG o PxxP, puede generarse una diversidad de tetrapéptidos biológicamente activos en el mismo proceso de fabricación (por ejemplo, GEPG, GPEG, GPPG y GEEG). La combinación de tetrapéptidos puede inducir más formación de proteínas MEC que los péptidos sencillos. Las composiciones que comprenden los tetrapéptidos descritos, en solitario o en combinación, son útiles en el mercado del cuidado de la piel incluyendo, pero sin limitación, las composiciones que tratan arrugas, tonifican, dan firmeza o tratan la flacidez de la piel. La estimulación del colágeno mediante los tetrapéptidos descritos puede mejorar significativamente la salud y el aspecto de la piel dañada y envejecida.

#### Breve descripción de las figuras

La Figura 1 es la SEC ID N°: 45 que es la secuencia de aminoácidos del Colágeno IV que ilustra la aparición de los tetrapéptidos GxxG. Todas las secuencias en negrita están subrayadas y las secuencias de solapamiento están subrayadas con dos líneas.

La Figura 2 es la SEC ID N°: 46 que es la secuencia de aminoácidos del Colágeno III que ilustra la aparición de los PGPR y GAGP activos de desplazamiento de fase. Todas las secuencias activas de desplazamiento de fase se indican en negrita y están subrayadas y las secuencias GxxG que aparecen separadas un desplazamiento de fase están subrayadas con dos líneas.

La Figura 3 es también la SEC ID N°: 45, la secuencia de aminoácidos del Colágeno IV, que ilustra la aparición del tetrapéptido GPPP.

#### Descripción detallada de la invención

La invención se refiere, en líneas generales, a tetrapéptidos que estimulan la producción de proteínas de la MEC y que modulan la cicatrización y a los usos de dichos tetrapéptidos.

#### Péptidos

Una realización de la presente invención descrita se refiere a tetrapéptidos aislados que comprenden el motivo GxxG o PxxP. En la presente realización la G (glicina) o la P (prolina) se conservan y x es un aminoácido variable. El péptido puede ser generalmente cualquier péptido que se incluya dentro de la descripción anterior y más preferiblemente es la SEC ID N°: 1, SEC ID N°: 2, SEC ID N°: 3, SEC ID N°: 5, SEC ID N°: 7, SEC ID N°: 8, SEC ID N°: 9, SEC ID N°: 10, SEC ID N°: 11, SEC ID N°: 12, SEC ID N°: 13, SEC ID N°: 14, SEC ID N°: 15 o SEC ID N°: 16.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un tetrapéptido que comprende la SEC ID N°: 8 o la SEC ID N°: 5 o la SEC ID N°: 11.

En otro aspecto la invención proporciona una composición que comprende un tetrapéptido de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición que comprende una mezcla de tetrapéptidos de la SEC ID N°: 5 y de la SEC ID N°: 8.

La invención también proporciona una composición de la invención para su uso en el cuidado de la piel o para su uso en el tratamiento de una herida en la piel. En un aspecto adicional, se proporciona un método *in vitro* para estimular la producción de colágeno por una célula, comprendiendo el método exponer una célula a un tetrapéptido de acuerdo con la invención, o a una mezcla del mismo, induciendo de esta manera la producción de colágeno por la célula.

Además, la invención proporciona un método *in vitro* para estimular la producción de colágeno por una célula, comprendiendo el método exponer una célula a una composición que comprende una mezcla de los tetrapéptidos de la SEC ID N°: 5 y de la SEC ID N°: 8, induciendo de esta manera la producción de colágeno por la célula.

El documento EP 0858808 describe péptidos para su uso en el tratamiento de heridas. Se describen composiciones para el tratamiento de heridas que comprenden del 10<sup>-6</sup>% al 1,0% p/p de uno o más péptidos, en la que los péptidos tienen una longitud de 3 a 30 restos aminoácidos y comprenden la secuencia Gly-Pro-Ala.

Katayama E.A.K. describe, en Journal of Biological Chemistry, American Society of Biochemical Biologists, Birmingham, US, Vol. 268, n° 14, 15 de mayo de 1993, en las páginas 9941-9944, un pentapéptido del procolágeno de tipo I que promueve la producción de la matriz extracelular.

Degryse Bernard et al., en Journal of Biological Chemistry, American Society of Biochemical Biologists, Birmingham, US, vol. 280, no. 26, 1 de julio del 2005, en las páginas 24792-24803, han descrito que el dominio 2 del receptor de uroquinasa contiene un epitopo que interacciona con la integrina con actividad de señalización intrínseca.

5 En el documento CA2276542 se describen péptidos y composiciones de los mismos para modular el sistema inmunitario y la hematopoyesis. Los péptidos son de fórmula general X-Glu-Trp-Y.

10 En Biopolymer, vol. 45, n.º. 5, 15 de abril 1998, en las páginas 381-394, Wu Wen-Jen et al informan sobre un control local de conformación peptídica y analizan la estabilización de enlaces peptídicos cis de prolina por interacciones de prolina aromáticas.

Kessler E et al., informan sobre una nueva aminopeptidasa de *Clostridium histolyticum* en Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 50, no. 2, 1973, páginas 405-412.

15 Otra realización de la presente descripción se refiere a un tetrapéptido aislado que comprende el motivo GxPG, en el que x es P en cualquier posición variable o en ambas. En la presente realización, la G (glicina) y la P (prolina) se conservan y x es un aminoácido variable. El péptido puede ser generalmente cualquier péptido que se incluya dentro de la descripción anterior y más preferiblemente es la SEC ID N.º: 2, SEC ID N.º: 3, SEC ID N.º: 5 o SEC ID N.º: 7.

20 Otra realización de la descripción de la presente invención se refiere a un tetrapéptido aislado que comprende el motivo GExG. En esta realización, la G (glicina) y la E (ácido glutámico) se mantienen y x es un aminoácido variable. El péptido puede ser generalmente cualquier péptido que se incluya dentro de la descripción anterior y más preferiblemente es la SEC ID N.º: 5 o la SEC ID N.º: 8.

25 Otra realización de la presente descripción se refiere a un tetrapéptido aislado que comprende el motivo PGxP. En esta realización, la P (prolina) y la G (glicina) se conservan y x es un aminoácido variable. El péptido puede ser generalmente cualquier péptido que se incluya dentro de la descripción anterior y más preferiblemente es la SEC ID N.º: 11, SEC ID N.º: 12, SEC ID N.º: 14 o SEC ID N.º: 16.

30 Otra realización de la presente descripción se refiere un tetrapéptido aislado que comprende el motivo PExP. En esta realización, la P (prolina) y la E (ácido glutámico) se conservan y x es un aminoácido variable. El péptido puede ser generalmente cualquier péptido que se incluya dentro de la descripción anterior y más preferiblemente es la SEC ID N.º: 1 o la SEC ID N.º: 9.

35 Otra realización de la presente descripción se refiere a un tetrapéptido activo de desplazamiento de fase. En esta realización, el tetrapéptido aparece en un desplazamiento de fase de cualquiera de un tetrapéptido GxxG o PxxP en una proteína de la MEC. El péptido puede ser generalmente cualquier péptido que se incluya dentro de la descripción anterior y más preferiblemente es la SEC ID N.º: 4 o la SEC ID N.º: 6.

40 Cada uno de los péptidos descritos anteriormente puede comprender aminoácidos D o L. Los péptidos pueden comprender todos aminoácidos D o aminoácidos L. Los péptidos pueden tener un extremo C ácido (-CO<sub>2</sub>H) o, preferiblemente, un extremo C amida (-CONH<sub>2</sub>, -CONHR o -CONR<sub>2</sub>). Adicionalmente, los péptidos pueden aumentarse o modificarse, química o enzimáticamente. Por ejemplo, los péptidos pueden estar amidados (-NH<sub>2</sub>) en el extremo C, lo que puede hacer que el tetrapéptido sea menos susceptible a degradación por proteasas y  
45 aumentar su solubilidad en comparación con las formas ácidas libres. Los péptidos también pueden estar lipidados lo que puede proporcionar una penetración cutánea mejorada.

50 Los péptidos descritos anteriormente pueden contener los siguientes aminoácidos R (arginina), L (leucina), P (prolina), F (fenilalanina), Q (glutamina), E (ácido glutámico), I (isoleucina), K (lisina), S (serina), V (valina), A (alanina), N (asparagina), D (ácido aspártico), T (treonina), Y (tirosina) y G (glicina). Los péptidos descritos anteriormente no incluyen los siguientes aminoácidos M (metionina), C (cisteína), H (histidina) o W (triptófano). Por consiguiente, en una realización, x no se selecciona de ninguno de (metionina), C (cisteína), H (histidina) o W (triptófano).

#### 55 Métodos de Uso

Una realización adicional de la presente descripción se refiere a métodos de uso de los péptidos descritos anteriormente. Los métodos de uso pueden implicar el uso de un solo péptido o pueden implicar el uso de dos o más péptidos en combinación.

60 Una realización de la presente descripción se refiere a un método para promover la reparación de la piel dañada y el mantenimiento de la piel sana usando tetrapéptidos que estimulen la producción de proteínas de la MEC. El método generalmente se refiere a poner en contacto células dérmicas (piel) con una composición que contenga el péptido. Las composiciones pueden ser un aerosol, una emulsión, un líquido, una loción, crema, pasta, pomada, espuma o  
65 otra formulación farmacéuticamente aceptable. Generalmente, una formulación farmacéuticamente aceptable incluiría cualquier vehículo aceptable, adecuado para su uso sobre la piel humana, por ejemplo un vehículo

cosméticamente aceptable y un vehículo dermatológicamente aceptable. Las composiciones pueden contener otros agentes biológicamente activos tales como retinoides u otros péptidos. Las composiciones pueden contener vehículos o adyuvantes farmacéuticamente aceptables. La etapa de puesta en contacto puede realizarse *in vivo*, *in situ*, *in vitro* o mediante cualquier método conocido por los expertos en la materia. Más preferiblemente, la etapa de puesta en contacto ha de realizarse por vía tópica a una concentración que sea suficiente para provocar una respuesta estimuladora. La concentración del péptido en la composición puede ser de aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 100 µg/ml, de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 50 µg/ml, y de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 1 µg/ml. La etapa de puesta en contacto puede realizarse en un mamífero, un gato, un perro, una vaca, un caballo, un cerdo o un ser humano. Una composición preferida para promover la producción de proteínas de la MEC comprende la SEC ID N°: 8, más preferiblemente, la composición comprende la SEC ID N°: 8 en una mezcla heterogénea con al menos otro tetrapéptido. En una realización más preferida, los tetrapéptidos individuales en la composición causarían una producción de colágeno prolongada durante un periodo de al menos 48 horas.

Una realización adicional de la presente descripción se refiere a un método para promover la cicatrización de la piel dañada por envejecimiento normal, enfermedad, lesión, traumatismo o por cirugía u otros procedimientos médicos. El método puede comprender administrar en la herida de un animal una composición, en la que la composición comprenda cualquiera de los péptidos descritos anteriormente, en solitario o en combinación. Las composiciones pueden ser un líquido, una loción, crema, pasta, pomada, espuma o cualquier otra formulación farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden contener vehículos o adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones pueden contener otros agentes biológicamente activos tales como agentes antimicrobianos o factores de crecimiento. Las composiciones también pueden usarse en combinación con otros agentes terapéuticos tales como injertos tisulares, productos de cultivo tisulares, oxígeno o apósitos. La concentración del péptido en la composición puede ser de aproximadamente 0,01 µg/ml a aproximadamente 100 µg/ml, de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 50 µg/ml y de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 1 µg/ml. La composición puede administrarse en la herida por vía tópica. El animal puede ser generalmente cualquier tipo de animal y es preferiblemente un mamífero, y más preferiblemente es un ser humano, una vaca, un caballo, un gato, un perro, un cerdo, una cabra o una oveja. Una composición preferida para aplicaciones de cicatrización en las que se promueve la producción de proteínas de la MEC comprende la SEC ID N°: 8; más preferiblemente, la composición comprende la SEC ID N°: 8 en una mezcla heterogénea con al menos otro tetrapéptido. En una realización más preferida, los tetrapéptidos individuales en la composición causarían la producción de colágeno prolongada durante un periodo de al menos 48 horas.

Una realización adicional de la presente invención se refiere a un método para reducir cicatrices de la piel dañada por envejecimiento normal, enfermedad, lesión, traumatismo o por cirugía u otros procedimientos médicos. El método puede comprender administrar en la herida de un animal una composición, en la que la composición comprenda cualquiera de los péptidos descritos anteriormente, en solitario o en combinación. Las composiciones pueden ser un líquido, una loción, crema, pasta, pomada, espuma u otra formulación farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden contener vehículos o adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones pueden contener otros agentes biológicamente activos tales como agentes antimicrobianos o factores de crecimiento. Las composiciones también pueden usarse en combinación con otros agentes terapéuticos tales como injertos tisulares, productos de cultivo tisulares, oxígeno o apósitos. La concentración del péptido en la composición puede ser de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 100 µg/ml, de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 50 µg/ml y de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 1 µg/ml. La composición puede administrarse en la herida por vía tópica. El animal puede ser generalmente cualquier tipo de animal y es preferiblemente un mamífero, y más preferiblemente es un ser humano, una vaca, un caballo, un gato, un perro, un cerdo, una cabra o una oveja. Una composición preferida para aplicaciones de cicatrización en las que se promueve la producción de proteínas de la MEC comprende la SEC ID N°: 8; más preferiblemente, la composición comprende la SEC ID N°: 8 en una mezcla heterogénea con al menos otro tetrapéptido. En una realización más preferida, los tetrapéptidos individuales en la composición causarían la producción de colágeno prolongada durante un periodo de al menos 48 horas.

Una realización adicional de la presente descripción se refiere a un método para producir los tetrapéptidos descritos en combinación. Los péptidos pueden producirse usando cualquier método conocido por los expertos en la materia tales como los descritos en 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); o Kent, S.B.H. et al., High Yield Chemical Synthesis Of Biologically Active Peptides On An Automated Peptide Synthesizer Of Novel Design, IN: PEPTIDES 1984 (Ragnarsson U., ed.) Almqvist y Wiksell Int., Stockholm (Sweden), páginas 185-188, todos los cuales se incorporan por referencia en el presente documento en su totalidad. Preferiblemente, un aparato capaz de añadir secuencialmente aminoácidos a una cadena polipeptídica en crecimiento producirá los péptidos. Sin embargo, los péptidos también pueden fabricarse usando metodología de fase en solución convencional.

Se ha observado que, durante la síntesis de la cadena peptídica, la adición de una mezcla de aminoácidos libres en lugar de mezclas peptídicas homogéneas da como resultado una incorporación variada de aminoácidos libres de manera que una combinación de péptidos resulte de reacciones de síntesis. La frecuencia de incorporación relativa de un aminoácido particular incluido en una mezcla de dos o más aminoácidos añadidos durante la síntesis puede ajustarse. El ajuste es posible modificando la relación de un aminoácido libre que está disponible durante el proceso de síntesis con respecto al resto de aminoácidos en la mezcla (esto se denomina mezcla isocinética).

Para demostrar realizaciones preferidas de la presente descripción se incluyen los siguientes ejemplos. Los expertos en la materia deben apreciar que las técnicas descritas en los siguientes ejemplos representan técnicas, descubiertas por el autor de la presente invención, que funcionan bien en la realización práctica de la invención y por tanto puede considerarse que constituyen modos preferidos para su realización práctica. Sin embargo, a la vista de la presente descripción, los expertos en la materia deben apreciar que, en las realizaciones específicas que se describen, pueden realizarse muchos cambios y obtener no obstante un resultado similar o parecido sin alejarse del espíritu y alcance de la invención.

## EJEMPLOS

### Ejemplo 1: Identificación de secuencias tetrapeptídicas repetidas en colágeno

Una proporción relativamente alta de secuencias tetrapéptidicas repetidas en el colágeno IV tiene el motivo GxxG (en el que x es cualquier aminoácido). Varios de estos se muestran *in situ* como parte de la secuencia completa del colágeno IV ilustrada en la Figura 1 como SEC ID N°: 45. En primer lugar se examinó el colágeno IV debido a su función de interacción con otros componentes especializados de la MEC (véase Gregory Schultz et al., 2005). En el colágeno IV, existen once secuencias con el motivo GxxG, que aparecen más de diez veces (GxxG en la que xx se representa por: vp, ek, fp, lp, pp, sp, ep, ip, pk, qp y tp). De estas secuencias tetrapeptídicas, ocho de once secuencias contienen prolina en la posición 3, dos de once secuencias contienen P en la posición 2, una de once secuencias contienen prolina en las posiciones 2 y 3, y una de once secuencias no contienen prolina. Las secuencias descritas se denominan REPLIKINES™. Una "REPLIKINE" se define como una secuencia corta dentro de las proteínas de la MEC que aparecen veces múltiples (es decir, se replica). Esta secuencia puede estar presente en una proteína de la MEC (por ejemplo, colágeno IV). Preferiblemente, esta secuencia está presente en proteínas múltiples de la MEC (por ejemplo, todos los colágenos, elastina, laminina, etc.). La presencia de la secuencia en proteínas múltiples de la MEC aumenta la probabilidad de que el fragmento pueda ser capaz de promover la síntesis o reparación de la MEC.

Las once secuencias GxxG que aparecen en el colágeno IV, indicadas anteriormente, se ponen de manifiesto en la secuencia del colágeno IV humano ilustrada en la Figura 1. En esta figura, todas las secuencias en negrita se subrayan y las secuencias solapantes se subrayan con doble línea. Todas estas secuencias, excepto una, también aparecen en los colágenos I, II, III y V. Este hecho contribuye a la capacidad de los péptidos descritos para estimular la producción de todos los tipos de colágeno, particularmente cuando los péptidos se usan en combinación. La Tabla 1 muestra la frecuencia de diversas repeticiones tetrapeptídicas en proteínas de la MEC. En la Tabla 1, las secuencias indicadas en negrita son las que aparecen diez veces o más en el colágeno IV.

**Tabla 1. Frecuencia de tetrapéptidos en las proteínas de la MEC**

SEC ID N°:	Secuencia	Colágeno I	Colágeno II	Colágeno III	Colágeno IV	Colágeno V	Elastina	Precursor de elastina
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		
<b>8</b>	<b>GEKG</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>22</b>	<b>15</b>		
<b>5</b>	<b>GEPG</b>	<b>11</b>	<b>15</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>4</b>		
24	GERG	10	11	14	6	7		
<b>2</b>	<b>GFPG</b>	<b>4</b>	<b>8</b>	<b>6</b>	<b>22</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
25	GIPG	2	2	6	14	6	5	5
26	GKDG	1	4	5	2	2		

SEC ID N°:	Secuencia	Colágeno I	Colágeno II	Colágeno III	Colágeno IV	Colágeno V	Elastina	Precursor de elastina
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		
<b>7</b>	<b>GPPG</b>	<b>33</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>46</b>	<b>43</b>		
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		
<b>3</b>	<b>GSPG</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>21</b>	<b>16</b>	<b>3</b>		
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		

5 Como también se desprende de una revisión de la secuencia del colágeno IV, SEC ID N°: 45, hay también muchas apariciones de secuencias que tienen el motivo PxxP. Por ejemplo, la secuencia PGPP aparece como mínimo quince veces como se ilustra en la Figura 3. Por lo tanto, esta secuencia descrita también se denomina REPLIKINE™. Preferiblemente, como esta secuencia está presente en proteínas múltiples de la MEC (por ejemplo, todos los colágenos, elastina, laminina, etc.) la presencia de esta secuencia en proteínas múltiples de la MEC aumenta la probabilidad de que el fragmento pueda ser capaz de promover la síntesis o reparación de la MEC. Las quince secuencias PGPP, indicadas anteriormente, que aparecen en el colágeno IV se indican en negrita y subrayadas en la secuencia de colágeno IV humano ilustrada en la Figura 3.

#### Ejemplo 2: Identificación de activos de desplazamiento de fase

15 Además de la proporción relativamente alta de secuencias tetrapeptídicas repetidas en el colágeno IV con el motivo GxxG, se han identificado otras secuencias tetrapeptídicas que aparecen separadas un aminoácido de desplazamiento de fase de una secuencia tetrapeptídica GxxG o PxxP. Estas secuencias pueden repetirse o aparecer solamente una vez dentro de una proteína de la MEC y pueden localizarse separadas, una posición aminoacídica, de cualquiera de una secuencia tetrapeptídica GxxG o PxxP, como se describe en el presente documento. Estas secuencias tetrapeptídicas se denominan activos de desplazamiento de fase. Por consiguiente, dichos activos de desplazamiento de fase pueden contener una G o una P en la segunda o tercera posición dependiendo de la dirección del desplazamiento de fase. Adicionalmente se ha reconocido que los activos de desplazamiento de fase pueden combinarse con otras secuencias tetrapeptídicas descritas en esta solicitud formando una combikine. Un ejemplo de dicha combikine es H06 y H15.

25 Un ejemplo de un activo de desplazamiento de fase es GAGP o H12 (SEC ID N°: 6). H12 (CAGP) aparece un resto (o fase) desplazado del tetrapéptido GxxG, GGAG en el Colágeno III (SEC ID N°: 46), como se ilustra en la Figura 2. En esta figura, todas las secuencias de activos de desplazamiento de fase se indican en negrita y subrayadas y las secuencias GxxG que aparecen separadas un desplazamiento de fase se subrayan con doble línea. Adicionalmente, como se muestra en la Tabla 5, este tetrapéptido (GAGP) consigue buenos resultado para la producción de colágeno en 48 horas. Otro ejemplo es la secuencia PGPR, que es H10 (SEC ID N°: 4) que aparece once veces en los Colágenos I-IV. Además, como este tetrapéptido aparece veces múltiples en una proteína

individual de la MEC, se consideraría una REPLIKINE. La Figura 2 (SEC ID N°: 46) ilustra varios ejemplos de este tetrapéptido apareciendo cada uno con un desplazamiento de fase del tetrapéptido GxxG, GPRG. Este activo de desplazamiento de fase particular aparece en proteínas múltiples de la MEC y por lo tanto aumenta la probabilidad de que el fragmento pueda ser capaz de promover la síntesis o reparación de la MEC.

**Ejemplo 3: Identificación de secuencias repetidas que estimulan la producción de colágeno**

Usando química con péptidos convencionales, se sintetizaron diversas secuencias identificadas en los Ejemplos 1 y 2 y se realizaron ensayos para la estimulación de colágeno de fibroblastos dérmicos. Los péptidos sintetizados se amidaron en el extremo C, lo que hizo que los tetrapéptidos fuesen menos susceptibles a la degradación por proteasas y aumentase su solubilidad en comparación con las formas ácidas libres. Se incubaron fibroblastos dérmicos humanos en placas de 96 pocillos a 37 °C y con CO<sub>2</sub> al 5% durante 24 y 48 horas en 150 µl de medio de cultivo celular completo (Cascade Biologies, Portland, OR; Cat. No. M-106-500) complementado con Complemento de Cultivo Bajo en Suero (Cascade Biologies, Portland, OR; Cat. No. S-003-10) que contenía péptidos de muestra a una concentración peptídica final de 50 µg/ml. Cada pocillo se sembró con 10.000 células. Después de la incubación, de cada pocillo se recuperaron muestras en 100 µl de medio y se ensayaron para determinar la producción de colágeno.

Los laboratorios Tebu-bio (Francia) realizaron los ensayos usando el Kit de Ensayo para Colágeno SIRCOL™ (Biocolor Assays, Reino Unido) siguiendo el protocolo del fabricante. El Ensayo para Colágeno SIRCOL™ es un método de unión a colorante cuantitativo diseñado para el análisis de colágenos solubles liberados en medio de cultivo por células de mamíferos durante el cultivo *in vitro*. El colágeno de las muestras ensayadas se une al colorante SIRCOL™ aniónico. Los complejos colágeno-colorante precipitan en la solución y se sedimentan por centrifugación. El sedimento colágeno-colorante recuperado se disolvió en una solución alcalina antes de medir la absorbancia. Se tomaron mediciones por duplicado, a las 24 y 48 horas, de dos muestras distintas. Se realizó el promedio de cuatro mediciones de cada muestra. Se midió la absorbancia de los blancos de reactivo, de los patrones de colágeno y de las muestras a 560 nm. La absorbancia del blanco de reactivo se restó de la absorbancia de cada muestra las 24 y 48 horas.

Se usaron dos grupos de datos distintos para generar dos curvas de calibrado patrón de colágeno. La primera curva de calibrado se generó con objeto de calcular la cantidad de colágeno en muestras de H6 (combinación de las SEC ID Nos: 1-4), H7-H14 (SEC ID Nos: 1-8, respectivamente) y H15 (combinación de las SEC ID Nos: 5-8). La segunda curva de calibrado se generó para calcular la cantidad de colágeno en las muestras de H16 (SEC ID N°: 9), H21-23 (SEC ID Nos: 10-12, respectivamente), H25-26 (SEC ID Nos: 13-14, respectivamente) o H29-30 (SEC ID Nos: 15-16, respectivamente), H32 (SEC ID N°: 17), H33 (combinación de las SEC ID Nos: 9-12), H34 (combinación de las SEC ID Nos: 11-14), H35 (combinación de las SEC ID Nos: 13-16), H36 (combinación de las SEC ID Nos: 1, 6, 5, 8), H37 (SEC ID N°: 17) y H38 (SEC ID N°: 8) a partir de las mediciones de absorbancia creadas representando la Ab<sub>S560nm</sub> de los patrones de colágeno conocidos frente a las concentraciones respectivas de los patrones de colágeno (en microgramos) realizadas cada vez una serie de ensayos. Con respecto a cada grupo de datos, para las muestras tomadas a las 24 y 48 horas (Tablas 2A y 2B), se usó la misma curva de calibrado. Por consiguiente, justo antes de realizar cada serie de ensayo, se prepararon diferentes curvas patrón.

**Tabla 2A: Curva de calibrado para ensayar la producción de colágeno por los péptidos H6-H15**

Patrones de colágeno (µg)	Ensayo a las 24 h A <sub>560nm</sub>	Ensayo a las 48 h A <sub>560nm</sub>
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

**Tabla 2B: Curva de calibrado para ensayar la producción de colágeno por los péptidos H16, H21-23, H25-26 y H29-38**

Patrones de colágeno (µg)	Datos de ensayo 1 A <sub>560nm</sub>	Datos de ensayo 2 A <sub>560nm</sub>
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

A partir de la representación de los valores de Abs<sub>560nm</sub> se realizó una regresión lineal frente las concentraciones respectivas de los patrones de colágeno usando MICROSOFT EXCEL™. La regresión dio como resultado una línea descrita por la fórmula  $y = 0,013x$  para los dos tiempos de incubación indicados en la Tabla 2A. Dado que los resultados fueron idénticos, solamente se usó el periodo de tiempo de 24 horas para la segunda serie de curvas de calibrado. La fórmula de la línea obtenida en los datos de ensayo 1 y en los datos de ensayo 2 de la segunda serie de muestras fue  $y = 0,0178x$  e  $y = 0,0162x$ , respectivamente. Como control positivo, se usó el péptido LL-36 (SEC ID N°: 18) ya que se había descrito ampliamente que éste tenía un impacto sobre la cicatrización en seres humanos (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 Epithelium, J. Invest. Dermato. 120:379-89 (2003)). El límite de detección del ensayo definido por el fabricante es de 2,5 µg.

La cantidad total de colágeno producida en las muestras que contenían los péptidos se calculó a partir de los valores de absorbancia promedio tomados a las 24 horas (Tabla 3A) y a las 48 horas (Tabla 3B) usando la ecuación lineal derivada de la curva patrón. La cantidad total de colágeno producida en las muestras que contenían los péptidos H16 (SEC ID N°: 9), H21-23 (SEC ID Nos: 10-12, respectivamente), H25-26 (SEC ID Nos: 13-14, respectivamente) o H29-30 (SEC ID Nos: 15-16, respectivamente), H32 (SEC ID N°: 17), H33 (combinación de las SEC ID Nos: 9-12), H34 (combinación de las SEC ID Nos: 11-14), H35 (combinación de las SEC ID Nos: 13-16), H36 (combinación de las SEC ID Nos: 1, 6, 5, 8), H37 (SEC ID N°: 17) y H38 (SEC ID N°: 8) se calculó a partir de los valores de absorbancia tomados a las 24 horas (Tabla 4A) y a las 48 horas (Tabla 4B) usando la ecuación lineal derivada de la curva patrón. Estos valores se compararon con el péptido LL37 (SEC ID N°: 18), un péptido que se sabía que estimulaba el colágeno. En cada tabla, las muestras marcadas con un asterisco (\*) pueden no ser significativas ya que el límite de detección del ensayo es de 2,5 µg.

**Tabla 3A: Mediciones de absorbancia y cuantificación de colágeno en las muestras de ensayo H6-H15 a las 24 horas**

SEC ID N°:	Péptidos	A <sub>560nm</sub>		Promedio	Promedio menos blanco	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	H 7	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
-	Blanco	0,074	0,076	0,08	0,00	0,0

**Tabla 3B: Mediciones de absorbancia y cuantificación de colágeno en las muestras de ensayo H6-H15 a las 48 horas**

SEC ID N°:	Péptidos	A <sub>560nm</sub>		Promedio	Promedio menos blanco	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	H 7	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*

ES 2 375 413 T3

SEC ID N°:	Péptidos	A <sub>560nm</sub>		Promedio	Promedio menos blanco	Colágeno (µg)
8	H14	0,132	0,176	0,15	0,03	2,6
-	H15	0,177	0,174	0,18	0,06	4,3
-	Blanco	0,120	0,115	0,12	0,00	0,0

**Tabla 4A: Mediciones de absorbancia y cuantificación de colágeno en las muestras de ensayo H16, H21-23, H25-26 o H29-38 a las 24 horas**

SEC ID N°:	Péptidos	A <sub>560nm</sub>		Promedio	Promedio menos blanco	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 (cristales y toxicidad celular)	0,087	0,055	0,07	-0,01	-0,5*
-	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
-	Blanco	0,072	0,086	0,08	0,00	0,0

**5 Tabla 4B: Mediciones de absorbancia y cuantificación de colágeno en las muestras de ensayo H16, H21-23, H25-26 o H29-38 a las 48 horas**

SEC ID N°:	Péptidos	A <sub>560nm</sub>		Promedio	Promedio menos blanco	Colágeno (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 (cristales y toxicidad celular)	0,088	0,072	0,08	0,02	1,2*
-	H33	0,096	0,092	0,09	0,03	2,1*

ES 2 375 413 T3

SEC ID N°:	Péptidos	A 560nm		Promedio	Promedio menos blanco	Colágeno (µg)
-	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
-	Blanco	0,106	0,0106	0,06	0,00	0,0

Dado que los tamaños de las muestras eran de 100 µl, la concentración de colágeno producida en cada muestra, en microgramos por mililitro, se determinó multiplicando la cantidad de colágeno detectada por diez. En la Tabla 5 se resumen los resultados de todas las muestras ensayadas.

5

**Tabla 5: Síntesis de colágeno inducida por péptidos**

SEC ID N°:	Nombre	Secuencia primaria	[Péptido] (µ/ml).	Colágeno producido (µg/ml)	
				24 horas	48 horas
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 (SEC ID Nos: 1,2,3,4)	50	25	13
5	H11	GEPG	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 (SEC 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 (péptido SEDERMA™)	50	nd	12
17	H37	KTTKS (péptido SEDERMA™)	0,3	11	22
-	H33	H16, H21, H22, H23 (SEC ID Nos: 9, 10, 11, 12)	50	14	21
-	H34	H22, H23, H25, H26 (SEC ID Nos: 11, 12, 13, 14)	50	22	34
-	H35	H25, H26, H29, H30 (SEC ID Nos: 13, 14, 15, 16)	50	9	23

SEC ID N°:	Nombre	Secuencia primaria	[Péptido] (µ/ml).	Colágeno producido (µg/ml)	
				24 horas	48 horas
-	H36	H7, H12, H11, H14 (SEC ID Nos: 1,6, 5, 8)	50	21	36
18	LL37	LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRI DFLRNLVPRTES	50	30	52

Todos los tetrapéptidos ensayados estimularon la producción de colágeno soluble. De las secuencias ensayadas, los tetrapéptidos GxxG con un ácido glutámico en la posición 2 estimularon mejor el colágeno en los dos puntos de tiempo de 24 y 48 horas. Estas secuencias son H11 (GEPG; SEC ID N°: 5), H14 (GEKG; SEC ID N°: 8) y H38 (GEKG; SEC ID N°: 8). Los péptidos se exploraron inicialmente usando una concentración peptídica de 50 µg/ml. Para examinar la concentración eficaz para estimular la producción de colágeno, también se ensayó H14 (SEC ID N°: 8) a 0,3 µg/ml como H38. Como se muestra en la Tabla 5, la estimulación de colágeno inducida por H38 no disminuyó a la concentración más baja, indicando que la concentración de estimulación máxima de la SEC ID N°: 8 es o está por debajo de 0,3 µg/ml.

Para ensayar esta eficacia, la SEC ID N°: 8 (H14 y H38) se comparó con el péptido LL37 (SEC ID N°: 18) que se sabía que estimulaba la producción de colágeno. Basándose en la cantidad de colágeno liberada por los fibroblastos en respuesta a LL37, se consideró que 25 µg/ml era una cantidad significativa de colágeno liberado debido al contacto con un tetrapéptido. La SEC ID N°: 8 indujo aproximadamente la misma cantidad de colágeno que la LL37 (SEC ID N°: 18) a las 24 horas. Cabe destacar que el colágeno producido como resultado del contacto con la SEC ID N°: 8 se mantuvo sustancialmente durante al menos 48 horas. La SEC ID N°: 8 también se comparó con un péptido principal del cuidado de la piel que se sabía que estimulaba la producción de colágeno, KTTKS (SEC ID N°: 17) (Katayama et al., J. BIOL. CHEM. 288: 9941-9944 (1983)). KTTKS es un ingrediente en el producto MATRIXYL™ (SEDERMA SAS, Francia). La SEC ID N°: 8 estimuló más producción de colágeno que el péptido KTTKS (SEC ID N°: 17) (Tabla 5) a las 24 y 48 horas.

#### Ejemplo 4: Identificación de combinaciones peptídicas que potencian sinérgicamente la estimulación de colágeno - COMBIKINES

Las poblaciones heterogéneas de tetrapéptidos activos pueden estimular la producción de colágeno a un nivel más alto que las muestras de tetrapéptidos homogéneos. Los componentes de la composición heterogénea se denominan COMBIKINES™. Las COMBIKINES son un grupo de REPLIKINES combinadas para producir un efecto mayor o más amplio sobre uno o más tipos de células diana. Los péptidos H11 (SEC ID N°: 5), H12 (SEC ID N°: 6), H13 (SEC ID N°: 7) y H14 (SEC ID N°: 8) se combinaron a una concentración final de 50 µg/ml y se ensayaron usando el mismo protocolo que el usado para los péptidos individuales. Como se esperaba, el resultado obtenido a las 48 horas igualó la media de la puntuación de inducción individual. Sin embargo, la combinación de péptidos a las 48 horas, indujo el colágeno a un nivel de 43 µg/ml. De manera sorprendente, esta cantidad superó con creces la media esperada (21 µg/ml) de los cuatro péptidos individuales (véase la Tabla 5). Por tanto, combinaciones específicas de péptidos pueden estimular la producción de colágeno a un grado más elevado que el los péptidos individuales a la misma concentración. Además, los tetrapéptidos de una diversidad de fuentes de la MEC tales como Colágeno, laminina y elastina pueden producir inducción potenciada de una diversidad de proteínas MEC (véanse las Tablas 1 y 5).

#### Ejemplo 5: Fabricación rentable de COMBIKINES para potenciar la estimulación de la producción de colágeno

El alto coste de síntesis peptídica limita la viabilidad de producir composiciones heterogéneas de péptidos bioactivos. La presente invención palia enormemente esta limitación. Dado que las secuencias descritas en el presente documento tienen una concordancia (por ejemplo, una glicina o prolina en ambos extremos), pueden sintetizarse diversos tetrapéptidos variando las posiciones 2 y 3 en un solo procesamiento de fabricación. Los péptidos sintéticos pueden prepararse mediante cualquier método conocido en la materia (Beniton, N., Chemistry of Peptide Synthesis, CRC (2005)). Durante la fabricación de los péptidos, se añaden mezclas de aminoácidos en lugar de muestras homogéneas. Anteriormente se han descrito los procesos químicos para determinar las proporciones correctas de concentraciones de aminoácidos añadidas a las posiciones mixtas para lograr la proporción deseada de péptidos resultantes (Greenbaum et al., Molecular and Cellular Proteomics 1:60-68, 2002; Krstenansky et al., Letters in Drug Design and Discovery 1:6-13, 2004; ambas de las cuales se incorporan en el presente documento en su totalidad). Usando esta metodología, por casi el mismo coste de sintetizar un péptido, puede prepararse una biblioteca de péptidos heterogéneos.

La aplicación de este proceso de fabricación permite la producción rentable de combikines bioactivas. Esto es posible por la composición exclusiva de los tetrapéptidos descritos. Las mezclas tetrapeptídicas están mejor adaptadas para la incorporación en formulaciones de uso tópico que los péptidos más largos. Debido a su longitud,

los tetrapéptidos poseen ventajas prácticas y químicas sobre los péptidos más largos, incluyendo las siguientes: incorporación y solución más fácil en las formulaciones, mayor permeabilidad cutánea y porosa, y mayores rendimientos de producción con métodos de fabricación de combinaciones de péptidos más fáciles. Aunque no sea necesario, las formulaciones de tetrapéptidos ideales, en solitario o en combinación, son formulaciones que mantienen una producción de colágeno significativa a las 24 horas durante hasta 48 horas. Más preferiblemente, las formulaciones inducirían la síntesis de la MEC durante todo el periodo de 48 horas de manera que en 48 horas se produce más colágeno que en 24 horas. Sin embargo, dentro del alcance de la presente invención, los tetrapéptidos que promueven la producción de proteínas de la MEC a las 24 horas, pero que muestren producción disminuida a las 48 horas, son menos favorables. En este aspecto, la Tabla 6 muestra los resultados de los péptidos actualmente descritos. Los péptidos preferidos se indican en negrita.

Tabla 6. Péptidos descritos

SEC ID N°:	Péptidos	colágeno liberado a las 24 h ( $\mu$ m)	colágeno liberado a las 48 h ( $\mu$ m)	liberación significativa de colágeno a las 24 y 48 h	aumento de liberación de colágeno a las 48 h frente a las 24 h	disminución de liberación de colágeno a las 48 h frente a las 24 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			
<b>8</b>	<b>H14</b>	<b>30</b>	<b>26</b>	√		
<b>8</b>	<b>H38</b>	<b>29</b>	<b>28</b>	√		
-	<b>H15</b>	<b>25</b>	<b>43</b>	√	√	
9	H16	31	3			√
<b>10</b>	<b>H21</b>	<b>25</b>	<b>29</b>	√		
11	H22	33	21			√
12	H23	1	17		√	
13	H25	13	7			√
<b>14</b>	<b>H26</b>	<b>29</b>	<b>35</b>	√		
15	H29	4	19		√	
16	H30	9	20		√	
17	H32 (cristales y toxicidad celular)	NA	12			
17	H37	11	22		√	
-	H33	14	21			
-	H34	22	34		√	
-	H35	9	23		√	
-	H36	21	36		√	

15 Ejemplo 6: Los estimuladores de colágeno también sirven como moléculas multifactoras que potencian el cierre de heridas de células epiteliales cutáneas

Los colágenos son componentes clave de todas las fases de cicatrización. La estimulación de la producción de colágeno refleja que se ha producido una lesión en la red de colágeno (por ejemplo, por destrucción enzimática o física). En efecto, el colapso total de la red de colágeno produce de hecho la curación. Por lo tanto un estimulador de colágeno también puede servir como molécula efectora organizadora de una certera remodelación matricial y potenciación de cicatrización de heridas.

Se realizaron experimentos de cicatrización de heridas en monocapas de células epiteliales cutáneas humanas (CRL-2592) sembradas en placas de 12 pocillos. Antes del experimento se privó a las células de suero durante 24 horas. Se realizaron lesiones sobre monocapas confluentes de CRL-2592 usando una punta de pipeta P200 (200- $\mu$ l). Las heridas se lavaron y antes del tratamiento con los péptidos se tomaron fotografías ilustradas. Se añadieron péptidos a una concentración final de 20 a 40  $\mu$ g/ml. Las células se mantuvieron en una incubadora a 37°C, con CO<sub>2</sub> al 5% y humedad al 92%, excepto cuando se capturaron imágenes durante un corto periodo de tiempo a temperatura ambiente. El cierre de las heridas se produjo después de 6 y 10 horas. Con fines comparativos, las heridas tratadas con PBS se usaron como controles negativos.

**Tabla 7: Efecto de los péptidos sobre el cierre *in vitro* de heridas de células epiteliales cutáneas humanas**

	0 horas	6 horas		10 horas	
Compuesto	tamaño H*	tamaño H	% de cierre	tamaño-H	% de cierre
PBS-1	36	29	19,40%	21	41,70%
PBS-2	52	42	19,20%	30	42,30%
Compuesto	tamaño H*	tamaño H	% de cierre	tamaño H	% de cierre
SEC ID N°: 14	25	12	52%	2,75	89%
SEC ID N°: 5	48	39	19%	30	37,50%

\* tamaño H: tamaño de la Herida (arbitrario)

El cierre *in vitro* de la herida de la monocapa es un resultado de la migración celular, que es importante en diversos procesos biológicos, tales como, embriogénesis, angiogénesis, reacciones inflamatorias y restauración heridas. Se piensa que estos procesos están regulados por interacciones con otras células, citocinas y proteínas de la MEC. Como se muestra en la Tabla 7, la SEC ID N°: 14 induce significativamente el cierre de heridas en comparación con los efectos del PBS en solitario. Dicha actividad es específica de péptidos así como específica del tipo de célula ya que la SEC ID N°: 14 no induce el cierre de heridas en una monocapa de fibroblastos de piel humana (datos no mostrados). La SEC ID N°: 5 es también una inductora de colágeno, pero no potencia el cierre de heridas ni la migración celular epitelial a ningún grado superior en comparación con los efectos del PBS en solitario. El hecho de que la SEC ID N°: 14 induzca la migración celular o el cierre de heridas de una manera específica con respecto a las células epiteliales cutáneas (es decir no incorpora fibroblastos) puede añadir una ventaja usando este péptido para el cuidado de la piel ya que se piensa que la incorporación de grandes cantidades de fibroblastos activos en un sitio con lesión da como resultado un exceso de deposición y contracción de tejido resultante en la cicatrización.

A la luz de la presente descripción, todas las composiciones o métodos descritos y reivindicados en el presente documento pueden realizarse y ejecutarse sin excesiva experimentación. Aunque las composiciones y métodos de la presente invención se han descrito en cuanto a realizaciones preferidas, para los expertos en la materia será evidente que a las composiciones y/o a los métodos y en las etapas, o en la secuencia de etapas, de los métodos descritos en el presente documento, pueden aplicarse variaciones sin alejarse del alcance de la invención. Más específicamente, será evidente que algunos agentes, que están tanto química como fisiológicamente relacionados, puedan sustituirse por los agentes descritos en el presente documento mientras se consigan los mismos resultados o similares. Se considera que todos estos sustitutos y modificaciones similares, evidentes para los expertos en la materia, están dentro del alcance de la presente invención.

#### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Harris, Scott M.  
Falla, Timothy J.  
Zhang, Lijuan

<120> FRAGMENTOS PEPTÍDICOS PARA INDUCIR LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS DE LA MATRIZ EXTRACELULAR

<130> 11181.0034.00PC00

<150> US 60/813.284

<151> 13-06-2006

<160> 46  
<170> PatentIn versión 3.4

5 <210> 1  
<221> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido Sintético H7  
  
<400> 1

**Pro Glu Gly Pro  
1**

15  
  
20 <210> 2  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

<220>  
<223> Péptido Sintético H8  
  
25 <400> 2

**Gly Phe Pro Gly  
1**

30 <210> 3  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido Sintético H9  
  
<400> 3

**Gly Ser Pro Gly  
1**

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

45 <220>  
<223> Péptido Sintético H10  
  
50 <400> 4

**Pro Gly Pro Arg  
1**

55 <210> 5  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

ES 2 375 413 T3

<220>  
<223> Péptido Sintético H11  
<400> 5

**Gly Glu Pro Gly**  
1

5

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

10

<220>  
<223> Péptido Sintético H12

15

<400> 6

**Gly Ala Gly Pro**  
1

20

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

25

<220>  
<223> Péptido Sintético H13

<400> 7

**Gly Pro Pro Gly**  
1

30

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

35

<220>  
<223> Péptido Sintético H14

40

<400> 8

**Gly Glu Lys Gly**  
1

45

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

50

<220>  
<223> Péptido Sintético H16

<400> 9

**Pro Glu Lys Pro**  
1

5  
<210> 10  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético H21

10  
<400> 10

**Pro Lys Gly Pro**  
**1**

15  
<210> 11  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético H22  
  
20  
<400> 11

**Pro Gly Gln Pro**  
**1**

25  
<210> 12  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
30  
<220>  
<223> Péptido Sintético H23  
  
<400> 12

**Pro Gly Thr Pro**  
**1**

35  
  
40  
<210> 13  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético H25  
  
45  
<400> 13

**Pro Met Gly Pro**  
**1**

50  
<210> 14  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
55  
<220>  
<223> Péptido Sintético H26  
  
<400> 14

ES 2 375 413 T3

**Pro Gly Pro Pro**  
1

5 <210> 15  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido Sintético H29  
  
<400> 15

**Pro Gln Gly Pro**  
1

15 <210> 16  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido Sintético H30  
  
<400> 16

**Pro Gly Asn Pro**  
1

25 <210> 17  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificial

30 <220>  
<223> Péptido Sintético H32  
  
35 <400> 17

**Lys Thr Thr Lys Ser**  
1 5

40 <210> 18  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido 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

50

ES 2 375 413 T3

5  
<210> 19  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

10  
<400> 19

**Gly Ala Ala Gly**  
**1**

15  
<210> 20  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

20  
<220>  
<223> Péptido Sintético  
  
<400> 20

**Gly Ala Lys Gly**  
**1**

25  
<210> 21  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

30  
<220>  
<223> Péptido Sintético  
  
<400> 21

**Gly Ala Pro Gly**

35  
**1**

40  
<210> 22  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

45  
<220>  
<223> Péptido Sintético  
  
<400> 22

**Gly Asp Lys Gly**  
**1**

50  
<210> 23  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

55  
<220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 23

**Gly Asp Arg Gly**  
**1**

5

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

10

<220>  
<223> Péptido Sintético

15

<400> 24

**Gly Glu Arg Gly**  
**1**

20

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

25

<220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 25

**Gly Ile Pro Gly**  
**1**

30

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

35

<220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 26

**Gly Lys Asp Gly**  
**1**

40

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

45

<220>  
<223> Péptido Sintético

50

<400> 27

**Gly Lys Pro Gly**  
**1**

55

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

ES 2 375 413 T3

	<213> Artificial	
	<220>	
5	<223> Péptido Sintético	
	<400> 28	
		<b>Gly Leu Lys Gly</b>
		<b>1</b>
10	<210> 29	
	<211> 4	
	<212> PRT	
	<213> Artificial	
15	<220>	
	<223> Péptido Sintético	
	<400> 29	
		<b>Gly Leu Pro Gly</b>
20		<b>1</b>
	<210> 30	
	<211> 4	
25	<212> PRT	
	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> Péptido Sintético	
30	<400> 30	
		<b>Gly Asn Pro Gly</b>
		<b>1</b>
35	<210> 31	
	<211> 4	
	<212> PRT	
	<213> Artificial	
40	<220>	
	<223> Péptido Sintético	
	<400> 31	
		<b>Gly Pro Ala Gly</b>
		<b>1</b>
45	<210> 32	
	<211> 4	
	<212> PRT	
	<213> Artificial	
50	<220>	
	<223> Péptido Sintético	
	<400> 32	
		<b>Gly Pro Lys Gly</b>
55		<b>1</b>

5 <210> 33  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

10 <400> 33

**Gly Pro Gln Gly**  
**1**

15 <210> 34  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

20 <400> 34

**Gly Pro Arg Gly**  
**1**

25 <210> 35  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

30 <400> 35

**Gly Pro Ser Gly**  
**1**

35 <210> 36  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

40 <400> 36

**Gly Pro Thr Gly**  
**1**

45 <210> 37  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

50 <400> 37

55 <210> 38  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial  
  
<220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 37

**Gly Pro Val Gly**  
**1**

5 <210> 38  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

10 <220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 38

**Gly Gln Pro Gly**  
**1**

15 <210> 39  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

20 <220>  
<223> Péptido Sintético

25 <400> 39

**Gly Arg Asp Gly**  
**1**

30 <210> 40  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

35 <220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 40

**Gly Arg Pro Gly**  
**1**

40 <210> 41  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

45 <220>  
<223> Péptido Sintético

50 <400> 41

**Gly Thr Pro Gly**  
**1**

55 <210> 42  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

# ES 2 375 413 T3

<220>  
<223> Péptido Sintético

5 <400> 42

**Gly Val Lys Gly**  
**1**

10 <210> 43  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

15 <220>  
<223> Péptido Sintético

<400> 43

**Gly Val Pro Gly**  
**1**

20 <210> 44  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> Artificial

25 <220>  
<223> Péptido Sintético

30 <400> 44

**Gly Tyr Pro Gly**  
**1**

35 <210> 45  
<211> 1669  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 45

ES 2 375 413 T3

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

ES 2 375 413 T3

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

ES 2 375 413 T3

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

ES 2 375 413 T3

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

5

10

ES 2 375 413 T3

50				55				60							
Ile	Ile	Cys	Asp	Asp	Gln	Glu	Leu	Asp	Cys	Pro	Asn	Pro	Glu	Ile	Pro
65					70					75					80
Phe	Gly	Glu	Cys	Cys	Ala	Val	Cys	Pro	Gln	Pro	Pro	Thr	Ala	Pro	Thr
				85					90					95	
Arg	Pro	Pro	Asn	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Gly	Pro	Lys	Gly	Asp	Pro	Gly
			100					105					110		
Pro	Pro	Gly	Ile	Pro	Gly	Arg	Asn	Gly	Asp	Pro	Gly	Ile	Pro	Gly	Gln
		115					120					125			
Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Ile	Cys	Glu	Ser	Cys
	130						135				140				
Pro	Thr	Gly	Pro	Gln	Asn	Tyr	Ser	Pro	Gln	Tyr	Asp	Ser	Tyr	Asp	Val
145					150					155					160
Lys	Ser	Gly	Val	Ala	Val	Gly	Gly	Leu	Ala	Gly	Tyr	Pro	Gly	Pro	Ala
				165					170					175	
Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Thr	Ser	Gly	His	Pro	Gly
			180					185					190		
Ser	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Tyr	Gln	Gly	Pro	Pro	Gly	Glu	Pro	Gly	Gln
		195					200					205			
Ala	Gly	Pro	Ser	Gly	Pro	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Ala	Ile	Gly	Pro	Ser
	210					215					220				
Gly	Pro	Ala	Gly	Lys	Asp	Gly	Glu	Ser	Gly	Arg	Pro	Gly	Arg	Pro	Gly
225					230					235					240
Glu	Arg	Gly	Leu	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly	Ile	Lys	Gly	Pro	Ala	Gly	Ile
				245					250					255	
Pro	Gly	Phe	Pro	Gly	Met	Lys	Gly	His	Arg	Gly	Phe	Asp	Gly	Arg	Asn
			260					265					270		
Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Thr	Gly	Ala	Pro	Gly	Leu	Lys	Gly	Glu	Asn	Gly
		275					280					285			
Leu	Pro	Gly	Glu	Asn	Gly	Ala	Pro	Gly	Pro	Met	Gly	Pro	Arg	Gly	Ala
	290					295					300				
Pro	Gly	Glu	Arg	Gly	Arg	Pro	Gly	Leu	Pro	Gly	Ala	Ala	Gly	Ala	Arg
305					310					315					320
Gly	Asn	Asp	Gly	Ala	Arg	Gly	Ser	Asp	Gly	Gln	Pro	Gly	Pro	Pro	Gly
				325					330					335	
Pro	Pro	Gly	Thr	Ala	Gly	Phe	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Ala	Lys	Gly	Glu
			340					345					350		
Val	Gly	Pro	Ala	Gly	Ser	Pro	Gly	Ser	Asn	Gly	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg
		355					360					365			

ES 2 375 413 T3

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

ES 2 375 413 T3

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

ES 2 375 413 T3

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

ES 2 375 413 T3

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

**REIVINDICACIONES**

1. Un tetrapéptido que comprende la SEC ID N°: 8.
- 5 2. Un tetrapéptido que comprende la SEC ID N°: 5.
3. Un tetrapéptido que comprende la SEC ID N°: 11.
- 10 4. El tetrapéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el tetrapéptido está amidado en el extremo carboxi.
5. Una composición que comprende un tetrapéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 15 6. La composición de la reivindicación 5, en la que el tetrapéptido está presente en una concentración eficaz que varía de aproximadamente 0,1 µg/ml a aproximadamente 100 µg/ml.
7. La composición de la reivindicación 5, en la que la composición está en forma de un aerosol, una emulsión, un líquido, una loción, una crema, una pasta, una pomada o una espuma.
- 20 8. Una composición que comprende una mezcla de los tetrapéptidos de la SEC ID N°: 5 y SEC ID N°: 8.
9. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 para su uso en el cuidado de la piel.
- 25 10. Un método *in vitro* para estimular la producción de colágeno por una célula, comprendiendo el método la exposición de una célula a un tetrapéptido, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o a una mezcla de los mismos, induciendo así la producción de colágeno por la célula.
- 30 11. Un método *in vitro* para estimular la producción de colágeno por una célula, comprendiendo el método la exposición de una célula a una composición que comprenda una mezcla de los tetrapéptidos de la SEC ID N°: 5 y de la SEC ID N°: 8, induciendo así la producción de colágeno por la célula.
12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 10 u 11, en el que la célula es una célula de fibroblasto.
- 35 13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 para su uso en el tratamiento de una herida cutánea.
14. La composición de la reivindicación 13, en la que dicha herida cutánea es un resultado de envejecimiento, enfermedad, lesión, traumatismo o cirugía.
- 40

MGPRLSVWLL LLPAALLLHE EHSRAAAKGG CAGSGCGKCD CHGVKQKQGE  
 RGLPGLQGVII GFPGMQGP PEG PQGPPQKGD TGEPGLPGTK GTRGPPGASG  
 YPGNGLPGI PGQDGP PGPF GIPGCNGTKG ERGPLGPPGL PGFAGNPGPP  
GLPGMKGD PG EILGHVPGML LKGERGFP GI PGT PGPPGLP GLQG PGV PGFP  
 FTGPPGPPGP PGPPGKQOM GLSFQPKGD KGDQGVSGFP GVPQQAQVQE  
 KGDIFATKGEK GQKGE PGFQ MPGVGEKGE GKPGPRGKPG KDGDKGEKGS  
PGFP PGEP GY GLIGRQGPQ EKGEAGPP PG IVIGTGPL GEKGERGYPG  
 TPGPRGEPGP KGFPLPGQP GPPGLV PGQ AGAPGPF GER GEKGD R PGFP  
 TSLPGPSGRD GLPGPPGS PG PPQ PGYTNG IVECQPP PG DQ PP GL PGQ  
PGF IGE E GEK GQK GES CLIC DID GYR GP PG PQ PP GE IG F PG Q AK GD  
GLP GR D GV AG V PG OG TP GL IG Q PG AK GE P GE F Y F D L R L K G D K D P G F P  
Q P G M P R A G S P R D G H P G L P G K S P G S V G L K G E R G P P G G V G F P G S R G D T  
G P P G P P G Y G P A G P I G D K Q A G F P G G P G S P G L P G K E P G K I V P L P G P G A  
 EGLPGSPGFP GPQDRGFP TPGRPGLPE KGAVGQPGIG FPGPPGPKGV  
 DGLPGDMGPP GTPGRPFNG LPGNPGVQGG KGEPGVGLPG LKGLPGLPGI  
PGT P GE K G S I G V P G V GE H G A I G P P G L Q G I R G E P G P P G L P G S V G S P G V P G  
I G P P G A R G P P G L S G P P G I K E K E P P G L D M P G P K G D K A Q G L  
PGI T Q S G L P G L P G Q Q A P I P G F P G S K G E M G V M G T P Q P G S P G V G A P G  
L P G E K D H G F P S S G P R G D P G L K G D K D V G L P G K P G S M D K V D M G S M K G Q K  
 GDQGEKQIG PIGEKSRGD PGTPGVPGKD QAGQPGQPG PKGDPGISGT  
PG A P G L P G P K G S V G M G L P G T P G E K V P G I P G Q G S P G L P G D K A K E K  
 QAGPPGIGIP GLRGEKGDQ IAGFPSPGE KGEKSGIGIP GMPSPLKKG  
SP G S V G Y P G S P L P G E K G D K L P G L D G I P G V K E A G L P G T P G T P A G Q K  
GE P G S D G I P G A G E K E P G L P R G F P G F P G A K G D K G S K G E V G F P G L A G S P  
G I P G S K G E Q G F M G P P G P Q Q P G L P G S P G H A T E G P K G D R G P Q G O P G L P G L P  
G P M G P P G L P G I D G V K G D K G N P G W P G A P G V P G P K G D P G F Q M P G I G S P G I  
 TGSKGDMPGPP GVPGFQGP LPGLQGIKGD QGDQGVPGAK GLPGPPGPPG  
 PYDIIKGEFG LPGEPPGGL KGLQGLPGPK QOQVTVGLVG IPPPPPIPFG  
 DGAPGQKGM GPAGTPPRG FPFPFPDGL PGSMGPPGT SVDHGFLVTR  
 HSQTIDDPQC PSGKILYHG YSLLYVQNE RAHQDLGTA GSCLRKFSTM  
 PFLFCNINNV CNFASRNDYS YWLSTPEPMP MSMAPITGEN IRPFISRCAV  
 CEAPAMVMVAV HSQTIQIPPC PSGWSSLWIG YSFVMHTSAG AEGSGQALAS  
 PGSCLEEFERS APFIECHGRG TCNYANAYS FWLATIERSE MFKKPTPSTL  
 KAGELRTHVS RCQVCMRRT

FIG. 1

MMSFVQKGSW LLLALLHPTI ILAQQEAVEG GCSHLGQSYA DRDVWKPEPC  
QICVCDSGSV LCDDIICDDQ ELDCPNPEIP FGECCAVCPQ PPTAPTRPPN  
GQGPGQPKGD 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 PGPGGHAGAQ GPPGPPGING SPGGKGEMGP  
AGIPGAPGLM GARGPPGPAG ANGAPGLRGG AGEPPGKNGAK GEPPGRGERG  
EAGIPGVPGA KGEDGKDGSP GEPGANLPG AAGERGAPGF RGPAGPNGIP  
GEKGPAGERG APGPAGPRGA AGEPRRDGVP GPGMRGMPG SPGGPGSDGK  
PGPPGSQGES GRPGPPGPPG PRGQPGVMGF PGPKGNDGAP GKNGERGGPG  
GPGPQGPPGK NGETGPPQPP GPTGPGGDKG DTGPPGPPQL QGLPGTGGPP  
GENGKPPGEPG PKGDAGAPGA PGKGDAGAP GERGPPGLAG APGLRGGAGP  
PGPEGGKGA GPPGPPGAAG TPGLQGMFGE RGGGSPGPK GDKGEPGGPG  
ADGVPGKDG RPTGPIGPP GPAGQPGDKG EGGAPGLPGI AGPRGSPGER  
GETGPPGPAG FPGAPQNGE PGKGERGAP GEKGEPPG VAGPPGSSGP  
AGPPGPPGVK GERGSPGGPG AAGFPGARGL PGPPSNGNP GPPGSPGSPG  
KDGPPGPAGN TGAPGSPGVS GPKGDAGQPG EKGSPGAQGP PGAPGPLGIA  
GITGARGLAG PPGMPGPRGS PGPGVKGES GKPGANLGS ERGPPGPPQL  
PGLAGTAGEP GRDGNPGSDG LPGRDGSPPG KDRGENGSP GAPGAPGHPG  
PPGPVGPAGK SDRGESGPA GPAGAPGAG SRGAPGPPG RGDKGETGER  
GAAGIKGHRG FPGNPGAPGS PGPAGQQGAI GSPGAPGPRG PVGPPGPPGK  
DGTSGHPGPI GPPGPRGNRG ERGSEGSPGH PGQPPGPPG GAPGPPCGGV  
GAAAIAGIGG EKAGGFAPYY GDEPMDFKIN TDEIMTSLKS VNGQIESLIS  
PDGSRKNPAR NCRDLKFCHP ELKSGEYWVD PNQCKLDAI KVFCNMETGE  
TCISANPLNV PRKHWTDS AEKKhVWfGE SMDGGFQFSY GNPPELPEVL  
DVQLAFLRL SSRASQNTY HCKNSIAYMD QASGNVKKAL KLMGSNEGEF  
KAEGNSKFTY TVLEDGCTKH TGEWSKTVFE YRTRKAVRLP IVDIAPYDIG  
GPDQEFVVDV GPVCF

FIG. 2

MGPRLSVWLL LLPAALLLHE EHSRAAAKGG CAGSGCGKCD CHGVKQKQGE  
 RGLPGLQGV I GFPMQGPPEG PQGPPGQKGD TGEPLPGTK GTRGPPGASG  
 YPGNPGLPGI PGQDGP**PGPP** GIPGCNGTKG ERGFLGPPGL PGFAGN**PGPP**  
 GLPGMKGDPG EILGHVPGML LKGERGFPGI PGT**PGPP**GLP GLQGPVGGPPG  
 FTGPP**PGPP**GP **PGPP**GEKQGM GLSFQGPKGD KGDQGVSGPP GVPQQAQVQE  
 KGDVFATKGEK GQKGEPGFQG MPGVGEKGEF GKPGPRGKPG KGDGKGEKGS  
 PGFPGEPPGYP GLIGRQGPQG EKGEAG**PGP** PGIVIGTGPL GEKGERGYPG  
 TPGPRGEPGP KGFPGLPGQP GPPGLEVPQG AGAPGFPGER GEKGDGRGFPG  
 TSLPGPSGRD GLPGPPGPSG PPGQPGYTNG IVE**CGPP**PG DQGPFGIPGQ  
 PGFIGEIGEK GQKGESCLIC DIDGYRGPPG PQGPPGEIGF PGQPGAAGDR  
 GLPGRDGVAG VPGPQGTPL IGQPGAKEP GEFYFDLRLK GDKDPPGFPG  
 QPGMPGRAGS PGRDGHPLP GPKGSPGSVG LKGERGPPGG VGFPGSRGDT  
 GPP**PGPP**PGYGP AGPIGDKQA GPPGGPGSPG LPGPKGEPGK IVPL**PGPP**GA  
 EGLPGSPGFP GPQGDGRGFP TPGRPLPGE KGAVGQPGIG **FPGP**PGKGV  
 DGLPGDMGPP GTPGRPGFNG LPGNPGVQQG KGEVGLPLG LKGLPGLPGI  
 PGT**PG**EKGS I GVPVPGEHG AIGPPGLQGI RGE**PGPP**GLP GSVGSPGVPG  
 IGPPGARGPP GGQPPGLSG PPGIKGEKGF PGFPGLDMPG PKGDKAQGL  
 PGITGQSGLP GLPGQQGAPG IPGFPGSKGE MGVMGTPGQP GSPGVPGAPG  
 LPGEKGDHGF PGSSGPRGDP GLKGDKGDVG LPGKPGSMDK VDMGSMKQK  
 GDQGEKQIG PIGEKSRRGD PGT**PG**VPGKD GQAGQPGQPG PKGDPGISGT  
 PGAPGLPGPK GSVGGMLPG TPGEKVPGI PGPQSPGLP GDKGAKGEK  
 QAGPPGIGIP GLRGEKGDQG IAGFPGSPGE KGEKGSIGIP GMPGSPGLK  
 SPGSPGYPGS PGLPGEKGDK GLPGLDGI PG VKGEAGLPGT PGPTGPAQK  
 GEPGSDGIPG SAGEKGEPL PGRGFPGFPG AKGDGSKGE VGFPLAGSP  
 GIPGSKGEQG FMGPPGPQGG PGLPGSPGHA TEGPKGDRGP QGQPLPGLP  
 GPMGPPGLPG IDGVKGDKN PGWPGAPGVP GPKGDPGFQG MPGIGGSPGI  
 TGSKDMGPP GVPFGQPKG LPGLQGIKGD QGDQGVPGAK GLPGPPPGG  
 PYDIIKGEFG LPGPEGPPGL KGLQGLPGPK GQQGVTLVG IPGPPPGI PGF  
 DGAPGQKQEM GPAGPTGPRG **FPGP**PGPDGL PGSMGPPGTP SVDHGFLVTR  
 HSQTIDDPQC PSGTKILYHG YSLLYVQNE RAHQDLGTA GSCLRKFTM  
 PFLFCNINNV CNFASRNQYS YWLSTPEPMP MSMAPITGEN IRPFISRCV  
 CEAPAMMAV HSQTIQIPPC PSGWSSLWIG YSFMHTSAG AEGSQALAS  
 PGSCLEEFRS AFFIECHGRG TCNYYANAYS FWLATIERSE MFKKPTPSTL  
 KAGELRTHVS RCQVCMRRT

FIG. 3