

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 026 437**

51 Int. Cl.:

A61K 38/08 (2009.01)

A61P 13/12 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61K 38/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.07.2021 PCT/EP2021/069450**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.01.2023 WO23284947**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2021 E 21742823 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.03.2025 EP 4351617**

54 Título: **Péptidos derivados de IL1RA para el tratamiento de la nefropatía diabética**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.06.2025

73 Titular/es:
**SERODUS APS (100.00%)
C/O COBIS Ole Maaløes Vej 3
2200 Copenhagen N, DK**

72 Inventor/es:
STEINESS, EVA

74 Agente/Representante:
ELZABURU, S.L.P

ES 3 026 437 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

Péptidos derivados de IL1RA para el tratamiento de la nefropatía diabética

Campo técnico

5 La presente explicación se refiere a péptidos derivados de la proteína antagonista de la IL-1R (IL1RA) para el tratamiento de la nefropatía diabética.

Antecedentes

10 La interleucina 1 (IL-1) es un nombre general para dos proteínas citocinas proinflamatorias distintas, la IL-1 alfa y la IL-1 beta. La IL-1 ejerce sus efectos uniéndose a receptores transmembrana específicos (IL-1R) en múltiples tipos de células. Los efectos de la IL-1 se contrarrestan con inhibidores naturales tales como los receptores solubles de la IL-1 y la proteína antagonista de la IL-1R (IL1RA). La IL1RA inhibe el efecto de la IL-1 al bloquear su interacción con los receptores de la superficie celular.

15 En la técnica se han abordado los enfoques terapéuticos para atacar la IL-1 con fines antiinflamatorios. Estos incluyen la administración de la proteína antagonista de la IL-1R recombinante, las proteínas de fusión que atrapan la IL-1, los anticuerpos anti-IL-1, los anticuerpos anti-IL-1RI y anti-IL-1RI y II solubles en modelos experimentales de artritis (revisado en Gabay C. et al., 2010).

20 La anakinra (US5075222) es una proteína producida de forma recombinante que contiene la versión *N*-terminal, metionilada y no glicosilada de la IL-1RA humana, que bloquea las acciones de la IL-1 sin ninguna actividad agonista detectable. La anakinra se ha probado para el tratamiento de la artritis reumatoide, la enfermedad de Still de inicio en la edad adulta, la artritis idiopática juvenil de inicio sistémico, la artrosis y la diabetes *mellitus* de tipo 2. La anakinra está aprobada para el tratamiento de la artritis reumatoide; se suministra como concentrado inyectable con 100 mg en cada dosis; se prepara a partir de *E. coli* modificada genéticamente mediante tecnología de ADN recombinante; y tiene un peso molecular alto.

25 En los documentos WO 2012/122985 y WO 2017/063657 se explica un péptido de 10 aminoácidos derivado de IL1RA: SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1) y su uso en el tratamiento de diversos trastornos. Se ha demostrado previamente que la SEQ ID NO: 1 inhibe la señalización del NF- κ B inducida por la interleucina 1 β y la secreción de TNFa por macrófagos y, por lo tanto, es un potente inhibidor de las respuestas inflamatorias (Klementiev 2014).

30 La enfermedad renal diabética (ERD), también conocida como nefropatía diabética, no se ha considerado históricamente como una enfermedad inmunitaria, ya que se pensaba que los factores metabólicos y hemodinámicos eran las principales causas de las lesiones renales. Sin embargo, estudios recientes respaldan el papel del sistema inmunitario innato tanto en el desarrollo como en la progresión de la ERD. Asociación con la inflamación renal sistémica y local y un aumento del número de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias. Se han encontrado IL-1 e IL-4 en el riñón y algunas también en la sangre periférica de pacientes con nefropatía diabética en comparación con individuos de control sanos (Hickey 2018, Araújo 2020, Murakoshi 2020).

35 La inflamación progresiva no infecciosa involucra a las células glomerulares y tubulares, lo que resulta en una pérdida gradual de la función renal. La glucemia y la tensión arterial se mantendrán lo más normales posible, lo que retrasará la pérdida de la capacidad funcional renal. Sin embargo, no se ha desarrollado ningún tratamiento específico para esta inflamación innata, y la disminución de la filtración glomerular y la capacidad funcional tubular no se para, y la pérdida de la capacidad funcional renal continúa. En la etapa final de la insuficiencia renal, el tratamiento será la diálisis prolongada y, en algunos casos, el trasplante renal. Por lo tanto, se necesitan intervenciones que prevengan o detengan la disminución predestinada inducida por la inflamación en todas las capacidades funcionales de las nefronas y se centran en la inhibición de la inflamación renal.

40 A los pacientes se les diagnostica nefropatía diabética midiendo la albúmina en la orina. La albúmina en la orina con frecuencia se mide en la muestra puntual y se corrige para determinar la creatinina en la misma muestra de orina (ACR mg/g). Los ACR se dividen en tres grupos, normoalbuminuria ACR < 30 mg/g, microalbuminuria ACR > 30 mg/g y < 300 mg/g y macroalbuminuria ACR > 300 mg/g. Existen indicios clínicos de que cuanto mayor es el ACR, más avanzado está el daño renal.

45 La albúmina urinaria y la molécula 1 de lesión renal (KIM-1) son biomarcadores de la inflamación innata del riñón, como se observa en varias enfermedades autoinmunitarias que afectan a los riñones, así como en otras enfermedades no autoinmunitarias (Coca 2017, Cai 2019, Levey 2019). Las biopsias renales humanas han confirmado la presencia de células inflamatorias en ambos glomérulos, los túbulos y el intersticio en todas las etapas de la nefropatía diabética (Kahn 2019, Calle 2021).

Compendio

En el presente documento se muestra que los péptidos derivados de la IL1RA según la presente explicación reducen significativamente la albúmina urinaria corregida para la creatinina (ACR) y la molécula que lesiona los riñones

corregida para la creatinina (KIM-1/CR). La albúmina urinaria y la KIM-1 son biomarcadores de la inflamación renal innata, como se observa en diversas enfermedades que involucran a los riñones, incluida la nefropatía diabética.

5 Como la nefropatía diabética no se ha considerado históricamente como una enfermedad inmunitaria, existe la necesidad de compuestos y medicamentos que aborden los aspectos de la inflamación renal e inmunitarios de la nefropatía diabética.

Sobre la base de los datos experimentales proporcionados en el presente documento, es probable que los péptidos y compuestos derivados de la IL4RA según la presente explicación puedan prevenir o detener la disminución predestinada inducida por la inflamación en diversas capacidades funcionales de las nefronas del riñón.

10 Sobre la base de los datos experimentales proporcionados en el presente documento, es probable que los péptidos y compuestos derivados de la IL4RA según la presente explicación puedan inhibir la inflamación renal que se observa en la nefropatía diabética.

La invención se expone en el conjunto adjunto de reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

15 La figura 1 muestra la albúmina urinaria corregida para la creatinina (ACR) en una muestra de orina después del tratamiento con vehículo de ratones db/db uninefrectomizados con renina AAV (Renin AAV UNx) con 3 mg/kg de SER140, 10 mg/kg de SER140 y 20 mg/kg de SER140 durante 77 días. La figura 1 muestra las medianas de los diferentes grupos. Véase el ejemplo 1.

20 La figura 2 muestra la KIM-1 urinaria corregida para la creatinina (KIM-1/CR) en una muestra de orina después del tratamiento de ratones uninefrectomizados con renina AAV (Renin AAV UNx) con 3 mg/kg de SER140, 10 mg/kg de SER140 y 20 mg/kg de SER140 durante 77 días. La figura 2 muestra los promedios de los diferentes grupos. Véase el ejemplo 1.

Definiciones y abreviaturas

ACR: Albúmina corregida para la creatinina (por sus siglas en inglés)

ERD: Enfermedad renal diabética

25 IL1RA o IL1Ra: La proteína antagonista del receptor de IL-1, también puede denominarse antagonista del receptor de IL-1 en el presente documento.

IL-1: Interleucina 1

IL1R1 o IL1R1: Receptor de IL1 de tipo 1

KIM-1: Molécula de lesión renal-1 (por sus siglas en inglés)

30 KIM-1/CR: KIM-1 corregida para la creatinina

Ratones ReninAAV UNx: Ratones db/db uninefrectomizados con renina AAV

35 Los términos "nefropatía diabética" y "enfermedad renal diabética (ERD)" se usan indistintamente para referirse a la misma enfermedad. La nefropatía diabética es un tipo de enfermedad renal progresiva que puede presentarse en individuos con diabetes *mellitus*. Afecta a individuos con diabetes de tipo 1 y tipo 2, y el riesgo aumenta con la duración de la enfermedad y otros factores de riesgo, como la tensión arterial alta y los antecedentes familiares de enfermedad renal.

El término "individuo" se refiere a vertebrados, miembros particulares de la especie de mamíferos, preferiblemente primates, incluidos los seres humanos. Como se usa en el presente documento, "sujeto" e "individuo" se pueden usar indistintamente.

40 Un "individuo que lo necesita" se refiere a un individuo que puede beneficiarse de la presente explicación. En una realización, el individuo que lo necesita es un individuo enfermo. En una realización, el individuo que lo necesita es un individuo enfermo, en particular, un individuo con diabetes *mellitus* de tipo 1 o 2.

45 La "administración conjunta" o la "coadministración" de los compuestos de la presente explicación y otros medicamentos, tal como se usan en el presente documento, se refieren a la administración de uno o más compuestos de la presente explicación y otro medicamento dentro de un cierto período de tiempo. El período de tiempo puede ser menor que 72 horas, tal como 48 horas, por ejemplo, menos de 24 horas, tal como menos de 12 horas, por ejemplo, menos de 6 horas, tal como menos de 3 horas. Sin embargo, estos términos también significan que el compuesto y una composición terapéutica se pueden administrar juntos. La coadministración puede ser simultánea, separada o secuencial.

Una "cantidad eficaz" de un compuesto se puede administrar en una administración, o mediante múltiples administraciones de una cantidad que suma una cantidad eficaz, por poner un ejemplo, dentro de un período de 24 horas. Se puede determinar usando procedimientos clínicos habituales para determinar las cantidades apropiadas y el tiempo de administración. Se entiende que la "cantidad eficaz" puede ser el resultado de una determinación empírica y/o individualizada (caso por caso) por parte del profesional de la salud y/o individuo tratante.

La "identidad de secuencia", tal como se usa en el presente documento, es el número de residuos aminoácidos que coinciden exactamente entre dos secuencias diferentes que se van a comparar. Si una variante es idéntica en un 90 % a una secuencia que tiene diez residuos aminoácidos, la variante puede diferir de la secuencia por una sustitución de aminoácidos.

Los términos "tratar", "tratamiento" y "terapia", tal como se usan en el presente documento, se refieren igualmente a la terapia curativa, la terapia profiláctica o preventiva y la terapia de mejora o paliativa. El término incluye un enfoque para obtener resultados fisiológicos beneficiosos o deseados, que pueden establecerse clínicamente. Para los fines de esta explicación, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, entre otros, el alivio de los síntomas, la reducción de la extensión de la enfermedad, la afección estabilizada (es decir, que no empeora), el retraso o la ralentización de la progresión o el empeoramiento de la afección o los síntomas, la mejora o la paliación de la afección o los síntomas y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. El término "paliación" y sus variaciones, tal como se usa en el presente documento, significan que la extensión y/o las manifestaciones indeseables de una afección o síntoma fisiológico se atenúan y/o el curso temporal de la progresión se ralentiza o prolonga, en comparación con no administrar las composiciones de la presente explicación.

Un "efecto de tratamiento" o "efecto terapéutico" se manifiesta si hay un cambio en la afección que se está tratando, según los criterios que constituyen la definición de los términos "tratar" y "tratamiento". Hay un "cambio" en la afección que se está tratando si hay al menos un 5 % de mejora, alternativamente una mejora del 10 %, alternativamente al menos un 25 %, alternativamente al menos un 50 %, tal como al menos un 75 %, alternativamente al menos un 100 % de mejora. El cambio puede basarse en las mejoras en la gravedad de la afección tratada en un individuo, o en una diferencia en la frecuencia de la mejora de las afecciones en poblaciones de individuos con y sin tratamiento con el compuesto, o con el compuesto en combinación con una composición farmacéutica de la presente explicación.

Un tratamiento según la explicación puede ser profiláctico, mejorador o curativo.

El término "variante" significa que la secuencia peptídica puede modificarse, por ejemplo, mediante la sustitución de uno o más de los residuos aminoácidos. Se pueden usar tanto L-aminoácidos como D-aminoácidos. Otras modificaciones pueden comprender derivados tales como ésteres, azúcares, etc., por ejemplo, ésteres metílicos y acetílicos, así como modificaciones de polietilenglicol.

Asimismo, un grupo amino del péptido se puede convertir en amido, en donde la parte ácida de la amida es un ácido graso.

Los grupos de aminoácidos conservadores son los siguientes:

- A, G (neutros, débilmente hidrófobos),
- Q, N, S, T (hidrófilos, sin carga)
- E, D (hidrófilos, ácidos)
- H, K, R (hidrófilos, básicos)
- L, P, I, V, M, F, Y, W (hidrófobos, aromáticos)
- C (formación de enlaces cruzados)

Las sustituciones conservadoras pueden introducirse en cualquier posición de un péptido predeterminado preferido para su uso según la explicación. Sin embargo, también puede ser deseable introducir sustituciones no conservadoras, en particular, entre otras, una sustitución no conservadora en una o más posiciones.

Las secuencias peptídicas de la presente explicación pueden prepararse mediante cualquier método sintético convencional, tecnologías de ADN recombinante, escisión enzimática de proteínas de longitud completa de las que se derivan las secuencias peptídicas, o una combinación de dichos métodos.

Las formulaciones de los compuestos de la explicación se pueden preparar mediante técnicas conocidas por el experto en la materia. Las formulaciones pueden contener portadores y excipientes farmacéuticamente aceptables, incluidos microesferas, liposomas, microcápsulas, nanopartículas o similares. El compuesto activo se puede formular como formas neutras o salinas.

Descripción detallada

- 5 Según una realización, la presente explicación se refiere a un compuesto para su uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en donde el compuesto comprende uno o más péptidos, consistiendo cada péptido en la secuencia de aminoácidos SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácidos.
- Según una realización, la presente explicación se refiere al uso de un compuesto para la fabricación de un medicamento para tratar la nefropatía diabética, en donde el compuesto comprende uno o más péptidos, consistiendo cada péptido en la secuencia de aminoácidos SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácidos.
- 10 En algunas realizaciones de la presente explicación, el péptido se une al receptor de IL-1 de tipo 1 (ILR1) y/o interfiere con la unión de la IL-1 beta a la IL1R1.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, la variante de la SEQ ID NO: 1 comprende una sustitución de aminoácidos.
- 15 En otra realización de la presente explicación, la o las sustituciones de aminoácidos son una sustitución de aminoácidos conservadora.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, dichos uno o más péptidos consisten en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, o una variante que tenga una sustitución de 1 aminoácido.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, dichos uno o más péptidos consisten en una variante de SEQ ID NO: 1 que tenga una sustitución de 1 aminoácido.
- 20 En algunas realizaciones de la presente explicación, dichos uno o más péptidos consisten en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.
- En otra realización de la presente explicación, el aminoácido C-terminal existe como ácido carboxílico libre ("-OH"). En otra realización, el aminoácido C-terminal es un derivado amidado ("-NH-2"). En otra realización, el aminoácido N-terminal comprende un grupo amino libre ("H-"). En otra realización, el aminoácido N-terminal es el derivado acetilado ("-acetilo" o "COCH3").
- 25 En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un multímero. En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un multímero que comprende al menos dos péptidos, tales como dos o más péptidos, según la presente explicación.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un multímero.
- 30 En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un multímero que comprende dos o más péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto es un dímero, un trímero o un tetramero.
- 35 En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un dímero que comprende dos péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un tetramero que comprende dos péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido.
- 40 En algunos casos, el compuesto es un dendrímero. En algunas realizaciones, el dendrímero es un dendrímero dimérico. En algunas realizaciones, el dendrímero es un dendrímero tetramérico.
- Los dendrímeros son moléculas poliméricas ramificadas altamente ordenadas. Normalmente, los dendrímeros son simétricos con respecto al núcleo y, con frecuencia, adoptan una morfología tridimensional esférica.
- 45 En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un dendrímero dimérico que comprende dos péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un dendrímero tetramérico que comprende cuatro péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido.
- 50 En algunas realizaciones de la presente explicación, los dos o más péptidos se ligan mediante una unión peptídica.

- En algunas realizaciones de la presente explicación, los dos o más péptidos se ligan mediante un grupo ligador.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el grupo ligador es una cadena principal de lisina, tal como una cadena principal de lisina que comprende uno o más residuos de lisina, tal como una pluralidad de residuos de lisina.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el grupo ligador comprende uno o más residuos de lisina.
- 5 En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un dendrímero dimérico que comprende dos péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido y una cadena principal de lisina.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto para su uso es un dendrímero tetramérico que comprende cuatro péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido y una cadena principal de lisina.
- 10 En algunas realizaciones de la presente explicación, el péptido es un dendrímero tetramérico que consiste en cuatro péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1 y una cadena principal de lisina.
- En otra realización de la presente explicación, el grupo ligador es un transportador polimérico, tal como un transportador proteico.
- 15 Según una realización, la presente explicación se refiere a un compuesto multimérico para su uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en donde el compuesto multimérico comprende al menos dos péptidos, consistiendo cada péptido en la secuencia de aminoácidos SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácidos.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto multimérico es un dendrímero.
- 20 En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto multimérico es un dímero, un trímero o un tetrámero.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto multimérico es un dímero.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, el compuesto multimérico es un tetrámero.
- En otra realización de la presente explicación, al menos los dos péptidos son idénticos.
- 25 Según una realización, la presente explicación se refiere a un compuesto multimérico para su uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en donde el compuesto multimérico comprende cuatro péptidos, consistiendo cada péptido en la secuencia de aminoácidos SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o una variante de esta que tenga la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácidos.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, dichos cuatro péptidos se ligan mediante una unión peptídica.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, dichos cuatro péptidos se ligan mediante un grupo ligador.
- 30 En algunas realizaciones de la presente explicación, dicho grupo ligador es una cadena principal de lisina que comprende uno o más residuos de lisina, tal como una pluralidad de residuos de lisina.
- En algunas realizaciones de la presente explicación, los cuatro péptidos son idénticos.
- En otra realización de la presente explicación, el compuesto se formula como una composición farmacéutica.
- 35 En otra realización de la presente explicación, el péptido o el compuesto disminuyen el cociente entre albúmina y creatinina en orina (ACR). En otra realización, el péptido o el compuesto disminuyen el cociente entre albúmina y creatinina en orina (ACR) de una manera dependiente de la dosis.
- En otra realización de la presente explicación, el péptido o el compuesto disminuyen la concentración en orina del biomarcador de la molécula 1 de lesión renal (KIM-1). En otra realización, el péptido o el compuesto disminuyen el cociente entre KIM-1 y creatinina en la orina (KIM-1/CR). En otra realización, la concentración de KIM-1 en la orina o la relación entre KIM-1 y creatinina en la orina (KIM-1/CR) disminuye de una manera dependiente de la dosis.
- 40 En otra realización de la presente explicación, el individuo tiene diabetes *mellitus*, tiene ACR superiores a 30 y/o tiene un aumento de la tensión arterial. En otra realización, el individuo tiene una tensión arterial normal. En otra realización, el individuo tiene diabetes *mellitus* de tipo I o diabetes *mellitus* de tipo II.
- 45 En otra realización de la presente explicación, el individuo es tratado con antidiabéticos. En otra realización, el individuo es tratado con antihipertensores.
- En otra realización de la presente explicación, el compuesto se administra en combinación con una cantidad eficaz de un compuesto antidiabético y/o un compuesto antihipertensor. En otra realización, el compuesto antihipertensor es un

IECA o un antagonista del receptor de angiotensina.

Ejemplos

Ejemplo 1. Efecto del péptido derivado de IL-1RA sobre los marcadores de la nefropatía diabética

Materiales y métodos

5 Animales

Se transfirieron 56 ratones hembra (BKS.Cg-Dock7m +/- Lepradb/db BLKS, de 5 semanas) a la unidad de animales de Gubra Research. Los animales se alojaron en grupos hasta uninefrectomías, luego en una sola casa. Durante todo el período de habituación y estudio, los animales estuvieron en una habitación con luz, temperatura y humedad controladas, con libre acceso a comida y agua. Todos los experimentos con animales se realizaron según las directrices bioéticas de Gubra, que cumplen totalmente con los principios aceptados internacionalmente para el cuidado y el uso de animales de laboratorio.

10

Los animales se sacrificaron el día 77; se extrajo sangre para su posterior análisis, se registró el peso corporal y se recogió orina puntual.

Compuestos

15 El SER140 fue proporcionado por Phlogo ApS, Copenhague, Dinamarca (10 mg/ml de agua milliQ diluida en las diferentes formulaciones de dosis). El SER140 es un dendrímero compuesto por cuatro péptidos monoméricos, cada uno con la secuencia SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1) y acoplado a una cadena principal de lisina. El vehículo era milliQ:PBS 1:5.

Procedimientos *in vivo*

20 Tras una semana de aclimatación, los ratones recibieron una inyección intravenosa del virus asociado a la renina y la adenosina (AAV). Una semana después, todos los ratones se uninefrectomizaron. Dos semanas después de la inyección intravenosa de renina AAV, los ratones se distribuyeron al azar según la glucemia en cuatro grupos: un grupo de vehículos (n = 14), un grupo de SER140 de 3 mg/kg, un grupo de SER140 de 10 mg/kg y un grupo de SER140 de 20 mg/kg. El compuesto, así como el vehículo, se administraron por vía subcutánea una vez al día.

25 Análisis bioquímico

Todas las muestras de sangre se tomaron de la cola de los ratones en tubos heparinizados, el plasma se separó y se almacenó a menos 80 °C hasta el análisis. La glucemia (BG, por sus siglas en inglés) en ayunas se midió con un glucómetro de línea C BIOSEN (EKF-Diagnostics, Alemania), la sangre para el análisis de la HbA1c se suspendió inmediatamente en un reactivo hemolizante y se almacenó hasta su análisis con el autoanalizador Cobas C-111 con un equipo comercial (Roche Diagnostics, Alemania) y la urea plasmática con equipos comerciales (Roche Diagnostics).

30

Las muestras de orina se almacenaron a menos 80 °C hasta su análisis. La orina para medir la albúmina y la creatinina se centrifugó a 2000 g durante 2 minutos antes del análisis. La albúmina urinaria se midió usando un equipo ELISA comercial (Bethyl Laboratories, Inc.), según las instrucciones del fabricante, y la creatinina en orina se midió usando un equipo comercial (Roche Diagnostics) en el autoanalizador Cobas c 501, según las instrucciones del fabricante. La KIM-1 urinaria se midió usando un equipo ELISA comercial (R&D Systems), según las instrucciones del fabricante.

35

Resultados

El compuesto probado SER140 disminuyó significativamente el ACR mg/g (Figura 1) y el cociente KIM-1/CR pg/g (Figura 2) de manera dependiente de la dosis.

40 No hubo cambios en el porcentaje de HbA1c entre el tratamiento con el vehículo y el SER140, lo que indica que el efecto del SER140 sobre el ACR y la KIM-1 no tiene su origen en un efecto sobre la HbA1c.

Examen crítico

Los ratones ReninAAV UNx db/db se describen como uno de los mejores modelos farmacológicos para describir el desarrollo de la enfermedad renal diabética (ERD, nefropatía diabética) y para dilucidar la influencia de los compuestos en la progresión de la enfermedad (Nguyen 2019, Sembach 2020). Estudios recientes indican que la activación del sistema inmunitario y el desequilibrio de la homeostasis inmunitaria desempeñan un papel importante en el desarrollo y la progresión de la nefropatía diabética.

45

Es bien sabido que la citocina de la IL-1 consiste en tres formas diferentes, la IL-1a, la IL-β, ambas agonistas del receptor de la IL-1 y la IL-1Ra, un antagonista natural del receptor de la IL-1. Todos son ligandos de este receptor de IL-1R1. Tanto la IL-1a como la IL-β son citocinas proinflamatorias y se activan posteriormente, mientras que la IL-1Ra

50

se une al receptor de la IL-1R1 sin activarse y, por tanto, actúa como antagonista del receptor y modula una variedad de respuestas inmunitarias e inflamatorias relacionadas con la IL-1 (Arend 2000, Dinarello 2012, Park 2015).

5 La albúmina urinaria y la KIM-1 son biomarcadores de la inflamación renal innata, como se observa en diversas enfermedades autoinmunitarias que involucran a los riñones. Las biopsias renales humanas han confirmado la presencia de células inflamatorias en ambos glomérulos, los túbulos y el intersticio en todas las etapas de la nefropatía diabética (Kahn 2019, Calle 2021).

El SER140 es un péptido derivado del dominio N-terminal de la IL-1RA humana, que está involucrada en interacciones con la IL-1R1. Se ha demostrado que el SER140 inhibe la unión al receptor de la IL-1 β y, así, reduce la activación posterior de, entre otras cosas, la liberación del TNF α por parte de los macrófagos (Klementiev 2014).

10 Aquí se muestra que el SER140 reduce significativamente tanto la albúmina urinaria, un biomarcador del daño celular principalmente del endotelio y el podocito glomerular, como la KIM-1, un biomarcador del daño de la membrana apical del túbulo renal proximal. Estos biomarcadores son indetectables en la orina de pacientes con un riñón normal, pero es detectable la respuesta a ataques isquémicos o tóxicos, incluida la diabetes (Alderson 2016, Treacy 2019).

Descripción general de la secuencia

15 SEQ ID NO: 1

SGRKSSKMQA

SEO ID NO: 2 (isoforma 1 de IL1RA)

20 MEICRGLRSHLITLLFLFHSETICRPSGRKSSKMQAFRIWDVNOKTFYLRNNOLVAGYLOGPNVNLEEKIDWPIEPHALFLGIHGGKMCLSCVKS
SGDETRLQLEAVNRTDLSNRKQDKRFAFIRSDSGPTTSFESAACPGWFLCTAMEADQPVS
LTNMPDEGVMVTKFYFQEDE

SEO ID NO: 3 (isoforma 2 de IL1RA)

MALETICRPSGRKSSKMQAFRIWDVNOKTFYLRNNOLVAGYLOGPNVNLEEKIDWPIEPHALFLGIHGGKMCLSCVKS
SGDETRLQLEAVNITDLSNRKQDKRFAFIRSDSGPTTSFESAACPGWFLCTAMEADQPVS
LTNMPDEGVMVTKFYFQEDE

25 SEO ID NO: 4 (isoforma 3 de IL1RA)

MALADLYEEGGGGGGEGEDNADSKETICRPSGRKSSKMQAFRIWDVNOKTFYLRNNOLVAGYLOGPNVNLEEKID
WPIEPHALFLGIHGGKMCLSCVKS
SGDETRLQLEAVNITDLSNRKQDKRFAFIRSDSGPTTSFESAACPGWFLCTAME
ADQPVS
LTNMPDEGVMVTKFYFQEDE

SEO ID NO: 5 (isoforma 4 de IL1RA)

30 MQAFRIWDVNQKTFYLRNNQLVAGYLQGPNNVLEEKIDWPIEPHALFLGIHGGKMCLSCVKS
SGDETRLQLEAVNITDLSNRKQDKRFAFIRSDSGPTTSFESAACPGWFLCTAMEADQPVS
LTNMPDEGVMVTKFYFQEDE

Referencias

35 Andrew S. Levey 1: Change in Albuminuria and GFR as End Points for Clinical Trials in Early Stages of CKD: Un taller científico patrocinado por la Fundación Nacional del Riñón en colaboración con la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos y la Agencia Europea de Medicamentos. *Am. J. Kidney Dis.*, enero de 2020; 75 (1).

Araújo S. L. et al: Renal expression of cytokines and chemokines in diabetic nephropathy. *BMC Nephrology*, volumen 21, número de artículo: 308 (2020).

Boris Klementiev et al: Anti-inflammatory properties of a novel peptide interleukin 1 receptor antagonist. *Journal of Neuroinflammation*, volumen 11, número de artículo: T1 (2014).

40 Cem Gabay, Céline Lamacchia y Gaby Palmer: IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Revisa Nat. Rev. Rheumatol.*, abril de 2010; 6 (4): 232-41.

Fatima Abid Khan, Syeda Sadia Fatima, Ghulam Mustafa Khan y Sana Shahid: Evaluation of kidney injury molecule-1 as a disease progression biomarker in diabetic nephropathy. *Pak. J. Med. Sci.* Julio-agosto de 2019; 35 (4): 992-996. doi: 10.12669/pjms.35.4.154.

45 Fionnuala B Hickey, Finian Martin: Role of the Immune System in Diabetic Kidney Disease. *Revisa Curr. Diab. Rep.* 12 de marzo de 2018; 18 (4): 20.

Frederikke E Sembach, Mette V Østergaard, Niels Vrang, Bo Feldt-Rasmussen, Keld Fosgerau, Jacob Jelsing y Lisbeth N Fink: Rodent models of diabetic kidney disease: human translatability and preclinical validity. *Revisa Drug*

Discov. Today. enero de 2021; 26 (1): 200-217.

Giulio Cavalli et al: Interleukin 1a: a comprehensive review on the role of IL-1a in the pathogenesis and treatment of autoimmune and inflammatory diseases. *Revisa Autoimmun. Rev.* marzo de 2021; 20 (3).

5 Helen V. Alderson et al: The Associations of Blood Kidney Injury Molecule-1 and Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin with Progression from CKD to ESRD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 7 de diciembre de 2016; 11 (12): 2141-2149.

Isabel Nguyen, Arianne van Koppen y Jaap A. Joles: Animal Models of Diabetic Kidney Disease.

Jieru Cai: Kidney injury molecule-1 expression predicts structural damage and outcome in histological acute tubular injury. *Ren. Fail.* noviembre de 2019; 41 (1): 80-87.

10 Maki Murakoshi 1, Tomohito Gohda 1 y Yusuke Suzuki 1: Circulating Tumor Necrosis Factor Receptors: A Potential Biomarker for the Progression of Diabetic Kidney Disease. *Revisa Int. J. Mol. Sci.*, 13 de marzo de 2020; 21 (6): 1957.

Oliver Treacy, Nigel N. Brown y Goce Dimeski: Biochemical evaluation of kidney disease. *Transl. Androl. Urol.* 8 de mayo de 2019; suplemento 2: S214-S223.

Priscila Calle y Georgina Hotter: Macrophage Phenotype and Fibrosis in Diabetic Nephropathy. *Int. J. Mol. Sci.* 21 de abril de 2020 (8): 2806.

15 Steven G. Coca, Girish N. Nadkarni, Yuan Huang, Dennis G. Moledina, Veena Rao, Jane Zhang, Bart Ferket, Susan T. Crowley, Linda F. Fried y Chirag R. Parikh: Plasma Biomarkers and Kidney Function Decline in Early and Established Diabetic Kidney Disease. *JASN* septiembre de 2017, 28 (9) 2786-2793.

W. Arend and C. Guthridge: Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms. *Ann. Rheum. Dis.* 2000 Nov; 59 (Supl. 1).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso en el tratamiento de la nefropatía diabética, en donde dicho compuesto es un multímero que comprende al menos dos péptidos, en donde dichos péptidos consisten en la secuencia de aminoácidos SGRKSSKMQA (SEQ ID NO: 1), o una variante de esta que tiene la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácidos.
- 5 2. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en donde dicha variante de esta es la SEQ ID NO: 1 con una sustitución conservadora de aminoácidos.
3. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho compuesto es un dendrímero tetramérico que comprende cuatro péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tiene la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido.
- 10 4. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde dicho compuesto es un dendrímero tetramérico que comprende cuatro péptidos, consistiendo cada péptido en la SEQ ID NO: 1, o una variante de esta que tiene la SEQ ID NO: 1 con una sustitución de aminoácido y que comprende además una cadena principal de lisina.

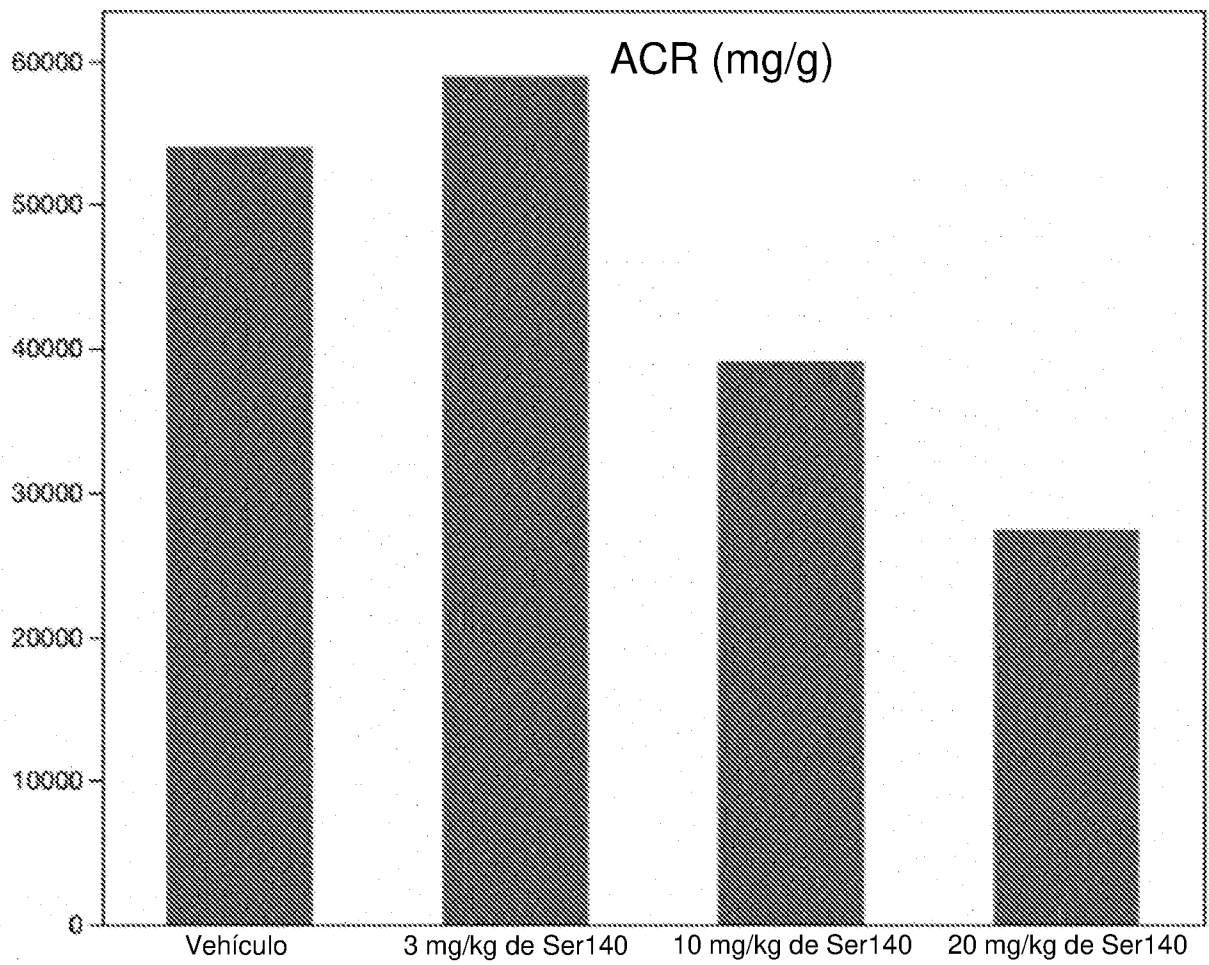


Fig. 1

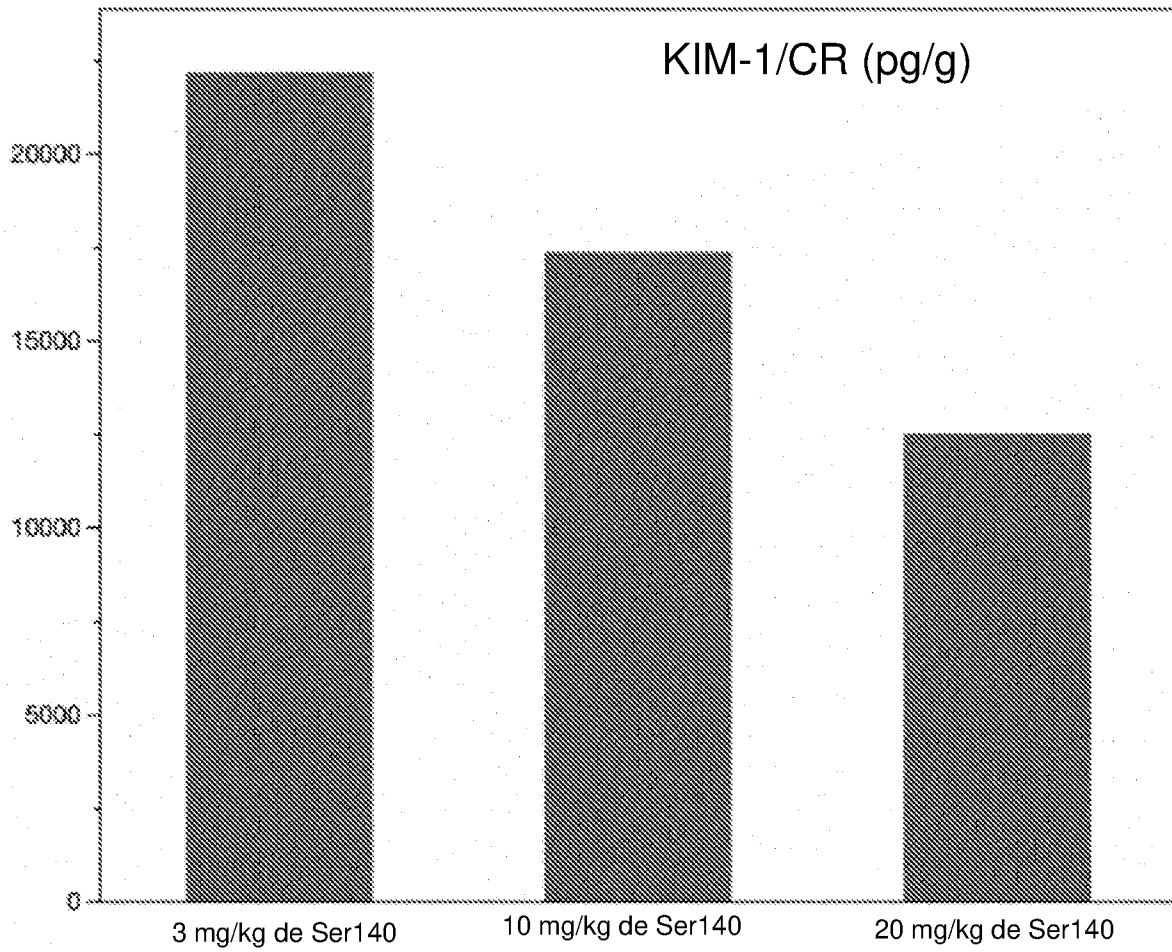


Fig. 2