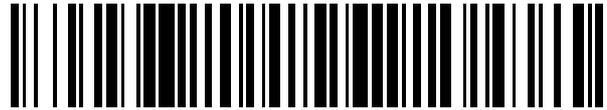


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 515 168**

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01) **G01N 33/15** (2006.01)  
**A61K 31/415** (2006.01) **G01N 33/50** (2006.01)  
**A61K 31/4152** (2006.01)  
**A61K 31/437** (2006.01)  
**A61K 31/4415** (2006.01)  
**A61K 31/4439** (2006.01)  
**A61K 45/00** (2006.01)  
**A61P 25/18** (2006.01)  
**C12N 15/09** (2006.01)  
**G01N 30/88** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.07.2008 E 08792016 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014 EP 2189537**

54 Título: **Detección y tratamiento de la esquizofrenia**

30 Prioridad:

**20.08.2007 JP 2007214047**

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

**29.10.2014**

73 Titular/es:

**RENASCIENCE CO., LTD. (50.0%)**  
**1793-549 Kanamori**  
**Machida-shi, Tokyo 194-0012, JP y**  
**TOKYO METROPOLITAN INSTITUTE OF**  
**MEDICAL SCIENCE (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ITOKAWA, MASANARI;**  
**MIYATA, TOSHIO y**  
**ARAI, MAKOTO**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 515 168 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

Detección y tratamiento de la esquizofrenia.

- 5 La presente invención proporciona un agente terapéutico o de mejora para la esquizofrenia, que es eficaz para el tratamiento o mejora de la esquizofrenia.

10 El “síndrome de disfunción de integración” (esquizofrenia), antiguamente denominado “enfermedad de la mente dividida”, es un trastorno psiquiátrico típico caracterizado por alucinaciones y delirios. La esquizofrenia afecta a  
 15 alrededor de 1% de la población, y 700000 personas están actualmente bajo tratamiento para esquizofrenia en Japón. La adolescencia tardía y la edad adulta temprana, desde las edades de 17 a 27 años, son los años pico para el comienzo de esquizofrenia, y el trastorno se cronifica después de esas edades. Por lo tanto, en 1996, los  
 20 pacientes con esquizofrenia ocupaban el 22% de todas las camas hospitalarias. Los años pico para hombres para el comienzo de este trastorno son las edades de 15 a 24, mientras que los años pico para las mujeres para el  
 25 comienzo del mismo son las edades de 25 a 34; de este modo, el comienzo en mujeres es tardío. Además, puesto que la menopausia es otra edad pico para el comienzo de la esquizofrenia, se afirma algunas veces que las  
 30 hormonas sexuales femeninas tienen un efecto inhibitor sobre las afecciones patológicas asociadas con esquizofrenia. Sin embargo, todavía se desconocen las razones detalladas para esto. Como se describe a continuación en la presente memoria, sólo se usa medicación sintomática para el tratamiento principal, y todavía no  
 35 se ha establecido ningún método terapéutico decisivo.

40 La implicación de un factor genético en el comienzo de esquizofrenia es sugerido por el hecho de que el comienzo simultáneo de esquizofrenia en gemelos idénticos es 35 a 58%, que es mayor que aquel de gemelos fraternos, es decir, 13 a 27%. Se estima que la heredabilidad es alrededor de 80%. Incluso comparada con la heredabilidad de hipertensión, que es 30%, y la heredabilidad de obesidad, que es 40 a 70%, la influencia de factores hereditarios sobre la esquizofrenia es grande. Por esta razón, se han estudiado muchos genes candidatos desde los años 1990, y el número de genes estudiados hasta ahora ha alcanzado los tres dígitos. Además, también se ha llevado a cabo un estudio de relación a gran escala. Aunque se han identificado varios genes candidatos mediante enfoques posicionales, las afecciones patológicas todavía son inexplicables en términos de bioquímica, etc. Además, los resultados de los análisis de los genes candidatos de diversos investigadores son inconsistentes. Por lo tanto, la esquizofrenia no se considera que es una denominada “enfermedad hereditaria” (enfermedad monogénica), sino más bien una enfermedad genética multifactorial que se desarrolla por una combinación de una pluralidad de genes que tienen bajos efectos patógenos, y factores medioambientales.

35 Los síntomas principales de la esquizofrenia son síntomas positivos observados preponderantemente durante la fase aguda (por ejemplo, alucinaciones, delirios, e incoherencia), y síntomas negativos que se hacen prominentes durante la fase crónica (por ejemplo, apatía, falta de emoción y motivación, y timidez social).

40 El diagnóstico de la esquizofrenia se realiza actualmente basándose en entrevistas con el paciente en atención a los comentarios del paciente y las expresiones faciales, algunas veces con información adicional procedente de la familia, según uno de los siguientes criterios: la “International Classification of Diseases, Tenth Revision” (ICD-10) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (véase la figura 1), o el “Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition” (DSM-IV) de la American Psychiatric Association (APA) (véase figura 2). En consecuencia, un diagnóstico final depende inevitablemente de la opinión personal del médico, basado en su experiencia. De este modo, los diagnósticos no son siempre suficientemente exactos. Por lo tanto, se ha llevado a cabo de forma activa el cartografiado cromosómico del gen que provoca esquizofrenia y su identificación, y la investigación usando muestras biológicas tales como sangre u orina del paciente. Como resultado, se han dado a conocer varios marcadores biológicos que se pueden usar para el diagnóstico de la esquizofrenia (véanse los Documentos de Patente 1 a 7). Sin embargo, todavía se ha de establecer un método decisivo.

50 El tratamiento principal de la esquizofrenia es la administración de un antipsicótico (véase la figura 3). La administración se debe de continuar casi durante toda la vida de la persona. Los efectos farmacológicos de los antipsicóticos sobre alucinaciones y delirios se basan en la actividad bloqueante de los receptores de dopamina. Sin embargo, puesto que la inhibición de las neuronas dopamínicas provoca como efectos secundarios síntomas parkinsonianos, generalmente se usa con el antipsicótico un agente contra el Parkinson. En años recientes, en lugar de antipsicóticos convencionales, que son eficaces para los síntomas positivos de la esquizofrenia pero sustancialmente ineficaces para sus síntomas negativos, se han desarrollado y usado antipsicóticos atípicos que también son eficaces para los síntomas negativos. Comparados con los antipsicóticos convencionales, tales antipsicóticos atípicos tienen efectos bloqueantes débiles sobre los receptores de dopamina, y de este modo son ventajosos en términos de menores efectos secundarios tales como síntomas de Parkinson.

60 Los ejemplos de métodos terapéuticos distintos de la administración de un antipsicótico incluyen terapia electrocompulsiva (ECT), que es un método terapéutico en el que se induce una convulsión general aplicando una corriente alterna de 100 V durante 5 segundos; y la rehabilitación psiquiátrica, en la que se lleva a cabo entrenamiento en destrezas sociales (SST) y terapias ocupacionales tales como agricultura, carpintería, labores artesanales, y reconstrucción. La ECT, mencionada anteriormente como el primer ejemplo, se usa cuando se

requiere una mejora inmediata de la afección, por ejemplo en el caso de riesgo inmediato de suicidio, malnutrición, o catatonia, o cuando los pacientes son resistentes al tratamiento farmacéutico. La rehabilitación psiquiátrica, mencionada como el segundo ejemplo, se usa para adquirir habilidades vitales y reducir de este modo el estrés en la vida social, evitando de ese modo recidivas.

5 Sin embargo, estos métodos son todos ellos tratamientos sintomáticos. Aunque el dato es antiguo, los resultados de un estudio de seguimiento durante 15 años de la esquizofrenia realizado usando, como sujetos, pacientes crónicos intratables para los que el tratamiento farmacéutico fue ineficaz son los siguientes: 6% se recuperaron; 8% fueron buenos; 23% fueron moderados; 23% fueron marginales; y 41% continuaron siendo incapacitantes (Documento 1 No de Patente).

15 Los productos finales de la glicación avanzada (en adelante denominados en la presente memoria algunas veces como "AGE") son sustancias formadas en el cuerpo por una reacción no enzimática (reacción de Maillard) entre una proteína (un grupo amino) y un compuesto carbonílico producido a partir de azúcar, lípido, etc., en condiciones de hiperglucemia o estrés oxidativo (la expresión "proteína modificada con carbonilo que es una proteína modificada con el compuesto carbonílico", como se usa en la presente memoria, incluye los AGE). Los AGE son un grupo heterogéneo de muchas sustancias, incluyendo la pentosidina. La pentosidina, que es un tipo de estructura de AGE, es una sustancia fluorescente que se aisló del colágeno de la duramadre humana por Sell *et al.* en 1989. En años recientes, los resultados de análisis usando anticuerpos frente a AGE (anticuerpos anti-AGE) han revelado que los niveles de AGE aumentan en tejidos y sangre en diversas afecciones patológicas. Por ejemplo, en diabetes, debido a hiperglucemia, se observa un incremento en los niveles de compuestos carbonílicos derivados de azúcares, que son precursores de AGE, y proteínas modificadas con carbonilo (AGE). Debido a la menor excreción de compuestos carbonílicos y al mayor estrés oxidativo en insuficiencia renal, y al mayor estrés oxidativo en enfermedades inflamatorias, se promueve la producción de compuestos carbonílicos, y de este modo se observa un incremento en el nivel de proteínas modificadas con carbonilo (AGE). También se ha dado a conocer que los niveles de AGE aumentan en pacientes que son deficientes en glioxalasa, que es una enzima para eliminar compuestos carbonílicos. Por lo tanto, los niveles de AGE sanguíneos se usan actualmente en ensayos clínicos como un indicador de complicaciones vasculares que resultan de diabetes e insuficiencia renal. Los ejemplos de métodos para determinar niveles de AGE incluyen un método ELISA para medir la cantidad de pentosidina, que es una de las estructuras de AGE, usando un anticuerpo anti-pentosidina; y un método para medir la cantidad de pentosidina en la piel usando un Lector de AGE.

Documento 1 de Patente: Publicación de Patente Japonesa sin examinar nº 2001-245661.

35 Documento 2 de Patente: Publicación de Patente Japonesa sin examinar nº 2003-38198

Documento 3 de Patente: Publicación de Patente Japonesa sin examinar nº 2003-212795

40 Documento 4 de Patente: panfleto WO2004/005935

Documento 5 de Patente: Publicación de Patente Japonesa sin examinar nº 2004-251865

Documento 6 de Patente: Publicación de Patente Japonesa sin examinar nº 2005-55227

45 Documento 7 de Patente: Publicación de Patente Japonesa sin examinar nº 2005-278490

Documento 1 No de Patente: McGlashan, Schizophr Bull, 1988

50 Ozyurt *et al.*, Toxicology, 2007, Vol. 230, nº 1, páginas 83 a 89, describen los efectos de éster fenílico del ácido cafeico (CAPE) sobre niveles de enzimas antioxidantes, y los cambios histopatológicos en testículos de ratas con esquizofrenia inducida por dizocilpina (MK-801).

55 Voziyan P. *et al.*, Cellular and Molecular Life Sciences, 2005, Vol. 62, nº 15, páginas 1671 a 1681, describen piridoxamina como una sustancia farmacéutica multifuncional para la aplicación diana a glicación patogénica y daño oxidativo.

60 La esquizofrenia tiene rasgos patológicos únicos, y, como se menciona anteriormente, los pacientes con esquizofrenia tienen un largo historial clínico. Por lo tanto, el sufrimiento y la carga mental sobre los propios pacientes y sus familias es grande. Además, puesto que el número de pacientes esquizofrénicos es tan alto como 1% de la población, la pérdida social debida a este trastorno mental es inconmensurable. Además, como se menciona anteriormente, el hecho de que los pacientes con esquizofrenia ocupen el 22% de todas las camas hospitalarias es también un gran problema desde el punto de vista de la economía médica. Por lo tanto, se ha deseado el diagnóstico exhaustivo y el establecimiento temprano de un sistema terapéutico, que incluye el diagnóstico prematuro, tratamiento, actividades de rehabilitación social, y prevención de la recidiva.

65 La presente invención se obtuvo para resolver el problema anterior. Un objetivo de la presente invención es

proporcionar un agente terapéutico o de mejora para la esquizofrenia, que sea eficaz para el tratamiento o mejora de la esquizofrenia.

5 Itokawa, uno de los presentes inventores, llevó a cabo el análisis genético usando familias con un historial de esquizofrenia como sujetos, y encontró lo siguiente. Entre las familias con un historial de esquizofrenia, una pluralidad de las familias eran deficientes en glioxalasa debido a una mutación de punto de un alelo, provocando un desplazamiento del marco. Miyata, otro de los presentes inventores, llevó a cabo análisis biológicos y químicos en los pacientes, y encontró que la actividad de glioxalasa de los eritrocitos en las familias con un historial de esquizofrenia disminuyó hasta alrededor de la mitad de la de una persona sana; que los niveles de compuesto carbonílico y de AGE en la sangre fueron elevados (es decir, estrés carbonílico) a pesar de la ausencia de otras enfermedades, tal como insuficiencia renal, diabetes, o inflamación; y que la vitamina B<sub>6</sub> (piridoxal) en el cuerpo se consumía por la eliminación de carbonilo, dando así como resultado un nivel bajo de vitamina B<sub>6</sub>, y conduciendo de este modo a un incremento en el nivel de homocisteína. Más específicamente, Miyata confirmó que se produce una serie de anomalías bioquímicas debido a anomalía genética de glioxalasa en pacientes con esquizofrenia.

15 Como resultado de la investigación adicional, los presentes inventores confirmaron además que el estrés carbonílico y la falta de vitamina B<sub>6</sub> se producen no sólo en pacientes con esquizofrenia que son deficientes en glioxalasa, sino también en una porción de pacientes con esquizofrenia en general. Más específicamente, la actividad de glioxalasa de los eritrocitos en pacientes con esquizofrenia que tienen una mutación de aminoácido (Glu → Ala) en la posición 111 de glioxalasa I como un homocigoto (5 de 1099 pacientes) disminuyó hasta alrededor de 80% de aquella de una persona sana; también se confirmaron niveles sanguíneos elevados de compuestos carbonílicos y de AGE (estrés carbonílico), y un bajo nivel de vitamina B<sub>6</sub>. Aunque se sabe que el gen de glioxalasa I tiene polimorfismos (incluyendo polimorfismos que tienen una baja actividad), un homocigoto Ala/Ala en la posición 111 no se detectó en ninguna de las 854 personas sanas. Por lo tanto, se considera que la menor actividad de glioxalasa provocada por esta mutación provoca una serie de anomalías bioquímicas asociadas con esquizofrenia.

20 De este modo, los presentes inventores confirmaron lo siguiente. Cuando se mide en un sujeto al menos un parámetro seleccionado del grupo que consiste en: (1) una anomalía genética del gen de glioxalasa I; (2) la actividad de glioxalasa I en una muestra biológica; (3) la cantidad de un compuesto carbonílico o una proteína modificada con carbonilo, que es una proteína modificada con el compuesto carbonílico (tal como AGE); y (4) la cantidad de piridoxal en una muestra biológica, y preferiblemente cuando se mide, y se usa como un indicador, (1) una anomalía genética del gen de glioxalasa I, o (3) la cantidad de al menos un AGE, se puede realizar fácil y objetivamente el diagnóstico de la esquizofrenia, que convencionalmente dependía del juicio subjetivo del médico basado en preguntas al paciente. De este modo, se logró una parte de la presente invención. Basándose en los hallazgos anteriores, los presentes inventores confirmaron además que un depurador de carbonilo para inhibir el estrés carbonílico, o un inhibidor de la formación de AGE, son eficaces para tratar o mejorar la esquizofrenia. De este modo se logró otra parte de la presente invención.

25 Más específicamente, la presente invención proporciona piridoxamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como agente terapéutico o de mejora para la esquizofrenia.

### III. Agente terapéutico o de mejora para la esquizofrenia

30 (III-1) Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para uso en la mejora de esquizofrenia o el tratamiento de un paciente con esquizofrenia.

(III-2) Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma según el apartado (III-1), en la que la esquizofrenia está provocada por estrés carbonílico.

40 (III-3) Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma según el apartado (III-1) o (III-2), en la que la mejora de la esquizofrenia o el tratamiento de un paciente con esquizofrenia es debido a la eliminación del estrés carbonílico en el paciente con esquizofrenia.

(III-4) Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma según el apartado (III-2) o (III-3), en la que el estrés carbonílico está provocado por una anomalía en el gen de glioxalasa I.

55 (III-5) Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma según uno cualquiera de los apartados (III-1) a (III-4), que se administra a un paciente con esquizofrenia mediante la vía oral, la vía intravenosa, la vía intramuscular, la vía intradérmica, la vía subcutánea, la vía intraperitoneal, o la vía intrarrectal.

60 Según la presente invención, la piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma se usa como un compuesto que tiene un efecto de eliminar carbonilo (un efecto depurador de carbonilo), y se usa para inhibir el estrés carbonílico en pacientes, con lo que la esquizofrenia se puede tratar, o la afección se puede mejorar. El agente terapéutico o de mejora para la esquizofrenia según la presente invención es particularmente eficaz para esquizofrenia provocada por estrés carbonílico que resulta de la anomalía del gen de glioxalasa I.

Agente terapéutico o de mejora de la esquizofrenia

5 Uno de los rasgos importantes de la piridoxamina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma para uso como un agente terapéutico o de mejora para esquizofrenia de la invención es que actúa como un depurador de carbonilo como principio activo.

Depurador de carbonilo

10 Generalmente, un depurador de carbonilo es una sustancia eficaz reduciendo la cantidad de compuesto carbonílico (por ejemplo, arabinosa, GO, MGO, 3-DG, glicolaldehído, ácido deshidroascórbico, hidroxinonenal, malondialdehído, acroleína, 5-hidroximetilfurfural, formaldehído, acetaldehído, ácido lepúlico, y furfural) formado a partir de azúcar, lípido, o aminoácido en el cuerpo debido a estrés oxidativo o similar. El mecanismo no está particularmente limitado; sus ejemplos incluyen aquellos mediante los cuales se suprime la producción de compuesto carbonílico, y aquellos  
15 mediante los cuales se reduce la cantidad de compuesto carbonílico en el cuerpo al capturar el compuesto carbonílico producido. Los ejemplos de los depuradores de carbonilo que tienen tales mecanismos incluyen piridoxamina, o sus sales farmacéuticamente aceptables, y diversos depuradores de carbonilo que también se pueden usar ampliamente.

20 La piridoxamina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma, al igual que el depurador carbonílico de la presente invención, se puede administrar a través de varias vías. La vía de administración no está particularmente limitada, y se puede determinar según las formas de cada preparación, la edad, sexo, y otras condiciones del paciente, la gravedad de la enfermedad, etc. Por ejemplo, se pueden administrar comprimidos, pastillas, polvos, gránulos, jarabes, líquidos, disoluciones, suspensiones, emulsiones y cápsulas mediante la vía oral. Las inyecciones  
25 se administran individualmente o en mezcla con glucosa, aminoácido o infusiones convencionales similares mediante la vía intravenosa, o, si es necesario, se administran de forma individual mediante la vía intramuscular, intradérmica, subcutánea o intraperitoneal. Los supositorios se administran intrarrectalmente.

30 Cada una de las preparaciones anteriores se puede formular según un método conocido añadiendo, a un principio activo, un agente auxiliar conocido que se puede usar generalmente en el campo de preparaciones farmacéuticas. Los ejemplos de tales agentes auxiliares incluyen excipientes, aglutinantes, disgregantes, lubricantes, solubilizantes, agentes saborizantes, agentes de revestimiento, y similares.

35 En la formación de comprimidos, se puede utilizar una amplia variedad de vehículos conocidos en la técnica. Los ejemplos de tales vehículos incluyen excipientes, tales como lactosa, sacarosa, cloruro de sodio, glucosa, urea, almidón, carbonato de calcio, caolín, celulosa cristalina, ácido silícico, y similares; aglutinantes, tales como agua, etanol, propanol, glucosa líquida, almidón líquido, disolución de gelatina, carboximetilcelulosa, goma laca, metilcelulosa, fosfato de potasio, polivinilpirrolidona, y similares; disgregantes, tales como almidón seco, alginato de sodio, polvo de agar, polvo de laminarano, hidrogenocarbonato de sodio, carbonato de calcio, éster de ácido graso  
40 con polioxietilensorbitán, laurilsulfato de sodio, monoglicérido de ácido esteárico, almidón, lactosa, y similares; inhibidores de la disgregación, tales como sacarosa, ácido esteárico, manteca de cacao, aceite hidrogenado, y similares; potenciadores de la absorción, tales como base de amonio cuaternario, laurilsulfato de sodio, y similares; humectantes, tales como glicerol, almidón, y similares; adsorbentes, tales como almidón, lactosa, caolín, bentonita, sílice coloidal, y similares; y lubricantes, tales como talco purificado, estearato, polvo de ácido bórico, polietilenglicol, y similares. Cuando sea necesario, los comprimidos se pueden revestir con un revestimiento habitual. Los ejemplos de tales comprimidos incluyen un comprimido revestido con azúcar, un comprimido encapsulado con gelatina, un comprimido entérico, un comprimido revestido con una película, un comprimido bicapa, y un comprimido de múltiples capas.

50 En la formación de pastillas, se puede utilizar una amplia variedad de vehículos conocidos en la técnica. Los ejemplos de tales vehículos incluyen excipientes, tales como glucosa, lactosa, almidón, manteca de cacao, aceite vegetal hidrogenado, caolín, talco, y similares; aglutinantes, tal como polvo de goma arábica, polvo de tragacanto, gelatina, etanol, y similares; y disgregantes, tales como laminarano, agar, y similares.

55 En la formación de supositorios, se puede utilizar una amplia variedad de vehículos que son conocidos en la técnica. Los ejemplos de tales vehículos incluyen polietilenglicol, manteca de cacao, alcoholes superiores, ésteres de alcoholes superiores, gelatina, glicérido semisintético, y similares.

60 En la formación de inyecciones, es preferible que un líquido, una disolución o una suspensión se esterilice y se haga isotónica con la sangre. En la formación de tales líquidos, disoluciones, emulsiones, o suspensiones, se puede utilizar cualquier diluyente usado habitualmente en la técnica. Sus ejemplos incluyen agua, alcohol etílico, propilenglicol, alcohol isoestearílico etoxilado, alcohol isoestearílico polioxilado, ésteres de ácidos grasos con polioxietilensorbitán, y similares. En este caso, se puede usar sal común, glucosa, o glicerina en las preparaciones farmacéuticas en una cantidad suficiente para producir disoluciones isotónicas. Además, se les pueden añadir un agente disolvente, tampón, o agente relajante.  
65

Cuando sea necesario, también se puede añadir un agente colorante, un conservante, un sabor, un saborizante, un edulcorante, etc., u otro producto farmacéutico.

La cantidad de cada uno de los compuestos anteriores, que son principios activos, contenida en la preparación farmacéutica no está particularmente limitada, y se puede seleccionar apropiadamente de un amplio intervalo; sin embargo, la cantidad es habitualmente 1 a 70 partes en peso, y preferiblemente 1 a 30 partes en peso de la composición total. La dosis varía dependiendo de los síntomas, edad del paciente, peso corporal, vía de administración, forma de dosificación, etc., pero el límite inferior de la dosis por adulto por día es habitualmente 0,01 mg (preferiblemente 0,1 mg, y más preferiblemente 1 mg), y el límite superior es habitualmente 2000 mg (preferiblemente 1000 mg, y más preferiblemente 200 mg). Tal dosis se puede administrar como una única dosis, o como varias dosis divididas.

Las preparaciones farmacéuticas anteriores se administran en una cantidad eficaz a un paciente diagnosticado por tener esquizofrenia, con el fin de tratar o mejorar la esquizofrenia. Por lo tanto, las preparaciones farmacéuticas de la presente invención se pueden envasar con especificaciones o instrucciones que señalan cómo tratar o mejorar la esquizofrenia.

Un método para tratar o mejorar la esquizofrenia se puede llevar a cabo administrando, a un paciente diagnosticado por tener esquizofrenia, una cantidad eficaz de un agente terapéutico o de mejora para la esquizofrenia que comprende piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma como principio activo.

La piridoxamina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede eliminar el estrés carbonílico en pacientes con esquizofrenia, y se puede usar con un vehículo farmacéuticamente aceptable u otros aditivos en forma de una composición farmacéutica en una cantidad eficaz para mejorar o tratar la esquizofrenia. Un receptor (sujeto) de la composición farmacéutica, una forma de administración, una vía de administración, un método de administración, y una dosis de administración de la composición farmacéutica (dosis del principio activo) son como se menciona anteriormente.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan a continuación para describir la presente invención con mayor detalle. Sin embargo, estos ejemplos son solamente ilustrativos y no limitativos de la invención.

#### Ejemplo 1: Análisis genéticos y bioquímicos en pacientes con esquizofrenia grave

Un paciente esquizofrénico (hombre, 60 años, peso 75,5 kg) hospitalizado en un hospital psiquiátrico (en adelante "Paciente A") sufrió análisis del gen de glioxalasa I, así como una medida de la actividad de glioxalasa de eritrocitos, el nivel de AGE en suero, y la cantidad de vitamina B<sub>6</sub> en el suero. El Paciente A es uno de cuatro hermanos, dos de los cuales se suicidaron; él y el otro hermano que queda están actualmente hospitalizados en un hospital psiquiátrico. El Paciente A ha sido diagnosticado con esquizofrenia familiar grave.

#### Métodos de medida

##### (1) Medición de la actividad de glioxalasa de eritrocitos

La actividad de glioxalasa de eritrocitos se midió según el método de McLellan *et al.* (McLellan AC, Thornalley PJ: Glyoxalase activity in human red blood cells fractioned by age. Mech Ageing Dev 48: 63-71, 1989). Específicamente, se añadieron eritrocitos interrumpidos a una disolución hemitioacetálica producida a partir de metilglioxal y glutatona, y se midió la cantidad de S-D-lactoilglutaciona formada a una longitud de onda de absorción de 240 nm, usando un espectrofotómetro. La concentración de S-D-lactoilglutaciona se determinó a partir del valor medido, usando el coeficiente de absorción molar  $\Delta_{\epsilon 240} = 2,86 \text{ Mm}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , y se convirtió en unidades. Una unidad representa 1  $\mu\text{mol}$  de S-D-lactoilglutaciona formada por  $10^6$  eritrocitos por minuto.

##### (2) Medida del nivel sérico de AGE

Se usó la pentosidina como un índice para el nivel de AGE. La pentosidina se midió según lo siguiente: el suero recogido se hidrolizó en HCl 6N a 110°C durante 16 horas en nitrógeno gaseoso, y después se llevó a cabo el análisis cuantitativo a la longitud de onda de excitación-absorción (335/385 nm) mediante cromatografía de líquidos de altas prestaciones (HPLC) de fase inversa, usando pentosidina sintética de concentración conocida como muestra patrón.

##### (3) Medida de la cantidad de vitamina B<sub>6</sub> sérica

El nivel de piridoxamina, el nivel de piridoxina, y el nivel de piridoxal en suero se midieron como la cantidad de vitamina B<sub>6</sub> sérica. La medida se realizó por un proveedor de servicios de ensayo de laboratorio (SRL Corporation) mediante análisis cuantitativo usando cromatografía de líquidos de altas prestaciones (HPLC) de fase inversa.

Resultados medidos

## (1) Actividad de glioxalasa de eritrocitos (figura 4)

La actividad de glioxalasa de eritrocitos se calculó basándose en el recuento de eritrocitos a 10% de hematocritos como  $0,6 \times 10^9/\text{ml}$ . Como resultado, la actividad de glioxalasa I de eritrocitos del Paciente A fue 2,9 mUnidades/ $10^6$  RBC, que fue menor que la actividad de glioxalasa I de los eritrocitos ( $6,1 \pm 0,7$  mUnidades/ $10^6$  RBC) de los sujetos sanos ( $n = 5$ ) (figura 4).

## (2) Resultados analíticos del gen de glioxalasa I (figura 5)

Los resultados del análisis del gen de glioxalasa I para el Paciente A se muestran en la figura 5. Una comparación del gen de glioxalasa I del Paciente A con aquel de un sujeto sano reveló que se insertó una A (adenina) en la posición 80 del gen de glioxalasa I del Paciente A (una mutación de punto), dando como resultado un desplazamiento del marco que evitó la expresión normal de glioxalasa I. Esto muestra que la actividad reducida de glioxalasa de los eritrocitos del Paciente A mencionada en la Sección (1) anterior se puede atribuir a la anomalía del gen de glioxalasa I (el desplazamiento del marco provocado por la mutación de punto).

## (3) Medida del nivel sérico de AGE (figura 6)

La figura 6 muestra una comparación de los niveles séricos de AGE (las cantidades de pentosidina) entre el Paciente A y sujetos sanos. Los resultados muestran que el nivel sérico de AGE del Paciente A fue 0,368 nmoles/ml, que fue significativamente más elevado que el nivel sérico de AGE de  $0,128 \pm 0,04$  nmoles/ml de los sujetos sanos ( $n = 5$ ). El nivel sérico de AGE del Paciente A, cuando se convierte en la cantidad de pentosidina por 1 mg de proteína, fue 5 pmoles/mg de proteína, que demostró ser tres veces mayor que  $1,7 \pm 0,4$  pmoles/mg de proteína de los sujetos sanos.

La velocidad de filtración glomerular estimada (eGFR) del Paciente A (60 años, peso: 75,5 kg, creatinina: 1,05 mg/dl), medida usando la fórmula de MDRD, fue 76,7 ml/min., y el aclaramiento de creatinina estimado (eCCr), medido usando la fórmula de Cockcroft-Gault, fue 79,9 ml/min., mostrando una ligera disminución en la función renal. Sin embargo, puesto que tal disminución ligera en la función renal no pudo conducir al nivel de incremento en AGE (tales como pentosidina) mencionado anteriormente, se consideró que estaban presentes en la esquizofrenia factores para el incremento de AGE (tales como pentosidina), distintos de la diabetes y de la insuficiencia renal. Teniendo además en cuenta la deficiencia de glioxalasa I, el incremento del nivel sérico de AGE en pacientes esquizofrénicos se puede atribuir a una anomalía en la detoxificación del precursor de AGE debido a la actividad reducida de glioxalasa I.

(4) Cantidad de vitamina B<sub>6</sub> sérica

De los niveles séricos de vitamina B<sub>6</sub> del Paciente A, los niveles de piridoxamina y de piridoxina estaban en o por debajo de los límites de detección, como sucede con los sujetos sanos (el límite de detección de piridoxamina: 0,2 ng/ml; el límite de detección de piridoxina: 3,0 ng/ml). Por otro lado, el nivel de piridoxal del Paciente A fue 2,8 ng/ml, que fue significativamente menor que aquel de los sujetos sanos ( $14,8 \pm 0,3$  ng/ml,  $n = 2$ ). Se señala que el nivel de referencia de piridoxal para los hombres es 6,0 a 40,0 ng/ml. El piridoxal actúa para eliminar carbonilos en la sangre. Por lo tanto, se consideró que la cantidad reducida de piridoxal (vitamina B<sub>6</sub>) sérico en el paciente esquizofrénico es el resultado del consumo de piridoxal en el cuerpo debido a la necesidad de eliminar carbonilos.

Los resultados anteriores sugieren que la afección de esquizofrenia estaba asociada con el estrés carbonílico atribuido a la deficiencia de glioxalasa I. Específicamente, se cree que los pacientes esquizofrénicos tienen una actividad de glioxalasa I reducida debido a anomalías en el gen de glioxalasa I, y esta actividad de glioxalasa I reducida aumenta el estrés carbonílico (es decir, incrementa los AGE), provocando el agotamiento de la vitamina B<sub>6</sub>, conduciendo al agravamiento de la afección de esquizofrenia. Por lo tanto, la actividad de glioxalasa I reducida, el mayor estrés carbonílico (mayores AGE), y la reducción de la vitamina B<sub>6</sub> pueden servir como índices para un diagnóstico de esquizofrenia. Además, los inhibidores de AGE (inhibidores de la formación de AGE), así como los depuradores de carbonilo tales como la vitamina B<sub>6</sub> y edaravona, son considerados eficaces como agentes para tratar esquizofrenia o mejorar la afección de esquizofrenia.

**Ejemplo 2: Medida del contenido de AGE en la piel**

Los contenidos de AGE en la piel se midieron en sujetos sanos (12 mujeres y 12 hombres, un total de 24 sujetos; edad media:  $48,88 \pm 3,17$  años) y en pacientes esquizofrénicos (12 mujeres y 12 hombres, un total de 24 sujetos; edad media:  $48,38 \pm 2,23$  años), usando un Lector de AGE (fabricado por DiagnOptics, Países Bajos).

La figura 7 muestra una comparación de los contenidos de AGE en la piel entre los sujetos sanos y pacientes esquizofrénicos. Los resultados muestran que los contenidos de AGE en la piel de los pacientes esquizofrénicos

están significativamente incrementados en comparación con aquellos de los sujetos sanos. La figura 8A y la figura 8B muestran la comparación de los contenidos de AGE en la piel entre los sujetos sanos y los pacientes esquizofrénicos según la edad. Los resultados revelaron una fuerte correlación positiva entre el contenido de AGE y la edad para los sujetos sanos, pero no se observó tal correlación para los pacientes esquizofrénicos (figura 8A). Sin embargo, como se muestra en la figura 8B, los contenidos de AGE en la piel de los pacientes esquizofrénicos tendieron a ser elevados en comparación con los sujetos sanos, incluso para aquellos cerca de la edad de 50, sin mencionar a aquellos por debajo de la edad de 50.

Esto muestra que, como se demostró previamente en el Ejemplo 1, los pacientes esquizofrénicos tienen mayores contenidos de AGE con respecto a los sujetos sanos, y esta tendencia también se puede evaluar usando el Lector de AGE para medir los contenidos de AGE en la piel.

### Ejemplo 3: Análisis del gen de glioxalasa I de pacientes esquizofrénicos

(1) Se llevó a cabo el análisis del gen de glioxalasa I (GLO-I) en pacientes esquizofrénicos (n = 700) y sujetos sanos (n = 600).

Se observó una mutación de desplazamiento del marco en el gen de GLO-I (una inserción de una única base entre las posiciones 79 y 80 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 1) de la región codificante del gen de GLO-I) mediante secuenciación directa por PCR usando Blend Taq (n° de Catálogo de TOYOBO BTQ-101S), en la que la PCR se llevó a cabo usando los cebadores de PCR, F: 5'-GAGTTTGCCTCCTTTATGCG-3' (SEC ID n°: 8) y R: 5'-AACAGATCCCCTCCACACTT-3' (SEC ID n°: 9), en las condiciones de (i) 1 ciclo de 94°C durante 2 minutos; (ii) 40 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 62,5°C durante 20 segundos, 72°C durante 30 segundos; y (iii) 1 ciclo de 72°C durante 2 minutos. Se identificó una mutación por sustitución de bases (la mutación de alanina a citosina en la posición 332 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 1) de la región codificante del gen de GLO-I), que induce la mutación del aminoácido (Glu → Ala) en la posición 111 de la GLO-I, mediante secuenciación directa por PCR usando Blend Taq (n° de Catálogo de TOYOBO BTQ-101S), en la que la PCR se llevó a cabo usando F: 5'-TCAGAGTGTGTGATTTTCGTG-3' (SEC ID n°: 10) y R: 5'-CATGGTGAGATGGTAAGTGT-3' (SEC ID n°: 11), en las condiciones de (i) 1 ciclo de 94°C durante 2 minutos; (ii) 40 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 62,5°C durante 20 segundos, 72°C durante 30 segundos; y (iii) 1 ciclo de 72°C durante 2 minutos.

Los resultados revelaron una diferencia significativa principalmente en el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP), en el que Glu se sustituyó por Ala en la posición 111 de la secuencia de aminoácidos (SEC ID n°: 2) de GLO-I. Aunque se detectaron cuatro casos de homocigotos Ala/Ala entre pacientes esquizofrénicos (n = 700), no se encontraron tales casos entre los sujetos sanos (n = 600).

(2) Se midieron las actividades de glioxalasa de los eritrocitos en tres de los cuatro pacientes esquizofrénicos con homocigotos Ala/Ala, según el método descrito en la Sección (1) del Ejemplo 1. Los historiales médicos y los estados de estos tres pacientes son los siguientes:

(a) Paciente B (paciente hospitalizado): mujer, 50 años, CREAT 0,57, comienzo a la edad de 41 años:

Aunque se han atenuado actualmente los delirios o alucinaciones, son prominentes los síntomas negativos (por ejemplo, apatía, aplanamiento afectivo).

(b) Paciente C (paciente hospitalizado): hombre, 66 años, CREAT 0,86, comienzo a la edad de 15 años:

Están presentes síntomas negativos graves, y se produce poco o ningún discurso voluntario; el paciente sólo asiente sí o no en respuesta a preguntas.

(c) Paciente D (paciente ambulatorio): hombre, 50 años, CREAT 0,72, comienzo a la edad de 19 años:

El paciente tiene el delirio de ser "acosado por vecinos", y ha cambiado repetidamente de dirección.

De forma similar, también se midieron las actividades de glioxalasa de eritrocitos en pacientes esquizofrénicos con heterocigotos Glu/Ala y homocigotos Glu/Glu, así como en sujetos sanos. Los resultados se muestran en la figura 9. Los resultados muestran que los pacientes esquizofrénicos con homocigotos Ala/Ala han reducido significativamente la actividad de glioxalasa de eritrocitos. Además, un constructo (pAcGFP-GLO1-Ala) que consiste en GFP y GLO-I mutante que tiene una Ala en la posición 111 de la secuencia de aminoácidos (SEC ID n°: 2) de GLO-I, y un constructo (pAcGFP-GLO1-Glu) que consiste en GFP y GLO-I normal que tiene una Glu en la posición 111, se expresaron cada uno en células COS según un método habitual, y se midieron las actividades de GLO-I. Como resultado, se confirmó que GLO-I mutante tiene actividad de GLO-I significativamente menor en comparación con GLO-I normal (figura 10).

(3) La figura 11 muestra los niveles de expresión de ARNm de GLO-I evaluados para los pacientes esquizofrénicos (cuatro) con homocigotos Ala/Ala y el Paciente A esquizofrénico del Ejemplo 1 (deficiente en GLO-I debido al

desplazamiento del marco provocado por la mutación de punto de un único alelo del gen de GLO-I (entre las posiciones 79 y 80 de la secuencia de bases de la región codificante del gen de GLO-I)). Los resultados mostraron que el nivel de expresión de ARNm de GLO-I en el Paciente A de tipo desplazamiento del marco disminuyó en 50%. El nivel de expresión de ARNm de GLO-I en los pacientes esquizofrénicos con homocigotos Ala/Ala también disminuyó en 20%. Esto sugiere la posibilidad de que una disminución del 20%, si no una disminución del 50%, en el nivel de expresión de ARNm de GLO-I (actividad de GLO-I) planteará el riesgo de esquizofrenia.

#### **Ejemplo 4: Análisis del gen de glioxalasa I y análisis bioquímico de pacientes con esquizofrenia (resumen)**

Los pacientes esquizofrénicos se dividieron en el tipo de desplazamiento de marco [n = 2], el tipo homocigoto Ala/Ala [n = 5], y el tipo heterocigoto Glu/Ala [n = 1]; y se midió para cada paciente la actividad de glioxalasa I (mUnidades/10<sup>6</sup> RBC), la actividad de pentosidina (pmol/mg de proteína), los contenidos de vitamina B<sub>6</sub> en sangre (ng/ml) (piridoxal, piridoxamina, y piridoxina), el contenido de vitamina B12 en sangre (pg/ml), el contenido de folato en sangre (ng/ml), el contenido de homocisteína en sangre (nmol/ml), el contenido de creatinina (mg/dl), y eGFR (ml/min./1,73 m<sup>2</sup>). La medida de cada actividad y contenido se llevó a cabo según el método descrito en el Ejemplo 1, o un método habitual. Como control, se realizaron de forma similar medidas en sujetos sanos [n = 7] no afectados con esquizofrenia (tipo homocigoto Glu/Glu).

Los resultados, incluyendo si cada paciente tiene diabetes o no, se muestran en la figura 12.

Los resultados revelaron la tendencia de los pacientes esquizofrénicos de todos los tipos a tener actividades reductivas de GLO-I y niveles aumentados de pentosidina (niveles de AGE) en comparación con los sujetos sanos. Puesto que todos estos pacientes tuvieron creatinina y eGFR normales, y tampoco fueron diabéticos, los niveles incrementados de pentosidina no se pudieron explicar por una función renal reducida o por hiperglucemia. Los niveles incrementados de pentosidina se consideran así atribuibles a menores actividades de GLO-I. El Paciente MZ-65, que tiene un nivel de pentosidina notablemente elevado, es un paciente gravemente esquizofrénico que sufre síntomas negativos graves, y produce poco o ningún discurso voluntario.

Entre los pacientes esquizofrénicos, los pacientes del tipo de desplazamiento del marco en particular mostraron una marcada tendencia por menores actividades de GLO-I, mayores niveles de pentosidina (niveles de AGE), niveles reducidos de piridoxal, y mayores contenidos de homocisteína, en comparación con los sujetos sanos. Esto sugiere que la menor GLO-I contribuye a la patogénesis de este tipo de paciente esquizofrénico. Esto es, los resultados analíticos anteriores se consideran todos ellos atribuibles a la menor GLO-I en el cuerpo: la menor GLO-I provoca que aumente el nivel de carbonilo, y en consecuencia, aumenta el nivel de AGE (contenido de pentosidina) en el cuerpo para reducir la cantidad de vitamina B<sub>6</sub> (piridoxal) para eliminar los AGE. Adicionalmente, debido a que la vitamina B<sub>6</sub> desempeña un papel importante en la formación de homocisteína, la menor cantidad de vitamina B<sub>6</sub> también se considera que está reflejada en los mayores niveles de homocisteína. Por tanto, el uso de estos niveles bioquímicos como índices permite un diagnóstico fácil de la esquizofrenia.

#### **Ejemplo 1 de Ensayo: Efecto inhibitor de análogos de edaravona sobre la formación de AGE**

(1) Se investigó 1-(5-hidroxi-3-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-6-metil-1,3-dihidro-3,4-furo[3,4-c]piridin-7-ol (en lo sucesivo aquí "TM-2002") en busca de su efecto inhibitor sobre la formación de pentosidina, que es un ejemplo representativo de un AGE.

Se recogió plasma de pacientes hemodializados antes de la diálisis con el consentimiento de los pacientes, y el plasma se filtró y se esterilizó. Se añadieron al plasma (450 µl) disoluciones de TM-2002 en dimetilsulfóxido (50 µl) (concentraciones finales: 0,8, 2,0, y 5,0 mM), y las mezclas se incubaron durante 1 semana a 37°C. Se midieron los niveles de la formación de pentosidina.

La pentosidina se midió según lo siguiente. A cada muestra (50 µl) tras la incubación se le añadió un volumen igual de ácido tricloroacético al 10%, y la mezcla se centrifugó subsiguientemente a 5000 g durante 5 minutos. Después de que se retiró el sobrenadante, el pelete se lavó con ácido tricloroacético al 5% (300 µl). El pelete se secó a presión reducida, y subsiguientemente se hidrolizó en una disolución 6 N de HCl (100 µl) en una atmósfera de nitrógeno durante 16 horas a 110°C. Al hidrolizado ácido se añadió entonces NaOH 5N (100 µl) y tampón de fosfato 0,5 M (pH 7,4) (200 µl); la mezcla se filtró subsiguientemente a través de un filtro de microporos con poros de 0,5 µm y se diluyó con PBS. La concentración de la pentosidina liberada se midió mediante HPLC de fase inversa usando un detector de fluorescencia (RF-10A, Shimadzu Corporation) (Miyata, T. *et al.*; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 93, p. 2353-2358, 1996). El efluente se monitorizó a la longitud de onda de excitación/emisión de 335/385 nm. La pentosidina sintética se usó como el material de referencia. El límite de detección de pentosidina fue 0,1 pmoles/mg de proteína.

El efecto inhibitor se evaluó comparando con un control positivo (piridoxamina (Sigma)), que se hizo reaccionar de la misma manera como Compuesto TM-2002. De forma similar, también se investigaron aminoguanidina, olmesartán y edaravona para determinar sus efectos inhibidores. Los resultados (las cantidades de pentosidina: nmol/ml) se muestran en la figura 13, en la que el "control" significa aquí más abajo un control negativo que usa solamente el

disolvente. Se entiende a partir de estos resultados que TM-2002 inhibe significativamente la formación de pentosidina en comparación con piridoxamina usada como el control positivo.

5 La figura 1 muestra criterios de diagnóstico para la esquizofrenia según se esquematiza por la "International Classification of Diseases, Tenth Revision" (ICD-10) de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La figura 2 muestra criterios de diagnóstico para la esquizofrenia según se esquematiza por el "Diagnostic and Statistical Manual, Fourth Edition" (DSM-IV) de la American Psychiatric Association (APA).

10 La figura 3 es una tabla que enumera los fármacos antipsicóticos usados para el tratamiento de esquizofrenia.

La figura 4 es una gráfica que muestra una comparación de las actividades de glioxalasa de eritrocitos entre un paciente gravemente esquizofrénico (n = 1) y sujetos sanos (n = 5) (Ejemplo 1).

15 Las figuras 5A y 5B muestran los resultados de análisis del gen de glioxalasa I para un paciente gravemente esquizofrénico (Paciente A), en las que, en cada figura, Gen M y Gen X significan ambos el gen de glioxalasa I; y en la figura 5A, Caso 2 significa el paciente esquizofrénico (Paciente A).

20 La figura 6 es una gráfica que muestra una comparación de los niveles séricos de AGE (las cantidades de pentosidina) entre un paciente gravemente esquizofrénico (n = 1) y sujetos sanos (n = 5) (Ejemplo 1).

La figura 7 es una gráfica que muestra una comparación de los contenidos de AGE en la piel entre los sujetos sanos (n = 24, hombre: 12, mujer: 12, edad media: 48,88 ± 3,17 años) y pacientes esquizofrénicos (n = 24, hombre: 12, mujer: 12, edad media: 48,38 ± 2,23 años) (Ejemplo 2).

25 La figura 8 muestra una comparación de los contenidos de AGE en la piel según la edad (por debajo de la edad de 50, o por encima de la edad de 50) entre sujetos sanos (n = 24) y pacientes esquizofrénicos (n = 24) (Ejemplo 2).

30 La figura 9 es una gráfica que muestra las actividades de glioxalasa de eritrocitos medidas para pacientes esquizofrénicos con homocigotos Ala/Ala, pacientes esquizofrénicos con heterocigotos Glu/Ala y homocigotos Glu/Glu, y sujetos sanos (Ejemplo 3).

35 La figura 10 es una gráfica que muestra las actividades de GLO-I medidas expresando, en células COS, cada uno de un constructo (pAcGFP-GLO1-Ala) que consiste en GFP y GLO-I mutante que tiene una Ala en la posición 111; y un constructo (pAcGFP-GLO1-Glu) que consiste en GFP y GLO-I normal que tiene una Glu en la posición 111 (Ejemplo 3).

40 La figura 11 muestra los niveles de expresión de ARNm de glioxalasa I medidos para pacientes esquizofrénicos con homocigotos Ala/Ala (n = 4) y Paciente A gravemente esquizofrénico (deficiente en glioxalasa I debido a un desplazamiento del marco).

45 La figura 12 muestra un resumen de los resultados medidos para la actividad de glioxalasa I (mUnidad/10<sup>6</sup> RBC), para la actividad de pentosidina (pmol/mg de proteína), para los contenidos de vitamina B<sub>6</sub> en sangre (ng/ml) (piridoxal, piridoxamina, y piridoxina), para el contenido de vitamina B12 en sangre (pg/ml), para el contenido de folato en sangre (ng/ml), para el contenido de homocisteína en sangre (nmol/ml), para el contenido de creatinina (mg/dl), y eGFR (ml/min./1,73 m<sup>2</sup>) en pacientes esquizofrénicos de diversos tipos (es decir, el tipo de desplazamiento del marco [n = 2], el tipo homocigoto Ala/Ala [n = 5], el tipo heterocigoto Glu/Ala [n = 1]), y sujetos sanos (tipo homocigoto Glu/Glu) [n = 7].

50 La figura 13 muestra los efectos inhibidores sobre la formación de pentosidina investigados para aminoguanidina, piridoxamina, olmesartán, edaravona, y TM2002 (Ejemplo 1 de Ensayo (2)).

Texto libre de listado de secuencias

55 SEC ID n°: 4 muestra una secuencia de bases de una región desde las posiciones 1 a 200 en dirección 5' de adenina en la posición 201 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 1) del gen de glioxalasa I (GLO-I) (que corresponde a la posición 79 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 2) de la región codificante).

60 SEC ID n°: 5 muestra una secuencia de bases de una región desde las posiciones 203 a 502 en dirección 3' de citosina en la posición 202 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 1) del gen de GLO-I (que corresponde a la posición 80 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 2) de la región codificante).

65 SEC ID n°: 6 muestra una secuencia de bases de una región desde las posiciones 154 a 453 en dirección 5' de adenina en la posición 454 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 1) del gen de GLO-I (que corresponde a la posición 332 de la secuencia de bases (SEC ID n°: 2) de la región codificante).

SEC ID nº: 7 muestra una secuencia de bases de una región desde las posiciones 455 a 754 en dirección 3' de adenina en la posición 454 de la secuencia de bases (SEC ID nº: 1) del gen de GLO-I (que corresponde a la posición 332 de la secuencia de bases (SEC ID nº: 2) de la región codificante).

5 SEC ID nº: 8 muestra una secuencia de bases de un cebador directo usado en la secuenciación directa por PCT para detectar una mutación de inserción entre las posiciones 79 y 80 de la secuencia de bases (SEC ID nº: 2) de la región codificante del gen de GLO-I.

10 SEC ID nº: 9 muestra una secuencia de bases de un cebador inverso usado en la secuenciación directa por PCT para detectar una mutación de inserción entre las posiciones 79 y 80 de la secuencia de bases (SEC ID nº: 2) de la región codificante del gen de GLO-I.

15 SEC ID nº: 10 muestra una secuencia de bases de un cebador directo usado en la secuenciación directa por PCT para detectar una mutación de sustitución de base en la posición 332 de la secuencia de bases (SEC ID nº: 2) de la región codificante del gen de GLO-I.

20 SEC ID nº: 11 muestra una secuencia de bases de un cebador inverso usado en la secuenciación directa por PCT para detectar una mutación de sustitución de base en la posición 332 de la secuencia de bases (SEC ID nº: 2) de la región codificante del gen de GLO-I.

**Listado de secuencias**

25 <110> TOKAI UNIVERSITY EDUCATIONAL SYSTEM  
 <110> TOKYO METROPOLITAN ORGANIZATION FOR MEDICAL RESEARCH  
 <110> RENASCENCE CO., LTD.

<120> Ensayo y tratamiento de la esquizofrenia

30 <130> P08-91

<150> JP 2007-214047  
 <151> 2007-08-20

35 <160> 11

<170> PatentIn versión 3.3

40 <210> 1  
 <211> 2071  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

45 <220> 1  
 <221> CDS  
 <222> (123)..(674)

<400> 1

ES 2 515 168 T3

```

agcgggtctcc cgcccgcggc gccatcgcgc cttcctagt taaggcggca cagggccgag      60
gcgtagtggtg ggtgactcct ccgttccttg ggtcccgtcg tctgtgatac tgcagcgcag      120
ccatggcaga accgcagccc ccgtccggcg gcctcacgga cgaggccgcc ctacagtgtc      180
gctccgacgc ggaccccagt accaaggatt ttctattgca gcagaccatg ctacgagtga      240
aggatcctaa gaagtcactg gatttttata ctagagtctt tggaatgacg ctaatccaaa      300
aatgtgattt tcccattatg aagttttcac tctacttctt ggcttatgag gataaaaaatg      360
acatccctaa agaaaaagat gaaaaaatag cctgggcgct ctccagaaaa gctacacttg      420
agctgacaca caattggggc actgaagatg atgagacca gagttaccac aatggcaatt      480
cagaccctcg aggattcggg catattggaa ttgctgttcc tgatgtatac agtgcttgta      540
aaaggtttga agaactggga gtcaaatttg tgaagaaacc tgatgatggt aaaatgaaag      600
gcctggcatt tattcaagat cctgatggct actggattga aattttgaat cctaacaaaa      660
tggaacacct aatgtagtgc tgtgagaatt ctcctttgag atttcagaag aaaggaaca      720
atgtgattca agatatttac ataccagaag catctaggac tgatggatca ctgtcccgat      780
tcaaattatt ctacagtcca ttccccttc ctatttcagc tgttcctttt cacctaactg      840
ttcagtcatt ctggttttca agcagtgctt tatctcatgt ccttgaatat agttgtgtaa      900
ctttattttt taggtaataa ttagaacagt tcccttcaga ggctgcattt gccttcttct      960
gccacctaaa tattacttcc cttcaaatct gcctttgaat catcattttt aaaaaaaaaat     1020
taacatgttt ttgttgtagt tatcttctgg ggtttcaatt cctcagaaac aacttttttc     1080
acaacggaaa ggaaagaaca ctagtgttct ttcagtaaag tacaagtgtt ttattttaca     1140
aaagagtagg tactcttgag agcaattcaa atcatgctga caaggatact gatagaaaaa     1200
gtgatttctt cttattataa agtacattta aagttcaagg actaacctta tttatttggg     1260
aaaggggagg aggaaggaaa tgatatggtg cccagacact gggctaggct gcaactttat     1320
ctcatttaat actcccagct gtcatgtgag aaagaaagca ggctaggcat gtgaaatcac     1380
tttcatggat tattaatgga tttaaagagg catcaatcag ctcaactcaa gatttcataa     1440
tcatttttag tatttagatt gtgcctcaa gttgtagtac ctcacaatac ctccactggg     1500
ttcctgttgt aaaaaccttc agtgagtgtg accattgtgc tcttgctctt tgggctggag     1560
taccgtggtg agggagttaa cactagaagt ctttagtaca aaactgctct agggacacct     1620
ggtgattcct acacaagtga tgtttatatt tctcataaag agtcttcctt atcccagggt     1680
cttcatgatg ccagtagcca tatatgataa attatgttca gtgataactt agttatcaga     1740
aatcagctca gtggctctcc ccgccatgat tcacatttga tgagttttta aaaatcaaaag     1800
tgattttgaa aatctctaag ggctcagaaa ataaaaacat ccagtttggt gatgactata     1860
tttagatttc tctagaactc agtggaagac ctttggaag gccatgcca cctgtcttgt     1920
actgctagaa gcactttatg tttccttttt gggtgaaatg gatttatgtg agtgctttaa     1980
acaaatagca atacttatag actgaaataa aatgaaactt caaataagac tatgtttaat     2040
ttgtaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a

```

<210> 2  
 <211> 552  
 <212> ADN  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 2

```

atggcagaac cgcagcccc gtccggcggc ctacaggac aggcgcgcct cagttgtctg      60
tccgacgcgg accccagtac caaggatttt ctattgcagc agaccatgct acgagtgaag      120
gatcctaaga agtcaactgga tttttatact agagttcctg gaatgacgct aatccaaaaa      180
tgtgattttc ccattatgaa gtttcoactc tacttcttgg cttatgagga taaaaatgac      240
atccctaaag aaaaagatga aaaaatagcc tgggcgctct ccagaaaagc tacacttgag      300
ctgacacaca attggggcac tgaagatgat gagaccaga gttaccacaa tggcaattca      360
gaccctcgag gattcgggtca tattggaatt gctgttcctg atgtatacag tgcttgtaaa      420
aggtttgaag aactgggagt caaatttgtg aagaaacctg atgatggtaa aatgaaaggc      480
ctggcattta ttcaagatcc tgatggctac tggattgaaa ttttgaatcc taacaaaatg      540
gcaaccttaa tg

```

10

<210> 3  
 <211> 184  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

15

<400> 3





# ES 2 515 168 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Cebador inverso para secuencia dirigida por PCR

5

<400> 11

catggtgaga tggaagtgt            20

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para la utilización en la mejora de la esquizofrenia o el tratamiento de un paciente con esquizofrenia.
2. Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para la utilización según la reivindicación 1, en la que la esquizofrenia está provocada por el estrés carbonílico.
- 10 3. Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para la utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que la mejora de la esquizofrenia o el tratamiento de un paciente con esquizofrenia son debidos a la eliminación del estrés carbonílico en el paciente con esquizofrenia.
- 15 4. Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para la utilización según la reivindicación 2 o 3, en la que el estrés carbonílico está provocado por una anomalía del gen de glioxalasa I.
5. Piridoxamina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que se administra a un paciente con esquizofrenia por la vía oral, la vía intravenosa, la vía intramuscular, la vía intradérmica, la vía subcutánea, la vía intraperitoneal, o la vía intrarrectal.

Figura 1

<p>Criterios de diagnóstico para esquizofrenia como se resume en la "International Classification of Diseases, Tenth Revision" (ICD-10)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>(a) eco del pensamiento, inserción o robo del pensamiento, y difusión del mismo;</li> <li>(b) delirios de ser controlado, de influencia o de pasividad, claramente referidas al cuerpo, a los movimientos de los miembros o a pensamientos, acciones o sensaciones concretos; y percepción delirante;</li> <li>(c) voces alucinatorias que comentan la propia actividad, o que discuten entre ellas sobre el enfermo, u otros tipos de voces alucinatorias que proceden de alguna parte del cuerpo;</li> <li>(d) ideas delirantes persistentes de otro tipo que no son adecuadas a la cultura del individuo y que son completamente imposibles, tales como las de identidad religiosa o política, o capacidades y poderes sobrehumanos (por ejemplo, de ser capaz de controlar el clima, o de estar en comunicación con seres de otros mundos);</li> <li>(e) alucinaciones persistentes de cualquier modalidad, cuando se acompañan de ideas delirantes no estructuradas y fugaces sin contenido afectivo claro, o de ideas sobrevaloradas persistentes, o cuando se presentan a diario durante semanas, meses o permanentemente;</li> <li>(f) interpolaciones o bloqueos en el curso del pensamiento, que dan lugar a un lenguaje incoherente o irrelevante, o neologismos;</li> <li>(g) comportamiento catatónico, tal como excitación, posturas características, o flexibilidad cérea, negativismo, mutismo, y estupor;</li> <li>(h) síntomas "negativos" tales como apatía marcada, empobrecimiento del lenguaje, y bloqueo o incongruencia de las respuestas emocionales, que conducen habitualmente a retraimiento social y disminución de la competencia social; debe quedar claro que estos síntomas no se deban a depresión o a medicación neuroléptica;</li> <li>(i) un cambio consistente y significativo de la cualidad general de algunos aspectos de la conducta personal, que se manifiestan como pérdida de interés, falta objetivos, ociosidad, estar absorto y aislamiento social.</li> </ul> <p><b>Pautas de diagnóstico</b></p> <p>El requisito normal para un diagnóstico de la esquizofrenia es que debería haber estado claramente presente durante la mayor parte del tiempo durante un período de 1 mes o más un mínimo de un síntoma muy evidente (y habitualmente dos o más si son menos evidentes) de uno cualquiera de los grupos enumerados como (a) a (d) anteriormente, o síntomas de al menos dos de los grupos referidos como (e) a (h).</p>
---

Figura 2

Criterios de diagnóstico para esquizofrenia como se resume porDSM-IV	
A.	<p>Síntomas característicos: Dos (o más) de los siguientes, cada uno de ellos presente durante una parte significativa de tiempo durante un período de 1 mes (o menos si ha sido tratado con éxito):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>(1) ideas delirantes</li> <li>(2) alucinaciones</li> <li>(3) discurso desorganizado {por ejemplo, descarrilamiento frecuente o incoherencia}</li> <li>(4) comportamiento catatónico o gravemente desorganizado</li> <li>(5) síntomas negativos, es decir, aplanamiento afectivo, alogia o abulia</li> </ul> <p>Nota: Sólo se requiere un síntoma del Criterio A si las ideas delirantes son extrañas, o si las alucinaciones consisten en una voz que comenta continuamente los pensamientos o el comportamiento del sujeto, o si dos o más voces conversan entre ellas.</p>
B.	<p>Disfunción social/laboral: Durante una parte significativa del tiempo desde el inicio de la alteración, una o más áreas importantes de actividad, como son el trabajo, las relaciones interpersonales o el cuidado de uno mismo, están claramente por debajo del nivel previo al inicio del trastorno (o, cuando el inicio es en la infancia o adolescencia, fracaso para alcanzar el nivel esperado de rendimiento interpersonal, académico o laboral).</p>
C.	<p>Duración: Persisten signos continuos de la alteración durante al menos 6 meses. Este período de 6 meses debe incluir al menos 1 mes de síntomas (o menos si se ha tratado con éxito) que cumplan el Criterio A (es decir, síntomas de fase activa), y puede incluir períodos de síntomas prodrómicos y residuales. Durante estos períodos prodrómicos o residuales, los signos de la alteración pueden manifestarse sólo por síntomas negativos o por dos o más síntomas enumerados en el Criterio A, presentes en una forma atenuada (por ejemplo, creencias raras, experiencias perceptivas no habituales).</p>
D.	<p>Exclusión de los trastornos esquizoafectivo y del estado de ánimo: El trastorno esquizoafectivo y el trastorno del estado de ánimo con rasgos psicóticos se han descartado debido a:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>(1) no ha habido ningún episodio depresivo mayor, maníaco o mixto concurrentemente con los síntomas de la fase activa; o</li> <li>(2) si los episodios de alteración anímica han aparecido durante los síntomas de la fase activa, su duración total ha sido breve en relación con la duración de los períodos activo y residual.</li> </ul>
E.	<p>Exclusión de consumo de sustancias/ afección médica general: El trastorno no es debido a los efectos fisiológicos directos de alguna sustancia (por ejemplo, una droga de abuso, un medicamento) o una afección médica general.</p>
F.	<p>Relación con un trastorno generalizado del desarrollo: Si hay un historial de trastorno autista o de otro trastorno generalizado del desarrollo, el diagnóstico adicional de esquizofrenia sólo se realizará si las ideas delirantes o las alucinaciones prominentes también están presentes durante al menos un mes (o menos si se han tratado con éxito).</p>

Figura 3

Agente terapéutico para esquizofrenia	
Nombre del fármaco	Volumen (mg/día)
Fármacos antipsicóticos típicos (convencionales)	
Butirofenonas	
Haloperidol	0,75-6
Pipamperona	50-600
Siperona	0,45-4,5
Moperona	10-30
Pimozida	1-9
Timiperona	0,5-12
Bromperidol	3-36
Fenotiazinas	
Clorpromazina	30-450
Levomepromazina	25-200
Tioridazina	30-400
Propericiazina	10-60
Perfenazina	6-48
Flufenazina	0,25-10
Proclorperazina	15-45
Trifluoperazina	5-30
Benzamidas	
Sulpirida	150-600
Sultoprida	300-1800
Nemonaprida	9-60
Tiepinas	
Zotepina	75-450
Indoles	
Oxipertina	40-300
Iminodibencilos	
Carpipramina	75-225
Clocapramina	30-150
Mosapramina	30-300
Fármacos antipsicóticos atípicos	
SDA	
Risperidona	2-8
Perospirona	12-48
Dibenzotiazepinas	
Quetiapina	50-750
MARTA	
Olanzapina	5-20

Figura 4

Actividad de glioxalasa I mU/millón de glóbulos rojos

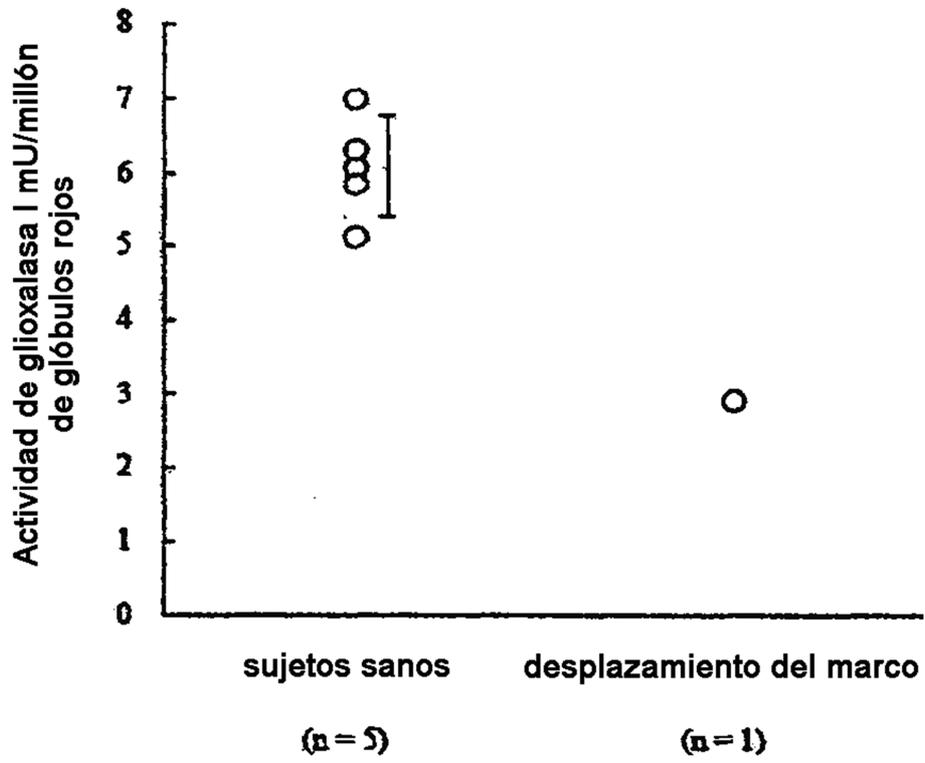
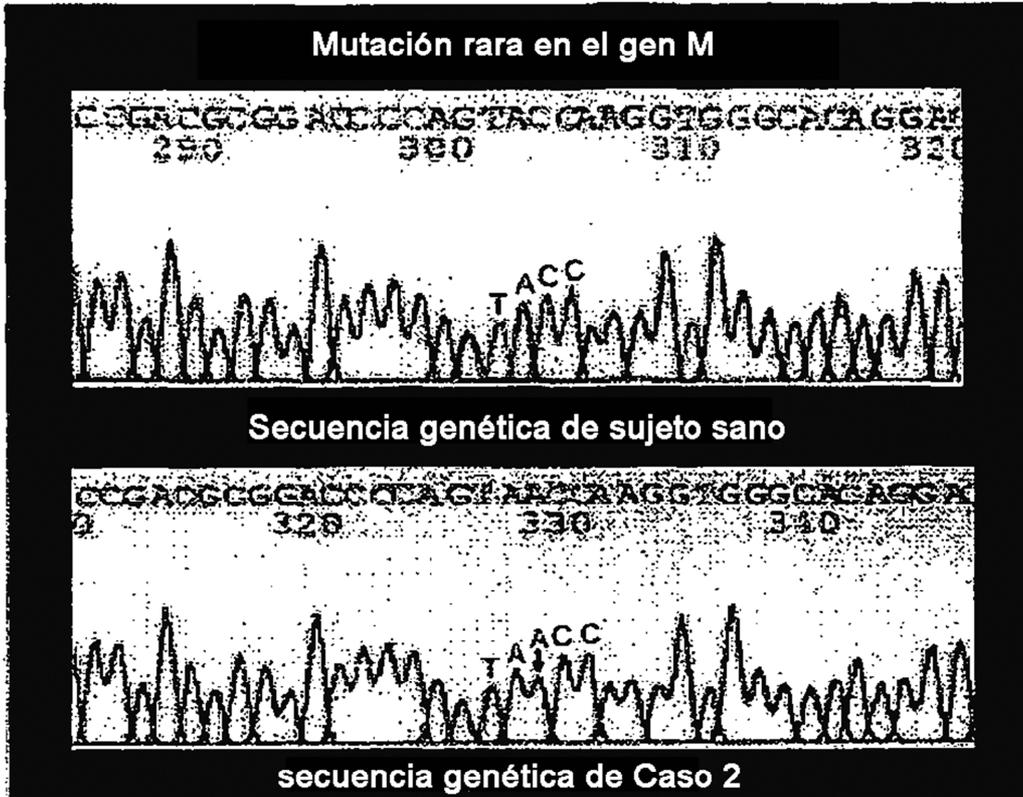


Fig. 5

A



B

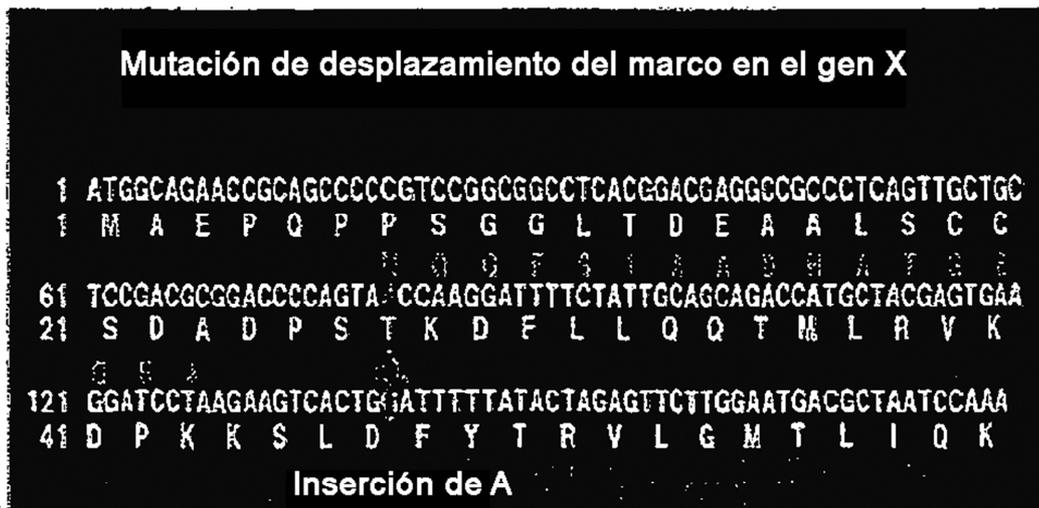


Fig. 6

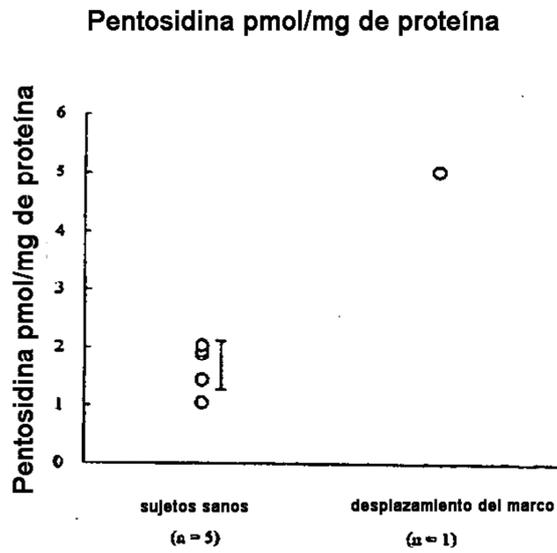


Fig. 7

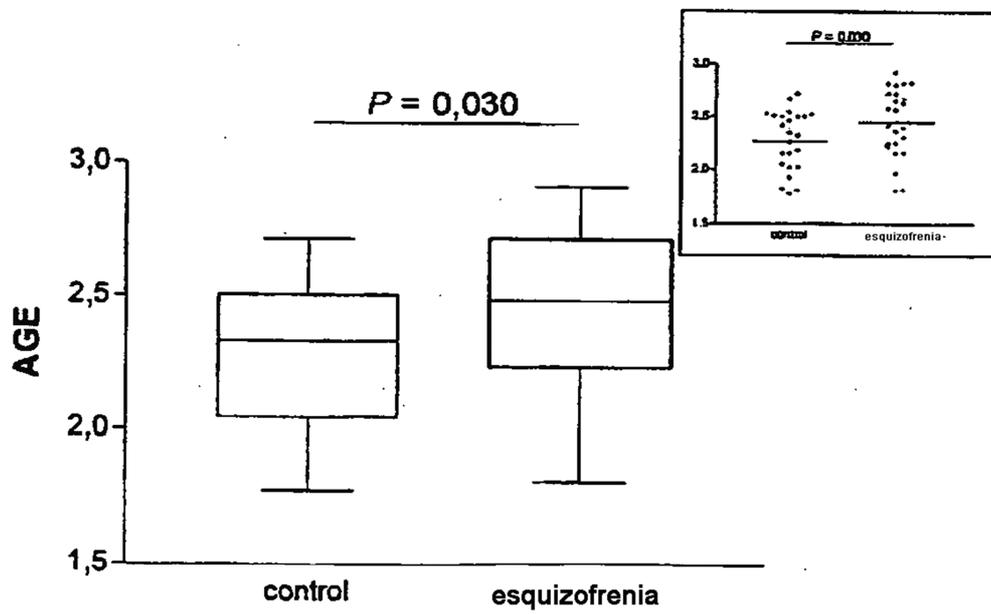
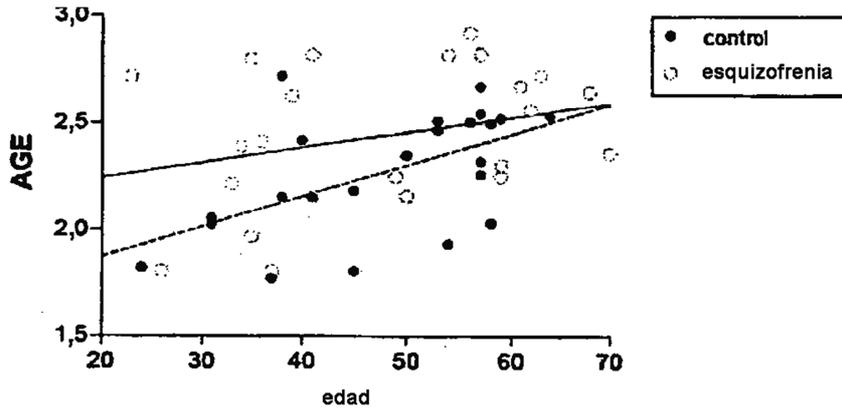


Figura 8

A

Parámetro	control	esquizofrenia
Número de pares XY	24	
r de Pearson	0,5563	0,3319
Intervalo de confianza de 95%	0,1970 a 0,7838	0,08260 a 0,6486
Valor de P (una cola)	0,0024	0,0565
Sumario del valor de P	**	ns
¿Es la correlación significativa? (alfa=0,05)	Sí	No
R al cuadrado	0,3094	0,1102



B

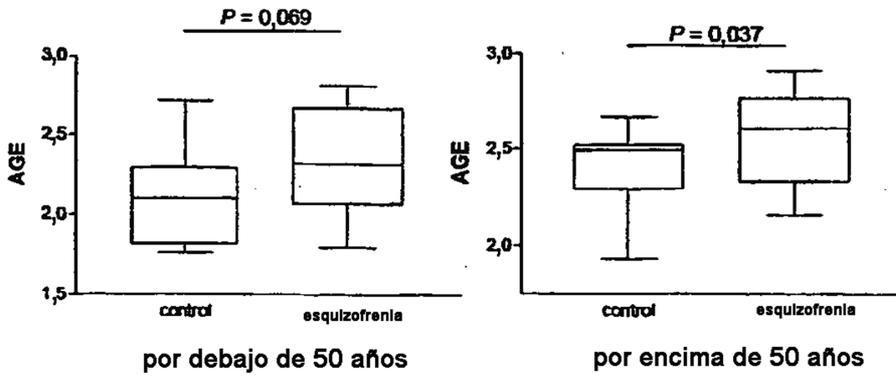


Fig. 9

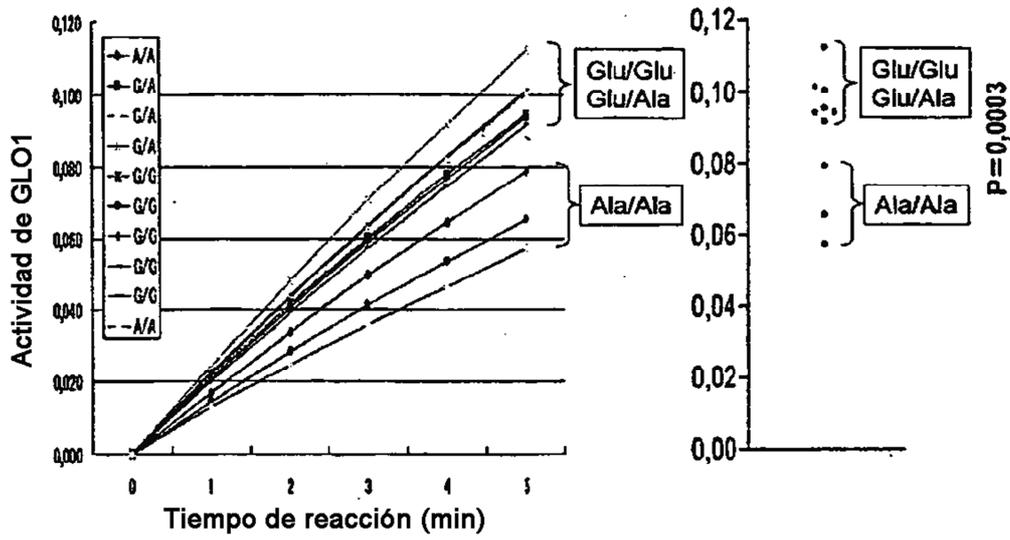


Fig. 10

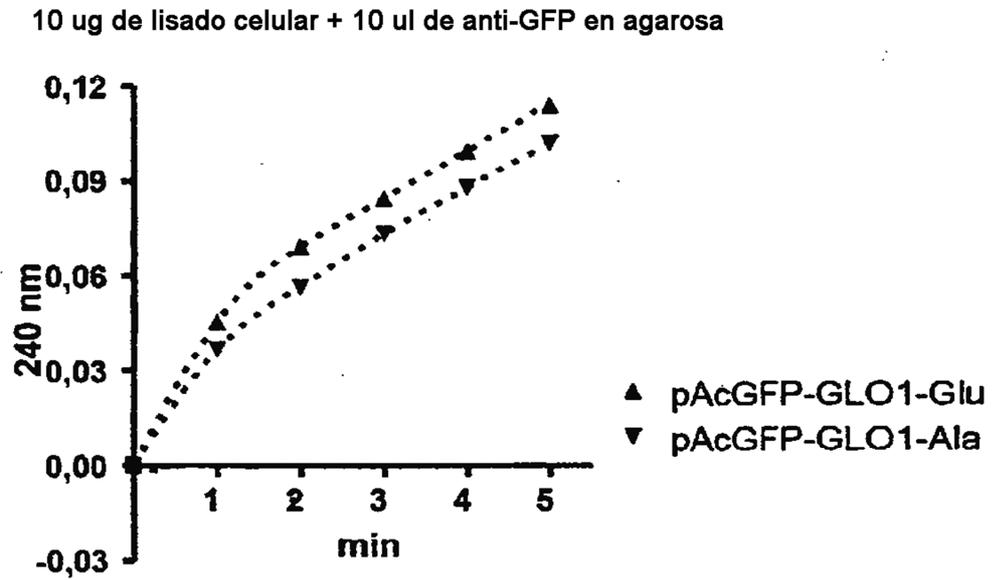


Fig. 11

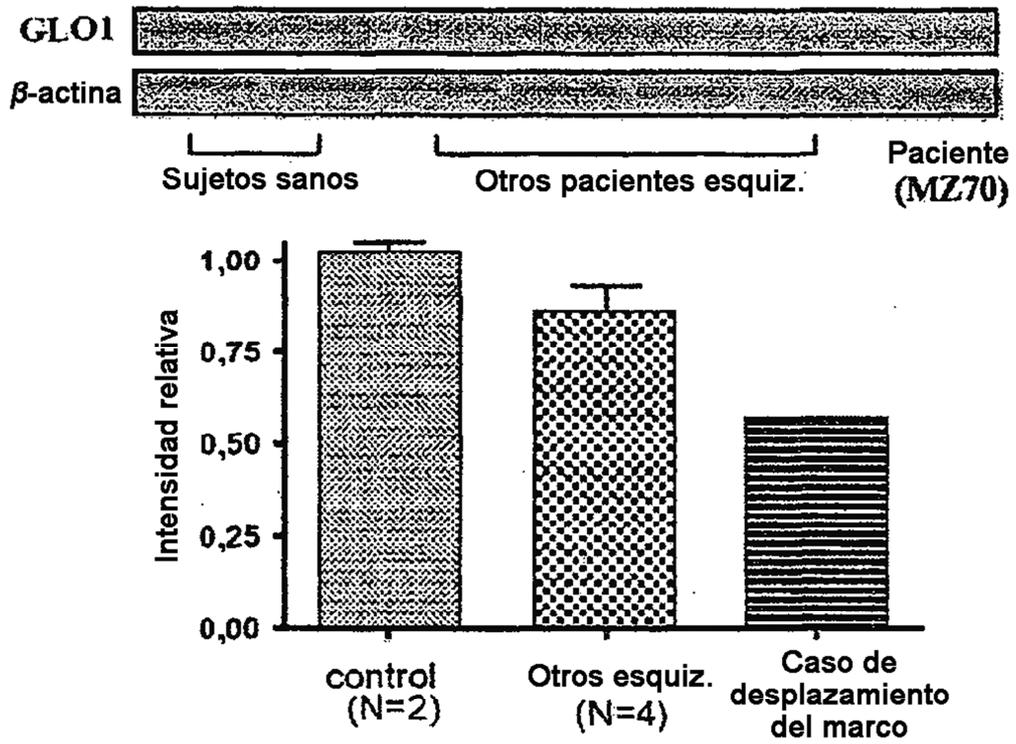




Fig. 13

