(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 797 546**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/404	(2006.01)	***C07D 403/12***	(2006.01)
A61K 31/44	(2006.01)	***A61K 45/06***	(2006.01)
A61K 31/445	(2006.01)	***A61K 31/5377***	(2006.01)
A61K 31/495	(2006.01)	***A61K 31/454***	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01)	***A61K 31/496***	(2006.01)
A61P 17/00	(2006.01)	***A61K 31/4045***	(2006.01)
A61P 17/02	(2006.01)	***A61K 31/551***	(2006.01)
A61P 43/00	(2006.01)	***C07D 209/34***	(2006.01)
C07D 401/12	(2006.01)	***C07D 295/155***	(2006.01)
A61K 31/4178	(2006.01)	***C07D 295/215***	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2005** **E 14190398 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020** **EP 2878297**

(54) Título: **Medicamentos para el tratamiento o la prevención de enfermedades fibróticas**

(30) Prioridad:

24.12.2004 EP 04030770

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.12.2020

(73) Titular/es:

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (100.0%)
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE

(72) Inventor/es:

PARK, JOHN;
HECKEL, ARMIN;
GRAUERT, MATTHIAS;
DAHMANN, GEORG;
BRANDL, TRIXI;
CHAUDHARY, NVEED y
ROTH, GERALD

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 797 546 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

Medicamentos para el tratamiento o la prevención de enfermedades fibróticas

La presente invención se refiere a 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona (compuesto (u)), los tautómeros, los diastereómeros, las mezclas de estos y las sales de estos, particularmente la sal monoetanosulfonato de estos, para uso en la prevención o el tratamiento de fibrosis en artritis reumatoide.

Antecedentes

El compuesto (u) y las indolinonas relacionadas, los tautómeros, los diastereómeros, los enantiómeros, las mezclas de estos y las sales de estos, particularmente las sales fisiológicamente aceptables de estos, han sido descritos en los documentos WO 99/15500, WO 99/62882, WO 00/56710, WO 01/27081, WO 04/13099 y WO2004/017948 por tener valiosas propiedades farmacológicas, en particular un efecto inhibidor sobre diversas quinasas, en especial tirosina quinasas que actúan como receptores, tales como VEGFR2, PDGFRα, PDGFRβ, FGFR1, FGFR3, EGFR, HER2, IGF1R y HGFR, así como complejos de CDKs (Cyclin Dependent Kinases - quinasas dependientes de ciclina), tales como CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 y CDK9 con sus ciclinas específicas (A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G1, G2, H, I y K) y a ciclina viral (véase L. Mengtao en J. Virology 71(3), 1984-1991 (1997)), y sobre la proliferación de células humanas cultivadas, en particular células endoteliales, p. ej. en la angiogénesis, pero también sobre la proliferación de otras células, en particular células tumorales.

Sin embargo, ninguno de estos compuestos ha sido descrito por su uso en el tratamiento o la prevención de las enfermedades fibróticas a las que se alude en la presente invención.

La remodelación es una respuesta normal a la lesión y a la inflamación del tejido que se observa en muchos tejidos por todo el cuerpo. Después de la resolución de la inflamación y de la reparación del daño del tejido, éste vuelve generalmente a su estado original. Una reparación excesiva e incontrolada del tejido o el fracaso en detener la remodelación cuando ya no se requiere conduce a un estado conocido como fibrosis. La fibrosis se caracteriza por depósito excesivo de componentes de la matriz extracelular y crecimiento excesivo de fibroblastos. La fibrosis puede producirse en todos los tejidos, pero especialmente prevalece en órganos con una exposición frequente a ataques químicos y biológicos, incluidos los pulmones, la piel, el tracto digestivo, los riñones y el hígado (Eddy, 1996, J Am Soc Nephrol, 7(12):2495-503; Dacic et al., 2003, Am J Respir Cell Mol Biol, 29S: págs. 5-9; Wynn, 2004, Nat Rev Immunol, 4(8):583-94). A menudo, la fibrosis compromete gravemente la o las funciones normales del órgano y muchas enfermedades fibróticas, de hecho, amenazan la vida o la desfiguran seriamente, tales como fibrosis pulmonar idiopática (FPI), cirrosis hepática, escleroderma, o fibrosis renal. Las opciones de tratamiento para estas enfermedades están a menudo limitadas al trasplante de órganos, un proceso arriesgado y costoso.

Hay abundante literatura científica relacionada con las familias de factores de crecimiento factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF - siglas en inglés), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF - siglas en inglés), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF - siglas en inglés), factor de crecimiento epidermal (EGF - siglas en inglés) y del factor de crecimiento beta transformante (TGFb - siglas en inglés) en la inducción o persistencia de la fibrosis (Levitzki, Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(4):229-35; Strutz et al., Kidney Intl, 2000, 57:1521-38; Strutz et al., 2003, Springer Semin Immunopathol, 24:459-76; Rice et al., 1999, Amer J Pathol, 155(1):213-221; Broekelmann et al., 1991, Proc Nat Acad Sci, 88:6642-6; Wynn, 2004, Nat Rev Immunol, 4(8):583-94).

Miembros de las familias de PDGF, EGF y FGF son potentes mitógenos para las células mesenquimales, tales como células del músculo liso, miofibroblastos y fibroblastos (Benito et al., 1993, Growth Regul 3(3):172-9; Simm et al, 1998, Basic Res Cardiol, 93(S3):40-3; Klagsburn, Prog Growth Factor Res, 1989, 1(4):207-35; Kirkland et al., 1998, J Am Soc Nephrol, 9(8):1464-73), las propias células que suplantan al tejido normal en la fibrosis y que se piensa que juegan un papel en la remodelación del tejido (Abboud, 1995, Annu Rev Physiol., 57:297-309; Jinnin et al., 2004, J Cell Physiol, en línea; Martinet et al., 1996, Arch Toxicol 18:127-39; Desmouliere, Cell Biology International, 1995, 19:471-6; Jelaska et al., Springer Semin Immunopathol, 2000, 21:385-95).

La inhibición de PDGF atenúa tanto la fibrosis hepática como la fibrosis pulmonar en modelos experimentales, sugiriendo que la fibrosis en diferentes órganos puede tener un origen común (Borkham-Kamphorst et al., 2004, Biochem Biophys Res Commun; Rice et al., 1999, Amer J Pathol, 155(1):213-221). En este modelo de fibrosis pulmonar era también activo un inhibidor de la quinasa del receptor de EGF. Una sobre-expresión triple de un miembro de la familia de EGF, HB-EGF, en islotes del páncreas de ratones era suficiente para determinar el desarrollo de la fibrosis tanto en los compartimientos exocrino como endocrino (Means et al., 2003, Gastroenterology, 124(4):1020-36).

De manera similar, ratones deficientes en FGF1/FGF2 muestran una fibrosis hepática drásticamente reducida tras exposición crónica a tetracloruro de carbono (CCl_4) (Yu et al., 2003, Am J Pathol, 163(4):1653-62). La expresión de

FGF se incrementa en la fibrosis intersticial renal humana en donde se correlaciona fuertemente con la cicatrización intersticial (Strutz et al., 2000, Kidney Intl, 57:1521-38), así como en un modelo de fibrosis pulmonar experimental (Barrios et al., 1997, Am J Physiol, 273 (2 Pt 1):L451-8), prestando de nuevo crédito a la idea de que la fibrosis en diversos tejidos tiene una base común.

Además, se han observado niveles elevados de VEGF en varios estudios en personas con asma (Hoshino et al., 2001, J Allergy Clin Immunol 107:1034-39; Hoshino et al. , 2001, J Allergy Clin Immunol 107:295-301; Kanazawa et al. , 2002, Thorax 57:885-8; Asai et al., J Allergy Clin Immunol 110:571-5, 2002; Kanazawa et al., 2004, Am J Respir Crit Care Med, 169:1125-30). La expresión inducible de VEGF en un modelo de ratón transgénico induce un fenotipo similar al asma, edema, angiogénesis e hiperplasia del músculo liso (Lee et al., 2004, Nature Med 10:1095-1103).

Finalmente, el TGFb estimula la producción de proteínas de la matriz extracelular, incluidas fibronectina y colágenos y se piensa que juega un papel importante en la fibrosis en muchos tejidos (Leask et al., 2004, FASEB J 18(7):816-27; Bartram et al., 2004, Chest 125(2):754-65; Strutz et al., 2003, Springer Semin Immunopathol, 24:459-76; Wynn, 2004, Nat Rev Immunol, 4(8):583-94). Inhibidores de la producción de TGFb y vías de señalización son activos en un cierto número de modelos de animales con fibrosis (Wang et al., 2002, Exp Lung Res, 28:405-17; Laping, 2003, Curr Opin Pharmacol, 3(2):204-8).

En resumen, varios factores de crecimiento están suprarregulados en la fibrosis y la inhibición de un solo factor parece reducir la gravedad de la fibrosis en los modelos de fibrosis.

Sumario de la invención

Sorprendentemente, los autores de la invención encontraron que 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona (compuesto (u)) es eficaz para el tratamiento o la prevención de una enfermedad fibrótica específica.

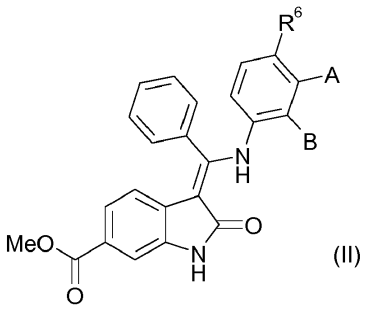
Así, la presente invención se refiere a 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metileno]-6-metoxicarbonil-2-indolinona (compuesto (u)), los tautómeros, los diastereómeros, las mezclas de estos y las sales de estos, particularmente la sal monoetanosulfonato de estos, para uso en la prevención o el tratamiento de fibrosis en artritis reumatoide.

La presente invención se refiere además al compuesto (u) o su sal monoetanosulfonato para el uso mencionado anteriormente en combinación con otra sustancia farmacológicamente activa seleccionada del grupo que consiste en agentes anticolinérgicos, miméticos beta-2, esteroides, inhibidores de PDE-IV, inhibidores de quinasa p38 MAP, antagonistas de NK1, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR y antagonistas de endotelina.

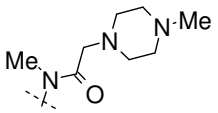
Descripción detallada de la invención

El compuesto anterior (u), sus tautómeros, sus estereoisómeros o las sales fisiológicamente aceptables de estos, así como su procedimiento de producción han sido descritos en el documento WO 01/27081.

El siguiente compuesto de fórmula II se prepara de forma análoga a los compuestos descritos en el documento WO 01/27081:



(II)

Ejemplo	A	B	R^6	Fórmula	Espectro de masas	punto de fusión [°C]	Valor de R_f*
(u)	-H	-H		$C_{31}H_{33}N_5O_4$	540 $[M+H]^+$	250-252	0,60 (B)

Los tautómeros, estereoisómeros o sales fisiológicamente aceptables del compuesto (u) también se contemplan para uso dentro del alcance de la presente invención, y pueden obtenerse usando los métodos descritos en el documento WO 01/27081.

Un compuesto particularmente preferido para uso según la invención es la sal monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona (compuesto (u)), descrito por ejemplo en el documento WO 04/13099.

El compuesto (u), sus tautómeros, sus estereoisómeros o sus sales fisiológicamente aceptables son adecuados para la prevención o el tratamiento de la fibrosis en la artritis reumatoide.

Actividad biológica

Los siguientes resultados experimentales ilustran la presente invención sin representar una limitación de su alcance.

Ejemplo de referencia B1:

En los siguientes experimentos del ejemplo de referencia B1, el ejemplo de referencia A designa al compuesto 3-Z-[1-(4-(N-dimetilaminometilcarbonil-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-meti-leno]-6-metoxicarbonil-2-indolinona, que se designa adicionalmente como compuesto (m) y se utiliza aquí sólo para fines comparativos.

(A) Efecto sobre la morfolgía de los pulmones después de fibrosis pulmonar inducida por bleomicina.

Materiales y Métodos

Sulfato de bleomicina (Bleomicina HEXAL®) se adquirió de una farmacia local.

Administración de bleomicina y protocolos de tratamiento

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las directrices de Alemania para el bienestar de los animales, realizados por personas con certificación para trabajar con animales y aprobados por las autoridades responsables. A ratas Wistar machos se las inyectó por vía intratraqueal sulfato de bleomicina (10 U/kg de peso corporal en 300 µl de solución salina) o solución salina sola (control de solución salina) utilizando un catéter (0,5 mm de diámetro interno, 1,0 mm de diámetro externo) a través del pasaje nasal, después de la exposición a isofluorano anestésico durante 5 minutos. Al día siguiente, las ratas fueron tratadas por vía oral con ejemplo de referencia A (compuesto (m)) o solución salina suspendida en 1 ml de natrosol al 0,1%. A las ratas control se las administró 1 ml de natrosol al 0,1% (control vehículo).

Se investigó a un total de 25 ratas y se las agrupó y trató como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1

Instilación intratraqueal	Nº de animales	Compuesto	Programa de Tratamiento
Bleomicina 10 U/kg	10	Ejemplo de referencia A (Compuesto (m))	Días 1-21
Bleomicina 10 U/kg	10	Vehículo sólo	Días 1-21
Solución salina (300 µl)	5	Vehículo sólo	Días 1-21

21 días después de la instilación de bleomicina, se sacrificó a las ratas con una inyección letal intraperitoneal de Narcoren® (pentobarbital sódico, Rhone Merieux). Luego se retiraron los pulmones, se secaron con papel secante y la mitad se congeló instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenó a -80°C. La otra mitad se fijó en formalina al 4% para el subsiguiente embebido en parafina y la histología.

Histología

Los tejidos de los pulmones fijados en formalina al 4% se embebieron en parafina y se cortaron secciones de 5 µm utilizando un microtomo (Leica SM200R) y se dispusieron en rodajas revestidas con poli-L-lisina. Las secciones se secaron luego sobre las rodajas (60°C 2 horas) y después se dejaron enfriar a temperatura ambiente. La deposición de colágeno se confirmó utilizando la tinción tricromática de Masson.

Resultados

La figura 1A muestra el resultado obtenido con el grupo control, que recibió solución salina y el vehículo en lugar de bleomicina por vía intratraqueal.

Ratas tratadas por vía intratraqueal con bleomicina y el vehículo desarrollaron una fibrosis de los pulmones grave, según se puede ver en la figura 1B. Los alveolos han sido ampliamente reemplazados por fibroblastos y la matriz extracelular y la estructura de los pulmones normales están casi destruidas.

El tratamiento diario de ratas tratadas con bleomicina con 50 mg/kg de ejemplo de referencia A (compuesto (m)) mostró una inversión consistente y casi completa de la fibrosis de los pulmones en este modelo. Un ejemplo típico se muestra en la figura 1C. Los alveolos están intactos y se ha producido una pequeña infiltración de fibroblastos o una deposición de la matriz extracelular, o no se ha producido ninguna. Se ha conservado la estructura normal de los pulmones, lo cual se evidencia por una comparación de la figura 1C con la figura 1A.

(B) Efecto sobre la expresión de genes marcadores fibróticos tras fibrosis pulmonar inducida por bleomicina.

Extracciones de ARNm y síntesis de ADNc

Una parte del tejido de los pulmones congelado dedicado a la investigación de la expresión de los genes se cortó en trozos pequeños utilizando una cuchilla de escalpelo estéril. Aproximadamente 100 mg de tejido se dispusieron luego en un tubo Eppendorf de 2 ml y se añadieron 1,5 ml de Trizol (Invitrogen). Después se añadió al tubo una perla de carburo de wolframio estéril (Qiagen) y el tubo se colocó en un interruptor de tejidos Retsch MM300 (Qiagen) a una frecuencia de 30,0 Hz durante 8 minutos. Después de este tiempo, la perla se retiró y la muestra se centrifugó a 12000 rpm durante 10 minutos para separar los desechos del tejido. El ARN se extrajo utilizando una versión modificada del protocolo del fabricante suministrado con Trizol. En síntesis, 0,3 ml de cloroformo se añadieron al tubo y el tubo se sacudió vigorosamente y luego se dejó incubar a la temperatura ambiente durante 5 minutos, después de lo cual el tubo se centrifugó durante 15 minutos a 12000 rpm a 4°C. La fase acuosa incolora superior se recogió después y se añadió a 750 µl de isopropanol. Esto se sacudió luego vigorosamente y se almacenó a -80°C durante una noche. Las muestras se incubaron luego a la temperatura ambiente durante 15 minutos, después de lo cual se centrifugaron durante 40 minutos a 12000 rpm a 4°C. Luego se separó el material sobrenadante y se añadieron 500 µl de etanol al 70% para lavar el sedimento y la muestra se centrifugó después durante 10 minutos a 12000 rpm a 4°C, esta etapa de lavado se repitió dos veces, después de lo cual el sedimento se dejó reposar durante 10 – 15 minutos. Finalmente, el sedimento se resuspendió en 20 µl de agua exenta de RNasa y se almacenó a -80°C. Luego se midió la concentración de cada muestra utilizando un espectrofotómetro.

Utilizando el kit de síntesis de la primera cadena mediante TI Superscript® III (Invitrogen, Paisley, GB), 2 µg de cada muestra de ARNm se transcribió de forma inversa utilizando una versión modificada del protocolo del fabricante. En síntesis, una mezcla de 2 µg de ARN, 1 µl de cebadores hexámeros aleatorios (50 ng/µl), 1 µl de mezcla de dNTP (10 mM) se constituyó hasta 10 µl con agua tratada con DEPC y se incubó a 65°C durante 5 minutos, después de lo cual se colocó sobre hielo durante 5 minutos. Después de esto, para alcanzar la reacción, se añadieron 2 µl de tampón TI (10X), 4 µl de $MgCl_2$ (25 mM), 2 µl de DTT (0,1 M), 1 µl de RNaseOUT® (40 U/µl) y 1 µl de enzima SuperScript® III (200 U/µl) y la mezcla se colocó en un ciclador térmico (Applied Biosystems) bajo las condiciones siguientes: 25°C durante 10 minutos, 50°C durante 50 minutos y 85°C durante 5 minutos, después de lo cual se añadió 1 µl de RNasa H y se incubó a 37°C durante 20 minutos. El ADNc sintetizado se diluyó hasta 5 ng/µl asumiendo que la reacción de TI transcribía por completo todo el ARNm en ADNc y que existía una concentración de 100 ng/µl.

Investigación de la expresión génica utilizando la PCR en tiempo real

La expresión de los genes se investigó en cada una de las muestras utilizando el sistema de detección de la secuencia Applied Biosystems 7700. Los cebadores para el control endógeno 18S y TGFb1 se adquirieron en forma de kits de ensayo pre-desarrollados, mientras que los cebadores y las sondas (véase la Tabla 2 que figura más abajo) para pro-colágeno I y fibronectina se diseñaron utilizando PrimerExpress® (Applied Biosystems), asegurándose que al menos uno de los cebadores o sondas en cada conjunto solapara una unión intrón / exón, eliminando así la posibilidad de amplificar cualquier ADN genómico contaminante en la muestra de ADNc. Los PDARs adquiridos también amplificaban sólo ADNc.

Tabla 2

Diana		Secuencia
Fibronectina	Directa	5'-GAT GCC GAT CAG AAG TTT GGA-3'
	Inversa	5'-TCG TTG GTC GTG CAG ATC TC-3'
	Sonda	5'-FAM-CTG CCC AAT GGC TGC CCA TGA-TAMRA-3'
Pro-colágeno I	Directa	5'-CAG ACT GGC AAC CTG AAG AAG TC-3'
	Inversa	5'-TCG CCC CTG AGC TCG AT-3'
	Sonda	5'-FAM-CTG CTC CTC CAG GGC TCC AAC GA-TAMRA3'

Se llevó a cabo una PCR en tiempo real en reacciones de 25 µl, utilizando 25 ng (5 µl) de ADNc por reacción. Se adquirió un kit de núcleo de PCR cuantitativa (Eurogentec) y se formó una mezcla de origen como sigue para 100 reacciones: 500 µl de tampón de reacción 10X, 500 µl de $MgCl_2$ (50 mM), 200 µl de una solución de mezcla de dNTP (5 mM), 25 µl de enzima Hot Goldstar, 75 µl de 18S PDAR, 22,5 µl de cebador directo, 22,5 µl de cebador inverso, 15 µl de sonda y 640 µl de agua tratada con DEPC. 20 µl de esta mezcla de origen se añadieron luego a 25 ng (5 µl) de ADNc diana. Cada análisis se llevó a cabo por triplicado.

Con el fin de cuantificar la expresión de los genes, se construyó una curva estándar para cada conjunto de cebadores y se incluyó en cada placa. Los patrones se constituyeron de una mezcla de todos los ADNcs bajo investigación; esta mezcla de ADNcs se diluyó en serie 10, 20, 50, 100, 100 veces. Se construyó una curva patrón del C_U (Ciclo al que la amplificación alcanza un Umbral establecido) frente al LOG_{10} del factor de dilución. Las curvas se trazaron para el gen diana y el control de ARNr de 18S endógeno. El valor C_U para las dos dianas para cada una de las muestras se convirtió luego en una dilución múltiple utilizando la curva patrón y el valor del gen diana se normalizó en el valor del gen 18S.

Estadística

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software GraphPad Prism V 4.02. Las comparaciones se realizaron utilizando un ensayo T no-paramétrico (ensayo U de Mann-Whitney) y se consideró que un valor significativo era $p \leq 0,05$.

Resultados

Los resultados se muestran en las figuras 2 (procolágeno I) y 3 (fibronectina). Cada uno de los puntos de datos representa el ARN aislado de los pulmones de una sola rata.

La administración por vía intratraqueal de bleomicina y el subsiguiente tratamiento con vehículo solo mostró grandes incrementos en la expresión de los genes procolágeno I y fibronectina en los pulmones, según se observa en las figuras 2 y 3, consistente con la fibrosis de los pulmones histológicamente aparente observada en la figura 1B.

El tratamiento diario de ratas tratadas con bleomicina con 50 mg/kg de ejemplo de referencia A (compuesto (m)) mostró una inhibición significativa ($p < 0,0001$) de la expresión de genes marcadores fibróticos en este modelo, según se observa en las figuras 2 y 3.

Así, este experimento demuestra que la expresión de marcadores fibróticos y, por lo tanto, la deposición de la matriz extracelular, puede ser drásticamente reducida mediante tratamiento con ejemplo de referencia A (compuesto (m)).

Ejemplo B2:

En los siguientes experimentos del Ejemplo B2, se utilizó el compuesto 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metileno]-6-metoxicarbonil-2-indolinona, que es el compuesto (u).

Todos los métodos empleados son los mismos que los métodos descritos en los experimentos del ejemplo de referencia B1, pero utilizando el compuesto (u) en lugar del compuesto (m).

(A) Efecto sobre la morfolgía de los pulmones después de fibrosis pulmonar inducida por bleomicina.

Las muestras se prepararon a partir de ratas tratadas según se esboza en la anterior Tabla 1 del ejemplo de referencia B1 (A) experimental.

Resultados

La figura 4A muestra el resultado obtenido con el grupo control, que recibió solución salina y el vehículo en lugar de bleomicina por vía intratraqueal.

Ratas tratadas por vía intratraqueal con bleomicina y el vehículo desarrollaron una fibrosis de los pulmones grave, según se puede ver en la figura 4B. Los alveolos han sido ampliamente reemplazados por fibroblastos y la matriz extracelular y la estructura de los pulmones normales están casi destruidas.

El tratamiento diario de ratas tratadas con bleomicina con 50 mg/kg de compuesto (u) mostró una inversión consistente y casi completa de la fibrosis de los pulmones en este modelo. Un ejemplo típico se muestra en la figura 4C. Los alveolos están intactos y se ha producido una pequeña infiltración de fibroblastos o una deposición de la matriz extracelular, o no se ha producido ninguna. Se ha conservado la estructura normal de los pulmones, lo cual se evidencia por una comparación de la figura 4C con la figura 4A.

(B) Efecto sobre la expresión de genes marcadores fibróticos tras fibrosis pulmonar inducida por bleomicina.

El experimento se llevó a cabo utilizando los métodos según se esboza antes para el ejemplo de referencia B1 (B).

Los resultados se muestran en la figura 5 (procolágeno I) y la figura 6 (TGFb). Cada uno de los puntos de datos representa el ARN aislado de los pulmones de una sola rata.

La administración por vía intratraqueal de bleomicina y el subsiguiente tratamiento con vehículo solo mostró grandes incrementos en la expresión de los genes procolágeno I y TGFb en los pulmones, según se observa en las figuras 5 y 6, consistente con la fibrosis de los pulmones histológicamente aparente observada en la figura 1B.

El tratamiento diario de ratas tratadas con bleomicina con 50 mg/kg de compuesto (u) mostró una inhibición significativa ($p \leq 0{,}0001$) de la expresión de genes marcadores fibróticos en este modelo, según se observa en las figuras 5 y 6.

Este experimento demuestra también que la expresión de marcadores fibróticos y, por lo tanto, la deposición de matriz extracelular, puede ser drásticamente reducida mediante tratamiento con el compuesto (u).

Debido a sus propiedades biológicas, el compuesto (u) puede utilizarse en monoterapia o en combinación con otros compuestos farmacológicamente activos. Compuestos farmacológicamenmte activos de este tipo pueden ser compuestos que son, por ejemplo, también farmacológicamente activos en el tratamiento de la fibrosis. Compuestos farmacológicamente activos de este tipo también pueden ser sustancias con una actividad secretolítica, bronquiolítica y/o antiinflamatoria.

En una realización preferida de acuerdo con la presente invención, compuestos farmacológicamente activos de este tipo se seleccionan, preferiblemente, del grupo que consiste en agentes anticolinérgicos, beta-2 miméticos, esteroides, inhibidores de PDE-IV, inhibidores de MAP quinasa p38, antagonistas de NK_1, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR y antagonistas de endotelina.

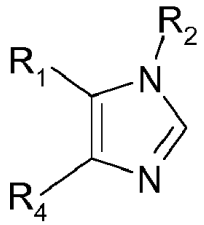
Los agentes anticolinérgicos pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en las sales de tiotropio, sales de oxitropio, sales de flutropio, sales de ipratropio, sales de glicopirronio y sales de trospio.

Los miméticos beta-2 pueden seleccionarse preferiblemente de los miméticos beta-2 descritos, por ejemplo, en el documento US 4.460.581.

Los inhibidores de PDE-IV pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en enprofilina, teofilina, roflumilast, ariflo (cilomilast), CP-325,366, BY343, D-4396 (Sch-351591), AWD-12-281 (GW-842470), N- (3,5-dicloro-1-oxo-piridin-4-il)-4-difluorometoxi-3-ciclopropilmetoxibenzamida, NCS-613, pumafentina, (-)p-[(4aR*,10bS*)-9- etoxi-1,2,3,4,4a,10b-hexahidro-8-metoxi-2-metilbenzo[s][1,6]naftiridin-6-il]-N,N-diisopropilbenzamida, (R)-(+)-1-(4-bromo-bencil)-4-[(3-ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-2-pirrolidona, 3-(ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-1-(4-N'-[N-2-ciano-S-metil-iso-tioureido]bencil)-2-pirrolidona, ácido cis [4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)ciclohexano-1-carbónico], 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexano-1-ona, cis[4-ciano-4-(3-ciclopropil-metoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ol], [4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)pirrolidin-2-iliden]acetato de (R)-(+)-etilo, [4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)pirrolidin-2-iliden]acetato de (S)-(-)-etilo, CDP840, Bay-198004, D-4418, PD-168787, T-440, T-2585, arofilina, atizoram, V-11294A, Cl-1018, CDC-801, CDC-3052, D-22888, YM-58997, Z-15370, 9-ciclopentil-5,6-dihidro-7-etil-3-(2-tienil)-9H-pirazolo[3,4-c] -1,2,4-triazolo [4,3-a] piridina y 9-ciclopentil-5,6-dihidro-7-etil-3-(terc-butil)-9H-pirazolo[3,4-c]-1,2,4-triazolo[4,3-a]piridina. Estos compuestos se pueden usar, según estén disponibles, en forma de sus racematos, enantiómeros o diastereoisómeros, o en forma de sales de adición de ácido faramacológicamente aceptables de los mismos, o en forma de sus solvatos y/o hidratos.

Los esteroides pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en prednisolona, prednisona, butixocortpropionato, RPR-106541, flunisolida, beclometasona, triamcinolona, budesonida, fluticasona, mometasona, ciclesonida, rofleponida, ST-126, dexametasona, (S)-fluorometiléster de ácido 6α,9α-difluoro-17α- [(2-furanilcarbonil)oxi]-11β-hidroxi-16α-metil-3-oxo-androsta-1,4-dien-17β-carbotiónico, y (S)-(2-oxo-tetrahidro-furan-3S-il) éster de ácido 6α, 9α-difluoro-11β-hidroxi-16α-metil-3-oxo-17α-propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17β-carbotiónico. Estos compuestos se pueden usar, según estén disponibles, en forma de sus racematos, enantiómeros o diastereoisómeros, o en forma de sales de adición de ácido faramacológicamente aceptables de los mismos, o en forma de sus solvatos y/o hidratos. Los inhibidores de la p38 MAP quinasa pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en los inhibidores de la p38 quinasa que se describen, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. 5,716,972, US 5,686,455, US 5,656,644, US 5,593,992, US 5,593,991, US 5,663,334, US 5,670,527, US 5,559,137, 5,658,903, US 5,739,143, US 5,756,499, US 6,277,989, US 6,340,685, y US 5,716,955 y PCT applications WO 92/12154, WO 94/19350, WO 95/09853, WO 95/09851, WO 95/09847, WO 95/09852, WO 97/25048, WO 97/25047, WO 97/33883, WO 97/35856, WO 97/35855, WO 97/36587, WO 97/47618, WO 97/16442, WO 97/16441, WO 97/12876, WO 98/25619, WO 98/06715, WO 98/07425, WO 98/28292, WO 98/56377, WO 98/07966, WO 98/56377,

WO 98/22109, WO 98/24782, WO 98/24780, WO 98/22457, WO 98/52558, WO 98/52559, WO 98/52941, WO 98/52937, WO 98/52940, WO 98/56788, WO 98/27098, WO 98/47892, WO 98/47899, WO 98/50356, WO 98/32733, WO 99/58523, WO 99/01452, WO 99/01131, WO 99/01130, WO 99/01136, WO 99/17776, WO 99/32121, WO 99/58502, WO 99/58523, WO 99/57101, WO 99/61426, WO 99/59960, WO 99/59959, WO 99/00357, WO 99/03837, WO 99/01441, WO 99/01449, WO 99/03484, WO 99/15164, WO 99/32110, WO 99/32111, WO 99/32463, WO 99/64400, WO 99/43680, WO 99/17204, WO 99/25717, WO 99/50238, WO 99/61437, WO 99/61440, WO 00/26209, WO 00/18738, WO 00/17175, WO 00/20402, WO 00/01688, WO 00/07980, WO 00/07991, WO 00/06563, WO 00/12074, WO 00/12497, WO 00/31072, WO 00/31063, WO 00/23072, WO 00/31065, WO 00/35911, WO 00/39116, WO 00/43384, WO 00/41698, WO 00/69848, WO 00/26209, WO 00/63204, WO 00/07985, WO 00/59904, WO 00/71535, WO 00/10563, WO 00/25791, WO 00/55152, WO 00/55139, WO 00/17204, WO 00/36096, WO 00/55120, WO 00/55153, WO 00/56738, WO 01/21591, WO 01/29041, WO 01/29042, WO 01/62731, WO 01/05744, WO 01/05745, WO 01/05746, WO 01/05749, WO 01/05751, WO 01/27315, WO 01/42189, WO 01/00208, WO 01/42241, WO 01/34605, WO 01/47897, WO 01/64676, WO 01/37837, WO 01/38312, WO 01/38313, WO 01/36403, WO 01/38314, WO 01/47921, WO 01/27089, DE 19842833, y JP 2000 86657. De particular interés para las combinaciones según la invención son los inhibidores de p38 descritos en US 6,277,989, US 6,340,685, WO 00/12074, WO 00/12497, WO 00/59904, WO 00/71535, WO 01/64676, WO 99/61426, WO 00/10563, WO 00/25791, WO 01/37837, WO 01/38312, WO 01/38313, WO 01/38314, WO 01/47921, WO 99/61437, WO 99/61440, WO 00/17175, WO 00/17204, WO 00/36096, WO 98/27098, WO 99/00357, WO 99/58502, WO 99/64400, WO 99/01131, WO 00/43384, WO 00/55152, WO 00/55139, y WO 01/36403. En una realización preferida, el inhibidor de la quinasa p38 se selecciona de los compuestos de la siguiente fórmula (I) como se describe en WO 99/01131



(I),

en donde

R_1 es 4-piridilo, pirimidinilo, 4-piridazinilo, 1,2,4-triazin-5-ilo, quinolilo, isoquinolinilo o quinazolin-4-ilo, cuyo anillo está sustituido con Y-R_a y opcionalmente con un sustituyente independiente adicional seleccionado de alquilo C_{1-4}, halógeno, hidroxi, alcoxi C_{1-4}, alquiltio C_{1-4}, alquilsulfinilo C_{1-4}, CH_2OR_{12}, amino, amino mono y di-sustituido con alquilo C_{1-6}, un anillo N-heterocíclico cuyo anillo tiene de 5 a 7 miembros y opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de oxígeno, azufre o NR_{15}, $N(R_{10})C(O)R_b$ o NHR_a;

Y es oxígeno o azufre;

R_4 es fenilo, naft-1-ilo o naftilo, o un heteroarilo, que está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes, cada uno de los cuales se selecciona independientemente, y que, para un 4-fenilo, 4-naft-1-ilo, 5-naft-2-ilo o 6-naft-2-ilo el sustituyente es halógeno, ciano, nitro,$C(Z)NR_7R_{17}$, $C(Z)OR_{16}$, $(CR_{10}R_{20})_vCOR_{12}$, SR_5, SOR_5, OR_{12}, alquilo C_{1-4} sustituido con halógeno, alquilo C_{1-4}, $ZC(Z)R_{12}$, $NR_{10}C(Z)R_{16}$, o $(CR_{10}R_{20})_vNR_{10}R_{20}$ y que, para otras posiciones de sustitución, es halógeno, ciano, $C(Z)NR_{13}R_{14}$, $C(Z)OR_3$, $(CR_{10}R_{20})_{m''}COR_3$, $S(O)_mR_3$, OR_3, alquilo C_{1-4} sustituido con halógeno, alquilo C_{1-4}, $(CR_{10}R_{20})_{m''}R_{10}C(Z)R_3$, $NR_{10}S(O)_{m'}R_8$, $NR_{10}S(O)_{m'}NR_7R_{17}$, $ZC(Z)R_3$ o $(CR_{10}R_{20})_{m''}NR_{13}R_{14}$;

Z es oxígeno o azufre;

n es un número entero que tiene un valor de 1 a 10;

m es 0, o el número entero 1 o 2;

m' es un número entero que tiene un valor de 1 o 2;

m" es 0, o un número entero que tiene un valor de 1 a 5;

v es 0, o un número entero que tiene un valor de 1 a 2;

R_2 es -C(H) (A) (R_{22});

A es un anillo de arilo, heterociclilo o heteroarilo opcionalmente sustituido, o A es alquilo C_{1-10} sustituido; R_{22} es un alquio C_{1-10} opcionalmente sustituido;

R_a es arilo, aril-alquilo C_{1-6}, heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-6}, heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-6}, en donde cada uno de estos restos puede estar opcionalmente sustituido;

R_b es hidrógeno, alquilo C_{1-6}, cicloalquilo C_{3-7}, arilo, aril-alquilo C_{1-4}, heteroarilo, heteroaril-alquilo alquilo C_{1-4}, heterociclilo, o heterociclil-alquilo C_{1-4}, en donde cada uno de estos restos puede estar opcionalmente sustituido;

R_3 es heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-10} o R_8;

R_5 es hidrógeno, alquilo C_{1-4}, alquenilo C_{2-4}, alquinilo C_{2-4} o NR_7R_{17}, excluidos los restos SR_5 being SNR_7R_{17} y SOR_5 being SOH;

R_6 es hidrógeno, un catión farmacéuticamente aceptable, alquilo C_{1-10}, cicloalquilo C_{3-7}, arilo, aril-alquilo C_{1-4}, heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-4}, heterociclilo, arilo, o alcanoílo C_{1-10}; cada uno de R_7 y R_{17} se selecciona independientemente de hidrógeno o alquilo C_{1-4} o R_7 y R_{17} junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros cuyo anillo opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de oxígeno, azufre o NR_{15};

R_8 es alquilo C_{1-10}, alquilo C_{1-10} sustituido con halógeno, alquenilo C_{2-10}, alquinilo C_{2-10}, cicloalquilo C_{3-7}, cicloalquenilo C_{5-7}, arilo, aril-alquilo C_{1-10}, heteroarilo, heteroaril-alquilo C_{1-10}, $(CR_{10}R_{20})_nOR_{11}$, $(CR_{10}R_{20})_nS(O)_mR_{18}$, $(CR_{10}R_{20})_nNHS(O)_2R_{18}$, $(CR_{10}R_{20})_nNR_{13}R_{14}$; en donde el arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo puede estar opcionalmente sustituido;

R_9 es hidrógeno, C(Z) R_{11} o alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido, $S(O)_2R_{18}$, arilo opcionalmente sustituido o aril opcionalmente sustituido-alquilo C_{1-4};

cada uno de R_{10} y R_{20} se selecciona independientemente de hidrógeno o alquilo C_{1-4};

R_{11} es hidrógeno, alquilo C_{1-10}, cicloalquilo C_{3-7}, heterociclilo, heterociclil alquilo C_{1-10}, arilo, aril-alquiloC_{1-10}, heteroarilo o heteroaril-alquilo C_{1-10}, en donde estos restos pueden estar opcionalmente sustituidos;

R_{12} es hidrógeno o R_{16};

cada uno de R_{13} y R_{14} se selecciona independientemente de hidrógeno o alquilo C_{1-4} opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o aril opcionalmente sustituido-alquilo C_{1-4}, o junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 5 a 7 miembros cuyo anillo opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de oxígeno, azufre o NR_9;

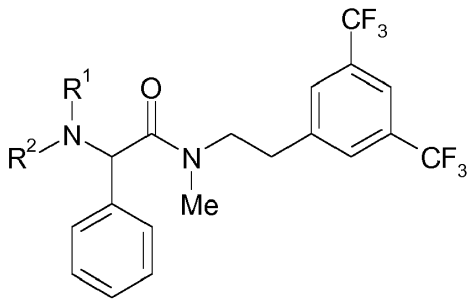
R_{15} es R_{10} o C(Z)-alquilo C_{1-4};

R_{16} es alquilo C_{1-4}, alquilo C_{1-4} sustituido con halógeno, o cicloalquilo C_{3-7};

R_{18} es alquilo C_{1-10}, cicloalquilo C_{3-7}, heterociclilo, arilo, aril-alquilo C_{1-10}, heterociclilo, heterociclil-alquilo C_{1-10}, heteroarilo o heteroaril-alquilo C_{1-10};

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

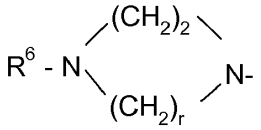
Los antagonistas de NK_1 pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en N-[2-(3,5-bis-trifluorometil-fenil)-etil]-2-{4-ciclopropilmetil-piperazin-1-il}-N-metil-2-fenil-acetamida (BIIF 1149), CP-122721, FK-888, NKP 608C, NKP 608A, CGP 60829, SR 48968 (Saredutant), SR 140333 (besilato/cloruro de nolpitantio), LY 303 870 (Lanepitant), MEN-11420 (Nepadutant), SB 223412, MDL-105172A, MDL-103896, MEN-11149, MEN-11467, DNK 333A, SR-144190, YM-49244, YM-44778, ZM-274773, MEN-10930, S-19752, Neuronorm, YM-35375, DA-5018, Aprepitant (MK-869), L-754030, CJ-11974, L-758298, DNK-33A, 6b-I, CJ-11974, TAK-637, GR 205171 y los derivados de arilglicina amida de fórmula general **(VIII)**

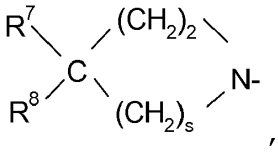


(**VIII**)

en donde

R^1 y R^2 junto con el átomo de N al que están unidos forman un anillo de fórmula





o

en donde r y s independientemente representan el número 2 o 3;

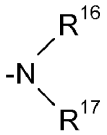
R^6 representa H, -alquilo C_1-C_5, alquenilo C_3-C_5, propinilo, hidroxi-alquilo(C_2-C_4), metoxi-alquilo(C_2-C_4), di-alquil(C_1-C_3)amino-alquilo(C_2-C_4), amino-alquilo(C_2-C_4), amino, di-alquil(C_1-C_3)amino, monofluoro- hasta perfluoro-alquilo(C_1-C_2), N-metilpiperidinilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo o piridazinilo,

R^7 representa cualquiera de los grupos definidos en los apartados (a) a (d):

(a) hidroxi

(b) 4-piperidinopiperidilo,

(c)



en donde R^{16} y R^{17} independientmente rperesentan H, alquilo(C_1-C_4), cicloalquilo(C_3-C_6), hidroxi-alquilo(C_2-C_4), dihidroxi-alquilo(C_2-C_4), alcoxi(C_1-C_3)-alquilo(C_2-C_4), fenil-alquilo(C_1-C_4) o di-alquil(C_1-C_3)amino-alquilo(C_2-C_4), y

R^8 representa H,

opcionalmente en forma de enantiómeros, mezclas de enantiómeros, o racematos.

Los compuestos de fórmula (VIII) mencionados anteriormente se describen en WO 96/32386, WO 97/32865 y WO 02/32865.

Los antagonistas de LTD4 pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en montelukast, 1-(((R)-(3-(2-(6,7-difluoro-2-quinolinil)etenil)fenil)-3-(2-(2-hidroxi-2-propil)fenil)tio)metilciclopropano-acetato, 1-(((1(R)-3(3-(2-(2,3-diclorotieno[3,2-b]piridin-5-il))-(E)-etenil)fenil)-3-(2-(1-hidroxi-1-metiletil)fenil)propil)tio)metil)ciclopropano-acetato, pranlukast, zafirlukast, [2-[[2-(4-terc-butil-2-tiazolil)-5-benzofuranil]oximetil]fenil]acetato, MCC-847 (ZD-3523), MN-001, MEN-91507 (LM-1507), VUF-5078, VUF-K-8707 y L-733321. Estos compuestos se pueden usar, según estén disponibles, en forma de sus racematos, enantiómeros o diastereoisómeros, o en forma de sales de adición de ácido faramacológicamente aceptables de los mismos, o en forma de sus solvatos y/o hidratos.

Los inhibidores de EGFR pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)-amino]-6-{[4-(N,N-dietilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(R)-(1-fenil-etil)amino]-6-{[4-(morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopentiloxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{ [4-((R)-6-metil-2-oxo-morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{[4-((R)-6-metil-2-oxo-morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-[(S)-(tetrahidrofuran-3-il)oxi]-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{[4-((*R*)-2-metoximetil-6-oxo-morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[2-((*S*)-6-metil-2-oxo-morfolin-4-il)-etoxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-({4-[N-(2-metoxi-etil)-N-metil-amino]-1-oxo-2-buten-1-il}amino)-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopentiloxi-quinazolina, 4-[(*R*)-(1-fenil-

etil)amino]-6-{[4-(N,N-bis-(2-metoxi-etil)-amino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(*R*)-(1-fenil-etil)amino]-6-({4-[N-(2-metoxi-etil)-N-etil-amino]-1-oxo-2-buten-1-il}amino)-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(*R*)-(1-fenil-etil)amino]-6-({4-[N-(2-metoxi-etil)-N-metil-amino]-1-oxo-2-buten-1-il}amino)-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(*R*)-(1-fenil-etil)amino]-6-({4-[N-(tetrahidropiran-4-il)-N-metil-amino]-1-oxo-2-buten-1-il}amino)-7-ciclopropilmetoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-((*R*)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-((*S*)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-({4-[N-(2-metoxi-etil)-N-metil-amino]-1-oxo-2-buten-1-il}amino)-7-ciclopentiloxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N-ciclopropil-N-metil-amino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-ciclopentiloxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-[(*R*)-(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-[(*S*)-(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6,7-bis-(2-metoxi-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-7-[3-(morfolin-4-il)-propiloxi]-6-[(vinilcarbonil)amino]-quinazolina, 4-[(*R*)-(1-fenil-etil)amino]-6-(4-hidroxi-fenil)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina, 3-ciano-4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-etoxi-quinolina, 4-{[3-clor-4-(3-fluor-benciloxi)-fenil]amino}-6-(5-{[(2-metansulfonil-etil)amino]metil}-furan-2-il)quinazolina, 4-[(R)-(1-fenil-etil)amino]-6-{[4-((R)-6-metil-2-oxo-morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-{[4-(morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-7-[(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluorfenil)amino]-6-({4-[N,N-bis-(2-metoxi-etil)-amino]-1-oxo-2-buten-1-il}amino)-7-[(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6-{[4-(5,5-dimetil-2-oxo-morfolin-4-il)-1-oxo-2-buten-1-il]amino}-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[2-(2,2-dimetil-6-oxo-morfolin-4-il)-etoxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[2-(2,2-dimetil-6-oxo-morfolin-4-il)-etoxi]-7-[(R)-(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-7-[2-(2,2-dimetil-6-oxo-morfolin-4-il)-etoxi]-6-[(S)-(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{2-[4-(2-oxo-morfolin-4-il)-piperidin-1-il]-etoxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[1-(tert.-butiloxicarbonil)-piperidin-4-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(trans-4-amino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(trans-4-metansulfonilamino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(tetrahidropiran-3-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-metil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(morfolin-4-il)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(metoximetil)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(piperidin-3-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[1-(2-acetilamino-etil)-piperidin-4-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(tetrahidropiran-4-iloxi)-7-etoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-7-hidroxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(tetrahidropiran-4-iloxi)-7-(2-metoxi-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{trans-4-[(dimetilamino)sulfonilamino]-ciclohexan-1-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{trans-4-[(morfolin-4-il)carbonilamino]-ciclohexan-1-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{trans-4-[(morfolin-4-il)sulfonilamino]-ciclohexan-1-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(tetrahidropiran-4-iloxi)-7-(2-acetilamino-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(tetrahidropiran-4-iloxi)-7-(2-metansulfonilamino-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(piperidin-1-il)-carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-aminocarbonilmetil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(cis-4-{N-[(tetrahidropiran-4-il)carbonil]-N-metil-amino}-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(cis-4-{N-[(morfolin-4-il)carbonil]-N-metil-amino}-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(cis-4-{N-[(morfolin-4-il)sulfonil]-N-metil-amino}-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi- quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(trans-4-etansulfonilamino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-metansulfonil-piperidin-4-iloxi)-7-etoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-metansulfonil-piperidin-4-iloxi)-7-(2-metoxi-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[1-(2-metoxi-acetil)-piperidin-4-iloxi]-7-(2-metoxi-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)-amino]-6-(cis-4-acetilamino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6-[1-(terc-butiloxicarbonil)-piperidin-4-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6-(tetrahidropiran-4-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(cis-4-{N-[(piperidin-1-il)carbonil]-N-metil-amino}-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(cis-4-{N-[(4-metil-piperazin-1-il)carbonil]-N-metil-amino}-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{cis-4-[(morfolin-4-il)carbonilamino]-ciclohexan-1-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[2-(2-oxopirrolidin-1-il)etil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(morfolin-4-il)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-(2-metoxi-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)-amino]-6-(1-acetil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6-(1-metil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6-(1-metansulfonil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-metil-piperidin-4-iloxi)-7(2-metoxi-etoxi)-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-isopropiloxi-carbonil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(cis-4-metilamino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{cis-4-[N-(2-metoxi-acetil)-N-metil-amino]-ciclohexan-1-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-Etinil-fenil)amino]-6-(piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-Etinil-fenil)amino]-6-[1-(2-metoxi-acetil)-piperidin-4-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-etinil-fenil)amino]-6-{1-[(morfolin-4-il)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(cis-2,6-dimetil-morfolin-4-il)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(2-metil-morfolin-4-il)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(S,S)-(2-oxa-5-aza-biciclo[2.2.1]hept-5-il)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(N-metil-N-2-metoxietil-amino)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-

metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-etil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(2-metoxietil)carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-{1-[(3-metoxipropil-amino)-carbonil]-piperidin-4-iloxi}-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[cis-4-(N-metansulfonil-N-metil-amino)-ciclohexan-1-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[cis-4-(N-acetil-N-metil-amino)-ciclohexan-1-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(trans-4-metilamino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[trans-4-(N-metansulfonil-N-metil-amino)-ciclohexan-1-iloxi]-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(trans-4-dimetilamino-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(trans-4-{N-[(morfolin-4-il)carbonil]-N-metil-amino}-ciclohexan-1-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-[2-(2,2-dimetil-6-oxo-morfolin-4-il)-etoxi]-7-[(S)-(tetrahidrofuran-2-il)metoxi]-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-metansulfonil-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, 4-[(3-clor-4-fluor-fenil)amino]-6-(1-ciano-piperidin-4-iloxi)-7-metoxi-quinazolina, Cetuximab, Trastuzumab, ABX-EGF y Mab ICR-62. Estos compuestos pueden usarse, según esté disponible, en forma de sus racematos, enantiómeros o diastereoisómeros, o en forma de sales de adición de ácido farmacológicamente aceptables de los mismos, o en forma de sus solvatos y/o hidratos. Estos compuestos se describen en la técnica anterior, p.ej. en WO 96/30347, WO 97/02266, WO 99/35146, WO 00/31048, WO 00/78735, WO 01/34574, WO 01/61816, WO 01/77104, WO02/18351, WO 02/18372, WO 02/18373, WO 02/18376, WO 02/50043, WO 03/082290, Cancer Research 2004, 64:11 (3958-3965), Am J Health-Syst Pharm 2000, 57(15), 2063-2076, Clinical Therapeutics 1999, 21(2), 309-318, WO 98/50433, y WO 95/20045.

Los antagonistas de endotelina pueden seleccionarse preferiblemente del grupo que consiste en tezosentán, bosentán, enrasentán, sixtasentán, T-0201, BMS-193884, K-8794, PD-156123, PD-156707, PD-160874, PD-180988, S-0139 y ZD-1611. Cualquier referencia a antagonistas de endotelina dentro del alcance de la presente invención incluye una referencia a las sales, preferiblemente sales de adición de ácido farmacológicamente aceptables, o derivados que pueden formarse a partir de los antagonistas de endotelina.

Estas combinaciones se pueden administrar simultánea o secuencialmente.

Para uso farmacéutico, los compuestos de acuerdo con la invención se utilizan preferiblemente para vertebrados de sangre caliente, en particular seres humanos, en dosis de 0,0001-100 mg/kg de peso corporal.

Estos compuestos se pueden administrar, por sí mismos o en unión con otras sustancias activas, por vía intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal o intranasal, por inhalación, o por vía transdermal, o por vía oral, mientras que formulaciones de aerosol son particularmente adecuadas para inhalación.

Para la administración estos compuestos se formulan con uno o más soportes convencionales inertes sólidos, semisólidos o líquidos, p. ej. con almidón, diferentes tipos de celulosa, lactosa, manitol, sorbitol, glucosa, fosfato de calcio, grasa dura, alcoholes grasos, glicerol, triglicéridos de cadena media y ésteres relacionados, polietilenglicol, aceites especiales refinados, agua, agua/etanol, agua/glicerol, agua/sorbitol, agua/polietilenglicol, propilenglicol, y/o excipientes funcionales, p. ej. con polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, glicolato sódico de almidón, dióxido de silicio, polisorbatos, poloxámeros, gelucires, estearato de magnesio, ácido cítrico, ácido tartárico, o mezclas adecuadas de los mismos en preparaciones galénicas convencionales, tales como comprimidos planos o revestidos, cápsulas, polvos, soluciones inyectables, ampollas, suspensiones, soluciones, sprays o supositorios.

Los siguientes ejemplos de formulaciones ilustran la presente invención sin representar una limitación de su alcance.

Ejemplo F1: Comprimido revestido que contiene 75 mg de sustancia activa

Composición

1 núcleo de comprimido contiene:	
sustancia activa	75,0 mg
fosfato de calcio	131,0 mg
polivinilpirrolidona	10,0 mg
carboximetilcelulosa sódica	10,0 mg
dióxido de silicio	2,5 mg
estearato de magnesio	1,5 mg
	230,0 mg

Preparación (compresión directa)

La sustancia activa se mezcla con todos los componentes, se tamiza y se comprime en una máquina para producir comprimidos para formar comprimidos con la forma deseada.

Peso del núcleo:	230 mg
Aspecto del núcleo:	9 mm, biconvexo

Los núcleos de comprimido, así producidos, se recubren con una película que consiste esencialmente en hidroxipropilmetilcelulosa.

Peso del comprimido revestido:	240 mg

Ejemplo F2: Comprimido que contiene 100 mg de sustancia activa

Composición

1 comprimido contiene:	
sustancia activa	100,0 mg
lactosa	80,0 mg
almidón de maíz	34,0 mg
hidroxipropilmetilcelulosa	4,0 mg
estearato de magnesio	2,0 mg
	220,0 mg

Preparación (granulación en húmedo)

La sustancia activa, la lactosa y el almidón se mezclan juntos y se humedecen uniformemente con una solución acuosa de la hidroxipropilmetilcelulosa. Después de haber tamizado la composición húmeda (tamaño de malla 2,0 mm) y de haber secado en un secador de tipo cremallera a 50°C, se tamiza de nuevo (tamaño de malla 1,5 mm) y se añade el lubricante. La mezcla acabada se comprime para formar comprimidos.

Peso del comprimido:	220 mg
Aspecto del comprimido:	10 mm, de caras planas con bordes biselados y muesca de fractura en una cara.

Ejemplo F3: Comprimido que contiene 150 mg de sustancia activa

Composición

1 comprimido contiene:	
sustancia activa	150,0 mg
lactosa	85,0 mg
celulosa microcristalina	40,0 mg
polivinilpirrolidona	10,0 mg
dióxido de silicio	10,0 mg
estearato de magnesio	5,0 mg
	300,0 mg

Preparación (granulación en seco)

La sustancia activa se mezcla con lactosa, polivinilpirrolidona, y partes de la celulosa microcristalina, estearato de magnesio se compacta, p. ej. en un compactador de rodillos. Las cintas se disgregan en gránulos finos a través de un tamiz con un tamaño de malla de 0,8 mm. Después del subsiguiente tamizado a través de un tamiz con un tamaño de malla de 0,5 mm y de la mezcladura con los restantes componentes, los comprimidos se prensan a partir de la mezcla.

Peso del comprimido:	300 mg
Aspecto del comprimido:	10 mm, plano

Ejemplo F4: Cápsula de gelatina dura que contiene 150 mg de sustancia activa

Composición

1 cápsula contiene:	
sustancia activa	150,0 mg
lactosa	85,0 mg
celulosa microcristalina	40,0 mg
polivinilpirrolidona	10,0 mg
dióxido de silicio	10,0 mg
estearato de magnesio	5,0 mg
	300,0 mg

Preparación

La sustancia activa se mezcla con lactosa, polivinilpirrolidona y partes de la celulosa microcristalina, estearato de magnesio se compacta, p. ej. en un compactador de rodillos. Las cintas se disgregan en gránulos finos a través de un tamiz con un tamaño de malla de 0,8 mm. Después del subsiguiente tamizado a través de un tamiz con un tamaño de malla de 0,5 mm y de la mezcladura con los restantes componentes, la mezcla acabada se envasa en cápsulas de gelatina dura de tamaño 1.

Relleno de la cápsula:	aprox. 300 mg
Envuelta de la cápsula:	cápsula de gelatina dura de tamaño 1.

Ejemplo F5: Supositorio que contiene 150 mg de sustancia activa

1 supositorio contiene:	
sustancia activa	150,0 mg
polietilenglicol 1500	800,0 mg
polietilenglicol 6000	850,0 mg
aceite de ricino polioxil 40 hidrogenado	200,0 mg
	2.000,0 mg

Preparación

Después de haber fundido la masa para supositorios, la sustancia activa se distribuye homogéneamente en la misma y la masa fundida se vierte en moldes enfriados rápidamente.

Ejemplo F6: Suspensión que contiene 50 mg de sustancia activa

100 ml de suspensión contienen:		
sustancia activa		1,00 g
carboximetilcelulosa sódica		0,10 g
p-hidroxibenzoato de metilo		0,05 g
p-hidroxibenzoato de propilo		0,01 g
glucosa		10,00 g
glicerol		5,00 g
solución de sorbitol al 70%		20,00 g
saboreante		0,30 g
agua dest.	hasta	100 ml

Preparación

El agua destilada se calienta hasta 70°C. Los p-hidroxibenzoatos de metilo y propilo, junto con el glicerol y la sal

sódica de carboximetilcelulosa, se disuelven en ello con agitación. La solución se enfría hasta la temperatura ambiente y la sustancia activa se añade y se dispersa homogéneamente en ella con agitación. Después de haber añadido y disuelto el azucar, la solución de sorbitol y el saboreante, la suspensión se evacua con agitación para eliminar el aire.

Así, 5 ml de suspensión contienen 50 mg de sustancia activa.

Ejemplo F7: Ampolla que contiene 10 mg de sustancia activa

Composición

sustancia activa	10,0 mg
ácido clorhídrico 0,01 N	c.s.
agua doblemente destilada	hasta 2,0 ml

Preparación

La sustancia activa se disuelve en la cantidad necesaria de HCl 0,01 N, se isotonifica con cloruro de sodio, se filtra en condiciones estériles y se transfiere a una ampolla de 2 ml.

Ejemplo F8: Ampolla que contiene 50 mg de sustancia activa

Composición

sustancia activa	50,0 mg
ácido clorhídrico 0,01 N	c.s.
agua doblemente destilada	hasta 10,0 ml

Preparación

La sustancia activa se disuelve en la cantidad necesaria de HCl 0,01 N, se isotonifica con cloruro de sodio, se filtra en condiciones estériles y se transfiere a una ampolla de 10 ml.

Ejemplo F9: Cápsula para inhalación de polvo que contiene 5 mg de sustancia activa

1 cápsula contiene:

sustancia activa	5,0 mg
lactosa para inhalación	15,0 mg
	20,0 mg

Preparación

La sustancia activa se mezcla con lactosa para inhalación. La mezcla se envasa en cápsulas en una máquina productora de cápsulas (peso de la cápsula vacía, aprox. 50 mg).

peso de la cápsula: 70,0 mg

tamaño de la cápsula = tamaño 3

Ejemplo F10: Solución para inhalación para un nebulizador portátil que contiene 2,5 mg de sustancia activa

1 esprai contiene

sustancia activa		2.500 mg
cloruro de benzalconio		0,001 mg
ácido clorhídrico 1 N		c.s.
etanol/agua (50/50)	hasta	15,000 mg

Preparación

La sustancia activa y cloruro de benzalconio se disuelven en etanol/agua (50/50). El pH de la solución se ajusta con ácido clorhídrico 1N. La solución resultante se filtra y transfiere a recipientes adecuados para uso en nebulazadores portátiles (cartuchos).

Contenido del envase: 4,5 g

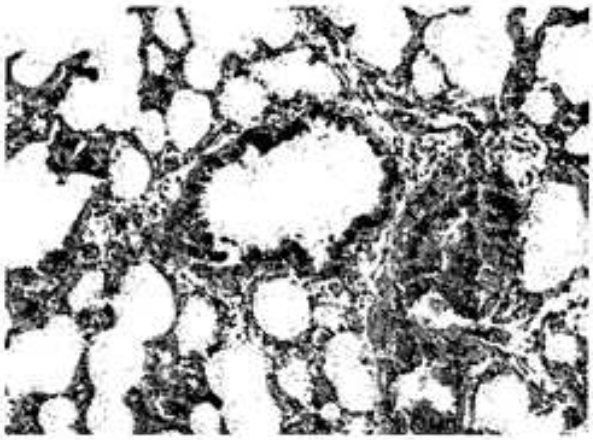
REIVINDICACIONES

1. 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona, los tautómeros, los diastereómeros, los enantiómeros, las mezclas de estos y las sales de estos, para su uso en la prevención o el tratamiento de la fibrosis en la artritis reumatoide.

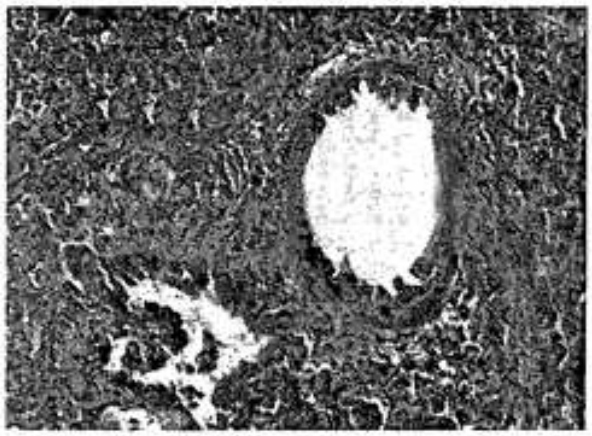
2. 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona o la sal de monoetanosulfonato de este compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1.

3. 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona o la sal de monoetanosulfonato de este compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1 en combinación con una sustancia farmacológicamente activa adicional seleccionada del grupo que consiste en agentes anticolinérgicos, miméticos beta-2, esteroides, inhibidores de PDE-IV, inhibidores de p38 MAP quinasa, antagonistas de NK1, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR y antagonistas de endotelina.

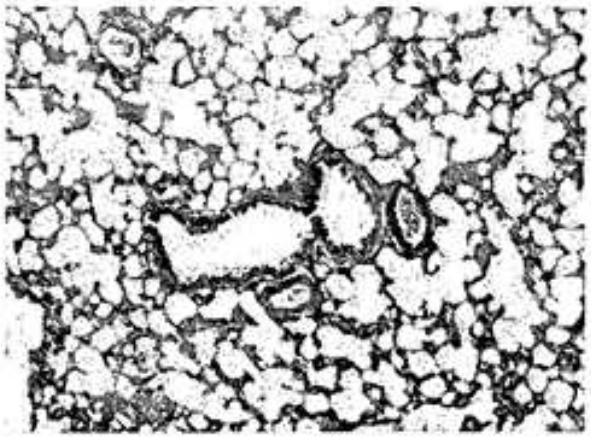
FIGURA 1



A



B



C

FIGURA 2

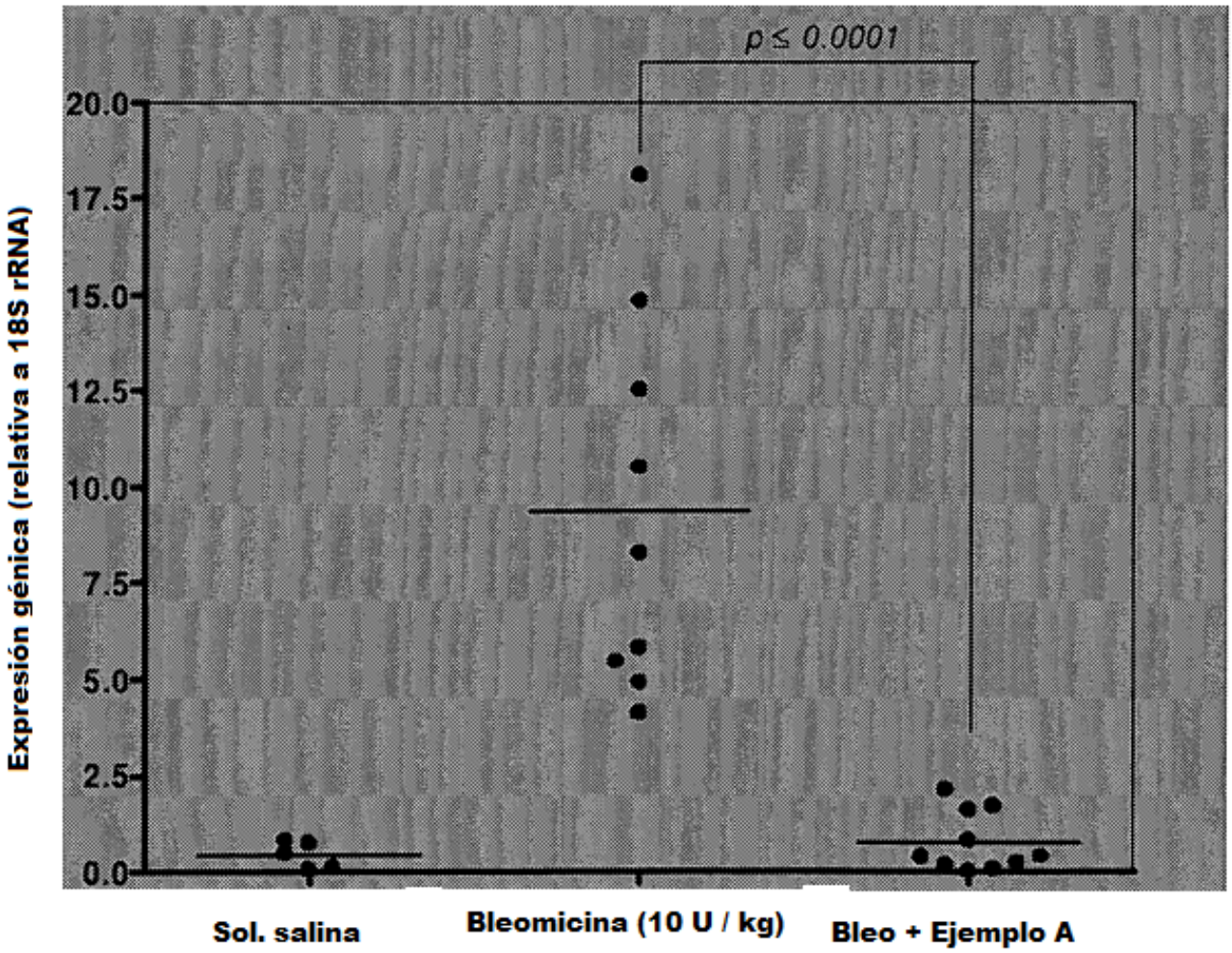

p ≤ 0.0001
20.0
17.5
15.0
12.5
10.0
7.5
5.0
2.5
0.0
Expresión génica (relativa a 18S rRNA)
Sol. salina
Bleomicina (10 U / kg)
Bleo + Ejemplo A

FIGURA 3

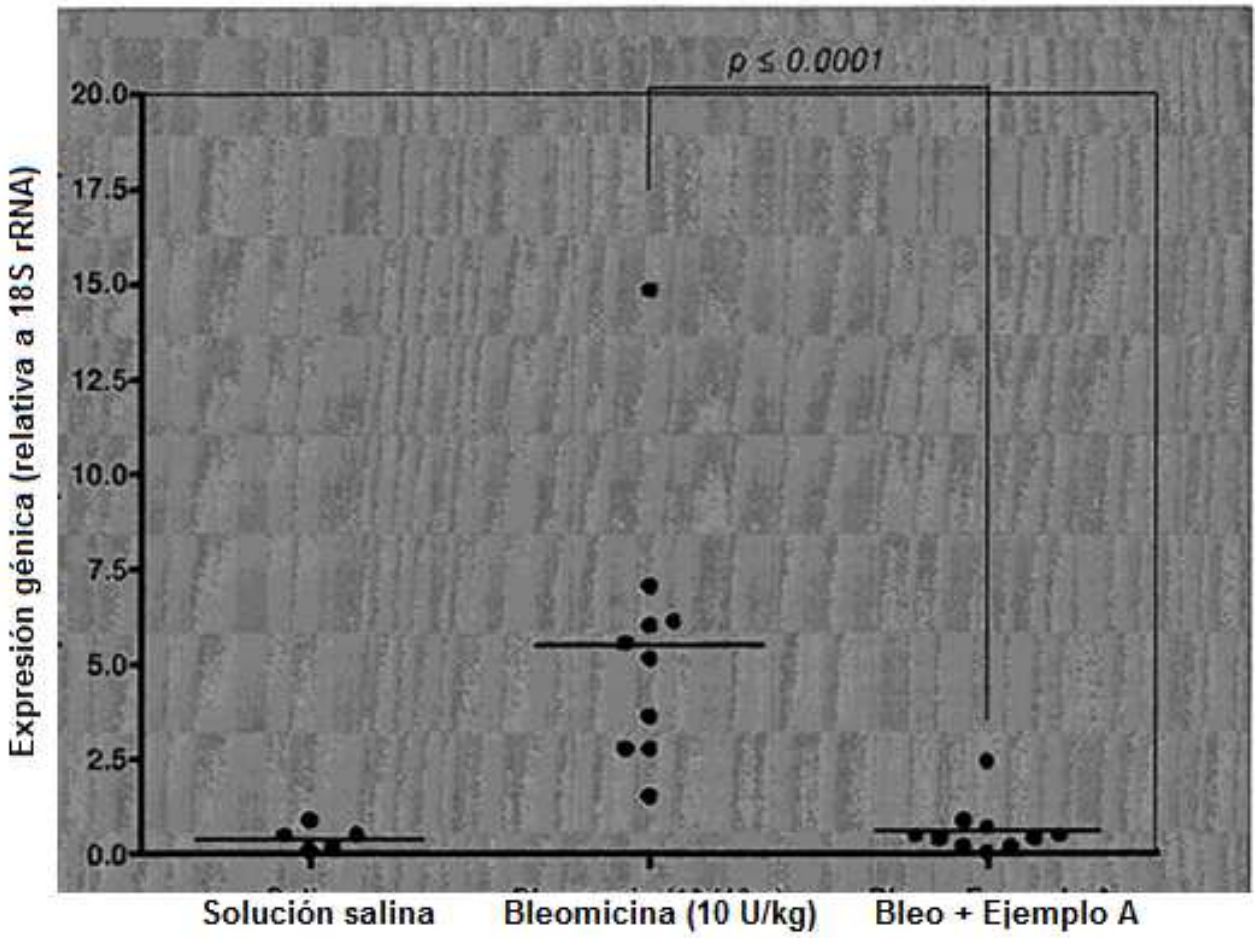
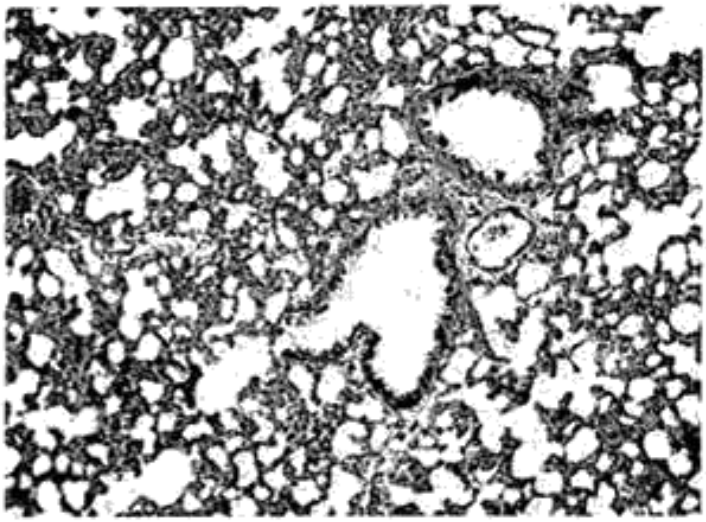
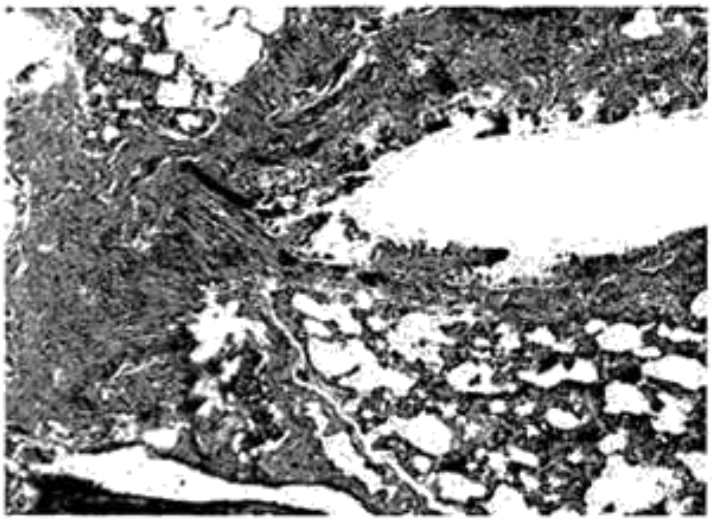

p ≤ 0.0001
20.0
17.5
15.0
12.5
10.0
7.5
5.0
2.5
0.0
Expresión génica (relativa a 18S rRNA)
Solución salina
Bleomicina (10 U/kg)
Bleo + Ejemplo A

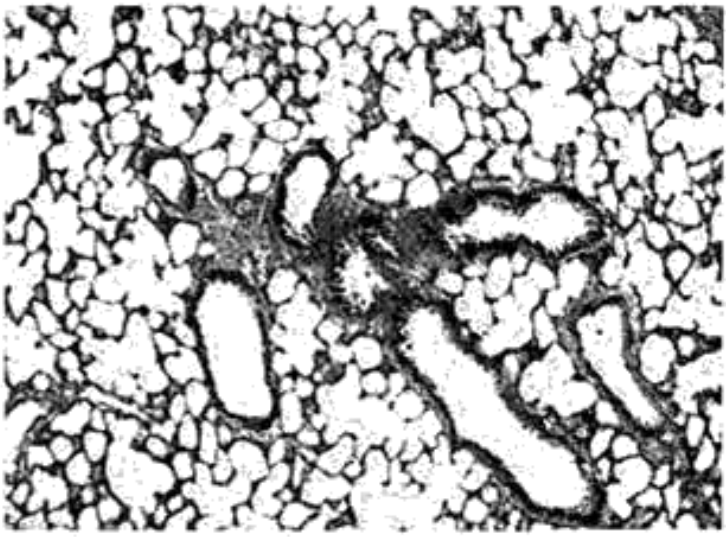
FIGURA 4



A



B



C

FIGURA 5

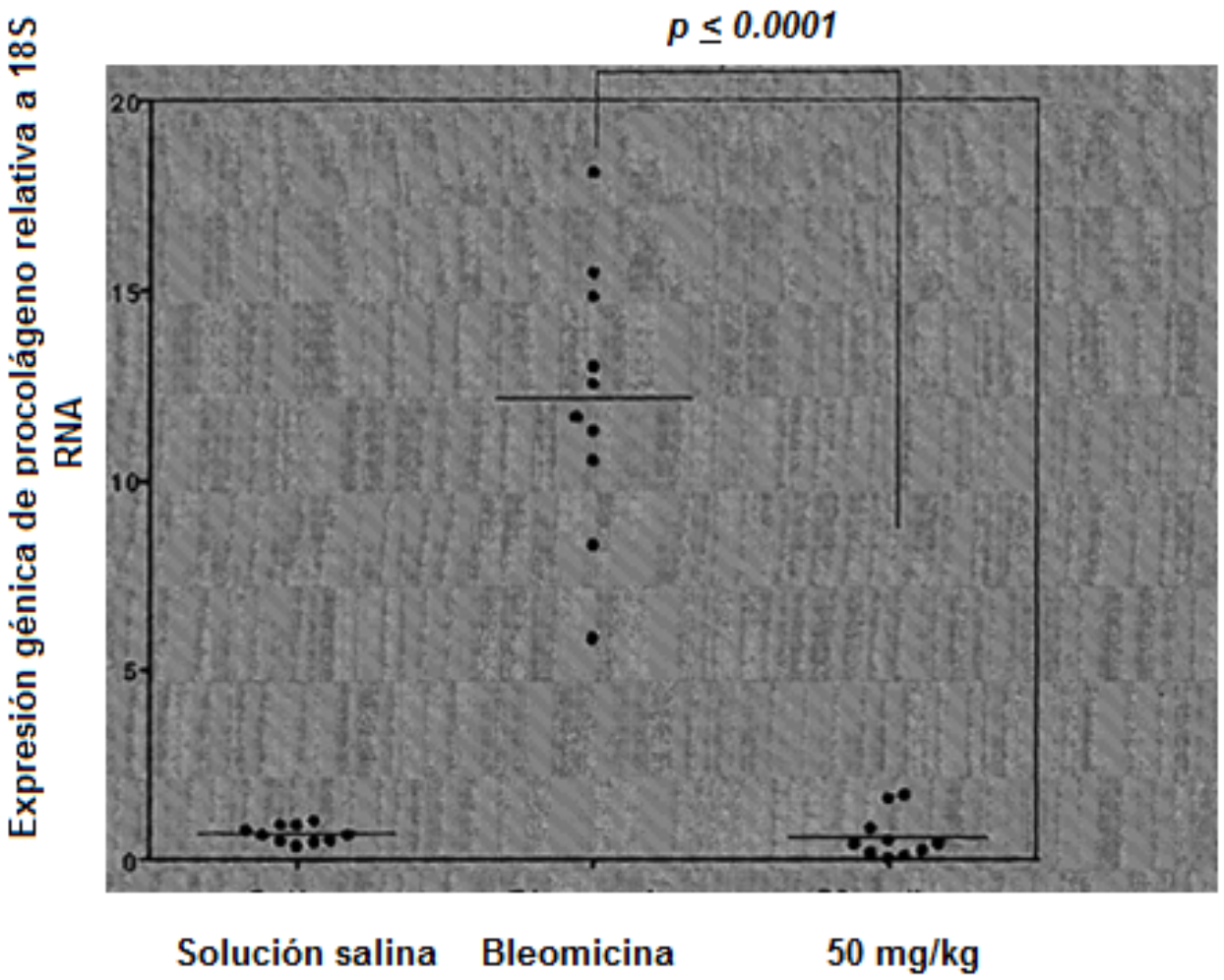
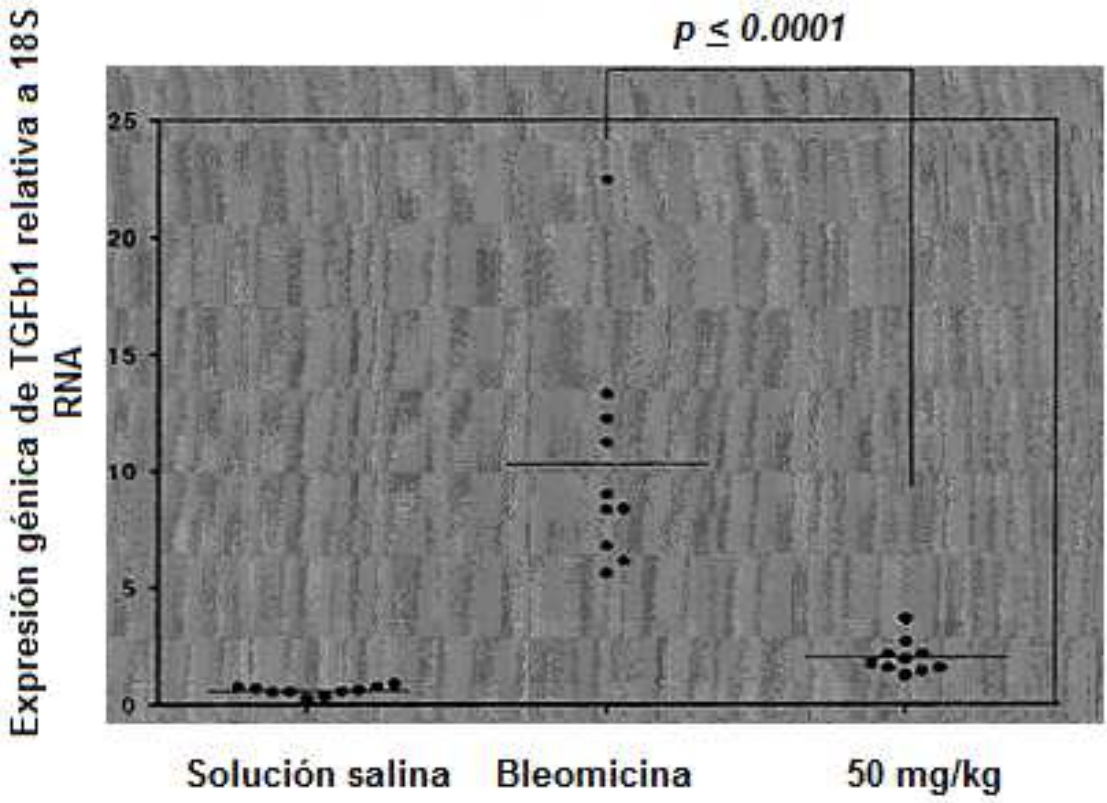

p ≤ 0.0001
Expresión génica de procolágeno relativa a 18S RNA
20
15
10
5
0
Solución salina
Bleomicina
50 mg/kg

FIGURA 6


p ≤ 0.0001
Expresión génica de TGFb1 relativa a 18S RNA
25
20
15
10
5
0
Solución salina
Bleomicina
50 mg/kg