

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 015**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4704 (2006.01)

A61P 19/00 (2006.01)

C07D 215/22 (2006.01)

C07D 215/56 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2011 PCT/IB2011/055096**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.05.2012 WO12066478**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2011 E 11794858 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2017 EP 2640388**

54 Título: **Derivados de quinolinona y uso para tratar enfermedades causadas por una mala función de los osteoblastos**

30 Prioridad:

16.11.2010 FR 1004445

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

23.01.2018

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (100.0%)
3 Rue Michel-Ange
75016 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**RUAT, MARTIAL;
FAURE, HÉLÈNE;
GOROJANKINA, TATIANA;
MANN, ANDRÉ;
TADDEI, MAURIZIO;
MANETTI, FABRIZIO y
SOLINAS, ANTONIO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 651 015 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

Derivados de quinolinona y uso para tratar enfermedades causadas por una mala función de los osteoblastos

5 La presente invención se refiere a compuestos de quinolinona capaces de modular la actividad, en particular de inducir la diferenciación, de células madre y progenitoras, estos compuestos son útiles para el tratamiento de desórdenes ligados a un defecto de la diferenciación celular; la invención se refiere igualmente a nuevos compuestos entre estos compuestos de quinolinona y a las composiciones farmacéuticas que los contienen.

10 La reparación de tejidos lesionados como consecuencia de una enfermedad, un traumatismo o la edad utiliza cada vez más células madre o progenitoras que conservan la capacidad de diferenciarse en diferentes tipos celulares. Estas células constituyen una reserva capaz de renovar los tejidos con el fin de restaurar las funciones biológicas. Las células madre mesenquimatosas pueden dar, por ejemplo, osteoblastos, condrocitos, adipocitos o células estromales soporte de la hematopoyesis.

15 Las técnicas que permiten orientar estas células hacia un fenotipo seleccionado son generalmente lentas (transformación de células con ayuda de vectores de expresión y la necesidad de expresar varios genes) y las soluciones alternativas tales como la utilización de pequeñas moléculas de síntesis inductoras de la diferenciación, constituiría una pista prometedora.

Entre los desórdenes que resultan de un defecto de la diferenciación celular figuran los ligados a una disfunción de la diferenciación de los osteoblastos.

El hueso se renueva continuamente en el transcurso de la vida por un proceso complejo que implica una resorción por los osteoclastos y una formación por los osteoblastos.

20 Los precursores de los osteoblastos son células pluripotentes denominadas igualmente células madre mesenquimatosas. Sin embargo, los mecanismos que permiten la diferenciación de estas células hacia el linaje osteoblástico son complejos y son de gran importancia en la comprensión del desarrollo del hueso. Además, la identificación de moléculas que indujeran la diferenciación de los osteoblastos y estimularan su actividad osteogénica representaría una pista terapéutica en el tratamiento de enfermedades del hueso.

25 En efecto, numerosas enfermedades tienen por causa los desarreglos de la función o de la diferenciación de los osteoblastos, así como los desequilibrios funcionales entre los osteoblastos y los osteoclastos. La patología más estudiada – puesto que representa una apuesta económica mayor – es la osteoporosis; la osteoporosis se caracteriza por una fragilidad excesiva del esqueleto debido a una disminución de la masa ósea y a la alteración de la microarquitectura ósea. La solidez del hueso resulta de un equilibrio entre la acción de dos tipos de células óseas; los osteoblastos que solidifican el hueso y los osteoclastos (responsables de la resorción ósea) que los fragilizan. Una actividad dominante de los osteoclastos conduce a la osteoporosis que puede ser el resultado ya sea de un capital óseo insuficiente al final del crecimiento, ya sea de la pérdida ósea excesiva durante la vejez. La prevención de la osteoporosis se puede hacer por vía de la disminución de un fenómeno fisiológico precursor, la osteopenia (disminución de la densidad ósea), la cual, antes de la osteoporosis, puede conducir a trastornos de rarefacción ósea y a la fragilización del tejido óseo.

Otras patologías se asocian a las disfunciones que inducen una pérdida de masa ósea, se pueden citar:

40 - la osteogénesis imperfecta; esta enfermedad se denomina también “enfermedad de los huesos de cristal”, reúne las enfermedades caracterizadas por una excesiva fragilidad ósea debida a un defecto congénito de elaboración de las fibras colágenas del tejido conjuntivo que forma la trama del hueso. Todos los tipos se caracterizan por una fragilidad extrema del hueso, el signo más típico de la enfermedad;

- la hipercalcemia;

- el hiperparatiroidismo;

- la osteomalacia; que corresponde a una descalcificación ósea inducida por un defecto de mineralización (falta de iones calcio y fosfato) de la trama protéica del esqueleto;

45 - la osteonecrosis; que cubre las afecciones definidas por la muerte de las células del tejido óseo;

- la enfermedad ósea de Paget (osteítis deformante); osteopatía, localizada en uno o varios huesos, caracterizada por un remodelado óseo excesivo que desemboca en una hipertrofia progresiva de las piezas óseas y a importantes anomalías de la microarquitectura ósea.;

- la artritis reumatoide;

50 - la artritis inflamatoria;

- la osteomielitis;

- la paradontitis;
- las metástasis óseas.

El renuevo del tejido óseo puede ser igualmente necesario en situaciones en las que se trata de acelerar la reparación del hueso como las fracturas, la cirugía plástica o la colocación de implantes especialmente dentarios.

5 La diferenciación osteoblástica está influenciada por múltiples vías de señalización que incluyen, por ejemplo, las vías del TGF- β (transforming growth factor β 1), las proteínas Hedgehog (Hh), las Wnt del FGF (fibroblast growth factors), del IGF1 (insulin-like growth factor 1) o los BMPs (bone morphogenetic proteins) (Centrella et al. 1994; Yamaguchi et al. 2000; van der Horst et al. 2003; Frogigue et al. 2004; Hu et al. 2005).

10 Aunque las BMPs fueron empleadas con éxito (Johnson y Urist 2000), su coste es importante y las dosis necesarias para la conducción de una eficaz diferenciación celular están bastante por encima de los umbrales fisiológicos aceptables. Una alternativa sería la utilización de pequeñas moléculas que permitieran modular la actividad BMP *in vivo* (Yu et al. 2008).

15 La TGF- β fue descrita igualmente como un actor mayor de regulación del balance de la actividad entre osteoclastos y osteoblastos. Recientemente, los inhibidores farmacológicos de su receptor han mostrado una actividad estimulante sobre los osteoblastos e inhibidora sobre los osteoclastos. (Mohammad et al. 2009).

El rol del IGF1 ha sido bien estudiado, pero la utilización de IGF1 humano recombinante, a pesar de una influencia sobre el metabolismo óseo, presenta ciertos inconvenientes. No apunta específicamente al esqueleto y arrastra efectos secundarios que limitan su utilización para la enfermedad del hueso.

20 La molécula de señalización Hedgehog juega un rol fundamental en la morfogénesis de numerosos tejidos, incluido el óseo, así como en la proliferación celular, y estaría implicada en el mantenimiento y la reparación tisular en el adulto (véanse las revistas de Ingham y McMahon 2001; Wechsler-Reya y Scott 2001; Marti y Bovolenta 2002; Lum y Beachy 2004; Varjosalo y Taipale 2008).

La estimulación de la vía Hedgehog permite la inducción de la osteogénesis en diferentes modelos. Fueron estudiadas varias moléculas agonistas:

- 25
- las proteínas Hedgehog y los polipéptidos derivados que estimulan la diferenciación osteoblástica actuando sobre la proteína Patched (Spinella-Jaegle et al. 2001; Guan et al. 2009).
 - la purmorfamina que permite activar osteoblastos humanos en cultivo (Wu et al. 2004; Beloti et al. 2005);
 - moléculas orgánicas de pequeño tamaño como la SAG (Chen et al. 2002);
 - las moléculas Hh Ag1.2 (Frank-Kamenetzky et al. 2002);
- 30
- derivados de oxiesteroides (Corcoran y Scott 2006; Amantea et al. 2008) que inducen la diferenciación osteoblástica y la formación del hueso (Aghaloo et al. 2007); Dwyer et al. 2007; Yu et al. 2008).
 - Además, la solicitud internacional WO 00/01386 describe inhibidores de la Farnesyl Protein Transferase que presentan interés para el desarrollo de medicamentos contra las artropatías.

35 Sin embargo, sigue siendo útil identificar nuevas moléculas que permitan modular la diferenciación celular, especialmente moléculas que tengan actividad osteogénica y que permitan ligar una buena actividad y un coste limitado; tales moléculas presentarían un interés particular para tratar las patologías ligadas al hueso.

Los inventores han identificado compuestos de la fórmula general (I) capaces de inducir una diferenciación celular, en particular osteoblástica; estos compuestos representan por lo tanto nuevos agentes que estimulan la diferenciación de células madre o de células progenitoras hacia los osteoblastos u otros tipos celulares.

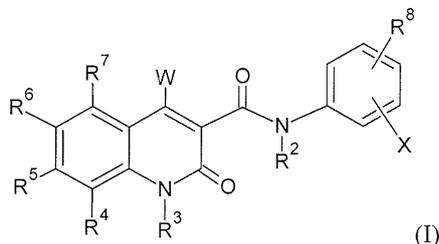
40 Por célula madre se entiende una célula indiferenciada, embrionaria o adulta capaz de dar células especializadas por diferenciación celular y que se pueden renovar prácticamente indefinidamente. Se utilizarán preferentemente células madre adultas.

Las células progenitoras son células adultas pluripotentes, es decir cuya diferenciación puede conducir a varios tipos celulares.

45 En la presente solicitud, se considera que las células están implicadas en una diferenciación osteoblástica – estas se califican entonces como “células con fenotipo osteoblástico” cuando producen la fosfatasa alcalina. Tales células están suficientemente implicadas en la diferenciación osteoblástica para que la continuación de su incubación en el medio nutritivo y/o su implantación permita que al menos una parte de dichas células avance en la diferenciación, hasta la diferenciación terminal (con producción de una matriz extracelular mineralizada). El poner de manifiesto las

propiedades características de estas células (a saber, producción de fosfatasa alcalina) se puede efectuar de forma clásica, por ejemplo, con ayuda de los ensayos mencionados en la parte experimental siguiente.

Por consiguiente, la presente invención tiene por objeto los compuestos de fórmula general (I) siguiente:



5 en la cual:

- X, en posición orto, meta o para, representa -H, -OH, -NH₂, un átomo de halógeno, preferentemente cloro o bromo, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi (de fórmula -O-alquilo, en donde el grupo alquilo es tal como se ha definido anteriormente), un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo arilo;

10 - R⁸, en posición orto, meta o para, sobre un carbono diferente del que porta el radical X, representa: -(C=O)-NH-R¹, -(C=O)-O-R¹ o NH-(C=O)-R¹;

- W representa -H, -OH, -NH₂ o un átomo de halógeno, preferentemente cloro o bromo,

- R¹, R² y R³ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, representan:

- un átomo de hidrógeno; o

15 - un grupo alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, eventualmente insaturada por uno o varios enlaces dobles o triples, eventualmente sustituida con uno o varios heteroátomos tales como O y S, con uno o varios átomos de halógenos o con uno o varios grupos arilo o heteroarilo, preferentemente un grupo piridina; o

20 - un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono eventualmente sustituido con un radical que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, o con un radical alcoxi (de fórmula -O-alquilo, en donde el grupo alquilo es tal como se ha definido anteriormente);

25 - R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, se seleccionan entre -H, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi (de fórmula -O-alquilo, en donde el grupo alquilo es tal como se ha definido anteriormente), o un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, por ejemplo un ciclopropilo, un ciclopentilo, un ciclohexilo;

entendiéndose que R³ y R⁴ pueden estar fusionados para formar, con los átomos de carbono y el nitrógeno adyacente del ciclo quinolina que los porta, un ciclo de 5 a 6 miembros;

30 para su utilización para inducir la diferenciación celular de células madre o progenitoras y más particularmente para su utilización para el tratamiento de enfermedades causadas por el trastorno de la función o de la diferenciación de los osteoblastos y/o por el desequilibrio funcional entre los osteoblastos y los osteoclastos, permitiendo dicha utilización inducir la diferenciación celular de células madre o progenitoras.

En el sentido de la presente invención, por alquilo se entiende un grupo alifático hidrocarbonado saturado, lineal o ramificado que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, preferentemente 3 a 8 átomos de carbono.

35 El término "ramificado" significa que al menos un grupo alquilo inferior de 1 a 6 átomos de carbono, tal como un metilo o un etilo, es portado por una cadena alquílica lineal.

Por átomo de halógeno se entiende un átomo de bromo, cloro, iodo o flúor; siendo preferidas las designaciones de bromo y cloro.

40 Por grupo arilo se entiende cualquier grupo funcional o sustituyente derivado de al menos un ciclo aromático; se pueden mencionar los grupos fenilo, bencilciclobuteno, pentaleno, naftaleno, bencilfenilo y antraceno.

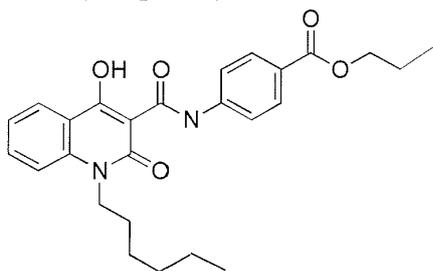
Por grupo heteroarilo se entiende cualquier grupo funcional o sustituyente derivado de al menos un ciclo aromático tal como se ha definido anteriormente y que contiene al menos un heteroátomo seleccionado entre P, S, O y N; entre los grupos heteroarilo se pueden mencionar los grupos furano, piridina, pirrol, tiofeno, imidazol, pirazol, oxazol,

isoxazol, tiazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, benzofurano, isobenzofurano, indol, isoindol, benzotiofeno, benzo[c]tiofeno, benzimidazol, indazol, benzoxazol, benzoisoxazol, benzotiazol, quinoleína, isoquinoleína, quinoxalina, quinazolina, cinolina, purina y acridina.

- 5 Preferentemente, los compuestos de fórmula general (I) son aquellos en los que el radical R^3 es un radical alquilo de 3 a 8 átomos de carbono tal como el radical hexilo; el radical R^2 es un átomo de hidrógeno o un radical alquilo de 1 a 3 átomos de carbono; los radicales R^4 , R^5 , R^6 y R^7 representan un átomo de hidrógeno o un radical alquilo de 1 a 3 átomos de carbono.

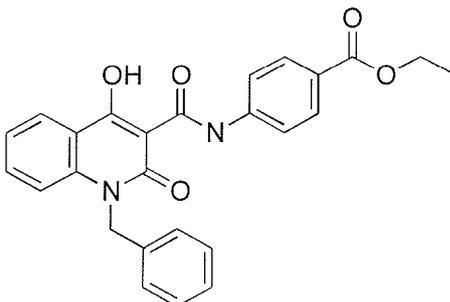
Como ejemplos de compuestos de fórmula general (I) se pueden citar en particular, de manera no limitativa:

- el propil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 1**):

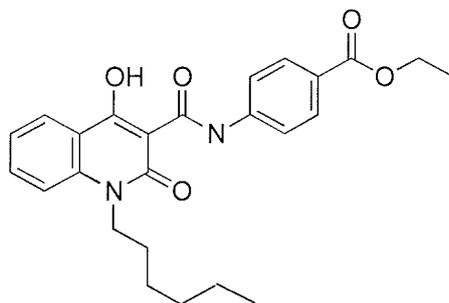


10

- el etil-4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 2**):



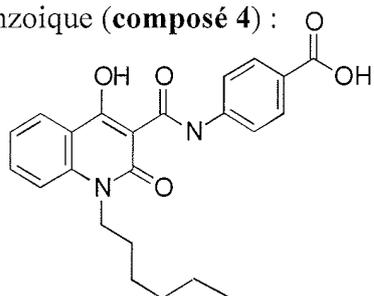
- el etil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 3**):



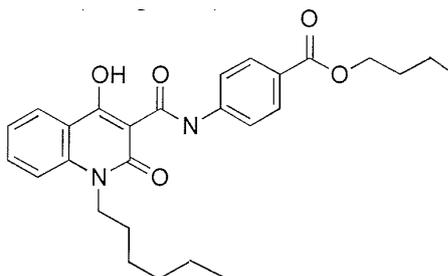
15

- el ácido 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoico (**compuesto 4**):

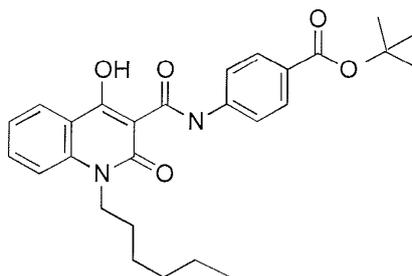
benzoico (compuesto 4) :



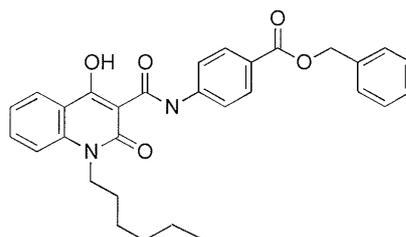
- el butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 5**):



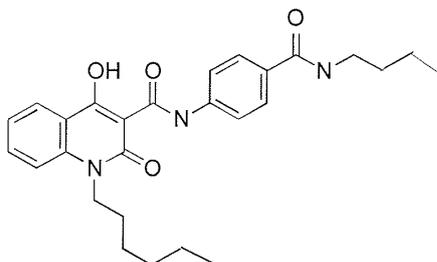
- 5 - el terc-butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 6**):



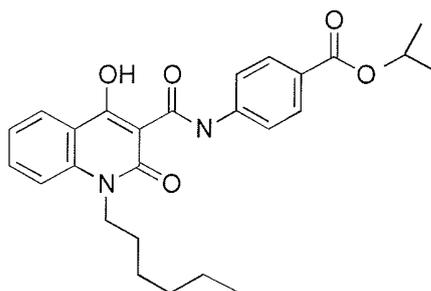
- el bencil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 7**):



- 10 - el N-(4-(butilcarbamoil)fenil)-1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 8**):



- el isopropil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 9**):



5 Los compuestos de fórmula general (I) conformes a la invención se pueden preparar según el esquema de síntesis representado en la **Figura 1**.

10 Conforme al esquema de la **Figura 1**, en una primera etapa se condensa una anilina con el tricarboxilato de trietilmetano bajo irradiación de micro-ondas para obtener carboxilatos de quinolinonas; a continuación, las quinolinonas se condensan con la 4-*terc*-butil-anilina bajo irradiación de micro-ondas para dar ésteres de carboxamido-quinolinonas; la etapa siguiente consiste en saponificar la función éster de estos compuestos para dar un ácido punto de partida para diferentes modificaciones tales como se ilustran en los ejemplos experimentales.

Los compuestos de fórmula general (I) según la invención poseen la propiedad de inducir la diferenciación de células mesenquimatosas en osteoblastos.

15 A este efecto, estos compuestos presentan interés para la preparación de implantes obtenidos a partir de células autólogas en las que se habrá inducido la diferenciación en osteoblastos; estos implantes son útiles para remediar las pérdidas de tejido óseo como consecuencia de heridas y/o de operaciones quirúrgicas.

Los compuestos de la fórmula (I) presentan por lo tanto un interés particular para el tratamiento de enfermedades causadas por el desajuste de la función o de la diferenciación de los osteoblastos y/o para el desequilibrio funcional entre los osteoblastos y los osteoclastos.

20 Más particularmente, estos compuestos son útiles para el tratamiento de la osteoporosis y de los desórdenes tales como la fragilidad del esqueleto y/o la rarefacción ósea y/o la fragilización del tejido óseo resultante de la osteopenia; la osteogénesis imperfecta; la hipercalcemia; el hipertiroidismo; la osteomalacia, la osteonecrosis; la enfermedad ósea de Paget (osteítis deformante); la artritis reumatoide, la artritis inflamatoria; la osteomielitis; la parodontitis; las metástasis óseas.

25 Además, las moléculas que actúan de forma más general sobre la diferenciación de células progenitoras son útiles en el tratamiento médico o quirúrgico (cirugía plástica o reparadora, trasplante de tejidos o de órganos) de numerosas patologías agudas, subagudas o crónicas, genéticas o adquiridas – que implican una disfunción tisular – para inducir la formación, regeneración, reparto y/o aumento de la actividad de tejidos tales como, de manera no limitativa: el tejido nervioso [sistema nervioso central (cerebro) y periférico (neuronas sensoriales, motoras, simpáticas)], el hueso, el cartílago, los testículos, el hígado, el bazo, el intestino, el páncreas, los riñones, los músculos lisos y esqueléticos, el corazón, los pulmones, la piel y el sistema piloso, las mucosas, las células sanguíneas y las células del sistema inmunitario. Como ejemplo no limitativo de estas patologías se pueden citar especialmente las neuropatías y las enfermedades neuromusculares asociadas, la diabetes, la alopecia, las quemaduras, las ulceraciones (piel y mucosas) y los trastornos de la espermatogénesis.

35 La presente invención se refiere igualmente a un procedimiento de preparación de células osteoblásticas a partir de células madre o de células progenitoras tales como las células mesenquimatosas, el cual comprende la etapa que consiste en hacer incubar durante un tiempo suficiente dichas células en un medio nutritivo líquido que permite el

desarrollo de dichas células, conteniendo en solución dicho medio nutritivo al menos un compuesto de la fórmula general (I).

5 En la práctica, se hace incubar estas células en el medio de cultivo, en condiciones estándar que permitan su desarrollo, es decir no solamente su supervivencia sino también su proliferación y/o su diferenciación. Las condiciones estándar de cultivo de células humanas son conocidas: por ejemplo, temperatura a 37°C aproximadamente; atmósfera aire-CO_{ss} 95 : 5, pH próximo al neutro.

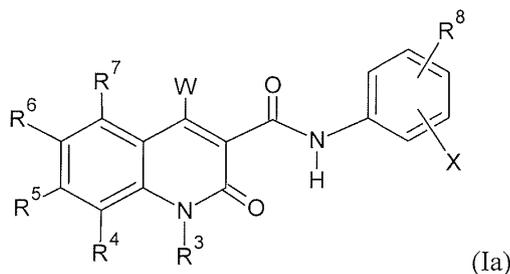
10 El medio de cultivo utilizado es un medio nutritivo líquido clásico que contiene los ingredientes necesarios para el desarrollo de células de mamíferos. Estos ingredientes son conocidos. Son principalmente sales minerales (especialmente Na, K, Mg, Ca y eventualmente Cu, Fe, Zn), aminoácidos, vitaminas y fuentes de carbono (por ejemplo, glucosa). Se puede utilizar, por ejemplo, un medio nutritivo tal como el medio mínimo esencial MEM de EAGLE, complementado con suero de ternera fetal o, preferentemente, con suero humano autólogo.

Igualmente, se pueden utilizar medios nutritivos más elaborados, de tipo DME (medio de EAGLE modificado por DULBECCO), eventualmente mezclado con el medio F12 de HAM, con o sin suero, y preferentemente en presencia de suero autólogo.

15 A estos medios de cultivo se pueden añadir factores osteoinductores tales como los factores BMP, pero, como se ha indicado anteriormente, estos factores no son necesarios para inducir la diferenciación osteoblástica de las células humanas utilizadas en el procedimiento de la invención. Por lo tanto, se pueden utilizar medios exentos de factores osteoinductores.

20 A los medios de cultivo utilizados se añaden preferentemente factores osteopromotores tales como el ácido ascórbico y los beta-glicerofosfatos (por ejemplo, de sodio o de calcio).

La presente invención se refiere, además, a los nuevos compuestos de fórmula general (Ia):



en la cual:

25 - X, en posición orto, meta o para, representa -H, -OH, -NH₂, un átomo de halógeno, preferentemente cloro o bromo, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi (de fórmula -O-alquilo, en donde el grupo alquilo es tal como se ha definido anteriormente), un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo arilo;

- R⁸, en posición orto, meta o para, sobre un carbono diferente del que porta el radical X, representa: -(C=O)-NH-R¹, -(C=O)-O-R¹ o NH-(C=O)-R¹;

30 - W representa -H, -OH, -NH₂ o un átomo de halógeno, preferentemente cloro o bromo,

35 - R¹ y R³ idénticos o diferentes e independientemente uno de otro, representan un grupo alquilo que consiste en una cadena carbonada de 3 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, eventualmente insaturada por uno o varios enlaces dobles o triples, eventualmente sustituida con uno o varios heteroátomos tales como O y S, con uno o varios átomos de halógenos o con uno o varios grupos arilos o heteroarilos, preferentemente un grupo piridina;

40 - R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, se seleccionan entre -H, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi (de fórmula -O-alquilo, en donde el grupo alquilo es tal como se ha definido anteriormente), o un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono, por ejemplo un ciclopropilo, un ciclopentilo, un ciclohexilo;

entendiéndose que R³ y R⁴ pueden estar fusionados para formar, con los átomos de carbono y el nitrógeno adyacente del ciclo quinolina que los porta, un ciclo de 6 miembros;

con exclusión del butil 4-(1-propil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (descrito en Linnan et al., 18, Chem. Res. Toxicol, 2005, 428-440)

como tales y para su utilización como medicamentos.

Los radicales R⁵ y R⁷ preferidos se seleccionan, independientemente uno del otro, entre H, -Cl, -Br, -CN, un radical alquilo o un radical alcoxi.

5 La posología útil variará en función de la afección a tratar, de la vía y del ritmo de administración, así como de la naturaleza y del peso del sujeto a tratar (humano o animal).

La presente invención se refiere, además, a las composiciones farmacéuticas caracterizadas por el hecho de que comprenden, como principio activo, al menos un compuesto de fórmula general (Ia) según la invención, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 En el seno de las composiciones farmacéuticas conformes a la invención, el o los compuestos de fórmula general (Ia) se utilizan preferentemente en una cantidad que permite administrar dosis unitarias comprendidas entre 1 mg y 2 g aproximadamente.

15 El experto en la materia seleccionará uno o varios excipientes farmacéuticamente aceptables en función de la vía de administración de la composición farmacéutica. Debe entenderse que el experto en la materia vigilará en esta ocasión que el o los excipientes utilizados sean compatibles con las propiedades intrínsecas ligadas a la composición conforme a la presente invención.

Además, la forma del medicamento o de la composición farmacéutica (por ejemplo, una solución, una suspensión, una emulsión, comprimidos, cápsulas de gelatina, supositorios, etc.) dependerá de la vía de administración elegida.

20 Así, en el sentido de la presente invención, el medicamento o la composición farmacéutica se puede administrar por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, anal, local, sistémica, intravenosa, intramuscular o por mucosa, o bien utilizando un parche o también en forma encapsulada en, o inmovilizada sobre, liposomas, micropartículas, microcápsulas y análogos.

25 Especialmente, como ejemplos no limitativos de excipientes apropiados para una administración por vía oral, se pueden citar el talco, la lactosa, el almidón y sus derivados, la celulosa y sus derivados, los polietilenglicoles, los polímeros de ácido acrílico, la gelatina, el estearato de magnesio, las materias grasas animales, vegetales o sintéticas, los derivados de la parafina, los glicoles, los estabilizantes, los conservantes, los antioxidantes, los agentes humectantes, los antiaglomerantes, los dispersantes, los emulsionantes, los agentes modificadores del gusto, los agentes de penetración, de solubilización, etc...

30 Las técnicas de formulación y de administración de los medicamentos y de las composiciones farmacéuticas son bien conocidos en la técnica aquí considerada, pudiendo referirse el experto en la materia especialmente en la publicación Remington's Pharmaceutical Sciences (21^o edición).

Además de las disposiciones precedentes, la invención comprende también otras disposiciones que surgirán de la descripción siguiente, que se refiere a ejemplos de síntesis de compuestos de la fórmula general (I), a un ejemplo de realización de los compuestos de fórmula general (I) según la presente invención, así como a los dibujos anexos, en los cuales:

35 La **Figura 1** representa el esquema de síntesis de los compuestos de fórmula general (I).

40 La **Figura 2** ilustra la detección histoquímica de la fosfatasa alcalina inducida después de la diferenciación de las células madre mesenquimatosas bajo la acción de compuestos de fórmula general (I). Las células fueron cultivadas en presencia de 10 µM de los compuestos 1, 4, 6 u 8 indicados o del disolvente (control) durante 6 días en el medio de cultivo habitual. Las células se tiñeron a continuación por histoquímica para revelar la presencia de fosfatasa alcalina (marca roja que aparece en forma de manchas más oscuras) marcador de la osteogénesis, después se fotografiaron.

45 La **Figura 3** ilustra el efecto del compuesto 1 sobre la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina, indicador del efecto de este compuesto sobre la diferenciación de las células madre mesenquimatosas C3H10T1/2. La diferenciación inducida por el compuesto 1 se mide por la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (DO a 415 nm) (círculos). Como comparación, se presenta (cuadrados) la diferenciación de las células obtenida en el mismo ensayo con el SAG. Se presenta una curva representativa ± SD en 5 ensayos independientes.

Las curvas obtenidas para los compuestos 2 a 9 se presentan en las Figuras 4 a 11. Todos estos compuestos permiten la estimulación de la diferenciación con diferencias características para cada compuesto. Para la mayoría de ellos el máximo de actividad se observa a 10 µM.

50 **Figura 4:** Diferenciación de las células C3H10T1/2 por el compuesto 2. La respuesta al compuesto 2 se evaluó en las mismas condiciones experimentales que las empleadas para el compuesto 1. Como comparación, la diferenciación de las células obtenida en el mismo ensayo con el compuesto 1 (10 µM) se indica por un rombo. Una curva representativa de 2-3 ensayos independientes.

El efecto de los compuestos siguientes se ensayó igualmente en las mismas condiciones experimentales que las empleadas para el compuesto 1.

Figura 5: Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 3.

Figura 6: Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 4.

5 **Figura 7:** Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 5.

Figura 8: Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 6.

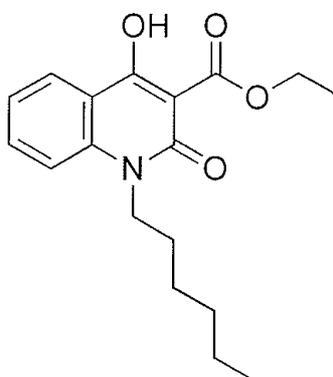
Figura 9: Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 7.

Figura 10: Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 8.

Figura 11: Diferenciación de las células C3H10T1/2 inducida por el compuesto 9.

10 **EJEMPLO 1 : SÍNTESIS DE DIFERENTES COMPUESTOS DE FÓRMULA (I)**

Preparación de etil-1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxilato

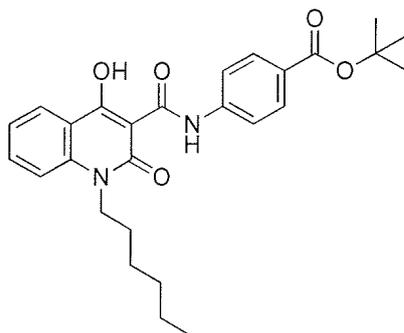


15 En un matraz equipado con un condensador, se añade N-hexilanilina (355 mg, 2 mmol) a una solución de trietiléster del ácido metanotricarboxílico (1,35 ml, 6,4 mmol). La mezcla de reacción resultante se dispone en un horno microondas CEM Discovery y se irradia con el matraz abierto, después se destila el etanol formado (los parámetros son los siguientes: potencia = 250 W, temperatura = 225°C, tiempo de ejecución = 5 minutos, tiempo de mantenimiento = 15 minutos).

20 Después del calentamiento por microondas, el bruto de reacción se purifica en columna cromatográfica con éter de petróleo : acetato de etilo 4 : 1. El producto cristalino obtenido se seca para dar el compuesto: rendimiento = 430 mg (69%). ¹H NMR (CDCl₃): δ 8,16 (d, J=8Hz, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,27-7,19 (m, 2H), 4,48 (q, J=8Hz, 2H), 4,18 (t, J=8Hz, 2H), 1,72-0,86 (m, 14H).

I.A. terc-butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (compuesto 6)

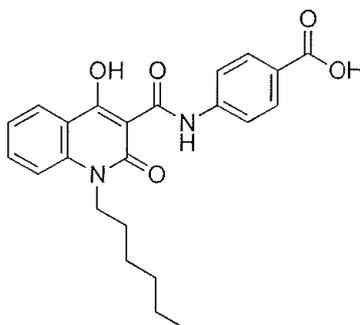
25



5 1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinoleina-3-carboxilato de etilo (159 mg, 0,5 mmol) y terc-butil 4-aminobenzoato (193 mg, 1mmol) se suspenden en tolueno anhidro (4 ml) y se calientan en microondas en recipiente abierto (los parámetros son los siguientes: potencia = 200 W, temperatura = 120°C, tiempo de ejecución = 7 minutos, tiempo de mantenimiento = 10 minutos).

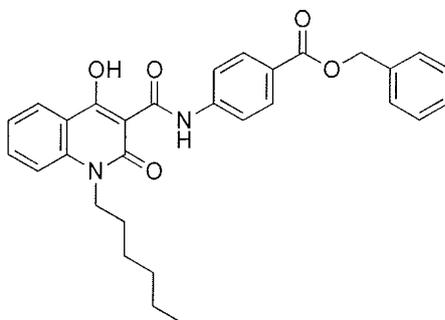
Al finalizar la reacción, se evaporan 2/3 del disolvente sin condensador. El bruto de reacción se purifica en columna cromatográfica utilizando éter de petróleo 4:1: acetato de etilo. El producto cristalino obtenido se seca para obtener el compuesto del título: rendimiento 195 mg (84%). ¹H NMR (DMSO): δ 8,16 (d, J=8Hz, 1H), 7,90-7,75 (m, 6H), 7,38 (m, 1H), 4,25 (bs, 2H), 1,60 (bs, 2H), 1,52 (s, 9H), 1,39 (bs, 2H), 1,28 (bs, 5H), 0,84 (bs, 2H).

10 I.B. Ácido 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoico (compuesto 4)



15 A una solución de ácido trifluoroacético (TFA) refrigerado a 0°C se añade terc-butil 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinoleina-3-carboxamido)-benzoato (83 mg, 0,18 mmol) de forma fraccionada; la mezcla se deja reaccionar durante 3 horas. El producto bruto obtenido se lava con éter dietílico hasta la formación de un sólido cristalino blanco. El producto se seca para obtener un rendimiento de 61 mg (83%). ¹H NMR (DMSO): δ 8,16 (d, J=8Hz, 1H), 7,96-7,65 (m, 6H), 7,38 (m, 1H), 4,27 (bs, 2H), 1,59 (bs, 2H), 1,39 (bs, 2H), 1,28 (bs, 5H), 0,84 (bs, 2H).

I.C. Bencil 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (compuesto 7)



20 Una solución de ácido 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinoleina-3-carboxamido)-benzoico (41 mg, 0,1 mmol) en THF se refrigera a 0°C, y se añade alcohol bencílico (21 mg, 20 μl, 0,2 mmol), así como EDCI (19 mg, 0,1 mmol)

y dimetilaminopiridina (3 mg, 0,02 mmol). La mezcla de reacción se deja bajo agitación durante una noche. La fase orgánica se lava con agua y se evapora a presión reducida. El producto bruto se purifica en cromatografía de columna utilizando éter de petróleo 4:1: acetato de etilo, con un rendimiento de 30 mg (60%). ¹H NMR (DMSO): δ 8,16 (d, J=8Hz, 1H), 8,04 (d, J=8Hz, 2H), 7,83 (d, J=8Hz, 3H), 7,68 (d, J=8Hz, 1H), 7,46-7,25 (m, 6H), 7,38 (m, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,28 (bs, 2H), 1,59 (bs, 2H), 1,41-1,15 (m, 6H), 0,84 (bs, 3H).

EJEMPLO II – DETECCIÓN DEL EFECTO DE LOS COMPUESTOS DE FÓRMULA GENERAL (I) SOBRE LA OSTEOGÉNESIS

El efecto de los compuestos de fórmula general (I) conformes a la invención sobre la estimulación de la osteogénesis se determinó *in vitro* por análisis de la diferenciación de la línea de células mesenquimatosas pluripotentes C3H10T1/2.

II.1) Materiales y métodos

Disolución de los compuestos, cultivo celular.

Los compuestos de fórmula (I) a ensayar se disolvieron en sulfóxido de dimetilo (DMSO) hasta una concentración 2,5 mM, después se conservaron a una temperatura de -20°C hasta su utilización.

La línea de células fibroblásticas pluripotentes C3H10T1/2 (ATCC CCL 226) se cultivó en las condiciones recomendadas por la ATCC en el medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de suero de ternera fetal a una temperatura de 37°C bajo atmósfera de 5% de CO₂. 24 horas después de la siembra, la estimulación de las células se realizó durante 6 días en presencia de compuestos de fórmula general (I) directamente diluidos en el medio de cultivo. La activación por estos compuestos provoca la diferenciación de la línea celular hacia el linaje osteoblástico y la permite expresar la fosfatasa alcalina. Ésta se detecta a continuación por histoquímica o dosificación enzimática.

Detección de la fosfatasa alcalina por histoquímica

Para este ensayo, las células se cultivan en placas de 6 pocillos que contienen un cubreobjetos de vidrio tratado con 1H poliD-lisina 0,05 mg/ml. Las células C3H10T1/2 se siembran en una densidad de 150.000 células por pocillo. Los compuestos se aplicaron en una concentración de 10 µM. El estuche de tinción SIGMA (85L-3R) se utilizó siguiendo el protocolo descrito. Brevemente, después fijación de las células durante 30 segundos con una solución de citrato/acetona (2-3), después aclarado con agua bidestilada, la tinción se efectuó 30 minutos en presencia de una solución de Fast-Violet/naftol al abrigo de la luz. Los cubreobjetos se lavan a continuación abundantemente con agua bidestilada, después se montan en medio acuoso antes de su fotografía en un microscopio DMRXA2 (Leica Microsystems). Las células que expresan la fosfatasa alcalina se tiñen de rojo.

Dosificación enzimática de la fosfatasa alcalina en placas de 96 pocillos.

Las células C3H10T1/2 se sembraron en placas de 96 pocillos con una densidad de 5.10³ células por pocillo. Los compuestos se aplicaron en concentraciones crecientes desde 10 nM a 10 µM. Las placas se incubaron a continuación durante 6 días, después se realizaron los ensayos por cuadruplicado según los métodos descritos anteriormente (Chen et al. 2002; Frank-Kamenetsky et al. 2002).

Las células se lavaron con tampón fosfato frío (PBS), después se lisaron por sonicación a 4°C en 50 µl de una solución que contiene 0,9% de NaCl y 0,2% de Triton X-100. La medición de la actividad de fosfatasa alcalina en los lisados así obtenidos se realizó a continuación según el método descrito por Pepinsky *et al.* (Pepinsky et al. 1998). Después de la adición de 100 µl de tampón reactivo (Tris-HCl 200 mM; pH 10,5; 0,4 M de 2-amino-2-metil-propanol y 8 mM de MgCl₂) y 50 µl de sustrato (4 mM de p-nitrofenil-fosfato disódico), los lisados se incubaron a 37°C durante 60 min, después se midió la densidad óptica (DO= en una longitud de onda de 415 nm. Como comparación, se midió en las mismas condiciones la actividad del compuesto SAG, activador de la osteogénesis por acción sobre la vía hedgehog. Se utilizó el programa informático GraphPad Prism 4® para trazar las curvas y determinar las concentraciones eficaces 50 (CE₅₀).

II.2) Resultados

II.2-1. Demostración por histoquímica de la diferenciación de las células madre mesenquimatosas por los compuestos de fórmula (I) hacia el linaje osteoblástico.

La estimulación de la osteogénesis en las células pluripotentes C3H10T1/2 se apreció observando la inducción de la fosfatasa alcalina (PA). Después de 6 días de diferenciación en presencia de 10 µM de compuestos de fórmula (I), se detectó la expresión de la PA por tinción histoquímica. Como ejemplo, se observó un aumento del número de células marcadas en presencia de los compuestos 1, 4, 6 y 8 con intensidades más o menos fuertes (compuesto 4 > compuesto 1 > compuesto 8 > compuesto 6): ninguna célula tratada con el disolvente (DMSO) expresa la PA a un nivel detectable mediante este método.

II.2-2. Diferenciación de células madre mesenquimatosas por los compuestos de fórmula (I): dosificación de la actividad de la fosfatasa alcalina.

Las curvas dosis-respuesta de los compuestos de fórmula (I) se construyeron entre 10 nM y 10 μ M y se determinaron las afinidades de los compuestos frente a la activación de la diferenciación de las células C3H10T1/2.

5 **En la Figura 3** se representa una curva representativa del compuesto 1 realizada en paralelo con la del agonista del receptor SAG suavizado. Este último proporciona una estimulación máxima inferior a la del compuesto 1 mientras que sus afinidades son próximas.

10 Las curvas obtenidas para los compuestos 2 a 9 se representan en las **figuras 4 a 11**. Todos estos compuestos permiten la estimulación de la diferenciación con diferencias características para cada compuesto. Para la mayoría de ellos, el máximo de actividad se observa a 10 μ M.

Los resultados de la explotación de estas curvas se indican en la Tabla I siguiente. Las afinidades de los compuestos son del orden micromolar. El compuesto 2 es el menos activo con un máximo de 4% del compuesto 1. Por el contrario, el compuesto 4 es el que presenta la mejor actividad con una afinidad de 0,6 μ M y un máximo de estimulación superior en 20% a la del compuesto 1.

15

Actividad de los compuestos de fórmula (I) sobre la diferenciación de las células C3H10T1/2 medida por la actividad de la fosfatasa alcalina		
Compuesto	CE ₅₀ , μ M	Máximo de estimulación, % de la activación máxima del compuesto 1
1	1,3	100
2	>3	4
3	3,6	66
4	0,6	124
5	1,5	91
6	3,1	62
7	2	47
8	5,8	94
9	6,5	33

Tabla I: Afinidad y máximo de activación de los compuestos de fórmula (I) sobre la diferenciación de las células multipotentes C3H10T1/2.

20 La concentración eficaz 50 (CE₅₀) de los compuestos sobre la diferenciación se expresa en μ M. El máximo de estimulación se expresa en porcentaje del obtenido con el compuesto 1 en el mismo ensayo. Los datos corresponden a la media de 2 a 5 ensayos independientes.

Referencias

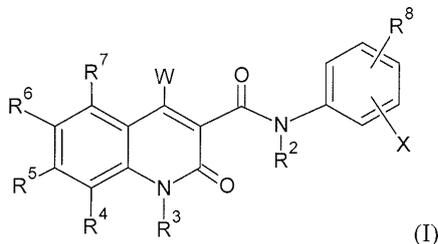
- Aghaloo, T. L., C. M. Amantea, et al. (2007). "Oxysterols enhance osteoblast differentiation in vitro and bone healing in vivo." J Orthop Res **25**(11): 1488-97.
- Amantea, C. M., W. K. Kim, et al. (2008). "Oxysterol-induced osteogenic differentiation of marrow stromal cells is regulated by Dkk-1 inhibitable and PI3-kinase mediated signaling." J Cell Biochem **105**(2): 424-36.
- Beloti, M. M., L. S. Bellesini, et al. (2005). "Purmorphamine enhances osteogenic activity of human osteoblasts derived from bone marrow mesenchymal cells." Cell Biol Int **29**(7): 537-41.
- Boonen, S., C. Rosen, et al. (2002). "Musculoskeletal effects of the recombinant human IGF-I/IGF binding protein-3 complex in osteoporotic patients with proximal femoral fracture: a double-blind, placebo-controlled pilot study." J Clin Endocrinol Metab **87**(4): 1593-9.
- Centrella, M., M. C. Horowitz, et al. (1994). "Transforming growth factor-beta gene family members and bone." Endocr Rev **15**(1): 27-39.

- Chen, J. K., J. Taipale, et al. (2002). "Small molecule modulation of Smoothed activity." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(22): 14071-6.
- Corcoran, R. B. y M. P. Scott (2006). "Oxysterols stimulate Sonic hedgehog signal transduction and proliferation of medulloblastoma cells." Proc Natl Acad Sci U S A **103**(22): 8408-13.
- Dwyer, J. R., N. Sever, et al. (2007). "Oxysterols are novel activators of the hedgehog signaling pathway in pluripotent mesenchymal cells." J Biol Chem **282**(12): 8959-68.
- Frank-Kamenetsky, M., X. M. Zhang, et al. (2002). "Small-molecule modulators of Hedgehog signaling: identification and characterization of Smoothed agonists and antagonists." J Biol Chem **277**(2): 10.
- Fromigie, O., D. Modrowski, et al. (2004). "Growth factors and bone formation in osteoporosis: roles for fibroblast growth factor and transforming growth factor beta." Curr Pharm Des **10**(21): 2593-603.
- Giustina, A., G. Mazziotti, et al. (2008). "Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton." Endocr Rev **29**(5): 535-59.
- Guan, C. C., M. Yan, et al. (2009). "Sonic hedgehog alleviates the inhibitory effects of high glucose on the osteoblastic differentiation of bone marrow stromal cells." Bone **45**(6): 1146-52.
- Hu, H., M. J. Hilton, et al. (2005). "Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development." Development **132**(1): 49-60.
- Ingham, P. W. y A. P. McMahon (2001). "Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles." Genes Dev **15**(23): 3059-87.
- Johnson, E. E. y M. R. Urist (2000). "Human bone morphogenetic protein allografting for reconstruction of femoral nonunion." Clin Orthop Relat Res(371): 61-74.
- Lum, L. y P. A. Beachy (2004). "The Hedgehog response network: sensors, switches, and routers." Science **304**(5678): 1755-9.
- Marti, E. y P. Bovolenta (2002). "Sonic hedgehog in CNS development: one signal, multiple outputs." Trends Neurosci **25**(2): 89-96.
- Mohammad, K. S., C. G. Chen, et al. (2009). "Pharmacologic inhibition of the TGF-beta type I receptor kinase has anabolic and anti-catabolic effects on bone." PLoS One **4**(4): e5275.

- Pepinsky, R. B., C. Zeng, et al. (1998). "Identification of a palmitic acid-modified form of human Sonic hedgehog." J Biol Chem **273**(22): 14037-45.
- Spinella-Jaegle, S., G. Rawadi, et al. (2001). "Sonic hedgehog increases the commitment of pluripotent mesenchymal cells into the osteoblastic lineage and abolishes adipocytic differentiation." J Cell Sci **114**(Pt 11): 2085-94.
- van der Horst, G., H. Farah-Sips, et al. (2003). "Hedgehog stimulates only osteoblastic differentiation of undifferentiated KS483 cells." Bone **33**(6): 899-910.
- Varjosalo, M. & J. Taipale (2008). "Hedgehog: functions and mechanisms." Genes Dev **22**(18): 2454-72.
- Wechsler-Reya, R. & M. P. Scott (2001). "The developmental biology of brain tumors." Annu Rev Neurosci **24**: 385-428.
- Wu, X., J. Walker, et al. (2004). "Purmorphamine induces osteogenesis by activation of the hedgehog signaling pathway." Chem Biol **11**(9): 1229-38.
- Yamaguchi, A., T. Komori, et al. (2000). "Regulation of osteoblast differentiation mediated by bone morphogenetic proteins, hedgehogs, and Cbfa1." Endocr Rev **21**(4): 393-411.
- Yu, P. B., C. C. Hong, et al. (2008). "Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism." Nat Chem Biol **4**(1): 33-41.

Reivindicaciones

1. Compuestos de fórmula general (I):



en la cual:

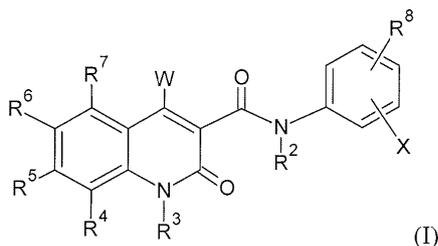
- 5 - X, en posición orto, meta o para, representa -H, -OH, -NH₂, un átomo de halógeno, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi, un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo arilo;
- R⁸, en posición orto, meta o para, sobre un carbono diferente del que porta el radical X, representa: -(C=O)-NH-R¹, -(C=O)-O-R¹ o NH-(C=O)-R¹;
- 10 - W representa -H, -OH, -NH₂ o un átomo de halógeno,
- R¹, R² y R³ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, representan:
- un átomo de hidrógeno; o
- un grupo alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, eventualmente insaturada por uno o varios enlaces dobles o triples, eventualmente sustituida con uno o varios heteroátomos, con uno o varios átomos de halógenos o con uno o varios grupos arilos o heteroarilos; o
- 15 - un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono eventualmente sustituido con un radical que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, o con un radical alcoxi;
- R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, se seleccionan entre -H, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi o un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono;

entendiéndose que R³ y R⁴ pueden estar fusionados para formar, con los átomos de carbono y el nitrógeno adyacente del ciclo quinolina que los porta, un ciclo de 5 a 6 miembros;

25 para su utilización para el tratamiento de enfermedades causadas por el desarreglo de la función o de la diferenciación de los osteoblastos y/o por el desequilibrio funcional entre los osteoblastos y los osteoclastos, permitiendo dicha utilización inducir la diferenciación celular de células madre o progenitoras.

30 2. Compuestos según la reivindicación 1, para el tratamiento de la osteoporosis y de los trastornos tales como la fragilidad del esqueleto y/o la rarefacción ósea y/o la fragilización del tejido óseo resultante de la osteopatía; la osteogénesis imperfecta; la hipercalcemia; el hipertiroidismo, la osteomalacia; la osteonecrosis; la enfermedad ósea de Paget (osteítis deformante); la artritis reumatoide; la artritis inflamatoria; la osteomielitis; la paradontitis; las metástasis óseas.

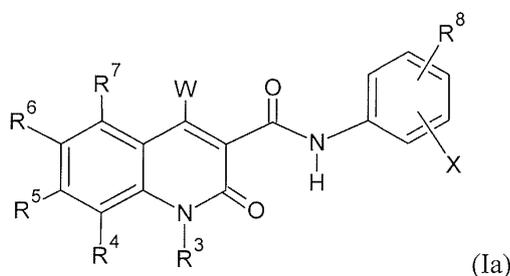
3. Implante de células autólogas diferenciadas en osteoblastos, que comprende al menos un compuesto de la fórmula general (I):



35 en la cual:

- X, en posición orto, meta o para, representa -H, -OH, -NH₂, un átomo de halógeno, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi, un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo arilo;
- 5 - R⁸, en posición orto, meta o para, sobre un carbono diferente del que porta el radical X, representa: -(C=O)-NH-R¹, -(C=O)-O-R¹ o NH-(C=O)-R¹;
- W representa -H, -OH, -NH₂ o un átomo de halógeno,
- R¹, R² y R³ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, representan:
- un átomo de hidrógeno; o
- 10 - un grupo alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, eventualmente insaturada por uno o varios enlaces dobles o triples, eventualmente sustituida con uno o varios heteroátomos, con uno o varios átomos de halógenos o con uno o varios grupos arilos o heteroarilos, o
- un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono eventualmente sustituido con un radical que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, o con un radical alcoxi;
- 15 - R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, se seleccionan entre -H, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi o un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono;
- entendiéndose que R³ y R⁴ pueden estar fusionados para formar, con los átomos de carbono y el nitrógeno adyacente del ciclo quinolina que los porta, un ciclo de 5 a 6 miembros;
- 20 para su utilización para el tratamiento de pérdidas de tejido óseo como consecuencia de heridas y/o operaciones quirúrgicas por inducción de la diferenciación de células mesenquimatosas en osteoblastos.
4. Compuesto según la reivindicación 1 o 2 para su utilización según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el radical R³ es un radical alquilo de 3 a 8 átomos de carbono; el radical R² es un átomo de hidrógeno o un radical alquilo de 1 a 3 átomos de carbono; porque los radicales R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ representan un átomo de hidrógeno o un radical alquilo de 1 a 3 átomos de carbono.
- 25 5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 4 para su utilización según la reivindicación 1, **caracterizado porque** se selecciona entre:
- el propil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 1**)
- el etil-4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 2**)
- 30 - el etil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 3**)
- el ácido 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoico (**compuesto 4**)
- el butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 5**)
- el terc-butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 6**)
- el bencil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 7**)
- 35 - el N-(4-(butilcarbamoil)fenil)-1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 8**)
- el isopropil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 9**)
6. Implante según la reivindicación 3 para su utilización según la reivindicación 3, **caracterizado porque** dicho compuesto es tal que el radical R³ es un radical alquilo de 3 a 8 átomos de carbono; el radical R² es un átomo de hidrógeno o un radical alquilo de 1 a 3 átomos de carbono; los radicales R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ representan un átomo de hidrógeno o un radical alquilo de 1 a 3 átomos de carbono.
- 40 7. Implante según la reivindicación 3 o 6 para su utilización según la reivindicación 3, **caracterizado porque** dicho compuesto se selecciona entre:
- el propil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 1**)
- 45 - el etil-4-(1-bencil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 2**)

- el etil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 3**)
 - el ácido 4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoico (**compuesto 4**)
 - el butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 5**)
 - el terc-butil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 6**)
 - 5 - el bencil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 7**)
 - el N-(4-(butilcarbamoil)fenil)-1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 8**)
 - el isopropil-4-(1-hexil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato (**compuesto 9**)
8. Procedimiento de preparación de células osteoblásticas a partir de células madre adultas o de células progenitoras, el cual comprende una etapa que consiste en hacer incubar durante un tiempo suficiente dichas células en un medio nutritivo líquido que permita el desarrollo de dichas células, conteniendo dicho medio nutritivo en solución al menos un compuesto de la fórmula general (I) tal como el definido en las reivindicaciones 1, 2, 4 o 5.
9. Compuestos de fórmula general (Ia):



- 15 en la cual:
- X, en posición orto, meta o para, representa -H, -OH, -NH₂, un átomo de halógeno, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi, un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono o un grupo arilo;
 - R⁸, en posición orto, meta o para, sobre un carbono diferente del que porta el radical X, representa: -(C=O)-NH-R¹, -(C=O)-O-R¹ o NH-(C=O)-R¹;
 - W representa -H, -OH, -NH₂ o un átomo de halógeno;
 - R¹ y R³ idénticos o diferentes e independientemente uno de otro, representan un grupo alquilo que consiste en una cadena carbonada de 3 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, eventualmente insaturada por uno o varios enlaces dobles o triples, eventualmente sustituida con uno o varios heteroátomos, con uno o varios átomos de halógenos o con uno o varios grupos arilos o heteroarilos;
 - R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ idénticos o diferentes e independientemente unos de otros, se seleccionan entre -H, -Cl, -Br, -I, -CN, -NO₂, un radical alquilo que consiste en una cadena carbonada de 1 a 10 átomos de carbono, lineal o ramificada, un radical alcoxi o un cicloalquilo de 3 a 8 átomos de carbono;

30 entendiéndose que R³ y R⁴ pueden estar fusionados para formar, con los átomos de carbono y el nitrógeno adyacente del ciclo quinolina que los porta, un ciclo de 6 miembros;

con exclusión del butil 4-(1-propil-4-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolina-3-carboxamido)-benzoato.

10. Compuesto de fórmula general (Ia) según la reivindicación 9 como medicamento.
11. Composición farmacéutica **caracterizada por** el hecho de que como principio activo contiene al menos un compuesto de fórmula general (Ia) según la reivindicación 9, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 35

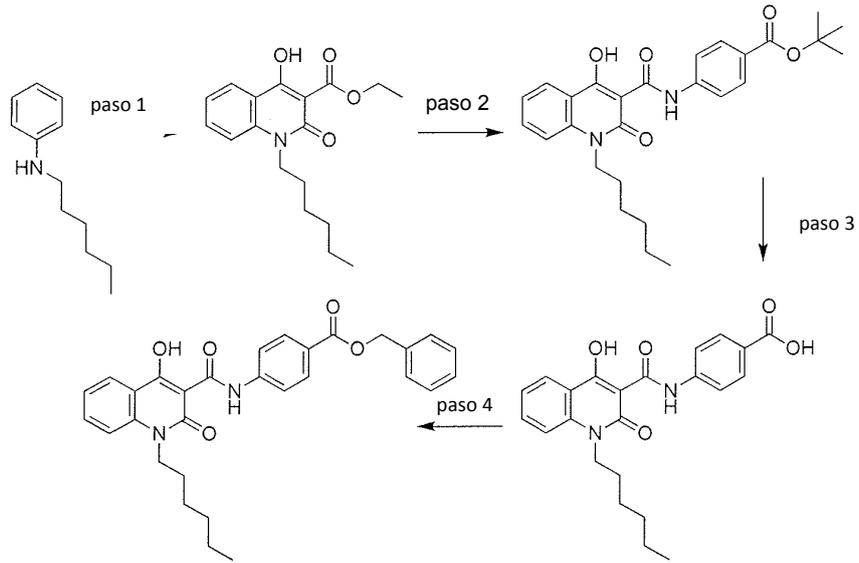


Figura 1

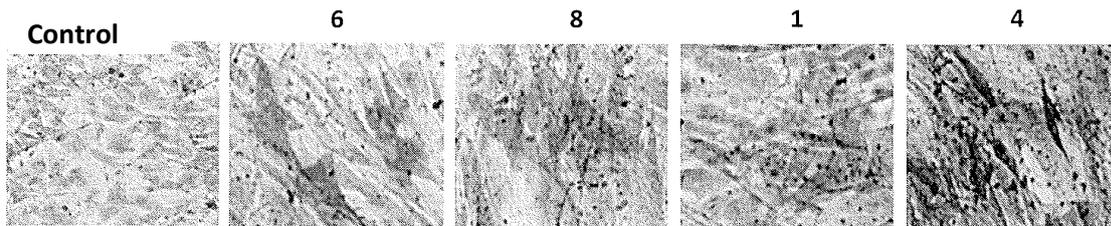


Figura 2

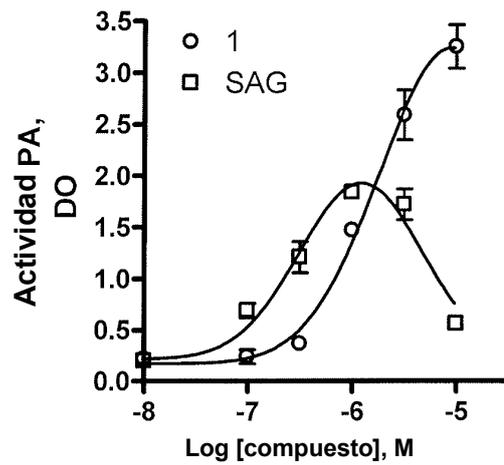


Figura 3

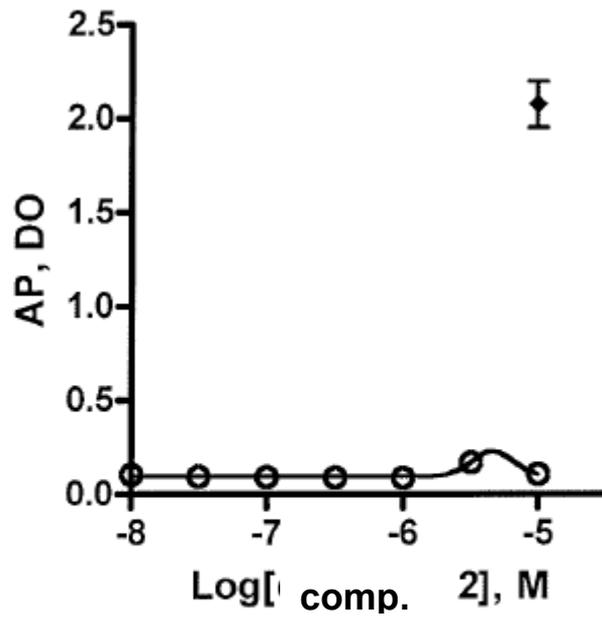


Figura 4

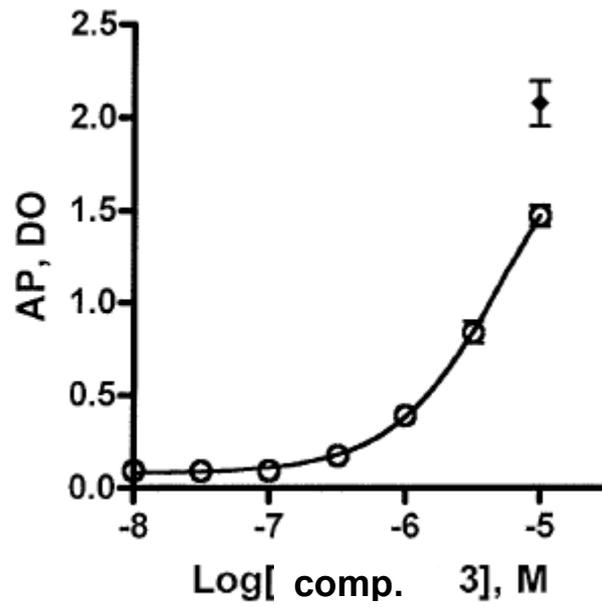


Figura 5

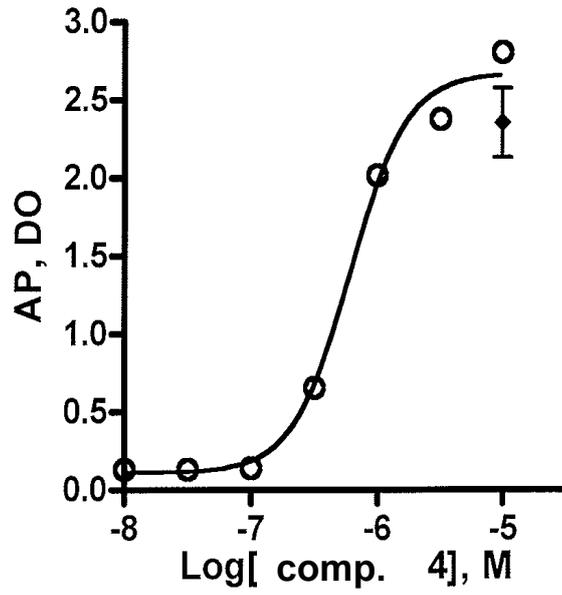


Figura 6

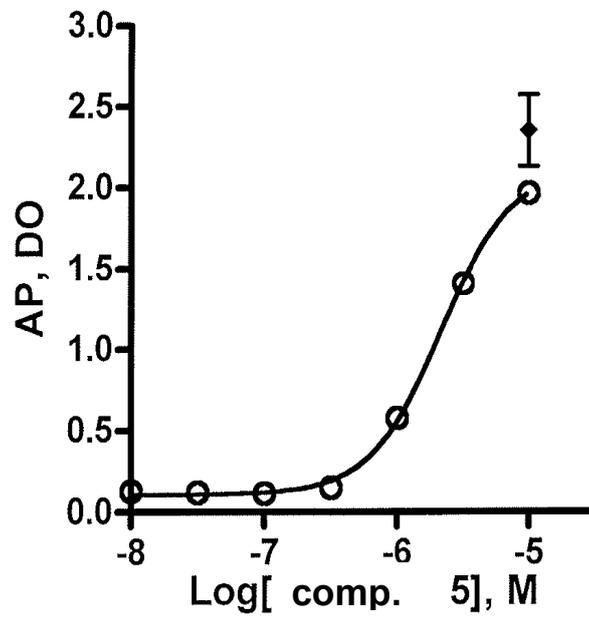


Figura 7

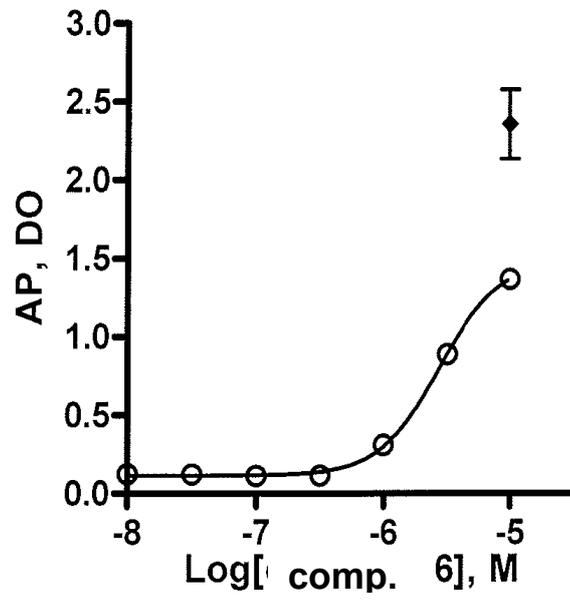


Figura 8

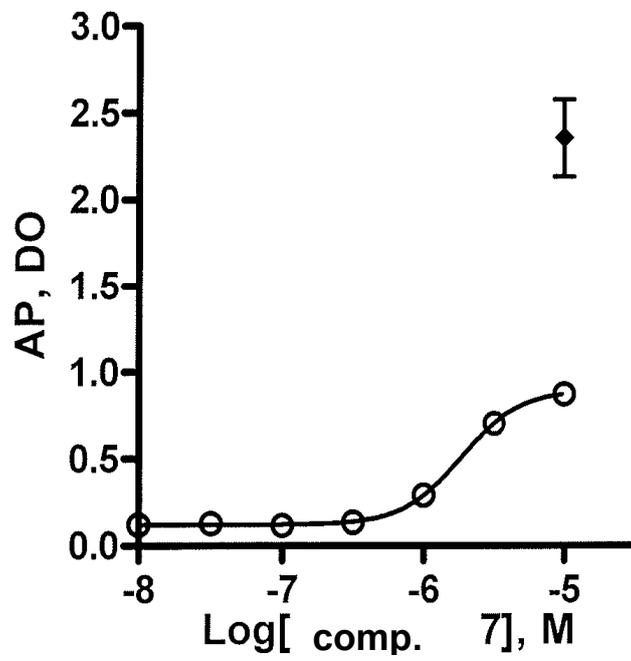


Figura 9

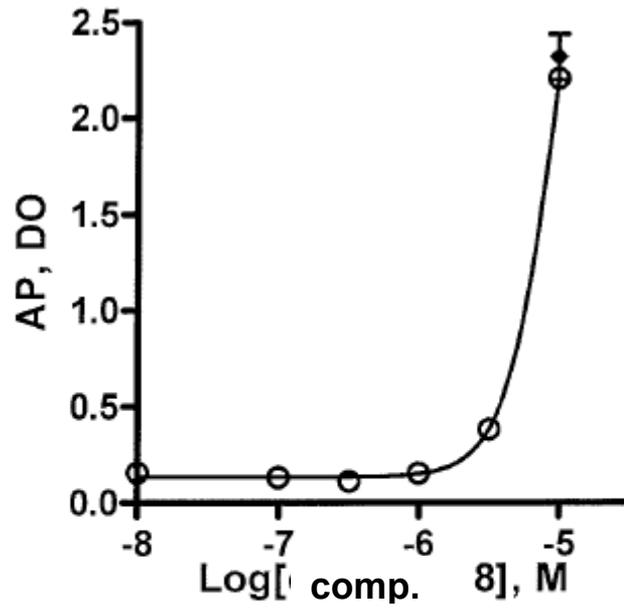


Figura 10

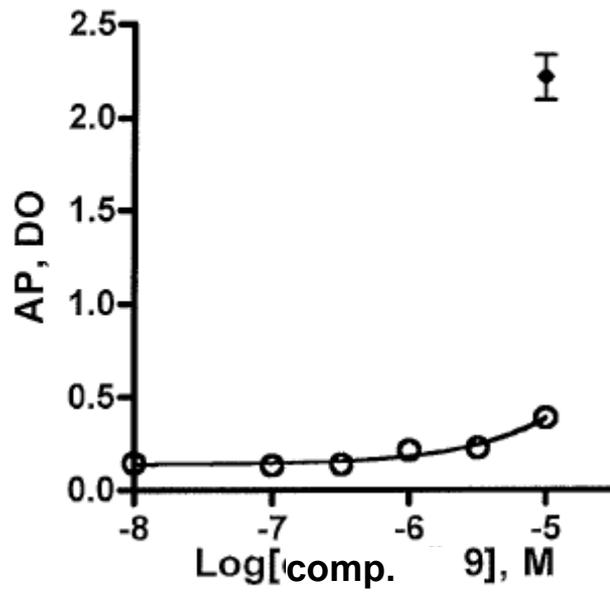


Figura 11