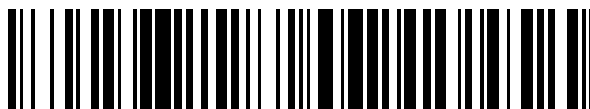


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 803**

51 Int. Cl.:

C07D 231/56 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.06.2015 PCT/KR2015/006718**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2016 WO16003169**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2015 E 15815352 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020 EP 3165523**

54 Título: **Composición para inducir la reprogramación celular**

30 Prioridad:

01.07.2014 KR 20140081889

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

23.06.2020

73 Titular/es:

**GWANGJU INSTITUTE OF SCIENCE AND
TECHNOLOGY (100.0%)
123, Cheomdangwagi-ro, Buk-gu
Gwangju 500-712, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, YONG CHUL;
WILLIAMS, DARREN R.;
JUNG, DA WOON;
LEE, JUNG EUN;
SEO, SHIN AE y
PARK, JI YEON**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 768 803 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

Composición para inducir la reprogramación celular

[Campo técnico]

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Coreana N.º 10-2014-0081889, presentada en la Oficina de Propiedad Intelectual de Corea, el 1 de julio de 2014.

La presente invención se refiere a compuestos y composiciones para inducir la reprogramación celular, tal como se define en las reivindicaciones.

[Técnica anterior]

10 A medida que ha ido creciendo la sociedad envejecida, muchas personas han padecido enfermedades degenerativas, y su número ha seguido aumentando. El método más ideal para el tratamiento de una serie de enfermedades degenerativas incurables, incluyendo la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Lou Gehrig, es trasplantar o bien células madre pluripotentes, extraídas del paciente, o bien células funcionales que se diferencian de ellas, en una parte afectada. En los últimos años, para el tratamiento radical de enfermedades degenerativas incurables, se ha disputado intensamente una competición por el desarrollo de tecnologías entre los países del mundo para liderar el desarrollo de agentes terapéuticos celulares y nuevos fármacos basados en la tecnología de reprogramación celular.

15 La tecnología de la reprogramación es un método relativamente fácil que causa poco o ningún daño físico y molestias a los pacientes. Esta tecnología hace posible obtener células auto-somáticas y producir células madre pluripotentes inducidas que tienen características similares a las de las células madre embrionarias humanas de ellas. Por lo tanto, evolucionó espectacularmente una estrategia para generar células madre auto pluripotentes a partir de células somáticas del paciente. Por ejemplo, puede usarse virus recombinados con un gen específico para inducir células madre no diferenciadas, y varios investigadores presentaron un método en el que el virus se transfecta en células para insertar el gen en el genoma de las células y la proteína de interés se expresa en las células. Por otra parte, se descubrió que células reprogramadas producidas mediante este método tenían características celulares y potencial de diferenciación, que son casi similares a los de las células madre embrionarias, pero estas células tienen el problema de que contienen una gran cantidad de material genético en el genoma de las células, porque el gen se suministra a las células por el vector viral. Adicionalmente, experimentos *in vivo* indicaron que las células madre pluripotentes inducidas tenían efectos secundarios tales como la formación de cáncer. Esto sugiere que la aplicación clínica real de células madre pluripotentes inducidas todavía puede ser arriesgada.

20 Tal como se describió anteriormente, las células madre pluripotentes inducidas tienen el problema de que se utiliza un oncogén en un proceso de reprogramación. Debido a este problema, en los últimos años, se han realizado estudios activos sobre la reprogramación directa para permitir que las células somáticas se diferencien directamente en una estirpe celular requerido en los pacientes, a diferencia de los métodos de reprogramación convencionales.

25 Por otra parte, entre los compuestos convencionales, los compuestos (por ejemplo, Reversina, inhibidor de la quinasa Aurora) que pueden usarse para la reprogramación celular no son adecuados como composición de reprogramación celular debido a su citotoxicidad.

30 Los presentes inventores han realizado grandes esfuerzos para superar los problemas descritos anteriormente y, como resultado, han sintetizado compuestos que no son tóxicos para las células y que permiten la reprogramación directa de células diferenciadas en células que tienen otras características, y han descubierto que el uso de estos compuestos permite una reprogramación celular segura y eficaz.

40 A lo largo de la memoria descriptiva, se hace referencia a y se citan una serie de publicaciones y documentos de patente.

45 El documento KR 2013 0085752 se refiere a un método para inducir células musculares cardíacas a partir de células somáticas usando un inhibidor de la glucógeno sintetasa quinasa (GSK), un agonista de canales de calcio, un activador de la señalización de adenosín monofosfato cíclico (cAMP), un inhibidor del receptor del factor de crecimiento transformante beta tipo I, una quinasa regulada extracelular (EKR1), o una proteína activadora (Ras)-GTPasa de sarcoma de rata.

[Descripción]**[Problema técnico]**

50 Los presentes inventores han realizado grandes esfuerzos para desarrollar composiciones capaces de inducir la reprogramación celular al mismo tiempo que muestran perfiles biológicos mejorados en comparación con los compuestos derivados de indazol convencionales. Como resultado, los presentes inventores han diseñado y sintetizado compuestos derivados de indazol novedosos que tienen la capacidad de inducir la reprogramación celular, y han descubierto que estos compuestos tienen una excelente capacidad de reprogramación celular sin mostrar

citotoxicidad, a diferencia de los derivados de indazol convencionales (por ejemplo, inhibidores de quinasa), completando así la presente invención.

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es proporcionar una composición para inducir la reprogramación celular, tal como se define en las reivindicaciones.

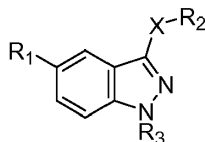
- 5 Otro objeto de la presente invención es proporcionar derivados de indazol novedosos, tal como se define en las reivindicaciones.

Otros objetos y ventajas de la presente invención serán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, los dibujos adjuntos y las reivindicaciones adjuntas. La invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier materia que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines informativos.

10 [Solución técnica]

Según un aspecto, la presente invención proporciona una composición para inducir la reprogramación celular, que comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula A:

Fórmula A



- 15 en donde R₁ es nitro o Y-carbonilo, en donde Y es hidroxilo, alcoxilo C₁₋₃₀ o heterocicloalquilo C₂₋₃₀ que contiene nitrógeno como heteroátomo;

R₂ es hidroxilo, halógeno, fenilo o alqueno C₂₋₃₀;

en donde el fenilo en R₂ está no sustituido o sustituido con hidroxilo, halógeno, alcoxilo C₁₋₅, alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅, o una combinación de los mismos;

- 20 R₃ es hidrógeno; y

X es amido, sulfonamido, oxima o imidamido, siempre que cuando R₁ es nitro y X es amido, R₂ no es fenilo sustituido o no sustituido.

- Según otro aspecto, la presente invención proporciona un método *in vitro* para producir células reprogramadas a partir de células diferenciadas, comprendiendo el método comprende las etapas de: (a) poner en contacto un compuesto representado por la fórmula A con las células diferenciadas; (b) cultivar las células de la etapa (a).

- Los presentes inventores han realizado grandes esfuerzos para desarrollar composiciones capaces de inducir la reprogramación celular mientras muestran perfiles biológicos mejorados en comparación con los compuestos derivados de indazol convencionales. Como resultado, los presentes inventores han diseñado y sintetizado compuestos derivados de indazol novedosos que tienen la capacidad de inducir la reprogramación celular, y han descubierto que estos compuestos tienen una excelente capacidad de reprogramación celular sin mostrar citotoxicidad, a diferencia de los derivados de indazol convencionales (por ejemplo, inhibidores de quinasa).

- El compuesto representado por la fórmula A según la presente invención es un compuesto que puede reprogramar células diferenciadas en células que tienen nuevas características, y se sintetiza químicamente usando indazol como núcleo. No se ha conocido que se usen compuestos derivados de indazol convencionales para la reprogramación celular, y el compuesto de la presente invención tiene una excelente capacidad para reprogramar células al mismo tiempo que tiene poca o ninguna citotoxicidad, en comparación con compuestos derivados de indazol convencionales. Un método convencional de reprogramación directa es un método para introducir un gen utilizando virus, y tiene deficiencias en que el método es difícil de aplicar directamente al paciente, la eficacia del proceso de inducir la reprogramación celular es baja, y surgen problemas inmunológicos. La reprogramación celular directa que utiliza el compuesto de bajo peso molecular de la presente invención es muy excelente en términos de seguridad, rentabilidad y eficacia, ya que se induce reprogramación celular mediante el tratamiento con el compuesto de bajo peso molecular en lugar de introducir un gen mediante un vector viral.

- La composición de la presente invención es muy eficaz para inducir células reprogramadas a partir de células diferenciadas. Según la presente invención, la composición de la presente invención puede inducir líneas celulares de diversas estirpes, tales como células de estirpes osteogénicas reprogramadas o células de estirpes adipogénicas, a partir de células diferenciadas de mamíferos. Según una realización de la presente invención, la composición de la presente invención induce la diferenciación de mioblastos a osteoblastos o adipocitos.

El término "células diferenciadas" no está específicamente limitado e incluye, por ejemplo, células somáticas o células madre somáticas. El término "células somáticas" se refiere a células adultas que tienen una capacidad limitada para diferenciarse y autorrenovarse. Las células somáticas pueden ser células que forman piel, cabello, tejido adiposo o hueso humanos.

- 5 Las células diferenciadas pueden ser células de una variedad de mamíferos, incluyendo seres humanos, monos, cerdos, caballos, ganado, ovejas, perros, gatos, ratones y conejos. Preferiblemente, las células diferenciadas pueden ser células humanas.

- 10 Tal como se usa en el presente documento, el término "reprogramación" se refiere a un proceso mediante el cual las células que existen en diferentes condiciones, tales como células que no tienen potencial de diferenciación o células que tienen un determinado potencial de diferenciación, pueden finalmente restaurarse o convertirse en un nuevo tipo de células nuevo tipo de estado que tenga potencial de diferenciación. Según la presente invención, pueden reprogramarse células diferenciadas en células que tienen características que son el 0-100% diferente de las de las células diferenciadas, como resultado del contacto con la composición de la presente invención.

Tal como se usa en el presente documento, el término "nitro" se refiere a un grupo funcional $-\text{NO}_2$.

- 15 El término "nitroxilo" se refiere a un grupo funcional $-\text{O}-\text{N}=\text{O}$.

El término "carbonilo" se refiere a un grupo funcional $-(\text{C}=\text{O})$.

El término "hidroxilo" se refiere a un grupo funcional $-\text{OH}-$.

El término "halógeno" se refiere a elementos del grupo de los halógenos e incluye, por ejemplo, flúor, cloro, bromo y yodo.

- 20 El término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado de cadena lineal o ramificada, no sustituido o sustituido, e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isobutilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, tridecilo, pentadecilo y heptadecilo. "Alquilo C_{1-30} " se refiere a un grupo alquilo que tiene una unidad alquilo que contiene de 1-30 átomos de carbono, y cuando el alquilo C_{1-30} está sustituido, el número de carbonos del sustituyente no está incluido en el número de carbonos del alquilo C_{1-30} .

- 25 El término "alqueno" se refiere a un grupo hidrocarbonado insaturado de cadena lineal o ramificada, no sustituido o sustituido, que tiene el número indicado de átomos de carbono, e incluye, por ejemplo, etenilo, vinilo, propenilo, alilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, t-butenilo, n-pentenilo y n-hexenilo. "Alqueno C_{2-20} " se refiere a un grupo alqueno que tiene una unidad alqueno que contiene de 2-30 átomos de carbono, y cuando el alqueno C_{2-20} está sustituido, el número de carbonos del sustituyente no está incluido en el átomo de carbono del alqueno C_{2-20} . Según la presente invención, el alqueno C_{2-30} en la posición R_2 en la fórmula A es preferiblemente alqueno C_{2-15} .

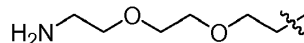
El término "alcoxilo" se refiere a un grupo alquilo o arilo combinado con un átomo de oxígeno e incluye, por ejemplo, metoxilo, etoxilo, propoxilo, ariloxilo y similares. "Alcoxilo C_{1-30} " significa un grupo alquilo que tiene una unidad alcoxilo que contiene de 1 a 30 átomos de carbono, y cuando el alcoxilo C_{1-30} está sustituido, el número de carbonos del sustituyente no está incluido en el número de carbonos del alcoxilo C_{1-30} .

- 35 El término "alcoxialquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo alcoxilo. "Alcoxialquilo C_{2-5} " significa un grupo alcoxialquilo que tiene una unidad alcoxialquilo que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y cuando el alcoxialquilo C_{2-5} está sustituido, el número de carbonos del sustituyente no está incluido en el átomo de carbono del alcoxialquilo C_{2-5} .

- 40 El término "alcoxycarbonilo" se refiere a carbonilo sustituido con alcoxilo. "Alcoxycarbonilo C_{2-5} " significa un grupo alcoxycarbonilo que tiene una unidad alcoxycarbonilo que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y cuando el alcoxycarbonilo C_{2-5} está sustituido, el número de carbonos del sustituyente no está incluido en el átomo de carbono del alcoxycarbonilo C_{2-5} .

- 45 La expresión "heterocicloalquilo que contiene nitrógeno, oxígeno o azufre como heteroátomo" se refiere a un grupo hidrocarbonado cíclico no aromático que contiene átomos de carbono e hidrógeno y al menos un heteroátomo (nitrógeno, oxígeno o azufre). El heteroátomo es preferiblemente nitrógeno u oxígeno, y lo más preferiblemente, nitrógeno. Según la presente invención, el número de heteroátomos es de 1 a 4, o de 1 a 3, o de 1 a 2. "Heterocicloalquilo C_{2-30} " se refiere a un heterocicloalquilo en donde el número de carbonos que forman la estructura del anillo es de 2-30.

- 50 Por otra parte, el heterocicloalquilo es un anillo de carbono total o parcialmente sustituido o no sustituido. El heterocicloalquilo puede estar sustituido con hidroxilo, halógeno, alquilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada sustituido o no sustituido, alcoxilo C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada sustituido o no sustituido, alqueno C_1-C_5 de cadena lineal o ramificada sustituido o no sustituido, alcoxialquilo C_{2-8} , alcoxycarbonilo C_{2-5} , heterocicloalqueno C_{2-8} que contiene



, H_2N^- O^-

5

10

15

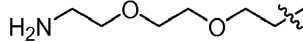
25

30

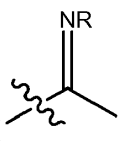
35

El término "imidamida" se refiere a un grupo funcional que comprende $N-CR=N'H_2$.

40


$$, \quad \text{H}_2\text{N} \quad \searrow \quad \searrow \quad \text{O} \quad \searrow \quad \searrow \quad ,$$

45

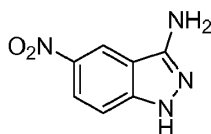


Por otra parte, cuando X en la fórmula A es imidamido ($\text{C}(\text{NR})(\text{N}'\text{H}_2)$), R_2 puede estar unido a C o N' del imidamido.

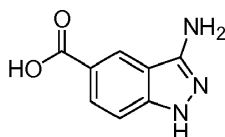
Los compuestos de la presente invención pueden tener uno o más centros quirales y/o centros isoméricos geométricos, y por lo tanto la presente invención incluye todos los estereoisómeros representados por la fórmula A, tales como isómeros ópticos, diastereómeros e isómeros geométricos.

- 5 Según la presente invención, la composición para inducir la reprogramación celular según la presente invención puede contener un compuesto representado por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en las siguientes fórmulas 6-14, 19-43 y 45. También se describen compuestos representados por las fórmulas 1-4, 5, 15-18 y 42-44:

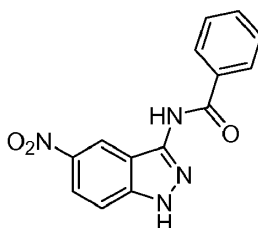
Fórmula 1



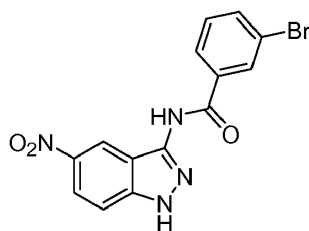
Fórmula 2



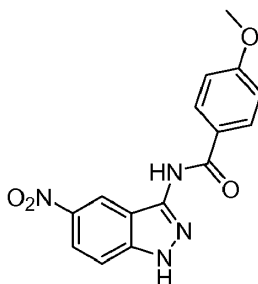
Fórmula 3



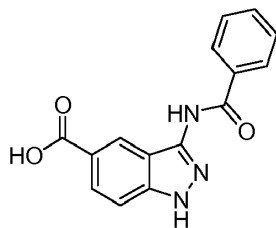
Fórmula 4



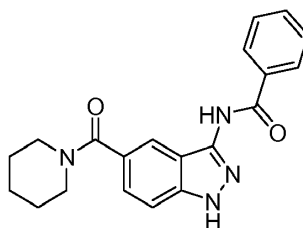
Fórmula 5



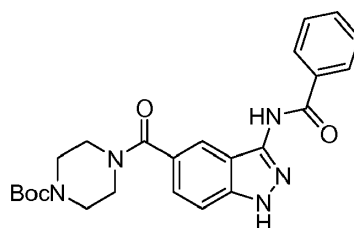
Fórmula 6



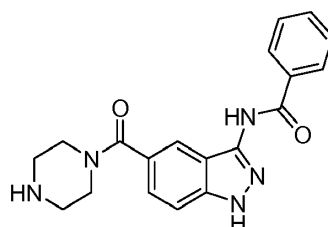
Fórmula 7



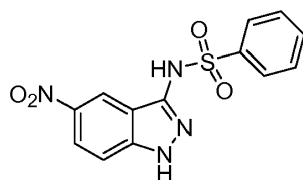
Fórmula 8



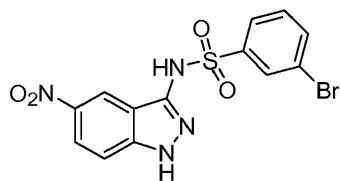
Fórmula 9



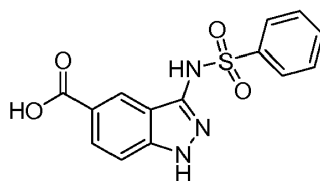
Fórmula 10



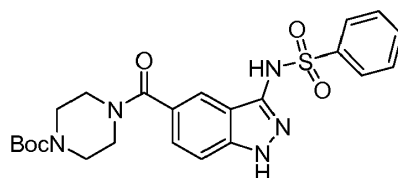
Fórmula 11



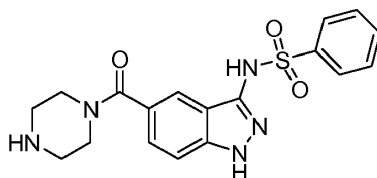
Fórmula 12



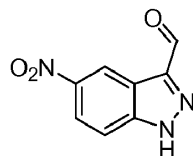
Fórmula 13



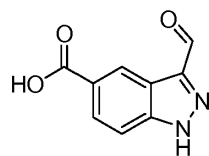
Fórmula 14



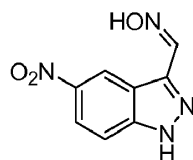
Fórmula 15



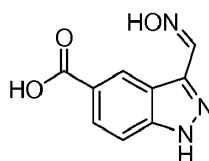
Fórmula 16



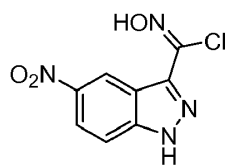
Fórmula 17



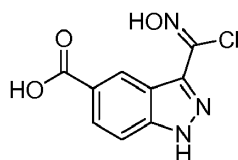
Fórmula 18



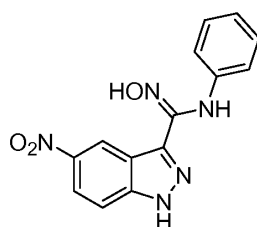
Fórmula 19



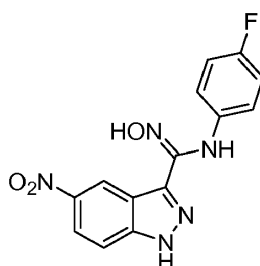
Fórmula 20



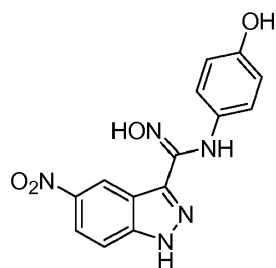
Fórmula 21



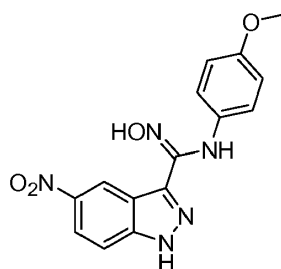
Fórmula 22



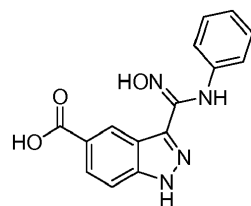
Fórmula 23



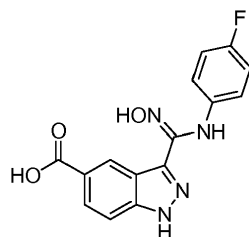
Fórmula 24



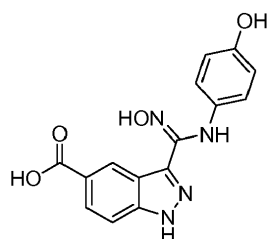
Fórmula 25



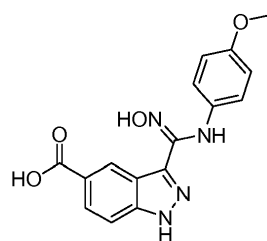
Fórmula 26



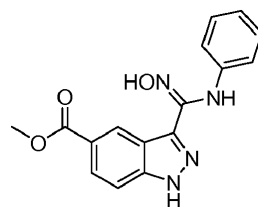
Fórmula 27



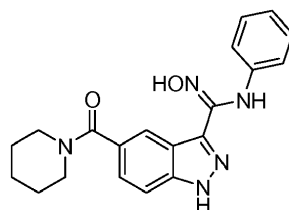
Fórmula 28



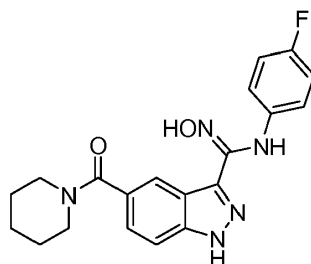
Fórmula 29



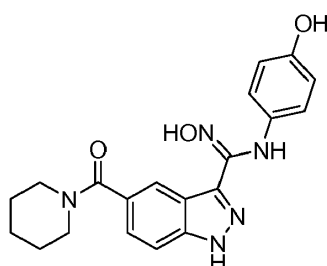
Fórmula 30



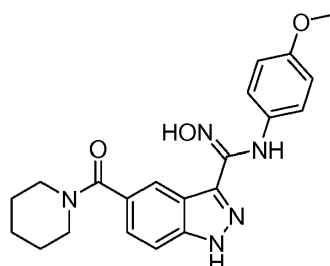
Fórmula 31



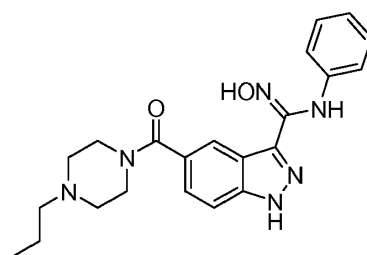
Fórmula 32



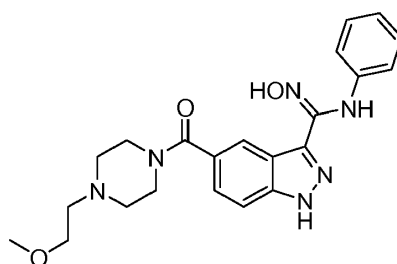
Fórmula 33



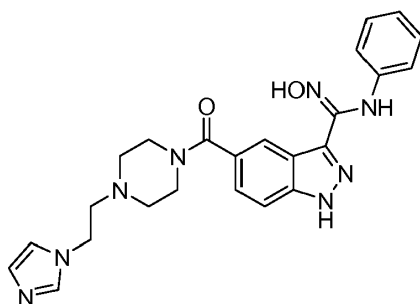
Fórmula 34



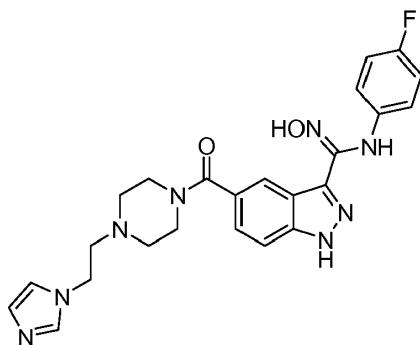
Fórmula 35



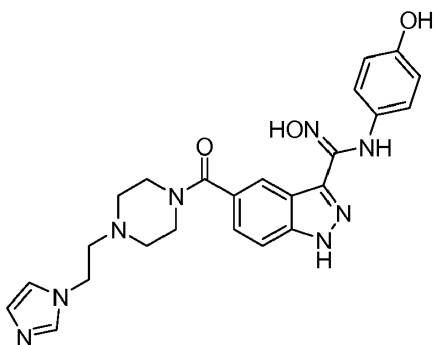
Fórmula 36



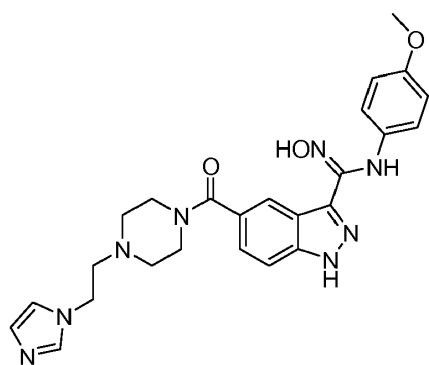
Fórmula 37



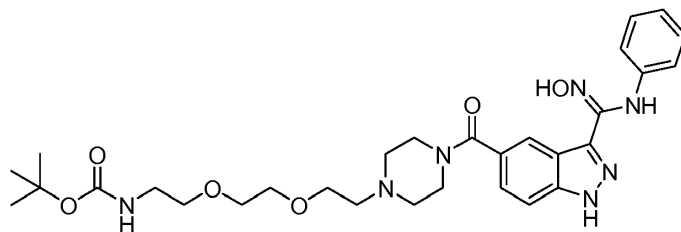
Fórmula 38



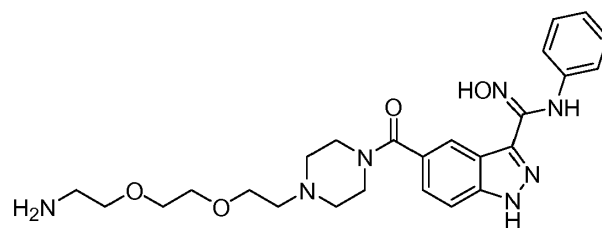
Fórmula 39



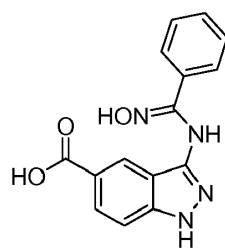
Fórmula 40



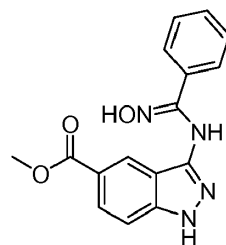
Fórmula 41



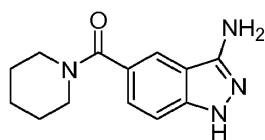
Fórmula 42



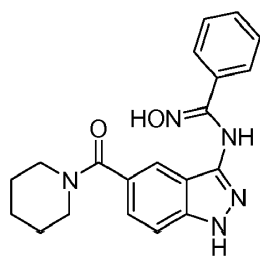
Fórmula 43



Fórmula 44

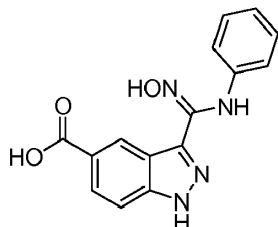


Fórmula 45

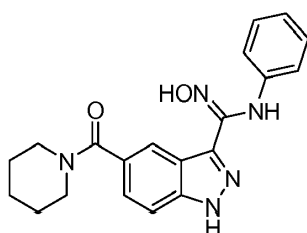


Según la presente invención, la composición para inducir la reprogramación celular puede comprender un compuesto representado por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en la siguiente fórmula 25, fórmula 30, fórmula 31, fórmula 33, fórmula 34, fórmula 35 y fórmula 45:

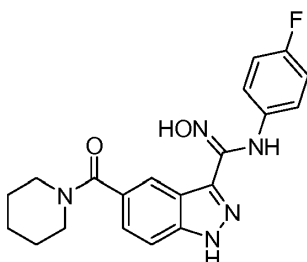
Fórmula 25



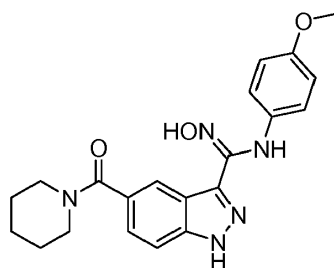
Fórmula 30



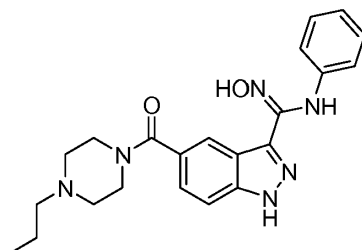
Fórmula 31



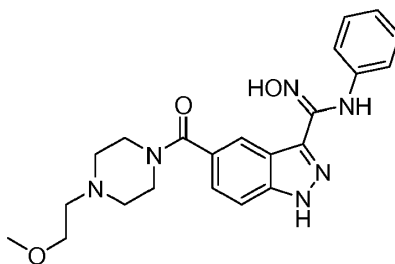
Fórmula 33



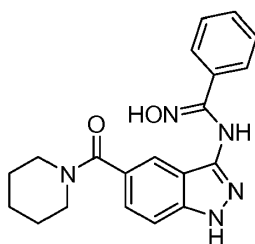
Fórmula 34



Fórmula 35

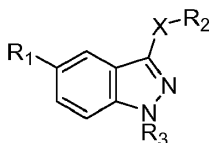


Fórmula 45



- 5 Según otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto derivado de indazol representado por la siguiente fórmula A:

Fórmula A



- 10 en donde R₁ es nitro o Y-carbonilo, en donde Y es hidroxilo, alcoxilo C₁₋₃₀, o heterocicloalquilo C₂₋₃₀ que contiene nitrógeno como heteroátomo;

R₂ es hidroxilo, halógeno, fenilo o alqueno C₂₋₃₀;

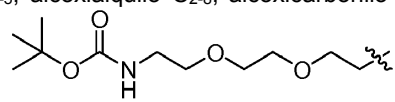
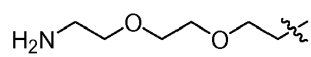
en donde el fenilo en R₂ está no sustituido o sustituido con hidroxilo, halógeno, alcoxilo C₁₋₅, alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅, o una combinación de los mismos;

R₃ es hidrógeno; y

- 15 X es amido, sulfonamido, oxima o imidamido, siempre que cuando R₁ es nitro y X es amido, R₂ no es fenilo sustituido o no sustituido.

Según la presente invención, Y es hidroxilo, alcoxilo C₁₋₃₀, o heterocicloalquilo C₂₋₃₀ que contiene nitrógeno como heteroátomo.

- 20 Según la presente invención, el heterocicloalquilo en Y de la fórmula A puede estar sustituido con hidroxilo, halógeno, alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅, alcoxilo C₁₋₅, alcoxialquilo C₂₋₈, alcoxycarbonilo C₂₋₈, heterocicloalquenalquilo C₂₋₈ que

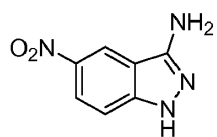
contiene nitrógeno como heteroátomo, , , o una combinación de los mismos. Según una realización de la presente invención, el heterocicloalquenalquilo en Y es (1H-imidazol-1-il)alquilo.

- 25 Según la presente invención, R₂ en la fórmula A puede estar sustituido con hidrógeno, halógeno, arilo C₁₋₁₅, alcoxilo C₁₋₁₅, alquilo C₁₋₁₅ o alqueno C₂₋₁₅, y el arilo en R₂ puede estar sustituido con hidroxilo, halógeno, alcoxilo C₁₋₅, alquilo C₁₋₅, alqueno C₂₋₅, o una combinación de los mismos.

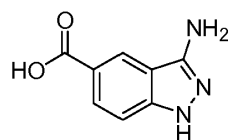
Según una realización de la presente invención, el heteroátomo en la fórmula A es nitrógeno.

- 30 El compuesto derivado de indazol de la presente invención puede representarse mediante una fórmula seleccionada del grupo que consiste en las siguientes fórmulas 6-14, 19-43 y 45. También se describen compuestos representados mediante las fórmulas 1-2, 4, 5, 15-18 y 42-44:

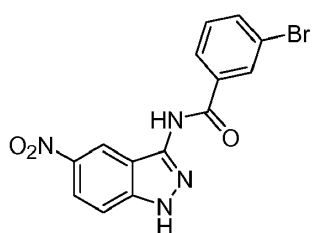
Fórmula 1



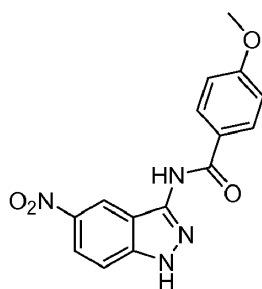
Fórmula 2



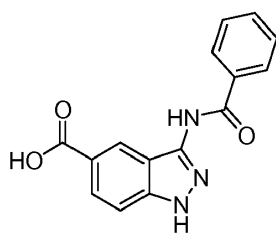
Fórmula 4



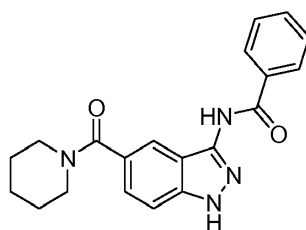
Fórmula 5



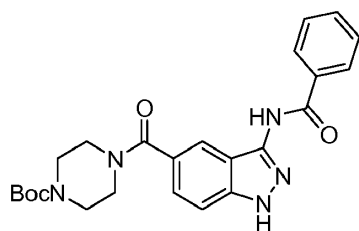
Fórmula 6



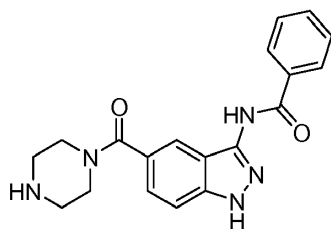
Fórmula 7



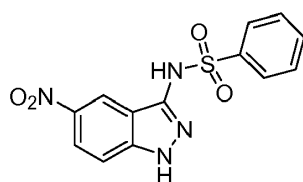
Fórmula 8



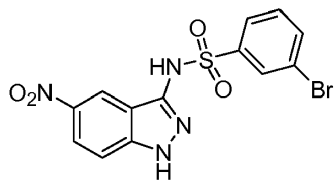
Fórmula 9



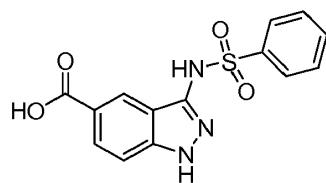
Fórmula 10



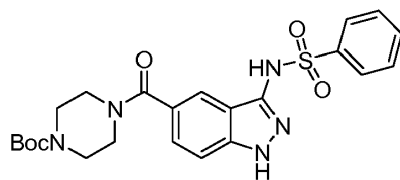
Fórmula 11



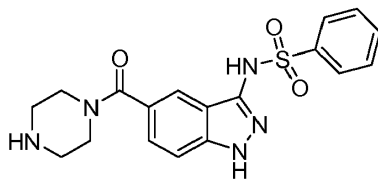
Fórmula 12



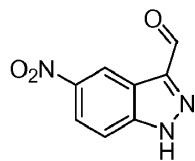
Fórmula 13



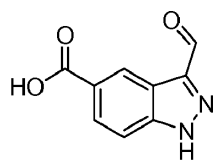
Fórmula 14



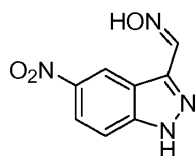
Fórmula 15



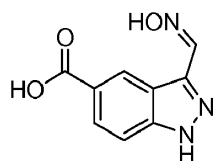
Fórmula 16



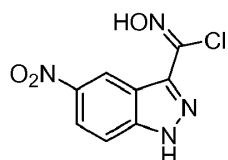
Fórmula 17



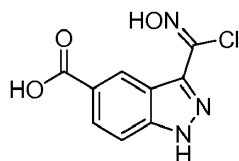
Fórmula 18



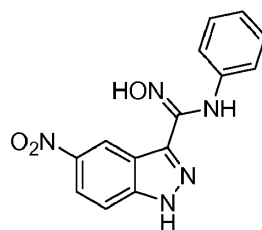
Fórmula 19



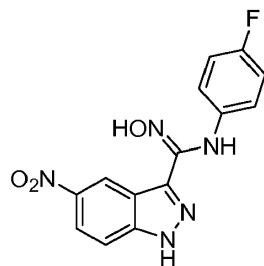
Fórmula 20



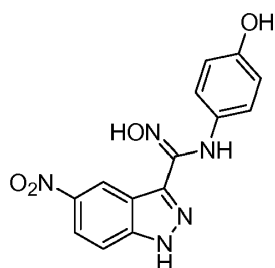
Fórmula 21



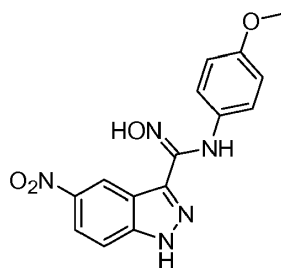
Fórmula 22



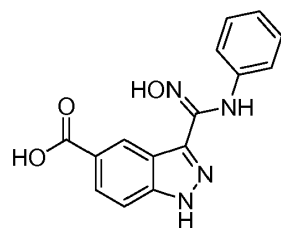
Fórmula 23



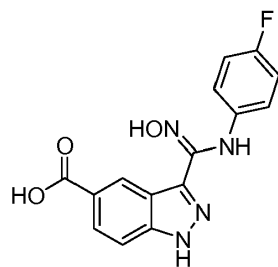
Fórmula 24



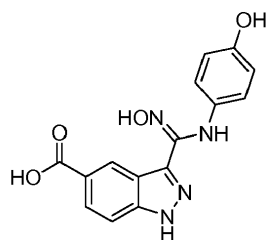
Fórmula 25



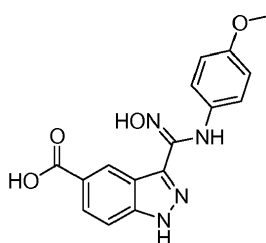
Fórmula 26



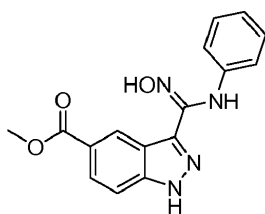
Fórmula 27



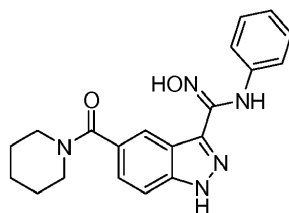
Fórmula 28



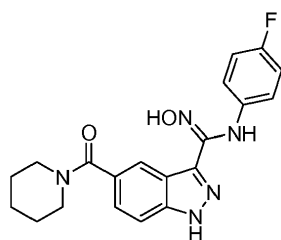
Fórmula 29



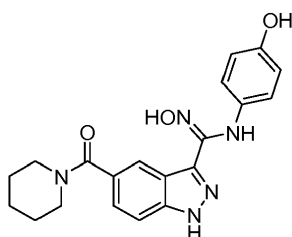
Fórmula 30



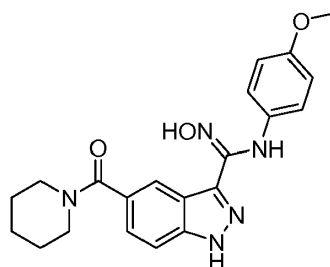
Fórmula 31



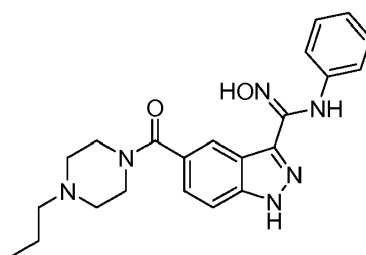
Fórmula 32



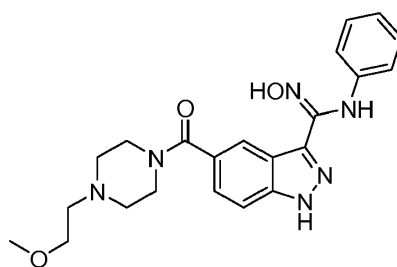
Fórmula 33



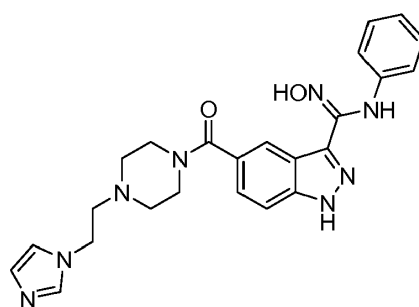
Fórmula 34



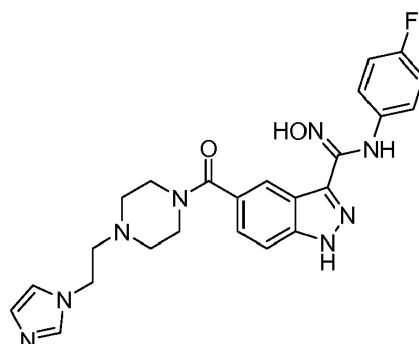
Fórmula 35



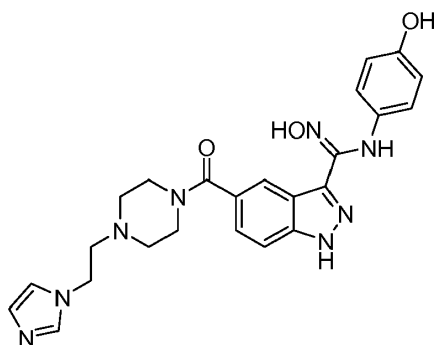
Fórmula 36



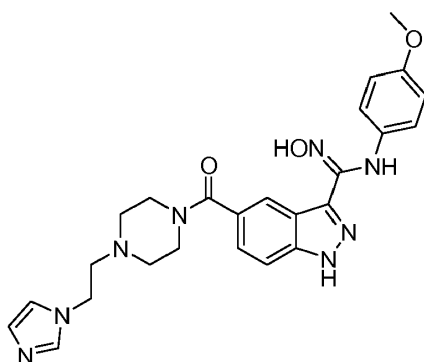
Fórmula 37



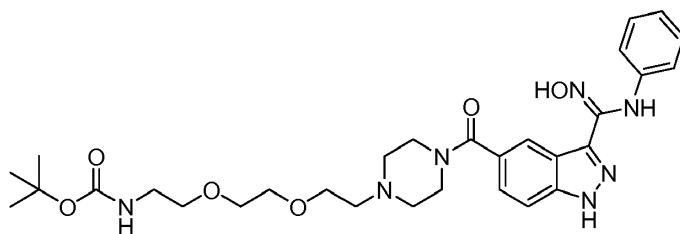
Fórmula 38



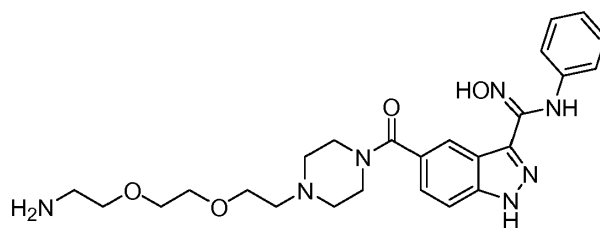
Fórmula 39



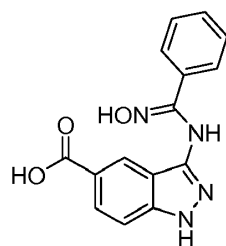
Fórmula 40



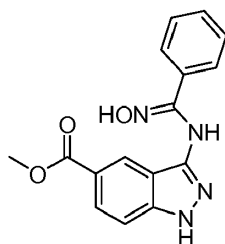
Fórmula 41



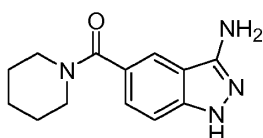
Fórmula 42



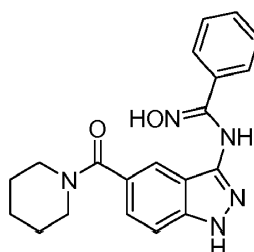
Fórmula 43



Fórmula 44

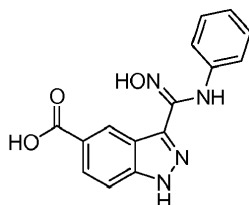


Fórmula 45

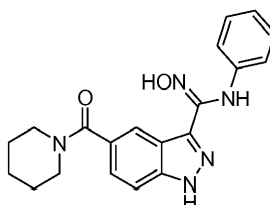


Según la presente invención, el compuesto derivado de indazol puede representarse mediante una fórmula seleccionada del grupo que consiste en la siguiente fórmula 25, fórmula 30, fórmula 31, fórmula 33, fórmula 34, fórmula 35 y fórmula 45:

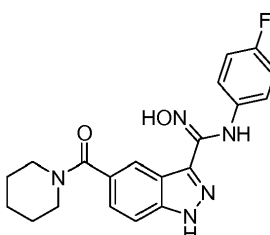
Fórmula 25



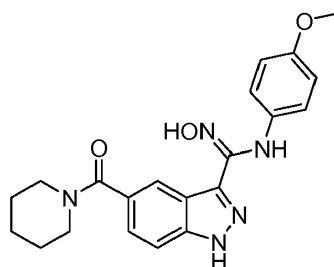
Fórmula 30



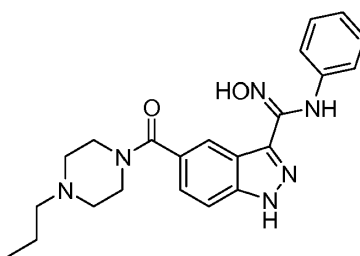
Fórmula 31



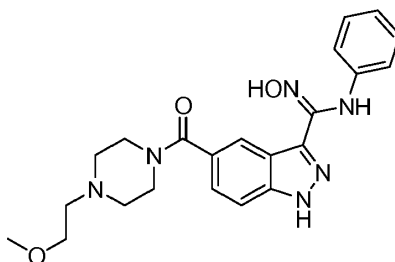
Fórmula 33



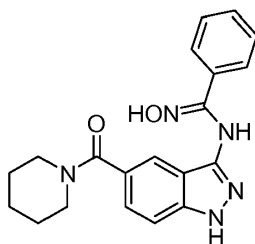
Fórmula 34



Fórmula 35

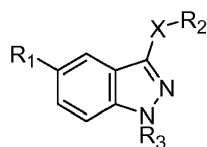


Fórmula 45



10 Según todavía otro aspecto, la presente invención proporciona un método *in vitro* para inducir la programación celular, que comprende poner en contacto una composición que comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula A con células diferenciadas:

Fórmula A



15 en donde R₁ es nitro o Y-carbonilo, en donde Y es hidroxilo, alcoxilo C₁₋₃₀, heterocicloalquilo C₂₋₃₀ que contiene nitrógeno como heteroátomo;

R₂ es hidrógeno, hidroxilo, halógeno, fenilo, alcoxilo C₁₋₃₀, alquilo C₁₋₃₀ o alquenilo C₂₋₃₀;

R₃ es hidrógeno; y

X es amido, sulfonamido, oxima o imidamido.

Según todavía otro aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto representado por la fórmula A.

- 5 El método para inducir la reprogramación celular según la presente invención se realiza utilizando la composición para inducir la reprogramación celular según la presente invención tal como se describió anteriormente, y las descripciones comunes entre las dos se omiten con el fin de evitar una redundancia indebida que conduzca a la complejidad de la memoria descriptiva.

[Efectos ventajosos]

Las características y ventajas de la presente invención se resumen tal como sigue:

- 10 (a) La presente invención se refiere a una composición para inducir la reprogramación celular, tal como se define en las reivindicaciones.
- (b) Los compuestos derivados de indazol según la presente invención pueden realizar una reprogramación celular eficaz al mismo tiempo que muestran perfiles biológicos mejorados.
- 15 (c) Los compuestos derivados de indazol según la presente invención no muestran citotoxicidad, a diferencia de compuestos de bajo peso molecular convencionales (por ejemplo, Reversina o BI0) para inducir la reprogramación celular. Por lo tanto, cuando estos compuestos se aplican clínicamente, pueden hacer una gran contribución al marcador de agentes terapéuticos celulares o inductores de reprogramación celular.
- (d) Por otra parte, no se conoce que se usen compuestos derivados de indazol convencionales para la reprogramación celular, y no pueden usarse a altas concentraciones debido a su citotoxicidad no específica.
- 20 (e) Los compuestos de la presente invención tienen una excelente capacidad de reprogramación celular al mismo tiempo que causan poca o ninguna citotoxicidad, y tienen un nuevo mecanismo de acción, en comparación con compuestos derivados de indazol convencionales.

[Breve descripción de los dibujos]

- 25 Las figuras 1 y 2 muestran los resultados de la reprogramación de mioblastos de ratón C2C12 a osteoblastos al poner en contacto los mioblastos con el compuesto de la presente invención. Las células se pusieron en contacto con LDD-1821, LDD-1664, LDD-1945, LDD-2199 o LDD-2200, que es el compuesto de la presente invención, y luego se observaron las células mediante tinción con rojo de alizarina (ATDC5: línea celular de osteocondroprogenitor).

- 30 La figura 3 muestra los resultados obtenidos al poner en contacto C2C12 con los compuestos de la presente invención y analizar las células mediante un ensayo con rojo de alizarina. El gráfico muestra la absorbancia medida después de que las células se trataran con cada uno de los compuestos.

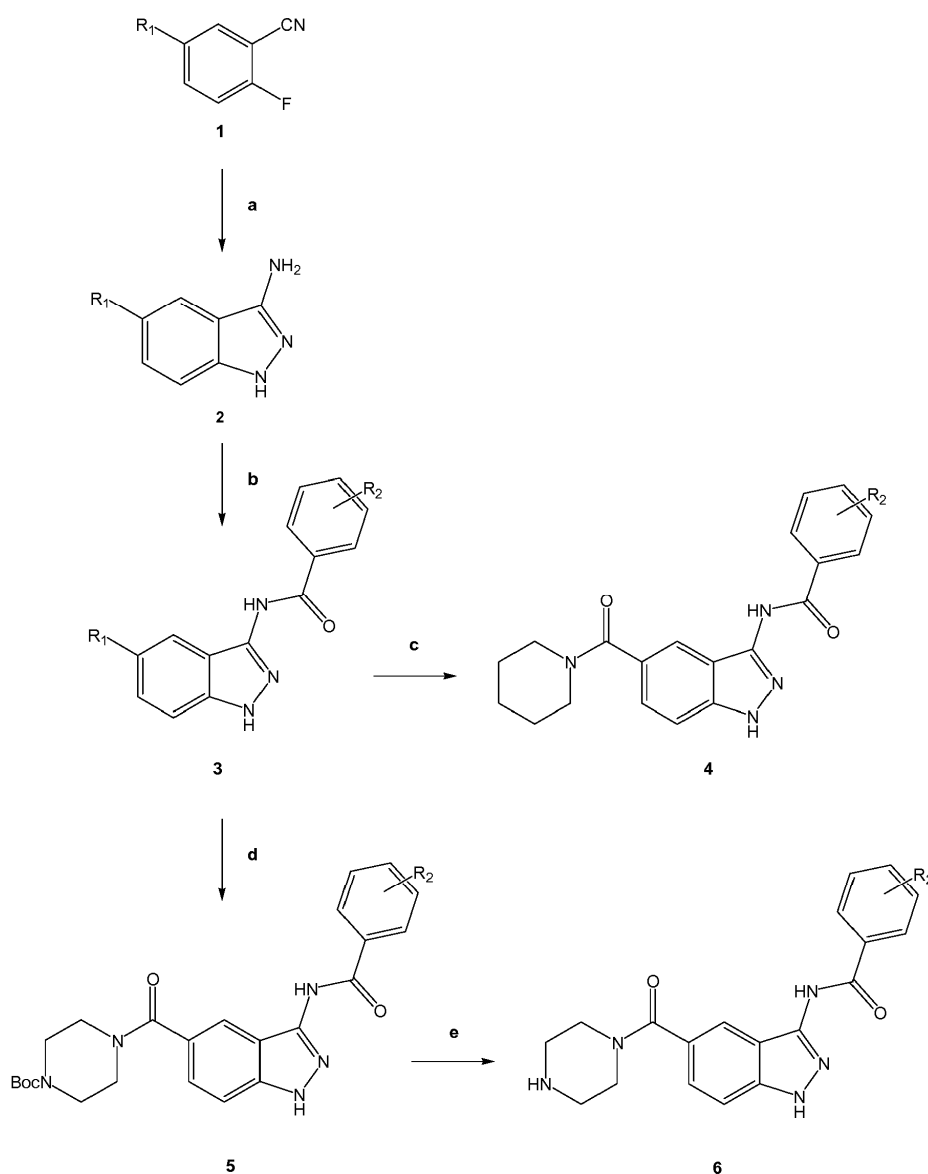
La figura 4 muestra los resultados de un ensayo MTT para mioblastos de ratón C2C12.

[Modo para la invención]

En lo sucesivo en el presente documento, la presente invención se describirá con más detalle con referencia a ejemplos. Será evidente para los expertos en la técnica que estos ejemplos son solo para fines ilustrativos.

- 35 Ejemplos sintéticos

Esquema sintético 1



Reactivos y condiciones: a) hidrato de hidrazina, 1-butanol, 110°C, 3 h; b) cloruro de R₂-benzoilo, piridina, ta, 5 h; c) piperidina, EDC HCl, DMAP, DCM, ta, 2 h; d) 4-aminopiperidin-1-carboxilato de t-butilo, EDC HCl, DMAP, DCM, ta, 2 h; e) TFA, MC, 0°C, 1 h.

- 5 Los procedimientos de reacción y los sustituyentes descritos en los siguientes ejemplos sintéticos se refieren a los mostrados en el esquema sintético 1 anterior.

Procedimientos sintéticos generales

Procedimiento general de la etapa (a)

- 10 Se disolvió un compuesto de partida (1,0 g, 6,02 mmol) en n-butanol (20 ml). Entonces, se añadió a la disolución hidrato de hidrazina (420 µL, 7,22 mmol). La mezcla se agitó a 110°C durante 2 horas y se enfrió, y luego se añadió a la mezcla de reacción cloruro de metileno (MC), y se filtró el precipitado formado, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético de referencia 1: 5-nitro -1H-indazol-3-il amina (compuesto 1)

- 15 Se disolvió 2-fluoro-5-nitrobenzonitrilo (1,0 g, 6,02 mmol) en n-butanol (20 ml). Entonces, se añadió a la disolución hidrato de hidrazina (420 µL, 7,22 mmol). La mezcla se agitó a 110°C durante 2 horas y se enfrió, y luego se añadió a la mezcla de reacción cloruro de metileno (MC), y se filtró el precipitado formado, obteniendo así el compuesto deseado (84% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,89 (d, 1H), 8,05 (dd, 1H), 7,34 (d, 2H), 5,98 (s, 2H). Masa = 178,15.

Ejemplo sintético de referencia 2: ácido 3-amino-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 2)

Se disolvió ácido 3-ciano-4-fluorobenzoico (1,0 g, 6,02 mmol) en n-butanol (20 ml). Entonces, se añadió a la disolución hidrato de hidrazina (420 µL, 7,22 mmol). La mezcla se agitó a 110°C durante 2 horas y se enfrió, y luego se añadió a la mezcla de reacción cloruro de metileno (MC), y se filtró el precipitado formado, y luego se lavó con MeOH, obteniendo así el compuesto deseado (55% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,35 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,80 (d, 2H), 7,22 (d, 1H), 5,59 (s, 2H). Masa = 177,16.

Procedimiento general de la etapa (b-2)

Se disolvió en piridina (0,3 ml) el compuesto (50 mg, 0,28 mmol) de fórmula 2 en el esquema sintético 1. Luego, se añadió R₂-cloruro de benzoilo (16,5 µL, 0,28 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía, obteniendo así el compuesto deseado (compuestos 3 a 6).

Ejemplo sintético de referencia 3 (LDD-1664): N-(5-nitro-1(2)H-indazol-3-il)-benzamida (Compuesto 3)

Se disolvió 5-nitro-1H-indazol-3-il amina (50 mg, 0,28 mmol) en piridina (0,3 ml). Luego, se añadió cloruro de benzoilo (16,5 µL, 0,28 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada lavada con salmuera, secada con Na₂SO₄ anhidro, y luego concentrada a vacío. El concentrado se purificó por cromatografía de columna, obteniendo así el compuesto deseado (42% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,95 (d, 1H), 8,22 (dd, 1H), 8,12 (m, 2H), 8,12 (m, 2H), 7,69 (m, 4H). Masa = 282,26.

Ejemplo sintético de referencia 4 (LDD-1663): 3-bromo-N-(5-nitro-1H-indazol-3-il)benzamida (compuesto 4)

Se disolvió 5-nitro-1H-indazol-3-il amina (0,14 mmol) en piridina (0,4 ml). Luego, se añadió cloruro de 3-bromobenzoilo (19 µL, 0,14 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. Se añadieron diclorometano (DCM) y hexano al extracto para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado (37% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,32 (s, 1H), 8,93 (d, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,19 (dd, 1H). Masa = 361,16.

Ejemplo sintético de referencia 5 (LDD-2348): 4-metoxi-N-(5-nitro-1H-indazol-3-il)benzamida (compuesto 5)

Se disolvió 5-nitro-1H-indazol-3-il amina (25 mg, 0,14 mmol) en piridina (0,3 ml). Luego, se añadió cloruro de 4-metoxibenzoilo (24 mg, 0,14 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El concentrado se purificó por cromatografía de columna, obteniendo así el compuesto deseado (40% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,93 (d, 1H), 8,20 (dd, 1H), 8,12 (d, 2H), 7,67 (d, 1H), 7,11 (d, 2H), 3,86 (s, 3H). Masa = 312,28.

Ejemplo sintético 6 (LDD-1665): ácido 3-benzamido-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 6)

Se disolvió ácido 3-amino-1H-indazol-5-carboxílico (25 mg, 0,14 mmol) en piridina (0,5 ml). A continuación, se añadió cloruro de benzoilo (16,5 µL, 0,14 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. Se añadió DCM para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado (31% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,98 (s, 1H), 8,11 (d, 2H), 7,94 (dd, 1H), 7,66 (t, 1H), 7,58 (t, 3H). Masa = 281,27.

Procedimiento general de la etapa (c-3)

Se disolvió en dimetilformamida (DMF, 1 ml) el compuesto (25 mg, 0,14 mmol) de fórmula 3 en el esquema sintético 1. A continuación, se añadieron dimetilaminopiridina (DMAP, 0,03 mmol), piperidina (0,17 mmol) y dicloruro de etileno (EDC, 0,28 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 7 (LDD-1820): N-(5-(piperidin-1-carbonil)-1H-indazol-3-il)benzamida (compuesto 7)

Se disolvió ácido 3-benzamido-1H-indazol-5-carboxílico (25 mg, 0,14 mmol) en DMF (1 ml). Se añadieron DMAP (0,03 mmol), piperidina (0,17 mmol) y EDC (0,28 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 11,02 (s, 1H), 9,26 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,04 (d, 2H), 7,59 (m, 3H), 7,37 (d, 1H), 7,21 (d, 1H), 3,59 (m, 4H), 1,75 (m, 6H). Masa = 348,41.

Procedimiento general de la etapa (d-4)

- 5 Se disolvió en DMF (1 ml) el compuesto (25 mg, 0,14 mmol) de fórmula 3 en el esquema sintético 1. Se añadieron DMAP (0,03 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilato de t-butilo (0,17 mmol) y EDC (0,28 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

Ejemplo sintético 8 (LDD-1690): 4-(3-benzamido 1H-indazol-5-carbonil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (compuesto 8)

- 10 Se disolvió ácido 3-benzamido-1H-indazol-5-carboxílico (25 mg, 0,14 mmol) en DMF (1 ml). Se añadieron DMAP (0,03 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilato de t-butilo (0,17 mmol) y EDC (0,28 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

- 15 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,82 (s, 1H), 8,23 (s, 2H), 8,07 (d, 2H), 7,85 (d, 1H), 7,60 (m, 4H), 3,96 (m, 3H), 2,79 (m, 2H), 1,74 (m, 2H), 1,41 (m, 11H). Masa = 449,51.

Procedimiento general de la etapa (e-5)

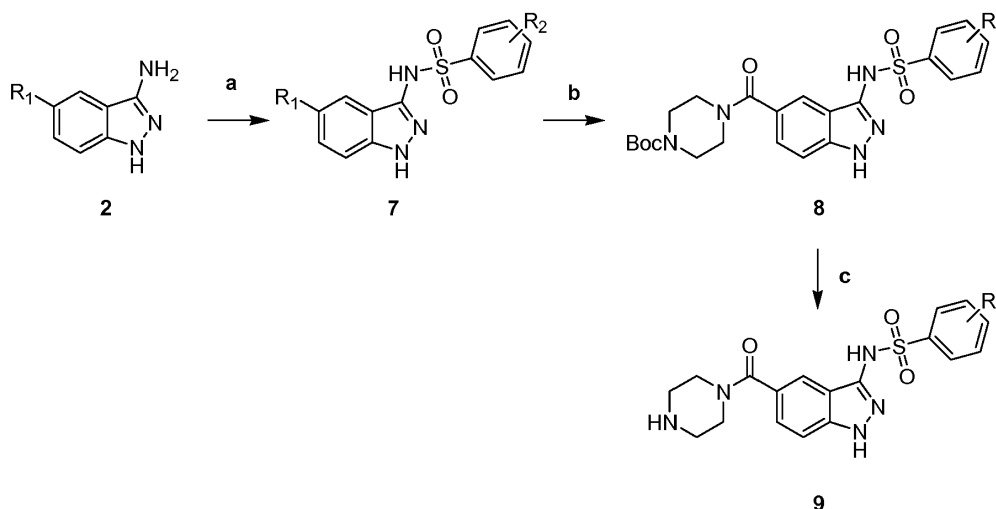
- 20 Se disolvió en DCM (0,7 ml) el compuesto (30 mg, 0,065 mmol) de fórmula 5 en el esquema sintético 1. Se añadió a la disolución TFA (0,2 ml) a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 9 (LDD-1691): N-(5-(piperazin-1-carbonil)-1H-indazol-3-il)benzamida (compuesto 9)

- 25 Se disolvió 4-(3-benzamido 1H-indazol-5-carbonil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (30 mg, 0,065 mmol) en DCM (0,7 ml). A continuación, se añadió a la disolución ácido trifluoroacético (TFA, 0,2 ml) a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y MeOH, obteniendo así el compuesto deseado (20% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,86 (s, 1H), 8,40 (d, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,07 (d, 2H), 7,85 (d, 1H), 7,63 (m, 4H). Masa = 349,39.

Esquema sintético 2



- 30 Reactivos y condiciones: a) cloruro de R₂-bencenosulfonilo, piridina, ta, 5h; b) 4-aminopiperidin-1-carboxilato de t-butilo, EDC HCl, DMAP, DCM, ta, 2h; c) TFA, MC, 0°C, 1h.

Los procedimientos de reacción y sustituyentes descritos en los ejemplos sintéticos a continuación se refieren a los mostrados en el esquema sintético 2 anterior.

Procedimientos sintéticos generalesProcedimiento general de la etapa (a)

- 5 Se disolvió en piridina (0,9 ml) el compuesto (50 mg, 0,28 mmol) de fórmula 2 en el esquema sintético 2. A continuación, se añadió cloruro de R₂-bencenosulfonilo (36 µL, 0,28 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. Se añadió DCM para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 10 (LDD-1667): N-(5-nitro-1H-indazol-3-il)bencenosulfonamida (compuesto 10)

- 10 Se disolvió 5-nitro-1H-indazol-3-il amina (50 mg, 0,28 mmol) en piridina (0,9 ml). A continuación, se añadió cloruro de bencenosulfonilo (36 µL, 0,28 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. Se añadió MC para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado (43% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,14 (s, 1H), 8,70 (d, 1H), 8,12 (dd, 1H), 7,78 (d, 2H), 7,55 (m, 4H). Masa = 318,31.

- 15 Ejemplo sintético 11 (LDD-1666): 3-bromo-N-(5-nitro-1H-indazol-3-il)bencenosulfonamida (compuesto 11)

Se disolvió 5-nitro-1H-indazol-3-il amina (0,28 mmol) en piridina (0,9 ml). A continuación, se añadió 3-cloruro de bromobencenosulfonilo (40 µL, 0,28 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. Se añadieron DCM y hexano al extracto para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado (50% de rendimiento).

- 20 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,99 (s, 1H), 8,72 (d, 1H), 8,19 (m, 1H), 7,99 (t, 1H), 7,87 (d, 1H), 7,81 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,54 (t, 1H). Masa = 397,20.

Ejemplo sintético 12 (LDD-1668): ácido 3-(fenilsulfonamido)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 12)

- 25 Se disolvió ácido 3-amino-1H-indazol-5-carboxílico (25 mg, 0,14 mmol) en piridina (0,7 ml). se añadió cloruro de bencenosulfonilo (20 µL, 0,14 mmol) a la disolución que se agitó luego durante 1 hora, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl. Se añadió metanol al extracto para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado (20% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,88 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,89 (dd, 3H), 7,63 (m, 4H). Masa = 317,32.

Procedimiento general de la etapa (b-2)

- 30 Se disolvió en DMF (0,8 ml) el compuesto (25 mg, 0,08 mmol) de fórmula 7 en el esquema sintético 2. Se añadieron DMAP (0,02 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilato de t-butilo (0,09 mmol) y EDC (0,16 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 13 (LDD-1692): 4-(3-(fenilsulfonamido)-1H-indazol-5-carbonil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (compuesto 13)

- 35 Se disolvió ácido 3-(fenilsulfonamido)-1H-indazol-5-carboxílico (25 mg, 0,08 mmol) en DMF (0,8 ml). Se añadieron DMAP (0,015 mmol), 4-aminopiperidin-1-carboxilato de t-butilo (0,09 mmol) y EDC (0,16 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (50% de rendimiento).

- 40 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,77 (s, 1H), 8,31 (d, 2H), 7,83 (m, 3H), 7,62 (m, 1H), 7,57 (t, 2H), 7,44 (d, 1H). Masa = 485,56.

Procedimiento general de la etapa (c-3)

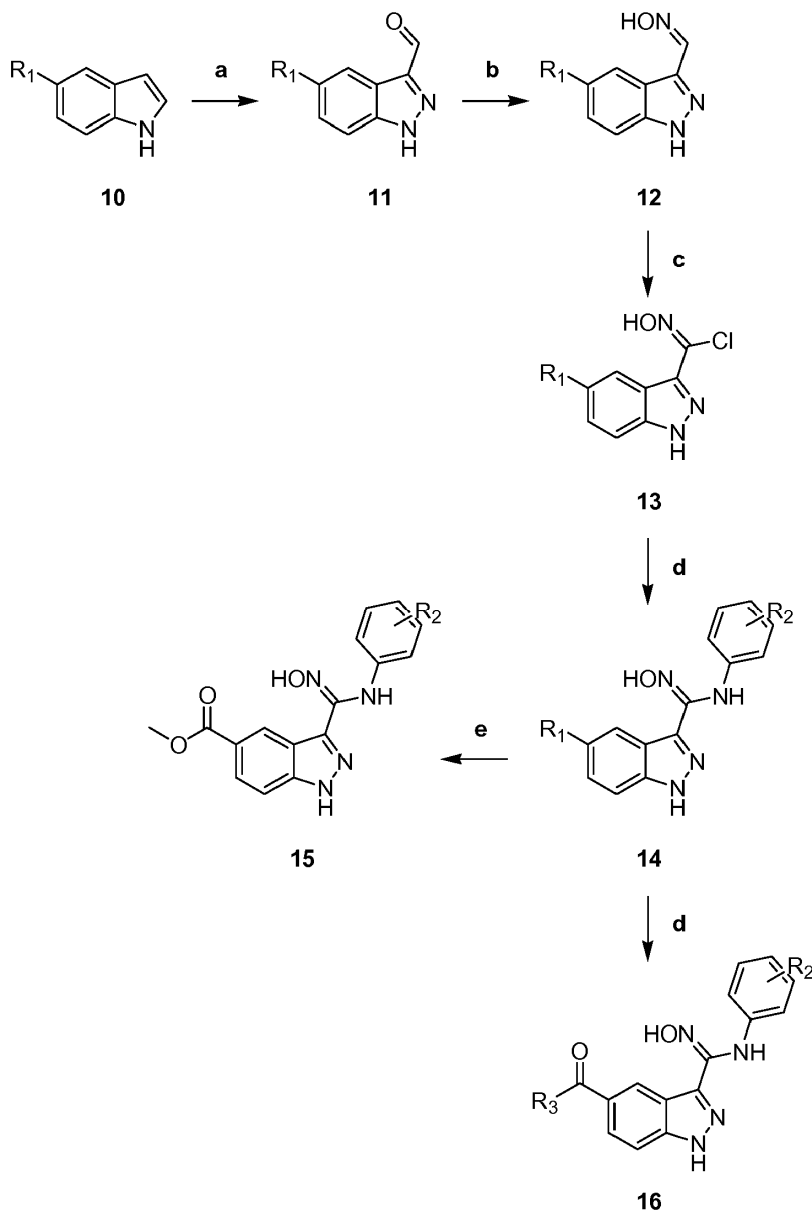
- 45 Se disolvió en DCM (0,4 ml) el compuesto (20 mg, 0,038 mmol) de fórmula 8 en el esquema sintético 2. Se añadió a la disolución TFA (0,15 ml) a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y MeOH, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 14 (LDD-1693): N-(5-(Piperazin-1-carbonil)-1H-indazol-3-il)bencenosulfonamida (compuesto 14)

- 50 Se disolvió 4-(3-(fenilsulfonamido)-1H-indazol-5-carbonil)piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (20 mg, 0,038 mmol) en DCM (0,4 ml). A continuación, se añadió TFA (0,15 ml) a la disolución a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado (20% de rendimiento).

^1H -RMN (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11,92 (s, 1H), 8,28 (d, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,80 (m, 2H), 7,68 (d, 1H), 7,38 (d, 3H), 7,20 (d, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,16 (d, 3H), 2,78 (t, 2H), 1,85 (m, 2H), 1,57 (m, 2H). Masa = 385,44.

Esquema sintético 3



- 5 Reactivos y condiciones: a) nitrito de sodio, HCl, agua, ta, 8h; b) clorhidrato de hidroxilamina, TEA, DMF, 80°C, 12h; c) NCS, DMF, 40°C, 1h; d) R_2 -anilina, TEA, 1,4-dioxano, ta, 1h; e) TMS-diazometano, DMF, 0°C, 30 min; f) diversas aminas.

Los procedimientos de reacción y sustituyentes descritos en los ejemplos a continuación se refieren a los mostrados en el esquema sintético 3 anterior.

10 Procedimientos sintéticos generales

Procedimiento sintético de la etapa (a)

Se añadió un compuesto de partida (1,0 g, 6,2 mmol) a agua (40 ml), y a esta se le añadió una disolución de nitrito de sodio (4,3 g, 62 mmol) en agua. A continuación, se añadió lentamente gota a gota HCl 3N a la mezcla de reacción a lo largo de 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, y luego se filtró el precipitado formado. El precipitado se secó completamente, obteniendo así el compuesto deseado.

- 15

Ejemplo sintético de referencia 15: 5-nitro-1H-indazol-3-carbaldehído (compuesto 15)

Se añadió 5-nitro-1H-indol (1,0 g, 6,2 mmol) a agua (40 ml), y a esta se le añadió una disolución de nitrito de sodio (4,3 g, 62 mmol) en agua. A continuación, se añadió lentamente gota a gota HCl 3N (21 ml) a la mezcla de reacción a lo largo de 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, y luego se filtró el precipitado formado. El precipitado se secó completamente a vacío, obteniendo así el compuesto deseado (40% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,98 (s, 1H), 9,75 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,56 (m, 2H). Masa = 191,15.

Ejemplo sintético de referencia 16: ácido 3-formil-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 16)

Se añadió ácido 1H-indol-5-carboxílico (1,0 g, 6,02 mmol) a agua (40 ml), y a esta se le añadió una disolución de nitrito de sodio (4,3 g, 62 mmol) en agua. A continuación, se añadió lentamente gota a gota HCl 3N (21 ml) a la mezcla de reacción a lo largo de 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, y luego se filtró el precipitado formado. El precipitado se secó completamente a vacío, obteniendo así el compuesto deseado (84% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,20 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,02 (d, 1H), 7,75 (d, 2H). Masa = 190,16.

Procedimiento general de la etapa (b-2)

Se disolvió en DMF (13 ml) el compuesto (500 mg, 2,63 mmol) del compuesto de fórmula 11 en el esquema sintético 3. A continuación, se añadió clorhidrato de hidroxilamina (550 mg, 7,89 mmol) y trietilamina (110 µL, 7,89 mmol) a la disolución que luego se agitó a 80°C durante 12 horas, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El compuesto deseado que va a usarse en una reacción subsiguiente se obtuvo sin purificación por separado.

Ejemplo sintético de referencia 17: oxima de 5-nitro-1H-indazol-3-carboxaldehído (compuesto 17)

Se disolvió 5-nitro-1H-indazol-3-carbaldehído (500 mg, 2,63 mmol) en DMF (13 ml). Se añadieron clorhidrato de hidroxilamina (550 mg, 7,89 mmol) y trietilamina (110 µL, 7,89 mmol) a la disolución que luego se agitó a 80°C durante 12 horas, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El compuesto deseado que va a usarse en una reacción subsiguiente se obtuvo sin purificación por separado (93% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,98 (s, 1H), 11,12 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,56 (m, 2H), 7,95 (s, 1H). Masa = 206,16.

Ejemplo sintético de referencia 18: ácido 3-((hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 18)

Se disolvió ácido 3-formil-1H-indazol-5-carboxílico (500 mg, 2,63 mmol) en DMF (13 ml). Se añadieron clorhidrato de hidroxilamina (550 mg, 7,89 mmol) y trietilamina (110 µL, 7,89 mmol) a la disolución que luego se agitó a 80°C durante 12 horas, seguido de extracción con acetato de etilo y HCl 1N. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El compuesto deseado que va a usarse en una reacción subsiguiente se obtuvo sin purificación por separado (93% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,61 (s, 1H), 8,75 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,96 (d, 2H), 7,62 (d, 1H). Masa = 205,17.

Procedimiento general de la etapa (c-3)

Se disolvió en DMF (12 ml) el compuesto (500 mg, 2,44 mmol) de fórmula 12 en el esquema sintético 3. A continuación, se añadió gota a gota N-clorosuccinimida (320 mg, 2,44 mmol) a la disolución que luego se agitó a 40°C durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El compuesto deseado se obtuvo sin purificación por separado.

Ejemplo sintético 19: Cloruro de N-hidroxi-5-nitro-1H-indazol-3-carbamimidoilo (compuesto 19)

Se disolvió oxima de 5-nitro-1H-indazol-3-carboxaldehído (500 mg, 2,44 mol) en DMF (12 ml). Se añadió N-clorosuccinimida (320 mg, 2,44 mmol) a la disolución que luego se agitó a 40°C durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El compuesto deseado se obtuvo sin purificación por separado (80% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,98 (s, 1H), 11,12 (s, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,56 (m, 2H). Masa = 240,60.

Ejemplo sintético 20: ácido 3-(cloro(hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 20)

Se disolvió ácido 3-((hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (500 mg, 2,44 mmol) en DMF (12 ml). Se añadió N-clorosuccinimida (320 mg, 2,44 mmol) a la disolución que luego se agitó a 40°C durante 1 hora. El residuo resultante

se extrajo con acetato de etilo y agua. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. El compuesto deseado se obtuvo sin purificación por separado (86% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,98 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 7,99 (d, 1H), 7,68 (d, 1H). Masa = 239,62.

Procedimiento general de la etapa (d-4)

- 5 Se disolvió el compuesto (30 mg, 0,13 mmol) de fórmula 13 en el esquema sintético 3 en (1,5 ml). A continuación, se añadió R₂-anilina (35 µL, 0,38 mmol) a la disolución que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 21 (LDD-2369): N'-hidroxi-5-nitro-N-fenil-1H-indazol-3-carboxiimidamida (compuesto 21)

- 10 Se disolvió cloruro de N-hidroxi-5-nitro-1H-indazol-3-carbamimidoilo (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). Se añadió anilina (35 µL, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,97 (s, 1H), 8,90 (d, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,23 (dd, 1H), 7,75 (dd, 1H). Masa = 297,27.

- 15 Ejemplo sintético 22 (LDD-2370): N-(4-fluorofenil)-N'-hidroxi-5-nitro-1H-indazol-3-carboxiimidamida (compuesto 22)

Se disolvió cloruro de N-hidroxi-5-nitro-1H-indazol-3-carbamimidoilo (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). A continuación, se añadió 4-fluoroanilina (37 µL, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

- 20 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,95 (s, 1H), 8,92 (d, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,23 (dd, 1H), 7,75 (dd, 1H), 6,94 (m, 2H), 6,75 (m, 2H). Masa = 315,26.

Ejemplo sintético 23 (LDD-2371): N'-hidroxi-N-(4-hidroxifenil)-5-nitro-1H-indazol-3-carboxiimidamida (compuesto 23)

- 25 Se disolvió cloruro de N-hidroxi-5-nitro-1H-indazol-3-carbamimidoilo (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). A continuación, se añadió 4-hidroxianilina (41 mg, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,65 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 8,84 (d, 1H), 8,21 (dd, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,72 (d, 1H), 6,60 (m, 2H), 6,50 (m, 2H). Masa = 313,27.

Ejemplo sintético 24 (LDD-2372): N'-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-5-nitro-1H-indazol-3-carboxiimidamida (compuesto 24)

- 30 Se disolvió cloruro de N-hidroxi-5-nitro-1H-indazol-3-carbobamimidoilo (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). A continuación, se añadió 4-metoxianilina (41 mg, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (33% de rendimiento).

- 35 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,74 (s, 1H), 8,87 (d, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,21 (dd, 1H), 7,72 (d, 1H), 6,68 (m, 4H). Masa = 327,30.

Ejemplo sintético 25 (LDD-1986): ácido 3-(N'-hidroxi-N-fenilcarbamimidoil)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 25)

- 40 Se disolvió ácido 3-(cloro(hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). A continuación, se añadió anilina (35 µL, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (75% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,82 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,38 (s, 1H), 7,95 (dd, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,07 (t, 2H), 6,78 (t, 1H), 6,69 (d, 2H). Masa = 296,29.

Ejemplo sintético 26 (LDD-2197): ácido 3-N-(4-fluorofenil)-N'-hidroxicarbamimidoil-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 26)

- 45 Se disolvió ácido 3-(cloro(hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (30 mg, 0,13 mmol) en (1,5 ml). A continuación, se añadió 4-fluoroanilina (37 µL, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (29% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,79 (s, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,95 (dd, 1H), 7,60 (dd, 1H), 6,93 (m, 2H), 6,714 (m, 2H). Masa = 314,28.

Ejemplo sintético 27 (LDD-2349): ácido 3-(N'-hidroxi-N-(4-hidroxifenil)carbamimidoil)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 27)

- 5 Se disolvió ácido 3-(cloro(hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). A continuación, se añadió 4-hidroxianilina (41 mg, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (31% de rendimiento).

10 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,23 (s, 1H), 10,45 (s, 1H), 8,93 (s, 1H), 8,90 (s, 1H), 7,92 (m, 2H), 7,47 (d, 1H), 6,64 (d, 2H), 6,40 (d, 2H). Masa = 312,28.

Ejemplo sintético 28 (LDD-2198): ácido 3-(N'-hidroxi-N-(4-metoxifenil)carbaminidoil)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 28)

- 15 Se disolvió ácido 3-(cloro(hidroxiimino)metil)-1H-indazol-5-carboxílico (30 mg, 0,13 mmol) en etanol (1,5 ml). A continuación, se añadió 4-metoxianilina (41 mg, 0,38 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a 80°C durante 2 horas. El residuo resultante se concentró para eliminar el etanol, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (31% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,60 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,89 (dd, 1H), 7,54 (dd, 1H), 6,61 (s, 4H), 3,58 (s, 3H). Masa = 326,31.

Procedimiento general de la etapa (e-5)

- 20 Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,02 mmol) obtenido en el ejemplo sintético 25 en DMF (0,3 ml). A continuación, se añadió lentamente gota a gota tetrametilsilano (TMS)-diazometano (100 µL) a la disolución a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado.

25 Ejemplo sintético 29 (LDD-2196): 3-(N'-hidroxi-N-fenilcarbamimidoil)-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (compuesto 29)

Se disolvió en DMF (0,3 ml) el compuesto (10 mg, 0,02 mmol) obtenido en el ejemplo sintético 25. A continuación, se añadió lentamente gota a gota TMS-diazometano (100 µL) a la disolución a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (83% de rendimiento).

30 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,27 (s, 1H), 9,56 (dd, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,65 (dd, 1H), 8,25 (dd, 1H), 7,54 (m, 2H), 7,19 (t, 1H), 7,06 (dd, 2H), 3,55 (s, 3H). Masa = 310,31.

Procedimiento general de la etapa (f-6)

- 35 Se disolvió en DMF (0,3 ml) el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) de fórmula 14 en el esquema sintético 3. A continuación, se añadieron hidroxibenzotriazol (HOBt, 0,04 mmol), piperidina (0,09 mmol), TEA (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 30 (LDD-1821): N'-hidroxi-N-fenil-5-(piperidin-1-carbonil)-1H-indazol-3-carboxamida (compuesto 30)

- 40 Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) de fórmula 14 en el esquema sintético 3 en DMF (0,3 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,04 mmol), piperidina (0,09 mmol), TEA (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución de reacción que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (65% de rendimiento).

45 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,67 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,02 (t, 2H), 6,73 (t, 1H), 6,64 (d, 2H), 3,56 (m, 4H), 1,58 (m, 6H). Masa = 363,42.

Ejemplo sintético 31 (LDD-2199): N-(4-fluorofenil)-N'-hidroxi-5-(piperidin-1-carbonil)-1H-indazol-3-carboxamida (compuesto 31)

- 50 Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 26 en DMF (0,3 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,04 mmol), piperidina (0,09 mmol), TEA (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa

saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (72% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,67 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,58 (dd, 1H), 7,38 (dd, 1H), 6,915 (m, 2H), 6,71 (m, 2H), 3,33 (m, 4H), 1,62 (m, 6H). Masa = 381,41.

5 Ejemplo sintético 32 (LDD-2350): N'-hidroxi-N-(4-hidroxifenil)-5-(piperidin-1-carbonil)-1H-indazol-3-carboxamida (compuesto 32)

Se disolvió en DMF (0,3 ml) el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 27. A continuación, se añadieron HOBt (0,04 mmol), piperidina (0,09 mmol), TEA (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (65% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,25 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,31 (dd, 1H), 6,53 (m, 2H), 6,44 (m, 2H), 3,39 (m, 4H), 1,60 (m, 6H). Masa = 379,42.

15 Ejemplo sintético 33 (LDD-2200): N'-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-5-(piperidin-1-carbonil)-1H-indazol-3-carboxamida (compuesto 33)

Se disolvió en DMF (0,3 ml) el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 28. A continuación, se añadieron HOBt (0,04 mmol), piperidina (0,09 mmol), TEA (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (41% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,48 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,56 (dd, 1H), 7,36 (dd, 1H), 3,55 (s, 3H), 3,46 (m, 4H), 1,62 (m, 6H). Masa = 393,45.

Ejemplo sintético 34 (LDD-1987): N'-hidroxi-N-fenil-5-(4-propilpiperazin-1-carbonil)-1H-indazol-3-carboxamida (compuesto 34)

25 Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,3 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,04 mmol), 1-propilpiperazina (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (41% de rendimiento).

30 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,69 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 7,06 (t, 2H), 6,77 (t, 1H), 6,69 (d, 2H), 3,45 (m, 4H), 2,37 (m, 4H), 2,29 (t, 2H), 1,47 (q, 2H), 0,88 (m, 3H). Masa = 406,49.

Ejemplo sintético 35 (LDD-1988): N'-hidroxi-5-(4-(2-metoxietil)piperazin-1-carbonil)-N-fenil-1H-indazol-3-carboximidamida (compuesto 35)

35 Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,3 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,04 mmol), 1-(2-metoxietil)piperazina (0,09 mmol) y EDC (0,09 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y agua. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice, obteniendo así el compuesto deseado (36% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,70 (s, 1H), 8,39 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 7,06 (t, 2H), 6,77 (t, 1H), 6,69 (d, 2H), 3,46 (m, 6H), 3,24 (s, 1H), 2,52 (m, 2H), 2,40 (m, 4H). Masa = 422,49.

40 Ejemplo sintético 36 (LDD-2351): 5-(4-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazin-1-carbonil)-N'-hidroxi-N-fenil-1H-indazol-3-carboximidamida (compuesto 36)

45 Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,6 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,08 mmol), 1-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazina (0,19 mmol) y EDC (0,19 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con una mezcla de disolventes de MC:MeOH = 10:1 y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado (16% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,74 (s, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,870 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,58 (dd, 1H), 7,38 (dd, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,05 (t, 2H), 6,87 (m, 1H), 6,77 (t, 1H), 6,68 (d, 2H), 4,10 (t, 2H), 3,46 (m, 4H), 2,68 (t, 2H), 2,42 (m, 4H). Masa = 458,53.

50

Ejemplo sintético 37 (LDD-2352): 5-(4-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazin-1-carbonil)-N-(4-fluorofenil)-N'-hidroxi-1H-indazol-3-carboximidamida (compuesto 37)

Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,6 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,08 mmol), 1-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazina (0,19 mmol) y EDC (0,19 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con una mezcla de disolventes de MC:MeOH = 10:1 y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado (29% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,74 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 7,20 (t, 1H), 6,92 (m, 3H), 6,70 (m, 2H), 4,10 (t, 2H), 3,50 (m, 4H), 2,68 (t, 2H), 2,40 (m, 4H). Masa = 476,52.

Ejemplo sintético 38 (LDD-2354): 5-(4-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazin-1-carbonil)-N'-hidroxi-N-(4-hidroxifenil)-1H-indazol-3-carboximidamida (compuesto 38)

Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,6 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,08 mmol), 1-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazina (0,19 mmol) y EDC (0,19 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con una mezcla de disolventes de MC:MeOH = 10:1 y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado (14% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,29 (s, 1H), 10,41 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,36 (dd, 1H), 7,22 (m, 1H), 6,90 (m, 1H), 6,55 (m, 2H), 6,49 (m, 2H), 4,10 (t, 2H), 3,50 (m, 4H), 2,67 (t, 2H), 2,42 (m, 4H). Masa = 474,52.

Ejemplo sintético 39 (LDD-2353): 5-(4-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazin-1-carbonil)-N'-hidroxi-N-(4-metoxifenil)-1H-indazol-3-carboximidamida (compuesto 39)

Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,6 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,08 mmol), 1-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazina (0,19 mmol) y EDC (0,19 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con una mezcla de disolventes de MC:MeOH = 10:1 y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado (31% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,29 (s, 1H), 10,41 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,36 (dd, 1H), 7,22 (m, 1H), 6,90 (m, 1H), 6,55 (m, 2H), 6,49 (m, 2H), 4,10 (t, 2H), 3,50 (m, 4H), 2,67 (t, 2H), 2,42 (m, 4H). Masa = 488,55.

Ejemplo sintético 40 (LDD-2319): (2-(2-(4-(3-(N'-hidroxi-N-fenilcarbamidil)-1H-indazol-5-carbonil)piperazin-1-il)etoxi)etoxi)etil)carbamato de terc-butilo (compuesto 40)

Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DMF (0,6 ml). A continuación, se añadieron HOBt (0,08 mmol), 1-(2-(1H-imidazol-1-il)etil)piperazina (0,19 mmol) y EDC (0,19 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El residuo resultante se extrajo con una mezcla de disolventes de MC:MeOH = 10:1 y una disolución acuosa saturada de NaHCO₃. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así el compuesto deseado (90% de rendimiento).

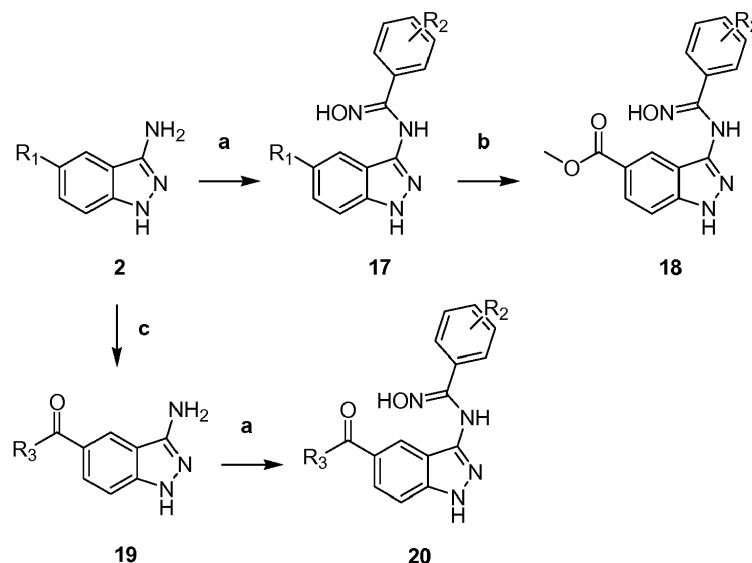
¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,68 (s, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,33 (dd, 1H), 6,99 (t, 2H), 6,71 (m, 2H), 6,63 (d, 2H), 3,49 (m, 8H), 3,29 (m, 4H), 3,01 (m, 2H), 2,49 (m, 2H), 2,37 (m, 4H), 1,32 (s, 9H). Masa = 595,7.

Ejemplo sintético 41 (LDEH2320): 5-(4-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etil)piperazin-1-carbonil)-N'-hidroxi-N-fenil-1H-indazol-3-carboximidamida (compuesto 41)

Se disolvió el compuesto (10 mg, 0,02 mmol) obtenido en el ejemplo 25 en DCM (0,3 ml). A continuación, se añadió a la disolución TFA (0,15 ml) a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice usando cloroformo saturado con amoníaco y metanol, obteniendo así (85% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,75 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,38 (dd, 1H), 7,03 (t, 2H), 6,75 (t, 1H), 6,68 (d, 2H), 3,54 (m, 12H), 2,86 (m, 2H), 2,49 (m, 2H), 2,42 (m, 4H). Masa = 495,58.

Esquema sintético 4



Reactivos y condiciones: a) cloruro de R₂-N-hidroxi-N-benzimidamido, TEA, 1,4-dioxano, ta, 18h; b) TMS-diazometano, DMF, 0°C, 30 min; c) diversas aminas, EDC HCl, HOBt, DMF, ta, 1h.

- 5 Los procedimientos de reacción y sustituyentes descritos en los ejemplos sintéticos a continuación se refieren a los mostrados en el esquema sintético 4 anterior.

Procedimientos sintéticos generales

Procedimiento sintético general de la etapa (a)

- 10 Se disolvió en 1,4-dioxano (1 ml) el compuesto (20 mg, 0,11 mmol) de fórmula 2 en el esquema sintético 4 anterior. Luego, se añadieron a la disolución cloruro de R₂-N-hidroxi-N-benzimidamido (0,17 mmol) y TEA (0,22 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, y luego el residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 42 (LDD-2194): ácido 3-(N'-hidroxibenzimidamido)-1H-indazol-5-carboxílico (compuesto 42)

- 15 Se disolvió en 1,4-dioxano (1 ml) el compuesto (20 mg, 0,11 mmol) obtenido en el ejemplo sintético 2. Luego, se añadieron a la disolución cloruro de N-hidroxi-N-benzimidamido (0,17 mmol) y TEA (0,22 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, y luego el residuo resultante se extrajo con acetato de etilo y disolución acuosa saturada de NH₄Cl. A continuación, se realizó purificación por cromatografía en gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado (23% de rendimiento).

- 20 ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,31 (s, 1H), 8,62 (m, 1H), 7,63 (dd, 1H), 7,43 (m, 3H), 7,33 (m, 2H), 7,16 (dd, 1H), 6,81 (s, 2H). Masa = 296,29.

Ejemplo sintético 45 (LDD-1945): N'-hidroxi-N-(5-(piperidin-1-carbonil)-1H-indazol-3-il)benzimidamida (compuesto 45)

- 25 Se disolvió en 1,4-dioxano (0,4 ml) el compuesto (10 mg, 0,04 mmol) obtenido en el ejemplo sintético 44. Luego, se añadieron a la disolución cloruro de N-hidroxi-N-benzimidamido (0,04 mmol) y TEA (0,08 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, y se filtró el precipitado formado, y se lavó con MC, obteniendo así el compuesto deseado (31% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,28 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,43 (m, 3H), 7,32 (d, 2H), 7,18 (m, 2H), 6,48 (s, 2H), 3,57 (m, 4H), 1,54 (m, 6H). Masa = 363,42.

Procedimiento general de la etapa (b-2)

- 30 Se disolvió en DMF (0,3 ml) el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) de fórmula 17 en el esquema sintético 4. Luego, se añadió lentamente gota a gota TMS-diazometano (100 µL) a la disolución a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado.

Ejemplo sintético 43 (LDD-2195): 3-(N'-hidroxibenzimidamido)-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (compuesto 43)

Se disolvió en DMF (0,3 ml) el compuesto (10 mg, 0,03 mmol) obtenido en el ejemplo sintético 42. Luego, se añadió lentamente gota a gota TMS-diazometano (100 µL) a la disolución a 0°C, seguido de agitación a 0°C durante 30 minutos. La disolución de reacción se concentró a vacío, y luego se purificó por cromatografía en gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado (85% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,31 (s, 1H), 8,66 (m, 1H), 7,640 (dd, 1H), 7,43 (m, 3H), 7,33 (m, 2H), 7,19 (dd, 1H), 6,87 (s, 2H), 3,84 (s, 3H). Masa = 310,31.

Procedimiento general de la etapa (c-3)

Se disolvió en DMF (2 ml) el compuesto (100 mg, 0,56 mmol) de fórmula 2 en el esquema sintético 2. A continuación, se añadieron HOBt (0,85 mmol), diversas aminas (0,68 mmol), TEA (1,7 mmol) y EDC (1,13 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. El residuo resultante se extrajo con disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. Se añadieron DCM y hexano al concentrado para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado.

Ejemplo sintético de referencia 44: (3-amino-1H-indazol-5-il)(piperidin-1-il)metanona (compuesto 44)

Se disolvió en DMF (2 ml) el compuesto (100 mg, 0,56 mmol) de fórmula 2 en la fórmula 4. A continuación, se añadieron HOBt (0,85 mmol), diversas aminas (0,68 mmol), TEA (1,7 mmol) y EDC (1,13 mmol) a la disolución que luego se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. El residuo resultante se extrajo con disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ anhidro, y luego se concentró a vacío. Se añadieron DCM y hexano al concentrado para formar un precipitado, seguido de filtración, obteniendo así el compuesto deseado (41% de rendimiento).

¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11,58 (s, 1H), 7,81 (m, 1H), 7,24 (s, 2H), 5,50 (s, 2H), 3,40 (m, 4H), 1,61 (m, 6H). Masa = 244,30.

Ejemplos experimentalesEjemplo experimental 1: Selección celular por tinción con rojo de alizarinaSelección de compuestos de bajo peso molecular que inducen la reprogramación celular directa

Un método para identificar compuestos que inducen la reprogramación celular se basó en un estudio previo (PMID: 23044010 y 18974773) sobre la conversión de miocito a osteocito mediante inducción de formación ósea y una publicación previa de reversina (Chen S 2004).

Se sembraron mioblastos de esqueletos de ratón C2C12 en una placa de cultivo celular de 24 pocillos a una densidad de 1×10^4 células por pocillo. 24 horas después de la siembra, se añadió el compuesto de interés a tres pocillos a una concentración de 1. Para un control positivo, se trataron las células con reversina 100 nM o BIO 2 µM. Se sabe que los dos compuestos inducen la conversión de mioblastos a miocitos (Chen S 2004 y Kim WH recapitulan artículos). Para un control negativo, las células no se trataron o se trataron con DMSO. Las células se trataron con cada compuesto durante un total de 72 horas, y se trataron adicionalmente con cada compuesto después de 48 horas. La citotoxicidad de cada compuesto pudo confirmarse a partir de la desaparición de una porción de las células y a partir de los restos celulares flotantes durante el cultivo, y se seleccionó de nuevo un compuesto que causaba citotoxicidad a una concentración de 250 nM. Después de 72 horas, se reemplazó el medio con un medio inductor de diferenciación osteogénica (tratado durante 14 días con un DMEM suplementado con FBS al 10%, ácido ascórbico-2-fosfato 50 g/ml, dexametasona 0,1 µM, β-glicerofosfato 10 mM, 50 unidades/ml de penicilina y 50⁻¹ de estreptomycin). El medio inductor de diferenciación osteogénica se basó en uno descrito previamente en reprogramación celular directa (*artículos sobre reversina, Chen S 2004 y Chen S 2007*). La reprogramación celular directa de miocitos a osteocitos se analizó mediante tinción con rojo de alizarina que detecta depósitos de calcio (Gregory CA 2004: PMID: 15136169) en células de estirpe ósea.

Tinción con rojo de alizarina

Se lavaron las células una vez con PBS, y luego se fijaron con formalina tamponada con fosfato durante 20 minutos. Las células fijadas se lavaron con agua destilada, y se sumergieron en una disolución de rojo de alizarina S al 1% en agua durante 5 minutos. El tinte restante se lavó con agua destilada. Las células se secaron y luego se tomaron imágenes con un microscopio óptico (Olympus CKX41). Las células teñidas se veían rojas, y se seleccionó un compuesto correspondiente a tales células como un compuesto "activo" y se analizó adicionalmente.

Usando el método de ensayo descrito anteriormente, se evaluaron los potenciales de reprogramación celular de los compuestos de indazol sintetizados. Los compuestos, LDD-1664, LDD-1821, LDD-1945, LDD-2199 y LDD-2200, mostraron un fuerte potencial de reprogramación en la diferenciación en osteoblastos, como la reversina de control positivo, y LDD-1986, LDD-1987 y LDD-1988 también mostraron potencial de reprogramación. En la tinción con aceite

rojo O que permite observar la diferenciación en adipocitos, los compuestos LDD-1821, LDD-1986, LDD-1987 y LDD-1988 mostraron fuerte potencial de reprogramación. En particular, LDD-1821 mostró un fuerte potencial de reprogramación en la diferenciación tanto en osteoblastos como en adipocitos (véanse las figuras 1, 2 y 3).

Tabla 1: Resultados de tinción celular

Compuesto	Tinción con rojo de alizarina (osteoblastos)	Tinción con aceite rojo O (adipocitos)
LDD-1664	++	n.t
LDD-1667	-	n.t
LDD-1820	-	n.t
LDD-1821	++	++
LDD-1986	+	++
LDD-1987	+	++
LDD-1988	+	++
LDD-1945	++	n.t
LDD-2199	++	n.t
LDD-2200	++	n.t
DMSO (-)	-	-
Reversina (+)	++	++
++ (positivo fuerte), + (positivo débil), - (negativo) El compuesto LDD-1664 es para referencia.		

5 Ejemplo experimental 2: Ensayo de quinasa

Se analizaron las actividades inhibitoras de derivados de indazol contra GSK-3 β y Aurora A mediante el ensayo de HTRF (fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo). El ensayo de HTRF es un método de ensayo que detecta la fosforilación de sustancias peptídicas en presencia de ATP. Las sustancias fosforiladas se detectaron mediante señales de TR-FRET (Resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo). La quinasa Aurora A y GSK-3 β recombinante se compraron de Millipore (Billerica, MA). El ensayo se realizó usando un kit HTRF KinEASE (Cisbio). Cada uno de GSK-3 β y Aurora A se trató con 1 μ M de cada compuesto de indazol, y se analizó el grado de inhibición de la fosforilación. El ensayo se compuso de una mezcla de compuesto-enzima y sustancia peptídica disuelta en tampón de reacción de quinasa (HEPES 250 mM (pH 7,0), ortovanadato 0,5 mM, BSA al 0,05%, NaN_3 al 0,1%). Tras la adición de tampón de detección, se detectó la señal de TR-FRET mediante un lector EnVision Multilabel.

La tabla 2 a continuación muestra el grado de inhibición de las actividades enzimáticas de GSK-3 β y Aurora A por tratamiento con 1 μ M de cada uno de LDD-1664 (referencia), LDD-1667, LDD-1820 y LDD-1821. Tal como se muestra en la tabla 2, los cuatro derivados mostraron todos una actividad inhibitora de menos del 50% contra GSK-3 β y Aurora A a una concentración de 1 μ M. Además, LDD-1821 que muestra un excelente potencial de reprogramación no mostró actividad inhibitora contra las dos enzimas a una concentración de 1 μ M. Por lo tanto, parece que los compuestos derivados de la presente invención inducen la reprogramación celular a través de mecanismos completamente diferentes de los de BI0 y reversina, que son inhibidores de GSK-3P o Aurora A.

Tabla 2: Ensayo de quinasa

Compuesto	% de inhibición a concentración de 1 μ M	
Compuesto	GSK-3 β	Aurora-A

LDD-1664	6,5	0
LDD-1667	0	0
LDD-1820	0,5	32,5
LDD1821	0,2	0

Ejemplo experimental 3: Ensayo con MTT

5 Se sembraron mioblastos C2C12 en una placa de 96 pocillos a una densidad de 3×10^3 células por pocillo. Las células se cultivaron durante un día, y luego se trataron con cada compuesto. A continuación, se incubaron las células durante 2 días, y luego se trataron con un medio sin suero que contenía bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) durante 3 horas. Tras la retirada del medio, las células se incubaron en DMSO durante 10 minutos mientras se agitaban. Se midió la absorbancia a 570 nm mediante un microlector (VersaMax, Molecular Devices) (véase la figura 4).

10 Las citotoxicidades de los compuestos enumerados en la tabla 3 a continuación se evaluaron mediante el ensayo con MTT. Como resultado, todos los derivados de indazol evaluados mostraron una CI_{50} de 10 μ M o más. A este respecto, los derivados de indazol de la presente invención tienen excelentes ventajas sobre la BI0 y reversina convencionales que muestran alta citotoxicidad.

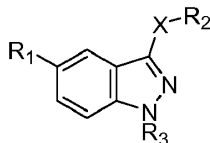
Tabla 3: Resultados del ensayo con MTT

Compuesto	CI_{50} (μ M)
LDD-1821	>10
LDD-1986	>10
LDD-1987	>10
LDD-1988	>10
LDD-1945	>10
LDD-2194	>10
LDD-2195	>10
LDD-2196	>10
LDD-2197	>10
LDD-2198	>10
LDD-2199	>10
LDD-2200	>10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula A como un derivado de indazol:

Fórmula A



- 5 en donde R₁ es nitro o Y-carbonilo, en donde Y es hidroxilo, alcoxilo C₁₋₃₀ o heterocicloalquilo C₂₋₃₀ que contiene nitrógeno como heteroátomo;

R₂ es hidroxilo, halógeno, fenilo o alquenilo C₂₋₃₀;

en donde el fenilo en R₂ está no sustituido o sustituido con hidroxilo, halógeno, alcoxilo C₁₋₅, alquilo C₁₋₅, alquenilo C₂₋₅, o una combinación de los mismos;

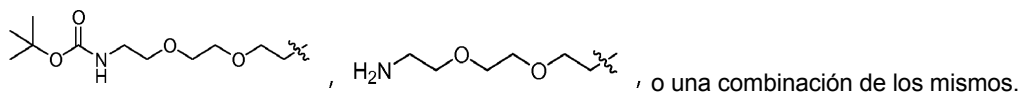
- 10 R₃ es hidrógeno; y

X es amido, sulfonamido, oxima o imidamido,

siempre que cuando R₁ es nitro y X es amido, R₂ no es fenilo sustituido o no sustituido.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde Y es hidroxilo, alcoxilo C₁₋₁₅ o heterocicloalquilo C₂₋₁₅ que contiene nitrógeno como heteroátomo.

- 15 3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el heterocicloalquilo en Y está sustituido con hidroxilo, halógeno, alquilo C₁₋₅, alquenilo C₂₋₅, alcoxilo C₁₋₅, alcocalquilo C₂₋₈, alcocarbonilo C₂₋₈, heterocicloalquenilalquilo C₂₋₈ que contiene nitrógeno como heteroátomo,

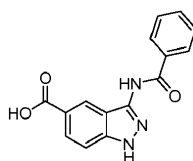


4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde el heterocicloalquenilalquilo es (1H-imidazol-1-il)alquilo.

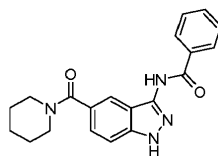
- 20 5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R₂ es halógeno, fenilo o alquenilo C₂₋₁₅.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto está representado por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en las siguientes fórmulas 6-14, 19-43 y 45:

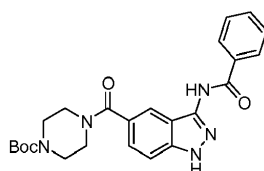
Fórmula 6



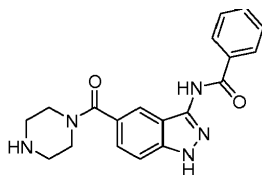
Fórmula 7



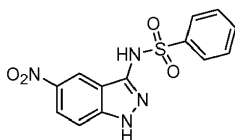
Fórmula 8



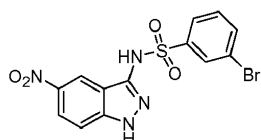
Fórmula 9



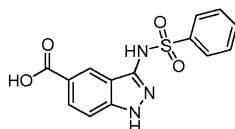
Fórmula 10



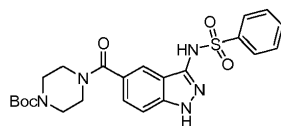
Fórmula 11



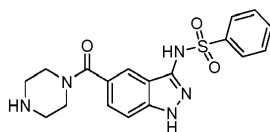
Fórmula 12



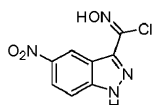
Fórmula 13



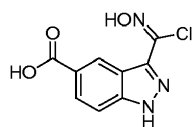
Fórmula 14



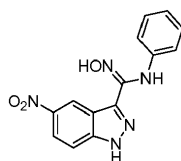
Fórmula 19



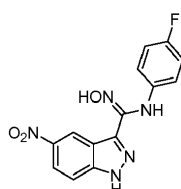
Fórmula 20



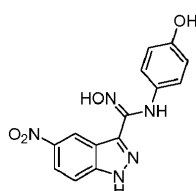
Fórmula 21



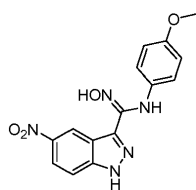
Fórmula 22



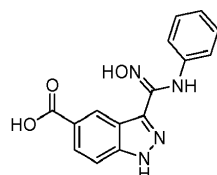
Fórmula 23



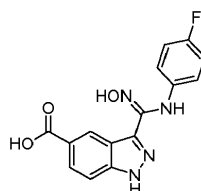
Fórmula 24



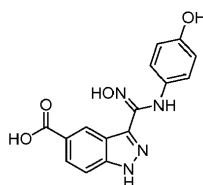
Fórmula 25



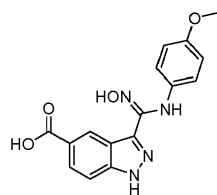
Fórmula 26



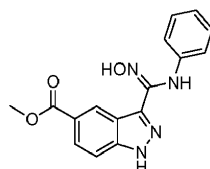
Fórmula 27



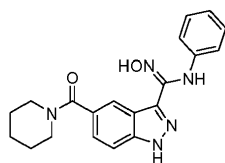
Fórmula 28



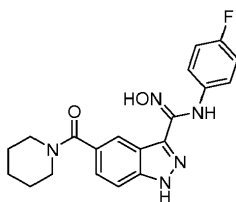
Fórmula 29



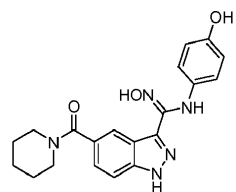
Fórmula 30



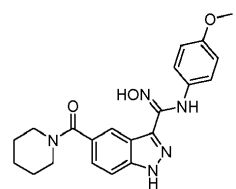
Fórmula 31



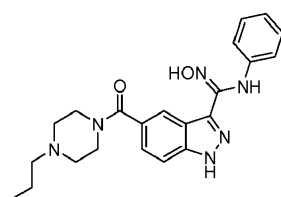
Fórmula 32



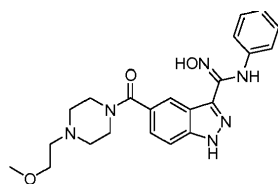
Fórmula 33



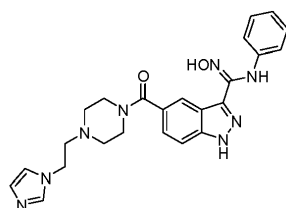
Fórmula 34



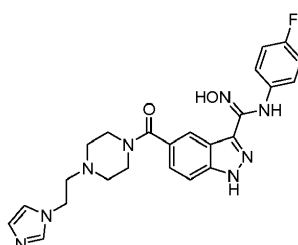
Fórmula 35



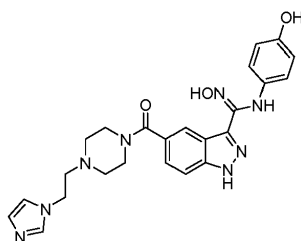
Fórmula 36



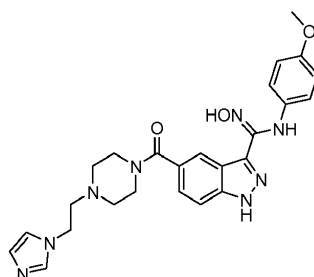
Fórmula 37



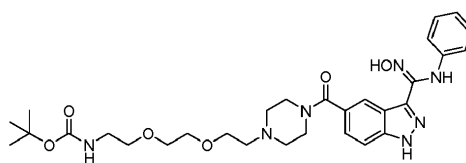
Fórmula 38



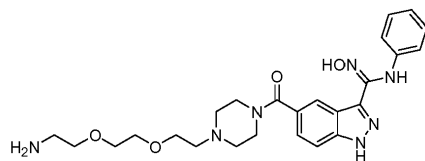
Fórmula 39



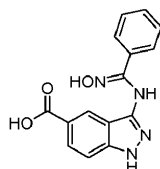
Fórmula 40



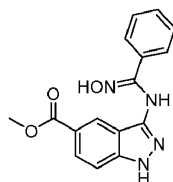
Fórmula 41



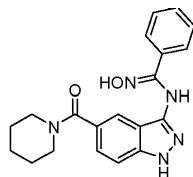
Fórmula 42



Fórmula 43



Fórmula 45

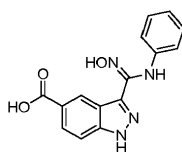


5

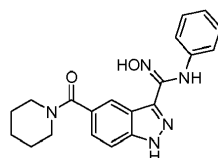
7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde el compuesto está representado por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en las siguientes fórmulas 25, 30, 31, 33, 34, 35 y 45:

10

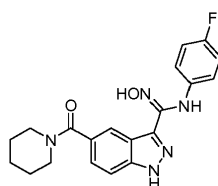
Fórmula 25



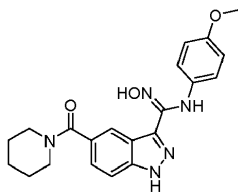
Fórmula 30



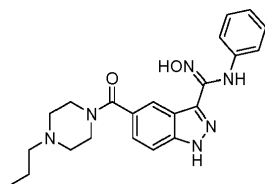
Fórmula 31



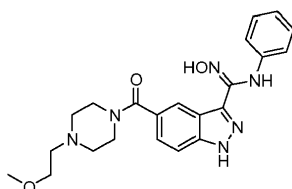
Fórmula 33



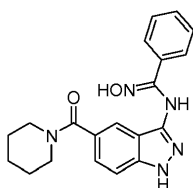
Fórmula 34



Fórmula 35



Fórmula 45

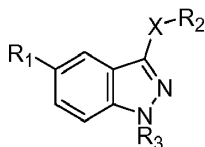


8. Un método *in vitro* para producir células reprogramadas a partir de células diferenciadas, comprendiendo el método las etapas de:

- (a) poner en contacto el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 con células diferenciadas; y
- (b) cultivar las células de la etapa (a).

9. Un método *in vitro* para inducir la reprogramación celular, que comprende poner en contacto una composición que comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula A con células diferenciadas:

Fórmula A



en donde R_1 es nitro o Y-carbonilo, en donde Y es hidroxilo, alcoxilo C_{1-30} , heterocicloalquilo C_{2-30} que contiene nitrógeno como heteroátomo;

R_2 es hidrógeno, hidroxilo, halógeno, fenilo, alcoxilo C_{1-30} , alquilo C_{1-30} o alqueno C_{2-30} ;

R_3 es hidrógeno; y

X es amido, sulfonamido, oxima o imidamido.

10. Una composición que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7.

Fig.1

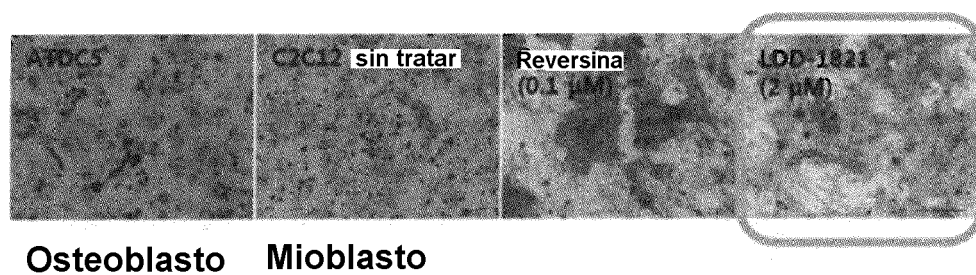


Fig.2

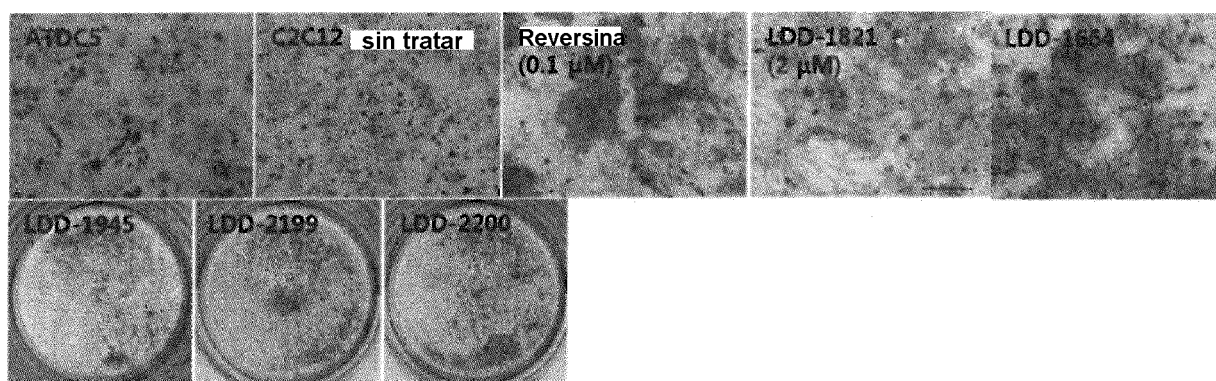


Fig.3

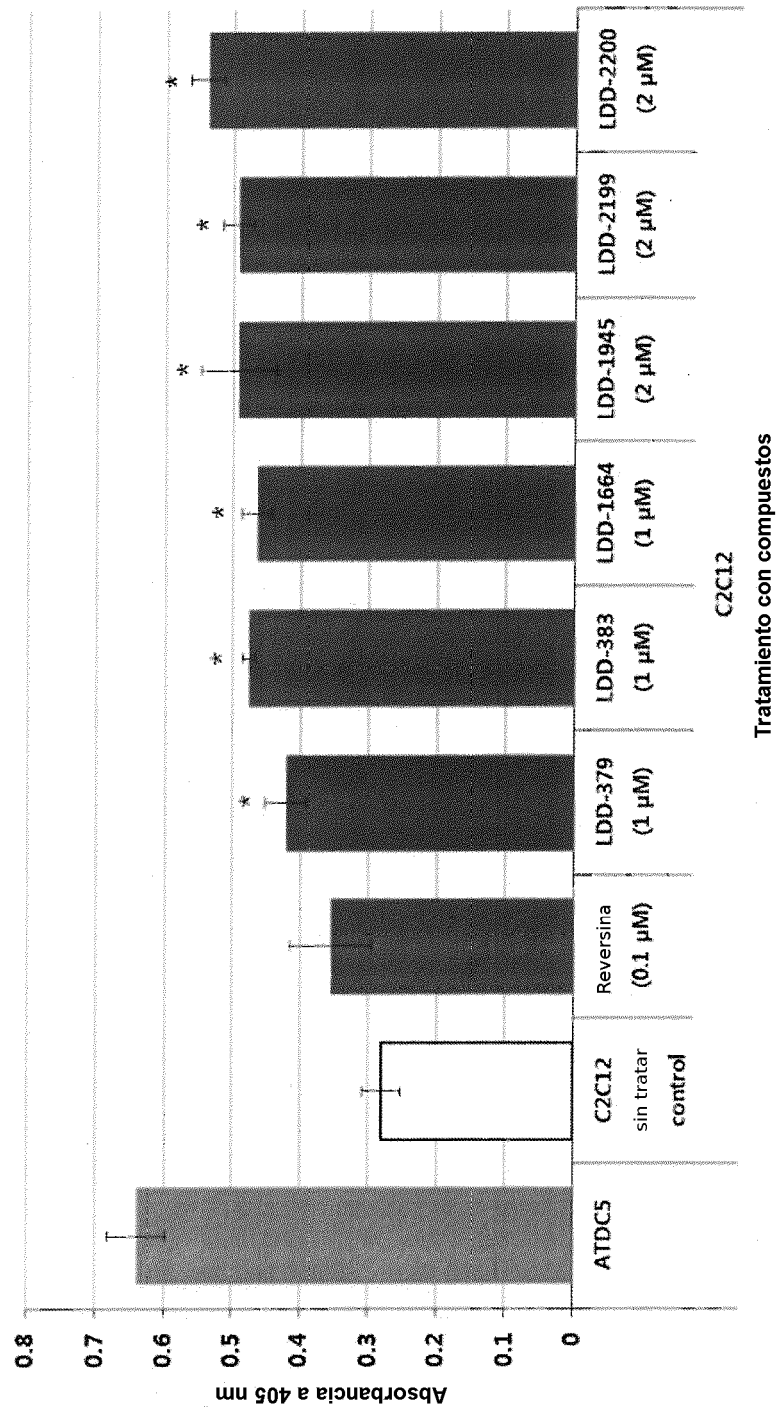


Fig.4

