



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PC

INVENTARIO

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

10-98749
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-098749- -00000-0000

Fecha: 2010-08-11 17:34:27 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO NUEVOS DERIVADOS DE PIRAZOLO[3,4_DIPIRIMIDINA COMO
FARMACOS ANTICANCER

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE NATCO PHARMA LIMITED

DOMICILIO ANDHRA PRADESH, INDIA

74. APODERADO LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C., _____

(FORMA P-10)

Paez, C
11-08-2010

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-098749- -00000-0000

Fecha: 2010-08-11 17:34:27

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 218

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

- ☒ Patente de Invención.
- ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
- ☒ Capítulo I.
- ☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **NATCO PHARMA LIMITED**
Sociedad constituida y existente bajo las leyes de India.

Dirección: Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

Domicilio: Andhra Pradesh,
India

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **LUZ CLEMENCIA DE PAEZ**
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

35.456.344

T.P

23.555

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. **Durga Prasad KONAKANCHI**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

2. **Subba Rao PULA**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

3. **Lakshmi ANANTHANENI**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

4. **Ramakrishna PILLI**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

5. **Muddasani PULLA REDDY**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

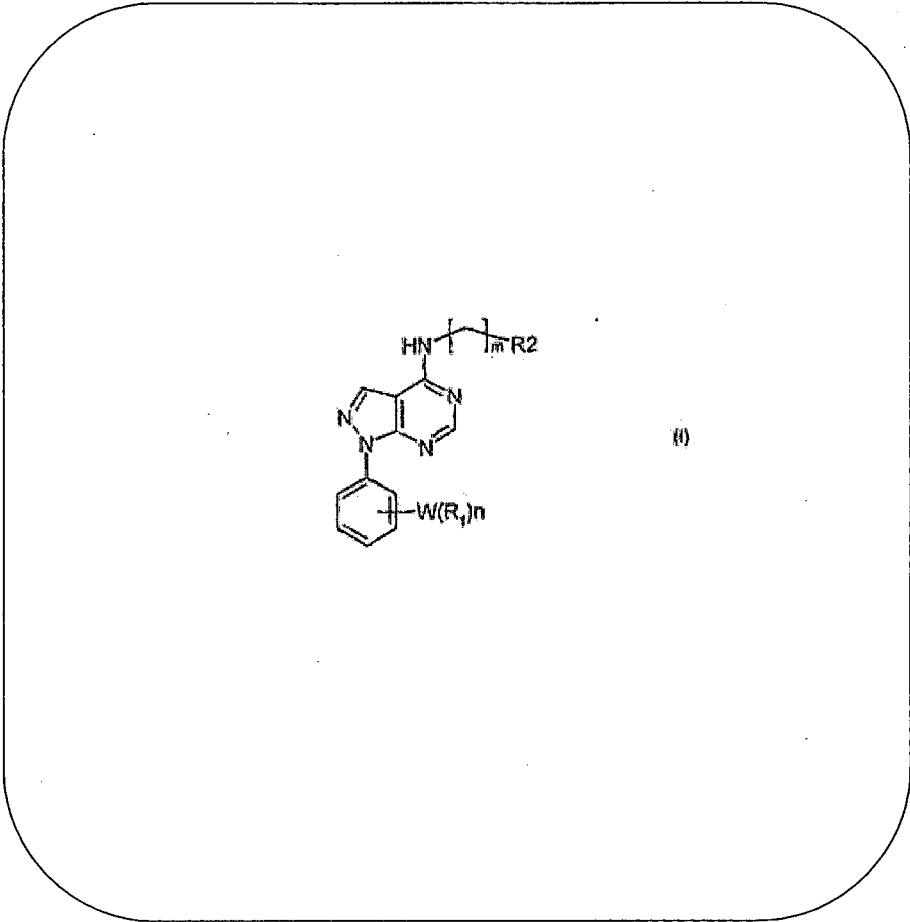
6. **Bhujanga Rao ADIBHATLA KALI SATYA**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

7. **Nannapaneni VENKAIAH CHOWDARY**
Natco Pharma Limited,
Natco House, Road No. 2,
Banjara Hills,
Hyderabad 500 033,
Andhra Pradesh,
India

5	PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/IN2009/000037</u> Fecha: <u>12 de enero de 2009</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2009/098715 A3</u> Fecha: <u>13 de agosto de 2009</u>								
6	Título (54) <u>NUEVOS DERIVADOS DE PIRAZOLO[3,4-D]PIRIMIDINA COMO FARMACOS ANTICANCER</u>								
7	Clasificación Internacional (51) <u>C07D 487/004</u> ; <u>A61P 35/00</u> ; <u>A61K 31/519</u> .								
8	<table border="1"><tr><td>Prioridad</td><td>(33) País de Origen</td><td>(32) Fecha</td><td>(31) Número de Solicitud</td></tr><tr><td>SI ☒ NO ☐</td><td><u>IN</u></td><td><u>11 de enero de 2008</u></td><td><u>109/CHE/2008</u></td></tr></table>	Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud	SI ☒ NO ☐	<u>IN</u>	<u>11 de enero de 2008</u>	<u>109/CHE/2008</u>
Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud						
SI ☒ NO ☐	<u>IN</u>	<u>11 de enero de 2008</u>	<u>109/CHE/2008</u>						
9	<table><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>10-60,763</u></td><td>Fecha: <u>27 de julio de 2010</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>10-65,075</u></td><td>Fecha: <u>09 de agosto de 2010</u></td></tr><tr><td>Comprobante de pago No.: <u>10-65,076</u></td><td>Fecha: <u>09 de agosto de 2010</u></td></tr></table>	Comprobante de pago No.: <u>10-60,763</u>	Fecha: <u>27 de julio de 2010</u>	Comprobante de pago No.: <u>10-65,075</u>	Fecha: <u>09 de agosto de 2010</u>	Comprobante de pago No.: <u>10-65,076</u>	Fecha: <u>09 de agosto de 2010</u>		
Comprobante de pago No.: <u>10-60,763</u>	Fecha: <u>27 de julio de 2010</u>								
Comprobante de pago No.: <u>10-65,075</u>	Fecha: <u>09 de agosto de 2010</u>								
Comprobante de pago No.: <u>10-65,076</u>	Fecha: <u>09 de agosto de 2010</u>								
10	Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 554.000.oo. ☒ Comprobante de pago por 2 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$52.000.oo. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☐ Poderes, si fuere el caso. ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☒ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS								

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
FIRMA : LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2009/098715 A3

Descripción:

Páginas 59 en el idioma original

Páginas 101 en español

Reivindicaciones: Número (s) 12

Figuras: Número (s)

2. ☒ Forma PCT/ISA/210. Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Forma PCT/ISA/237. Opinión Escrita De La Administración Encargada De La Búsqueda Internacional.

4. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
13 August 2009 (13.08.2009)



(10) International Publication Number
WO 2009/098715 A3

- (51) International Patent Classification:
C07D 487/04 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/IN2009/000037
- (22) International Filing Date:
12 January 2009 (12.01.2009)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
109/CHE/2008 11 January 2008 (11.01.2008) IN
- (71) Applicant (for all designated States except US): **NATCO PHARMA LIMITED** [IN/IN]; "Natco House", Road No.2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN).
- (71) Applicants and
- (72) Inventors: **KONAKANCHI, Durga, Prasad** [IN/IN]; Natco Pharma Limited, Natco House, Road No.2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN). **PULA, Subba Rao** [IN/IN]; Natco Pharma Limited, Natco House, Road No. 2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN). **ANANTHANENI, Lakshmi** [IN/IN]; Natco Pharma Limited, Natco House, Road No. 2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN). **PILLI, Ramakrishna** [IN/IN]; Natco House, Road No.2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN). **PULLA REDDY, Muddasani** [IN/IN]; Natco Pharma Limited, Natco House, Road No.2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN). **ADIBHATLA KALI SATYA, Bhujanga Rao** [IN/IN]; Natco Pharma Limited, Natco House, Road No.2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN). **VENKALAH CHOWDARY, Nannapaneni** [IN/IN]; Natco Pharma

Limited, "Natco House", Road No. 2, Banjara Hills, Hyderabad 500 033, Andhra Pradesh (IN).

- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

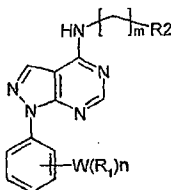
— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

- (88) Date of publication of the international search report:
15 October 2009

(54) Title: NOVEL PYRAZOLO [3, 4 -D] PYRIMIDINE DERIVATIVES AS ANTI -CANCER AGENTS

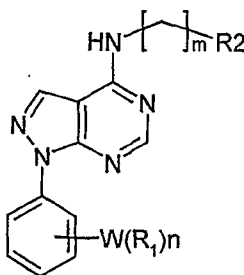


(57) Abstract: The invention relates to substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of the Formula-(I), or pharmaceutically-acceptable salts thereof, which possess anti-proliferative activity such as anti-cancer activity and are accordingly useful in methods of treatment of the human or animal body. The invention also relates to processes for the manufacture of substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, to pharmaceutical compositions containing the compound and to its use in the manufacture of medicaments for the production of an anti- proliferative effect in a warm-blooded animal such as man.

WO 2009/098715 A3

NOVEL PYRAZOLO [3,4-D] PYRIMIDINE DERIVATIVES AS ANTI-CANCER DRUGS**FIELD OF INVENTION**

The invention relates to substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of the formula-I,



Formula-I

or pharmaceutically-acceptable salts thereof, which possess anti-proliferative activity such as anti-cancer activity and are accordingly useful in methods of treatment of the human or animal body. The invention also relates to processes for the manufacture of substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, to pharmaceutical compositions containing the compound and to its use in the manufacture of medicaments for the production of an anti-proliferative effect in a warm-blooded animal such as man.

Aberrant signal transduction is a hallmark of carcinogenesis. Cell surface receptors, their ligands and protein tyrosine kinases are key components of growth signaling pathways and are mutated or upregulated in a wide variety of human tumors. In particular, the epidermal growth factor receptor (EGFR) pathway has been implicated in tumor-promoting events such as cell division, cell adhesion and migration, angiogenesis, and anti-apoptosis. EGFR overexpression, found in one-third of epithelial cancers overall, can vary from 20 to 80% depending on histologic type and is associated with resistance to hormonal therapy, cytotoxic agents and radiation.

EGFR belongs to the erbB family of structurally related receptors, comprising EGFR (HER-1, erbB1), HER-2/neu (erbB2), HER-3 (erbB3), and HER-4 (erbB4). These transmembrane glycoproteins possess an external ligand-binding domain, a cytoplasmic tyrosine kinase (TK) domain, and a Src homology 2 (SH2) domain for substrate binding. EGF, transforming growth factor- α and amphiregulin bind exclusively to EGFR, while heparin-binding EGF,

beta-cellulin and epiregulin bind EGFR and HER-4, and heregulins and neuregulins bind HER-3 and HER-4.

5 The central role of EGFR in cancer has engendered strenuous efforts to develop EGFR antagonists. The two strategies that are furthest along in clinical trials are receptor monoclonal antibodies, which block ligand binding and receptor activation, and small-molecule inhibitors of EGFR TK. The first-generation small-molecule inhibitors act as ATP analogs competing reversibly for the TK catalytic site. Newer inhibitors that are under development produce irreversible antagonism and/or target multiple erbB receptors

10

Receptor tyrosine kinases are important in the transmission of biochemical signals, which initiate cell replication. They are large enzymes which span the cell membrane and possess an extracellular binding domain for growth factors such as epidermal growth factor (EGF) and an intracellular portion which functions as a Kinase to phosphorylate tyrosine amino acids in proteins and hence to influence cell proliferation. Various classes of receptor tyrosine kinases are known (Wilks, *Advances in Cancer Research*, 1993, 60, 43-73) based on families of growth factors, which bind to different receptor tyrosine kinases. The classification includes Class I receptor tyrosine kinases comprising the EGF family of receptor tyrosine kinases such as the EGF, TGF α , NEU, erbB, Xmrk, HER and let23 receptors, Class II receptor tyrosine kinases comprising the insulin family of receptor tyrosine kinases such as the insulin, IGFI and insulin-related receptor (IRR) receptors and Class III receptor tyrosine kinases comprising the platelet-derived growth factor (PDGF) family of receptor tyrosine kinases such as the PDGF α , PDGF β , and colony stimulating factor 1 (CDF1) receptors.

25 It is known that Class I kinases such as the EGF family of receptor tyrosine kinases are frequently present in common human cancers such as breast cancer (Sainsbury et al., *Brit J. Cancer*, 1988, 58,458; Guerin et al, *Oncogene Res.*, 1988, 3, 21 and Klijn et al., *Breast Cancer Res. Treat.*, 1994, 29, 73), non-small cell lung cancers (NSCLCs) including adenocarcinomas (Cerny et., *Brit. J. Cancer*, 1986, 54, 265; Reubi et al., *Int. J. Cancer*, 1990, 30 45, 269; and Rusch et al., *Cancer Research*, 1993, 53, 2379) and squamous cell cancer of the lung (Hendler et al., *Cancer Cells*, 1989, 7, 347), bladder cancer (Neal et al., *Lancet*, 1985, 366), oesophageal cancer (Mukaida et al., *Cancer*, 1991, 68, 142), gastrointestinal cancer such as colon, rectal or stomach cancer (Bolen et al., *Oncogene Res.*, 1987, 1, 149), cancer of the prostate (Visakorpi et al., *Histochem. J.*, 1992, 24, 481), leukemia (Konaka et al., *Cell*,

1984, 31, 1035) and ovarian, bronchial or pancreatic cancer (European Patent Specification No. 0400586). As further human tumour tissues are tested for the EGF family of receptor tyrosine kinases it is expected that their widespread prevalence will be established in further cancers such as thyroid and uterine cancer. It is also known that EGF type tyrosine Kinase activity is rarely detected in normal cells whereas it is more frequently detectable in malignant cells (Hunter, Cell., 1987, 50, 823). It has been shown more recently (W J Gullick, Brit. Med. Bull., 1991, 47, 87) that EGF receptors which possess tyrosine kinase activity are over expressed in many human cancers such as brain, lung squamous cell, bladder, gastric, breast, head and neck, esophageal, gynecological and thyroid tumors.

10

Accordingly it has been recognized that an inhibitor of receptor tyrosine kinases should be of value as a selective inhibitor of the growth of mammalian cancer cells (Yaish et al. Science, 1988, 242, 933). Support for this view is provided by the demonstration that erbstatin, an EGF receptor tyrosine kinase inhibitor, specifically attenuates the growth in athymic nude mice of a transplanted human mammary carcinoma which expresses EGF receptor tyrosine kinase but is without effect on the growth of another carcinoma which does not express EGF receptor tyrosine kinase (Toi et al., Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 1990, 26, 722.) Various derivatives of styrene are also stated to possess tyrosine kinase inhibitory properties (European Patent Application Nos. 0211363, 0304493 and 0322738) and to be of use as anti-tumour agents. The in vivo inhibitory effect of two such styrene derivatives which are EGF receptor tyrosine kinase inhibitors has been demonstrated against the growth of human squamous cell carcinoma inoculated into nude mice (Yoneda et al., Cancer Research, 1991, 51, 4430). Various known tyrosine kinase inhibitors are disclosed in a more recent review by T R Burke Jr. (Drugs of the Future, 1992, 17, 119). Examples of signal transduction inhibitors include agents that can inhibit EGFR (epidermal growth factor receptor) responses, such as EGFR antibodies, EGF antibodies, and molecules that are EGFR inhibitors; VEGF (vascular endothelial growth factor) inhibitors; and erbB2 receptor inhibitors, such as organic molecules or antibodies that bind to the erbB2 receptor, for example, HERCEPTIN™ (Genentech, Inc. of South San Francisco, California, USA). EGFR inhibitors are described in, for example in WO 95/19970 (published July 27, 1995), WO 98/14451 (published April 9, 1998), WO 98/02434 (published January 22, 1998), and United States Patent 5,747,498 (issued May 5, 1998). EGFR-inhibiting agents include, but are not limited to, the monoclonal antibodies C225 and anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Incorporated of New York, New York, USA), the compounds ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim),

30

MDX-447 (Medarex Inc. of Annandale, New Jersey, USA), and OLX-103 (Merck & Co. of Whitehouse Station, New Jersey, USA), VRCTC-310 (Ventech Research) and EGF fusion toxin (Seragen Inc. of Hopkinton, Massachusetts). VEGF inhibitors, for example SU-5416 and SU-6668 (Sugen Inc. of South San Francisco, California, USA), can also be combined or

5 co-administered with the composition. VEGF inhibitors are described in, for example in WO 99/24440 (published May 20, 1999), PCT International Application PCT/IB99/00797 (filed May 3, 1999), in WO 95/21613 (published August 17, 1995), WO 99/61422 (published December 2, 1999), United States Patent 5,834,504 (issued November 10, 1998), WO 98/50356 (published November 12, 1998), United States Patent 5,883,113 (issued March 16,

10 1999), United States Patent 5,886,020 (issued March 23, 1999), United States Patent 5,792,783 (issued August 11, 1998), WO 99/10349 (published March 4, 1999), WO 97/32856 (published September 12, 1997), WO 97/22596 (published June 26, 1997), WO 98/54093 (published December 3, 1998), WO 98/02438 (published January 22, 1998), WO 99/16755 (published April 8, 1999), and WO 98/02437 (published January 22, 1998), all of

15 which are herein incorporated by reference in their entirety. Other examples of some specific VEGF inhibitors are IM862 (Cytran Inc. of Kirkland, Washington, USA); anti-VEGF monoclonal antibody bevacizumab (Genentech, Inc. of South San Francisco, California); and angiozyme, a synthetic ribozyme from Ribozyme (Boulder, Colorado) and Chiron (Emeryville, California). ErbB2 receptor inhibitors, such as GW-282974 (Glaxo Wellcome

20 pic), and the monoclonal antibodies AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc. of The Woodlands, Texas, USA) and 2B-1 (Chiron), may be administered in combination with the composition. Such erbB2 inhibitors include those described in WO 98/02434 (published January 22, 1998), WO 99/35146 (published July 15, 1999), WO 99/35132 (published July 15, 1999), WO 98/02437 (published January 22, 1998), WO 97/13760 (published April 17,

25 1997), WO 95/19970 (published July 27, 1995), United States Patent 5,587,458 (issued December 24, 1996), and United States Patent 5,877,305 (issued March 2, 1999), each of which is herein incorporated by reference in its entirety. ErbB2 receptor inhibitors useful in the present invention are also described in United States Provisional Application No. 60/17,341, filed January 27, 1999, and in United States Provisional Application No. 60/117,346,

30 filed January 27, 1999, both of which are herein incorporated by reference in their entirety. Other antiproliferative agents that may be used include inhibitors of the enzyme farnesyl protein transferase and inhibitors of the receptor tyrosine kinase PDGFr, including the compounds disclosed and claimed in the following United States patent applications: 09/221946 (filed December 28, 1998); 09/454058 (filed December 2, 1999); 09/501163 (filed

10.

February 9, 2000); 09/539930 (filed March 31, 2000); 09/202796 (filed May 22, 1997); 09/384339 (filed August 26, 1999); and 09/383755 (filed August 26, 1999); and the compounds disclosed and claimed in the following United States provisional patent applications: 60/168207 (filed November 30, 1999); 60/1701 19 (filed December 10, 1999);
5 60/177718 (filed January 21, 2000); 60/168217 (filed November 30, 1999), and 60/200834 (filed May 1, 2000). Each of the foregoing patent applications and provisional patent applications is herein incorporated by reference in their entirety. Compositions of the invention can also be used with other agents useful in treating abnormal cell growth or cancer, including, but not limited to, agents capable of enhancing antitumor immune
10 responses, such as CTLA4 (cytotoxic lymphocyte antigen 4) antibodies, and other agents capable of blocking CTLA4; and anti-proliferative agents such as other farnesyl protein transferase inhibitors. Specific CTLA4 antibodies that can be used in the present invention include those described in United States Provisional Application 60/113,647 (filed December 23, 1998) which is herein incorporated by reference in its entirety.

15

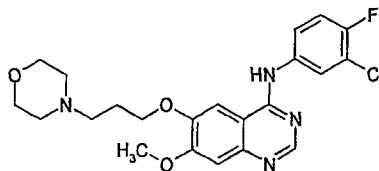
The receptor tyrosine kinases are of particular importance in the transmission of mitogenic signals that initiate cellular replication. These large glycoproteins, which span the plasma membrane of the cell, possess an extracellular binding domain for their specific ligands (such as Epidermal Growth Factor (EGF) for the EGF Receptor). Binding of ligand results in the
20 activation of the receptor's kinase enzymatic activity that resides in the intracellular portion of the receptor. This activity phosphorylates key tyrosine amino acids in target proteins, resulting in the transduction of proliferative signals across the plasma membrane of the cell.

It is known that the erbB family of receptor tyrosine kinases, which include EGFR, erbB2, erbB3 and erbB4, are frequently involved in driving the proliferation and survival of tumour
25 cells (reviewed in Olayioye et al., EMBO J., 2000, 19, 3159). One mechanism in which this can be accomplished is by overexpression of the receptor at the protein level, generally as a result of gene amplification. This has been observed in many common human cancers (reviewed in Klapper et al., Adv. Cancer Res., 2000, 77, 25) such as breast cancer (Sainsbury et al., Brit. J. Cancer. 1988, 58, 458; Guerin et al., Oncogene Res.. 1988, 3, 21; Slamon et al.,
30 Science. 1989, 244, 707; Kliin et al., Breast Cancer Res. Treat.. 1994, 29, 73 and reviewed in Salomon et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol.. 1995, 19, 183), non-small cell lung cancers (NSCLCs) including adenocarcinomas (Cerny et al., Brit. J. Cancer. 1986, 54, 265; Reubi et al., Int. J. Cancer. 1990, 45, 269; Rusch et al., Cancer Research. 1993, 53, 2379; Brabender et

al, Clin. Cancer Res.. 2001, 7, 1850) as well as other cancers of the lung (Hendler et al., Cancer Cells. 1989, 7, 347; Ohsaki et al, Oncol. Rep.. 2000, 7, 603), bladder cancer (Neal et al., Lancet. 1985, 366; Chow et al., Clin. Cancer Res.. 2001, 7, 1957, Zhau et al., Mol Carcinog., 3, 254), oesophageal cancer (Mukaida et al., Cancer. 1991, 68, 142),
5 gastrointestinal cancer such as colon, rectal or stomach cancer (Bolen et al., Oncogene Res.. 5 1987, 1, 149; Kapitanovic et al., Gastroenterology. 2000, 112, 1103; Ross et al., Cancer Invest.. 2001, 19, 554), cancer of the prostate (Visakorpi et al., Histochem. J.. 1992, 24, 481; Kumar et al.. 2000, 32, 73; Scher et al.. J. Natl. Cancer Inst.. 2000, 92, 1866), leukaemia (Konaka et al., CeU, 1984, 37, 1035, Martin-Subero et al.. Cancer Genet Cytogenet. 2001,
10 127-174), ovarian (Hellstrom et al., Cancer Res.. 2001, 6_1, 2420), head and neck (Shiga et al., J Head Neck. 2000, 22, 599) or pancreatic cancer (Ovotny et al., Neoplasia. 2001, 48, 188). As more human tumour tissues are tested for expression of the erbB family of receptor tyrosine kinases it is expected that their widespread prevalence and importance will be further enhanced in the future.

15 It is also expected that inhibitors of EGF type receptor tyrosine kinases will be useful in the treatment of other diseases of excessive cellular proliferation such as psoriasis.

AstraZeneca has developed and launched Gefitinib (US 5770599), of the formula II,

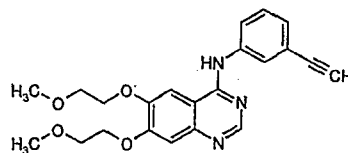


Formula-II

20 an orally active, selective epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TK1). It is indicated as monotherapy for the continued treatment of patients with locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer after failure of both platinum- based and docetaxel chemotherapies that are benefiting or have benefited from gefitinib. The brand name is Iressa.

25

OSI Pharmaceuticals has developed and launched Erlotinib (US 5747498) of formula-III,



Formula-III

an orally active, ATP-competitive small-molecule inhibitor of EGFR TK. It is presently being used as a standard treatment for non-small cell lung cancer (NSCLC) and pancreatic cancer diseases. Its activity is expected to be enhanced when combined with standard cytotoxic antibiotic anti-cancer drugs. The brand name is Tarceva.

5

Furthermore, inhibitory antibodies against EGFR and erbB2 (erbitux® (c-225 / cetuximab) and herceptin® (trastuzumab) respectively) have proven to be beneficial in the clinic for the treatment of selected solid tumours (reviewed in Mendelsohn et al, 2000, 5 Oncogene, 19, 6550-6565).

- 10 There are number of patents published with compounds containing pyrazolo[3,4-d]pyrimidine nucleus as anti cancer drug.

WO-96/31510 and WO-98/14449 each discloses 4-amino-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives and their use as anti-tumour agents.

15

WO-98/14451 discloses 3-(3-aminobenzylamino)-4-(3-chlorophenylamino)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine, its use as an anti-tumour agent and its use in cases of epidermal hyperproliferation.

- 20 WO-98/14450 discloses 4-amino-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives that carry a nitrogen-linked substituent at the 3-position on the pyrazolo[3,4-d]pyrimidine ring, and their use as anti-tumour agents.

- WO-95/19774 discloses bicyclic pyrimidine derivatives and their use as inhibitors of the EGF, erbB2 and erbB4 receptor tyrosine kinases. A pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivative is disclosed that includes an amino-aryl group at the 4-position on the pyrazolo[3,4-d]pyrimidine ring but no substituent at the 3-position.

- 30 Makarov et al. (Chemistry of Heterocyclic Compounds, 2003, 39(2), 238-243) discloses the reaction of 3,5-di-(N,N-dimethylaminomethylene)amino-4-methoxycarbonylpyrazole and 3,5-di-(N,N-dimethylaminomethylene)amino-4-cyanopyrazole compounds with certain amines to form pyrazolo[3,4-d]pyrimidine compounds.

- International Patent Publication No. WO 03/000187 describes novel pyrazolo- and pyrrolo-pyrimidines. International Patent Publication No. WO 02/057267, U.S. Patent Nos. 6,686,366, 6,680,324, and 6,673,802 describe compounds specific to adenosine A1, A2A, and A3 receptors. International Patent Publication No. WO 01/47507 describes combinations of a
- 5 receptor tyrosine kinase inhibitor with an organic compound capable of binding to $\alpha 1$ -acidic glycoprotein. International Patent Publication No. WO 04/013141 describes condensed pyridines and pyrimidines with TIE2 (TEK) activity. International Patent Publication No. WO 04/014850 describes substituted aminopyrimidines as neurokinin antagonists.
- 10 International Patent Publication No. WO 03/000695 describes pyrrolopyrimidines as protein kinase inhibitors. U.S. Patent No. 6,187,778 describes 4-aminopyrrol[3,4-d]pyrimidines as neuropeptide Y receptor antagonists. U.S. Patent No. 6,140,317, 6,140,332, and 6,180,636 describe pyrrolopyrimidines. U.S. Patent Nos. 6,696,455, 6,537,999 and 5,877,178 describe pyrrolo?? pyrimidine derivatives. U.S. Patent No. 5,958,930 describes pyrrolopyrimidine and
- 15 furopyrimidine derivatives. [29] International Patent Publication No. 03/000688 describes the preparation of azaindoles as protein kinase inhibitors. International Patent Publication Nos. WO 03/018021 and WO 03/018022 describe pyrimidines for treating IGF-IR related disorders, International Patent Publication No. WO 02/092599 describes pyrrolopyrimidines for the treatment of a disease that responds to an inhibition of the IGF-IR tyrosine kinase,
- 20 International Patent Publication No. WO 01/72751 describes pyrrolopyrimidines as tyrosine kinase inhibitors. International Patent Publication No. WO 00/71129 describes pyrrolotriazine inhibitors of kinases. International Patent Publication No. WO 97/28161 describes pyrrolo[2,3- d]pyrimidines and their use as tyrosine kinase inhibitors.
- 25 Further literature references of pyrazolo[3,4- d] pyrimidine derivatives as anti-cancer agents J.Heterocycl. Chem., 27, 647-660., J. Med. Chem., 1976, 19, 555-558 ., J. Heterocycl. Chem., 1990, 27, 1245-1248 ., Journal of the Chinese Chemical Society, 2000, 47, 347-350 ., United States Patent 5,917,039 ., United States Patent 6,423,871 ., J. Org. Chem.1956 21(11) 1240-1256 ., J. Med. Chem. 1991, 34, 2892-2898 ., Helvetica Chimica Acta (1956)-
- 30 No.119, 987-991., J. Med. Chem. 1997, 40, 3601- 3616 ., United States Patent 3,600,389 ., United States Patent 4,182,878

14

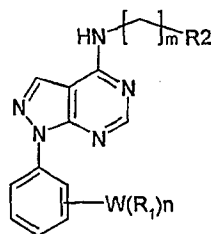
Although the anticancer compounds described above have made a significant contribution to the art, there is a continuing need to improve anticancer pharmaceuticals with better selectivity or potency, reduced toxicity, or fewer side effects.

5 PRESENT INVENTION

Surprisingly, we have now found that a select group of substituted pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivatives of the present invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, possess potent anti-tumour activity. None of the prior art discloses pyrazolo[3,4-d]pyrimidine compounds that are substituted at the 1-position with a substituent containing an ethynyl group or 3,5-disubstituted groups and at 4 position substituted benzyl amines. Without wishing to imply that the compounds disclosed in the present invention possess pharmacological activity only by virtue of an effect on a single biological process, it is believed that the compounds provide an anti-tumour effect by way of inhibition of one or more of the erbB family of receptor tyrosine kinases that are involved in the signal transduction steps which lead to the proliferation of tumour cells. In particular, it is believed that the compounds of the present invention provide an anti-tumour effect by way of inhibition of EGF and/or erbB2 receptor tyrosine kinases.

Such processes, when used to prepare the substituted pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivative of the invention, or a pharmaceutically-acceptable salt thereof, are provided as a further feature of the invention and are illustrated by the following representative Examples. Necessary starting materials may be obtained by standard procedures of organic chemistry. The preparation of such starting materials is described within the accompanying non-limiting Examples. Alternatively necessary starting materials are obtainable by analogous procedures to those illustrated, which are within the ordinary skill of an organic chemist.

The invention relates to Substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-I,



Formula-I

and pharmaceutically acceptable salts thereof,

5 wherein n and m are 1, 2, or 3;

W is single bond, C₁-C₆ alkyl, alkenyl, alkynyl, NH, S, SO, SO₂, O, C=O or an amide group, each R₁ is independently selected from hydrogen, halo, hydroxy, amino, hydroxyamino, carboxy, nitro, guanidino, ureido, carbamoyl, cyano, trifluoromethyl,

10 or each R₁ is independently selected from the group consisting of C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, C₁-C₆ alkoxy, C₃-C₆ cycloalkoxy, (C₁-C₆) alkoxycarbonyl, aryloxy, heteroaryloxy, C₁-C₆ thioalkoxy, C₃-C₆ thiocycloalkoxy, thioaryloxy, thioheteroaryloxy, nitro, amino, N-mono(C₁-C₆) alkylamino, N,N-di(C₁-C₆) alkylamino, formamido, amido, acetamido, hydroxylamino, C₁-C₆ alkoxyamino, hydrazino, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, C₂-C₆ alkenyl, C₂-C₆ alkynyl, aryl, heterocyclyl, fused aryl, fused
15 heteroaryl and fused heterocyclyl;

each R₁ is independently selected from R₃-sulfonylamino, phthalimido-(C₁-C₄)-alkylsulfonylamino, benzamido, benzenesulfonylamino, 3-phenylureido, 2-oxopyrrolidin-1-yl, 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl, and C₂-C₄ alkanoylamino and wherein said
20 benzenesulfonylamino or phenyl or phenoxy or anilino or phenylsulfanyl substituent in R¹ may optionally bear one or two halogens, (C₁-C₄) alkyl, cyano, methansulfonyl or (C₁-C₄) alkoxy substituents; or any two R₁ taken together with the carbons to which they are attached comprise a 5-8 membered ring comprising at least one or two heteroatoms selected from oxygen, sulfur or nitrogen; and wherein the alkyl groups and alkyl portions of the alkoxy or
25 alkylamino groups may be straight chained or if comprised of at least three carbons may be branched or cyclic;

where R₃ is selected from C₁-C₆-alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl

R₂ is selected from the group consisting of hydrogen, C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, C₁-C₆ alkoxy, carbonyl, aryl, heteroaryl, C₁-C₆ thioalkyl, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, heterocyclyl, fused aryl, fused heteroaryl and fused heterocyclyl, such as 1,3-benzodioxol, 1,4-benzodioxin,

5

And R₂ is selected from the group consisting of phenyl or benzyl and substituted with 1,2,3 or 4 groups and the substituents are independently selected from R₄,

where R₄ is selected from hydrogen, halo, hydroxy, amino, hydroxyamino, carboxy, nitro, guanidino, ureido, carbamoyl, cyano, trifluoromethyl, C¹-C⁶ -alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, hydroxy, C₁-C₆ alkoxy, C₃-C₆ cycloalkoxy, C₁-C₆ alkoxy, carbonyl, aryloxy, heteroaryloxy, C₁-C₆ thioalkoxy, C₃-C₆ thiocycloalkoxy, thioaryloxy, thioheteroaryloxy, nitro, amino, N-mono (C₁-C₆) alkylamino, N, N-di (C₁-C₆) alkylamino, formamido, amido, acetamido, hydroxylamino, C₁-C₆ alkoxyamino, hydrazino, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, alkenyl, alkynyl, aryl, heterocyclyl, fused aryl, fused heteroaryl and fused heterocyclyl;

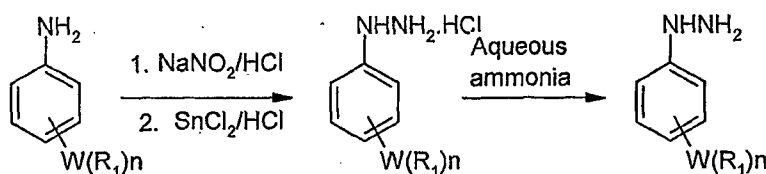
15

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION:

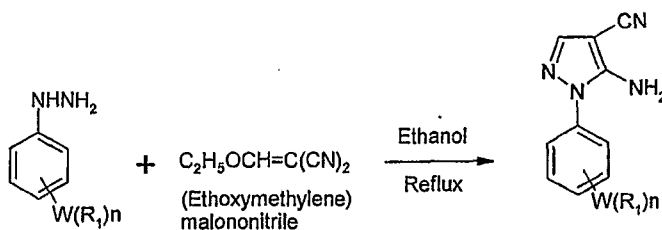
Formula-I compounds and pharmaceutically acceptable salts thereof may be prepared by any process known to be applicable to the chemically related compounds. The active compounds of present invention can be prepared by the following synthetic Scheme-I.

20

Stage-I

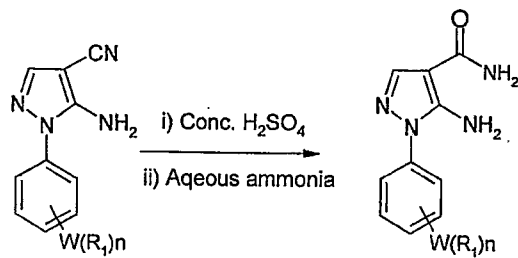


25 Stage-II

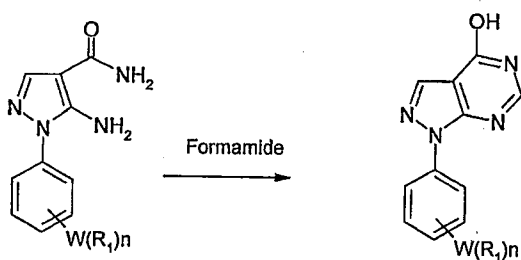


27

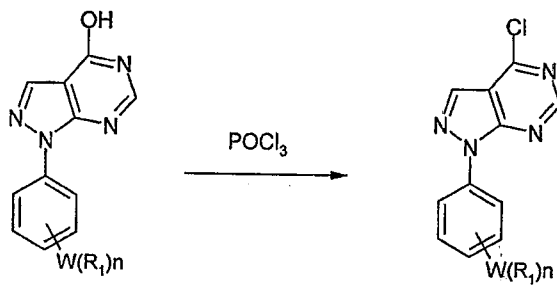
Stage-III



5 Stage-IV

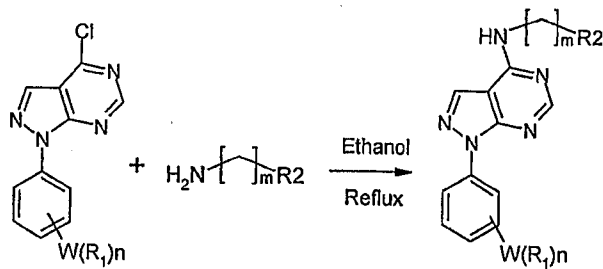


Stage-V



10

Stage-VI

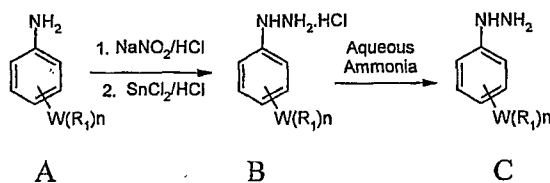


15 R_1 , R_2 , and W are defined as above.

SCHEME-I

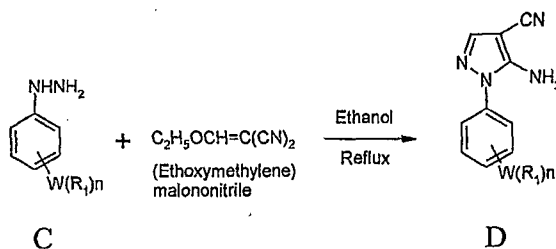
Various compounds of formula-I are can also be prepared by following routes:

(a)



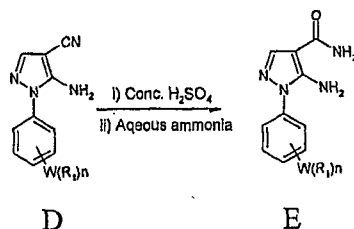
By known methods given in the literature, diazotising a compound of formula A with mineral acid such as hydrochloric acid and with sodium nitrite solution at temperatures -10°C to 5°C to obtain substituted phenyl hydrazine hydrochloride of formula-B. The other mineral acids can be used are sulphuric acid, etc. The formula-B compound is neutralised with a suitable base such as ammonia, mono-, di- or trialkyl amines, sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, potassium carbonate, ammonium carbonate and bicarbonates of alkali metals to get the novel substituted phenyl hydrazines of formula-C.

(b)



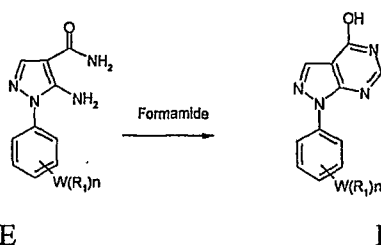
The compound of formula C is reacted with ethoxy methylenemalononitrile in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropanol n-butanol, dimethyl formamide or mixtures of these solvents at temperatures 60°C to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-D. In another way of preparation, the compounds of formula-C are reacted in-situ generated ethoxy methylenemalononitrile by reacting triethyl orthoformate and malononitrile to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-D. The temperature conditions range from 40°C to 100°C .

(c)



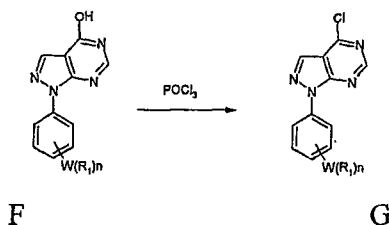
The nitrile group of compound of formula D is hydrolysed with a mineral acid such as sulphuric acid in aqueous medium and upon basification with a suitable base such as ammonia or bicarbonates, carbonates or hydroxides of alkali metals at temperatures 10 °C to 40 °C to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamides of formula-E.

(d)



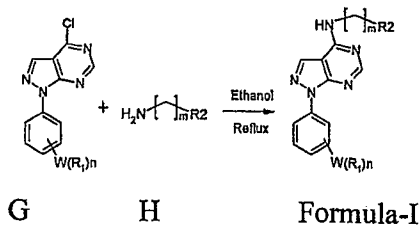
The compound of formula E is reacted with formamide in neat conditions or in solvent such as sulfolane at about 200 °C to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamide of formula F. The temperature conditions range from 150 °C to 220 °C.

(e)



The compound of formula F is reacted with phosphorus oxychloride in an aprotic solvent such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or a mixture of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel N-substituted 4-chloro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-G. In another way of preparation, compounds of formula-F are reacted with thionyl chloride, phosphorous trichloride or phosphorous pentachloride in aprotic solvents such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or mixture of these solvents at 25 °C to solvent reflux temperature to obtain novel N-substituted 4-chloro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-G.

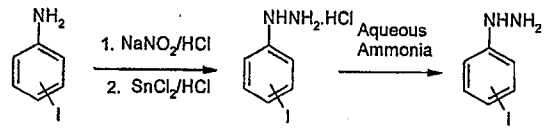
(g)



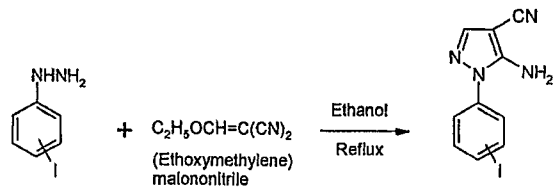
5 The compound of formula G is refluxed with substituted alkyl amine of formula-H in a protic solvent such as methanol, ethanol, isopropyl alcohol or mixture of these solvents at reflux temperature to obtain novel 1-substituted 4-amino substituted-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-1.

10 Further, the compounds of Formula-I with an ethynyl substitution on the N-phenyl ring and their pharmaceutically acceptable salts thereof may be prepared by any process known to be applicable to the chemically related compounds. The active compounds of present invention with an ethynyl substitution on the N-phenyl ring can be synthesized as per the process given in the Scheme-II below.

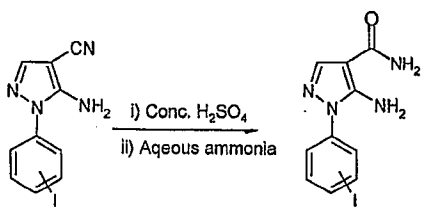
Stage-I



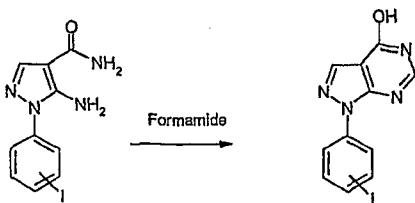
15 Stage-II



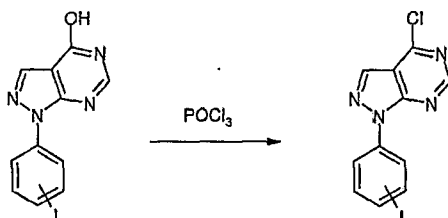
Stage-III



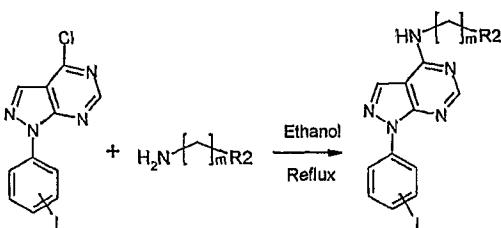
Stage-IV



Stage-V

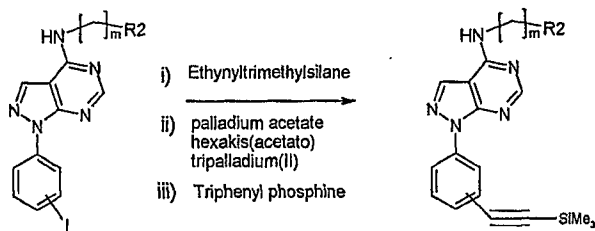


Stage-VI

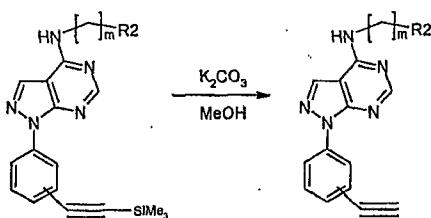


5

Stage-VII



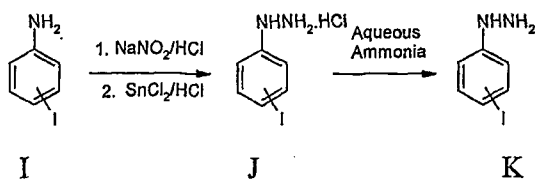
Stage-VIII



10

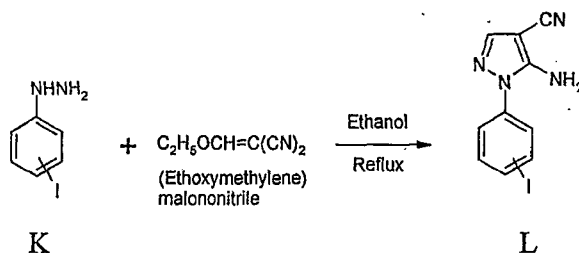
SCHEME-II

(h)



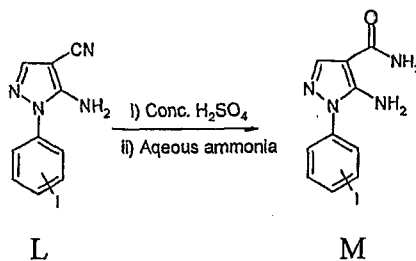
By known methods given in the literature, diazotising a compound of formula I with mineral acid such as hydrochloric acid and with sodium nitrite solution at temperatures -10°C to 5°C one can obtain iodo substituted phenyl hydrazine hydrochloride solid of formula-J. The other mineral acids which can be used are sulphuric acid, etc. The compound of formula-J is neutralized with a suitable base such as sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, potassium carbonate ammonium carbonate and bicarbonates of alkali metals to get the iodo substituted phenyl hydrazine of formula-K.

(i)



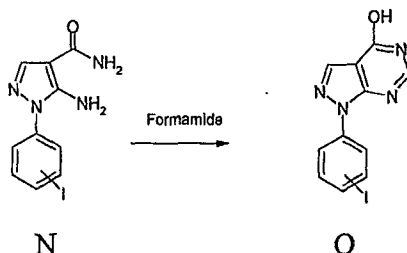
The compound of formula K is reacted with ethoxy methylenemalononitrile in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropanol n-butanol, dimethyl formamide or mixtures of these solvents at temperatures 60°C to obtain novel N-(iodo substituted) phenyl -5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-L. In another way of preparation the compounds of formula-K are reacted in-situ generated ethoxymethylenemalononitrile by reacting triethyl orthoformate and malononitrile to obtain novel N-(iodo substituted)phenyl -5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-L the temperature conditions range from 40°C To 100°C

(j)



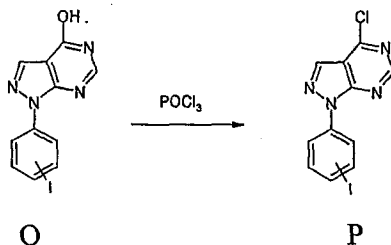
The nitrile group of compounds of formula L is hydrolysed with a mineral acid such as sulphuric acid in aqueous medium and upon basification with a suitable base such as ammonia or bicarbonates, carbonates or hydroxides of alkali metals at temperatures 10 °C to 40 °C to obtain novel N-(iodo substituted) phenyl -5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamides of formula-M.

(k)



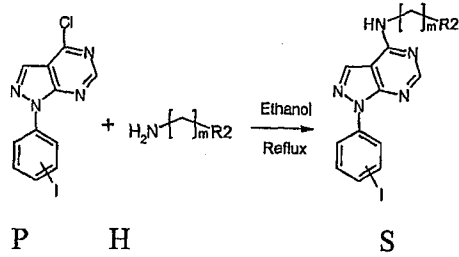
The compound of formula-N is reacted with formamide in neat conditions or in solvent such as sulfolane at temperatures 200 °C to obtain novel N-(iodo substituted) phenyl -5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamide of formula-O. The temperature conditions range from 150 °C to 220 °C.

(l)



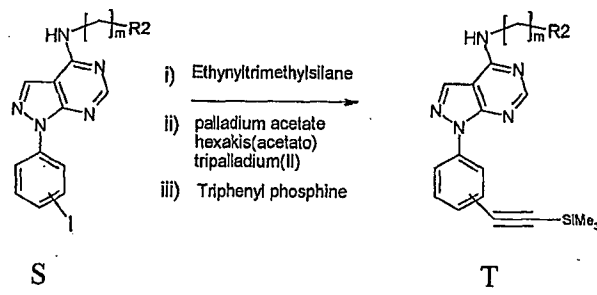
The compounds of formula O are reacted with phosphorus oxychloride in neat conditions or in aprotic solvents such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or mixtures of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel N-(iodo substituted) 4-chloro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-P. In another way of preparation of the compounds of formula-O are reacted with thionyl chloride, phosphorous trichloride or phosphorous pentachloride in aprotic solvents such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or mixtures of these solvents at temperatures 25 °C to obtain novel N-substituted 4-chloro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-P.

(m)



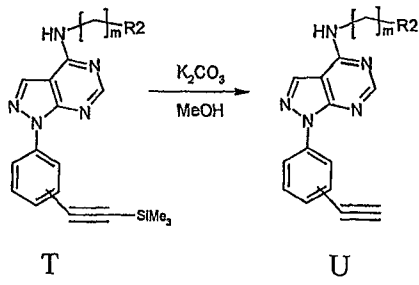
By known methods given in the literature, the compound of formula Q is refluxed with substituted alkyl amine of formula-H in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropyl alcohol or mixtures of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel 1-(iodo substituted)substituted 4-amino substituted-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-S.

(n)



The compound of formula S is refluxed with substituted trimethylsilyl acetylene in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropyl alcohol or mixtures of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel N- (trimethyl silyl protected ethynyl substituted) phenyl-4-amino substituted-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-T.

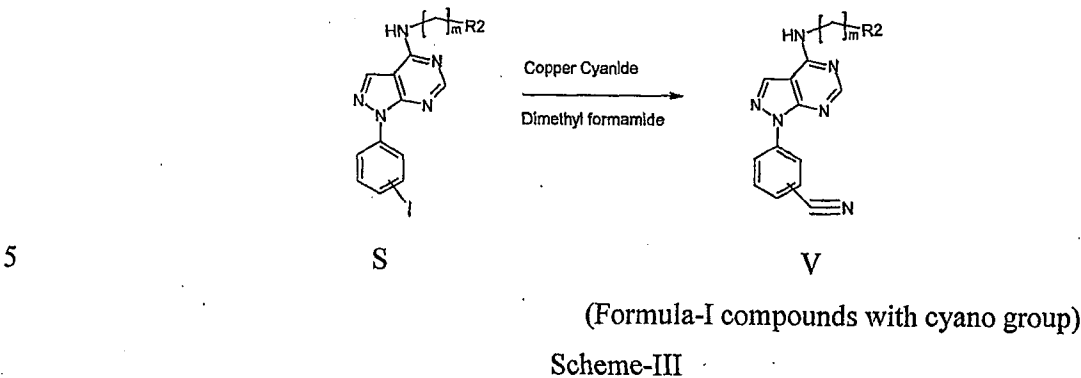
(o)



(Formula-I compounds with acetylene group)

The compounds of formula T are deprotected with a suitable base such as ammonia, mono, di or trialkylamines, sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, potassium carbonate ammonium carbonate and bicarbonates of alkali metals to get the novel acetylene substituted compounds of formula-1.

The active compounds of present invention with a cyano substitution on the N-phenyl ring can be synthesized as per the process given in the Scheme-III below.

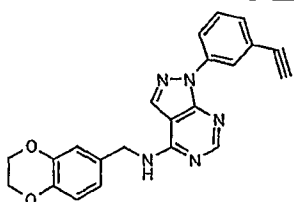


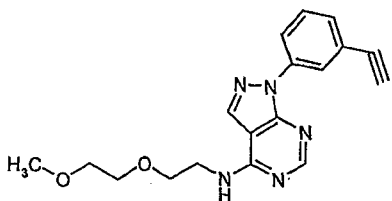
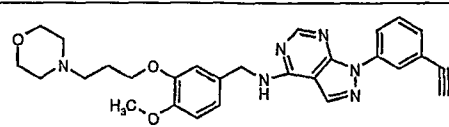
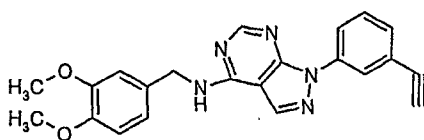
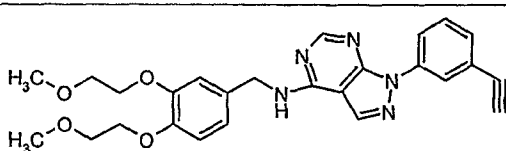
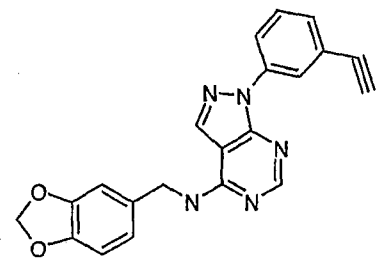
The compound of formula S is heated with copper cyanide and copper iodide in dimethyl formamide or dimethyl sulfoxide at temperatures ranging from 120 °C to 145 °C to obtain novel compounds N- (cyano substituted) phenyl-4-amino substituted-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-V.

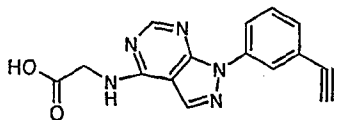
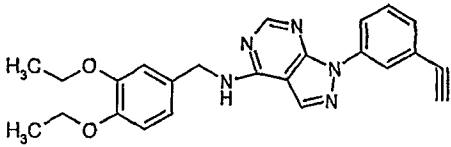
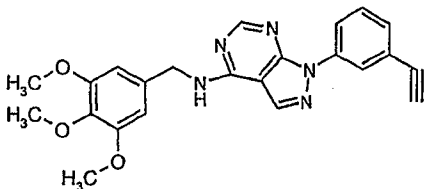
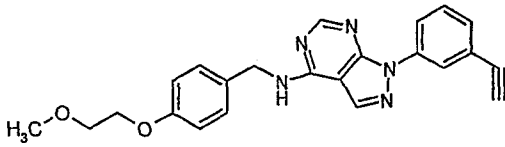
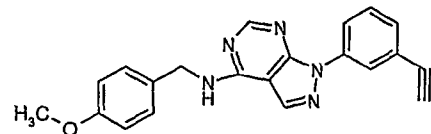
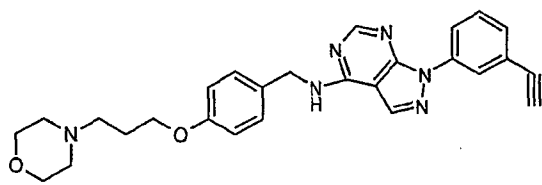
15

The invention most particularly relates to compounds of the formula I selected from the group consisting of

[1-(3-ethynyl -phenyl)-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-U

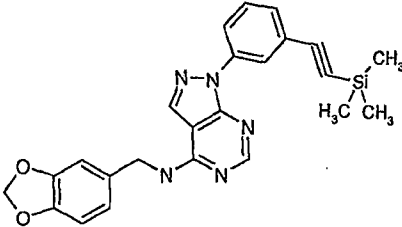
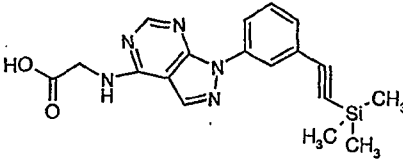
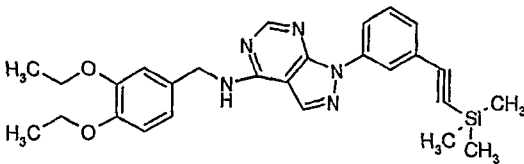
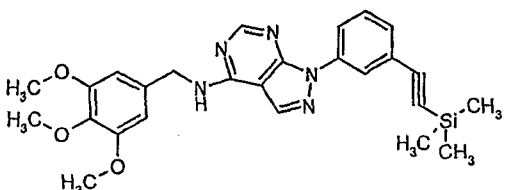
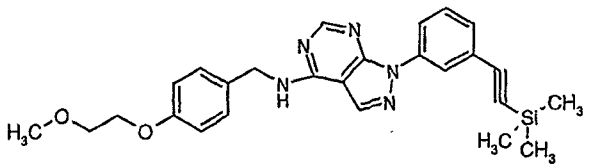
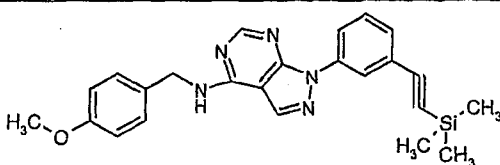
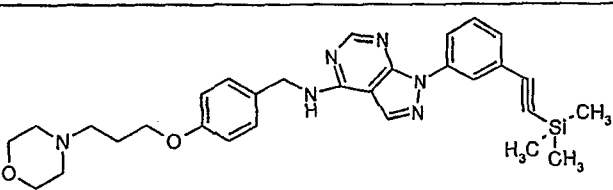
Compound Number	Structure	Chemical name
01		N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)- [1-(3-ethynyl -phenyl) - 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-yl-amine

02		[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-amine
03		[4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine
04		(3,4-Dimethoxy-benzyl)- [1-(3-ethynyl -phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine
05		[3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl][1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine
06		Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1-H-pyrazolo [3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine

Compound Number	Structure	Chemical name
07		[1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-ylamino)-acetic acid
08		3,4-Diethoxy-benzyl- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
09		[1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
10		[4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
11		(4-methoxy-benzyl)- [1-(3-ethynyl -phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
12		[4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine

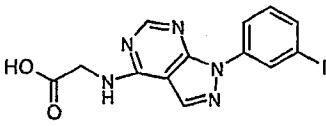
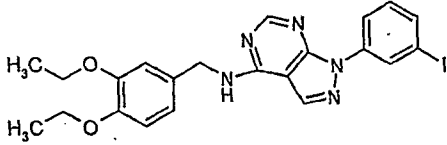
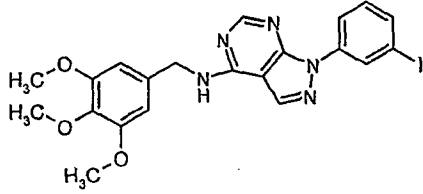
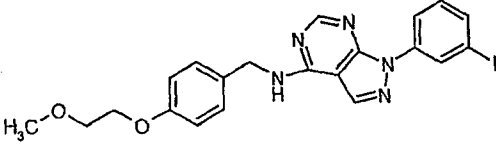
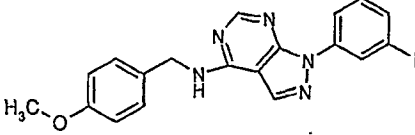
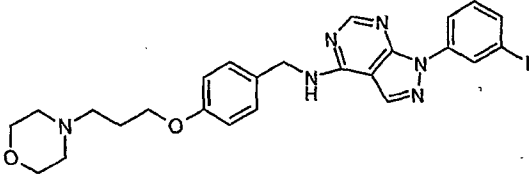
[1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-T

Compound Number	Structure	Chemical name
13		N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-yl]-amine
14		[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-amine
15		[4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine
16		(3,4-Dimethoxy-benzyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
17		[3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine

18		Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl) -1-H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
19		[1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-ylamino)-acetic acid
20		3,4-Diethoxy-benzyl- [1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
21		[1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
22		[4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl)- [1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
23		(4-methoxy-benzyl- [1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl)- 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
24		[4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]- [1-(3-trimethylsilyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine

3-iodophenyl -1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-S

Compound Number	Structure	Chemical name
25		N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-yl-amine
26		[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl)-amine
27		[4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl)-amine
28		(3,4-Dimethoxy-benzyl)--[1-(3-iodo-phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
29		[3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl)-amine
30		Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-iodo-phenyl)-1-H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine

Compound Number	Structure	Chemical name
31		[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-ylamino)-acetic acid
32		3,4-Diethoxy-benzyl)-)-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
33		[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
34		[4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl)-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
35		(4-methoxy-benzyl)-[1-(3-iodo-phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
36		[4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl)-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine

3 - Cyano phenyl -1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-V

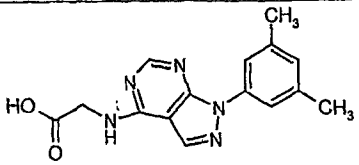
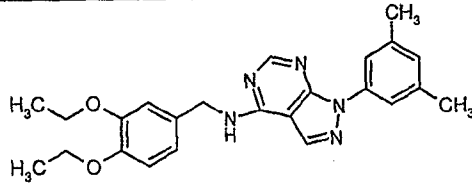
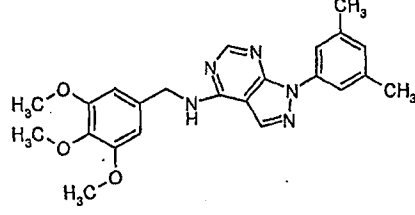
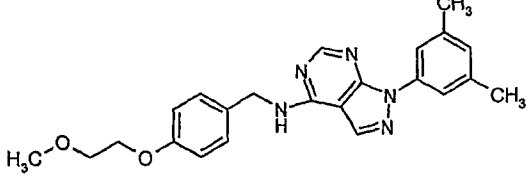
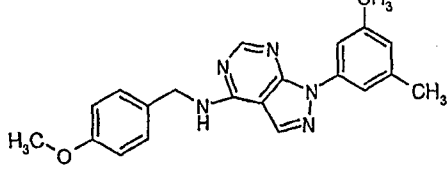
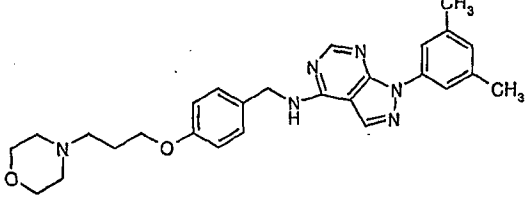
Compound Number	Structure	Chemical name
37		3-{4-[(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylmethyl)-amino]-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
38		3-{4-[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethylamino]-pyrazolo[3,4-d]-1-yl}-benzonitrile
39		3-{4-[4-methoxy-3-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl amino]-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
40		3-[4-(3,4-dimethoxy-benzyl amino)-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]-benzonitrile
41		3-{4-[3,4-bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl amino]-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
42		3-{4-[(Benzo[1,3]dioxol-5-yl methyl)-amino]-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl}-benzonitrile

Compound Number	Structure	Chemical name
43		[1-(3-cyano-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-ylamino]-acetic acid
44		3-[4-(3,4-Diethoxy-benzyl amino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl]-benzonitrile
45		3-[4-(3,4,5-trimethoxy-benzylamino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl]-benzonitrile
46		3-{4-[4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl amino] - pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
47		3-[4-(4-methoxy-benzylamino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl]-benzonitrile
48		3-{4-[4-(3-morpholin-4-yl-propoxy) benzyl amino]-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl}-benzonitrile

34

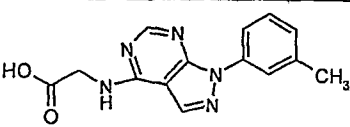
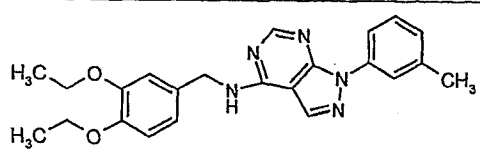
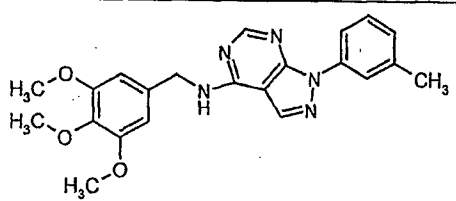
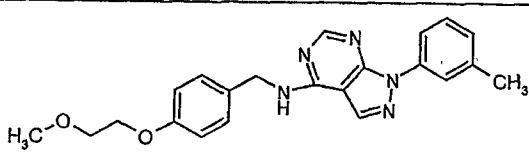
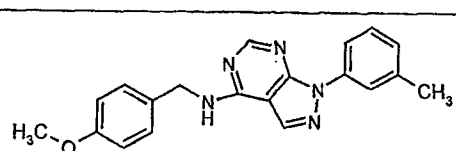
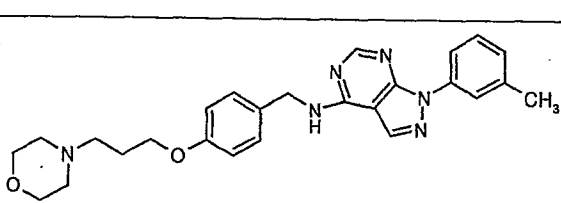
3,5-dimethyl pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-I

Compound Number	Structure	Chemical name
49		N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine
50		N- (benzo [d][1,3] dioxol-5-ylmethyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine
51		1-(3,5-dimethylphenyl)-N- (2-(2-methoxyethoxy) ethyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine
52		[1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-[4-methoxy-3-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]-amine
53		(3,4-dimethoxy-benzyl)-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine
54		[3,4-bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-amine

Compound Number	Structure	Chemical name
55		[1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-ylamino] acetic acid
56		3,4-diethoxy-benzyl-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
57		[1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
58		[1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-[4-(2-methoxy-ethoxy) benzyl amine
59		[1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-[4-(methoxy) benzyl amine
60		[1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-[4-(3-morpholine-4-yl-propoxy) benzyl amine

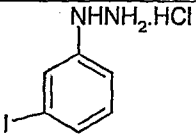
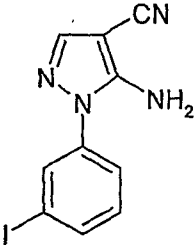
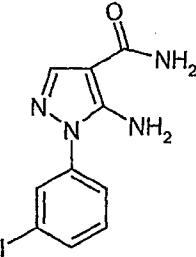
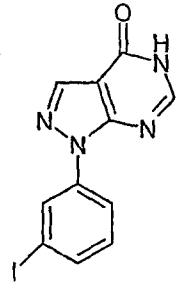
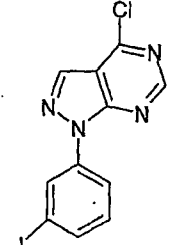
m-tolyl-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-I

Compound Number	Structure	Chemical name
61		N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-amine
62		[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl)-amine
63		[4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl]-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl)-amine
64		(3,4-Dimethoxy-benzyl)-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
65		[3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]- (1-m-tolyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl)-amine

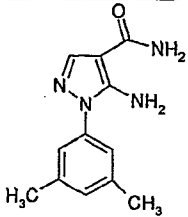
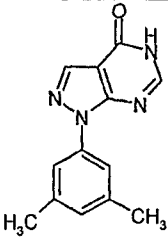
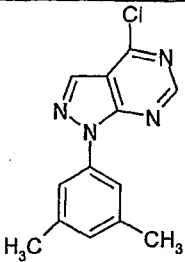
Compound Number	Structure	Chemical name
66		(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-ylamino)-acetic acid
67		3,4-Diethoxy-benzyl)- (1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
68		(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
69		[4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]- (1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
70		(4-methoxy-benzyl)-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine
71		[4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]- (1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine

i) (1-3-iodo phenyl)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-J to P

Compound Number	Structure	Chemical name
-----------------	-----------	---------------

72		1-(3-iodophenyl)-hydrazine hydrochloride
73		5-Amino-1-(3-iodophenyl)-1H-pyrazolo-4-carbonitrile
74		5-Amino-1-(3-iodophenyl)-1H-pyrazolo-4-carboxylic acid amide
75		1-(3-iodophenyl)-1,5-dihydro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-one
76		4-chloro-1-(3-iodophenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine

ii) 3,5-dimethyl pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-E to G

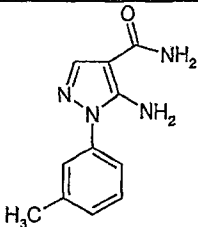
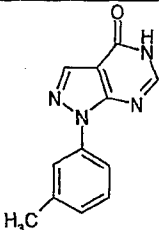
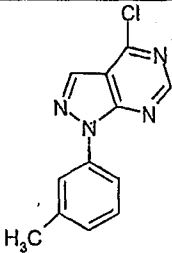
Compound Number	Structure	Chemical name
77		5-Amino-1- (3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid amide
78		1-(3,5-Dimethylphenyl)-1,5-dihydro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-one
79		4-chloro-1- (3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine

5

10

15

iii) (1-m-tolyl)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-E to G

Compound Number	Structure	Chemical name
80		5-Amino-1- m-tolyl-1H-pyrazolo -4-carboxylic acid amide .
81		1-m-Tolyl-1, 5-dihydro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-one
82		4-chloro-1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine

5 IN VITRO STUDIES

MTT PROLIFERATION ASSAY

MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay, first described by Mosmann in 1983, is based on the ability of a mitochondrial dehydrogenase enzyme from viable cells to cleave the tetrazolium rings of the pale yellow MTT and form dark blue formazan crystals largely impermeable to cell membranes, thus resulting in its accumulation within healthy cells. Solubilization of the cells by the addition of a detergent results in the liberation of the crystals, which are solubilized. The number of surviving cells is directly proportional to the level of the formazan product created. The color can then be quantified using a simple colorimetric assay. This assay was done using 0-1000ng/ml concentrations of Erlotinib and its derivatives in A549 and H1299 cells. The protocol was based on ATCC and as per manufacturers instructions (Catalog Number 30-1010K).

WESTERN BLOT ANALYSIS

Ideal drug concentrations determined from the MTT proliferation assay were used to treat 1×10^6 A549 or H1299 cells in appropriate media for 72h following which cell lysates were extracted and fractionated on a 10%SDS PAGE gel under reducing conditions. The gels were blotted onto treated nylon membranes (Bio-Rad) and immunoprobed for EGFR, PI3K and AKT.

MATRIGEL INVASION ASSAY

The *in vitro* invasiveness of H1299 or A549 cells in the presence of various concentrations of compounds of this invention (as determined by MTT assay) was assessed using a modified Boyden chamber assay. Cells were treated with these compounds for 48 h. 1×10^6 cells were suspended in 600 μ l of serum-free medium supplemented with 0.2% BSA and placed in the upper compartment of the transwell chambers (Corning Costar Fischer Scientific Cat #07-200-158, Pittsburgh PA) coated with Matrigel (0.7 mg/ml). The lower compartment of the chamber was filled with 200 μ l of serum- medium and the cells were allowed to migrate for 24 h. After incubation, the cells were fixed and stained with Hema-3 and quantified as previously described (Mohanam, et al. 1993). The migrated cells were quantified as percent invasion.

IN VITRO ANGIOGENIC ASSAY

To determine the anti-angiogenic properties of Erlotinib and its derivatives, ideal concentration of drugs were used to treat A549 cells for 72h as described earlier, after which, complete media was replaced with serum-free media for 12h. This serum-free media was termed as conditioned media and used for angiogenic induction on HMEC cells grown to 80% confluency as per standard protocols.

IN VIVO STUDIES:

Effect of the above mentioned compounds on subcutaneous lung tumors in nude mice

Method

Nude mice were implanted with 2×10^6 A549 cells in the right hind limb flank. Upon the observance of a tumor (>2 mm), mice were given oral or ip treatments of Erlotinib, and above-mentioned compounds at $1/10^{\text{th}}$ of dose of Erlotinib. From a literature search, 100mg/kg of Erlotinib had been identified as the base line dose. The select compounds of the present invention caused retardation of tumor growth similar to Erlotinib at $1/10^{\text{th}}$ concentration (10-80ng/ml).

5

10 **ADVANTAGES OF PRESENT INVENTION:**

1. The above-mentioned novel compounds are superior to the existing standard therapies of non-small cell lung cancers such as Gefitinib and Erlotinib and are potentially useful in lung cancer therapy.
2. The above-mentioned novel compounds are also working on other areas of cancer such as
15 pancreatic cancer and are potentially useful in pancreatic-cancer therapy.
3. The above-mentioned novel compounds are also working on other area such as throat and
oral cancer and are potentially useful in throat and oral cancer therapy.

20

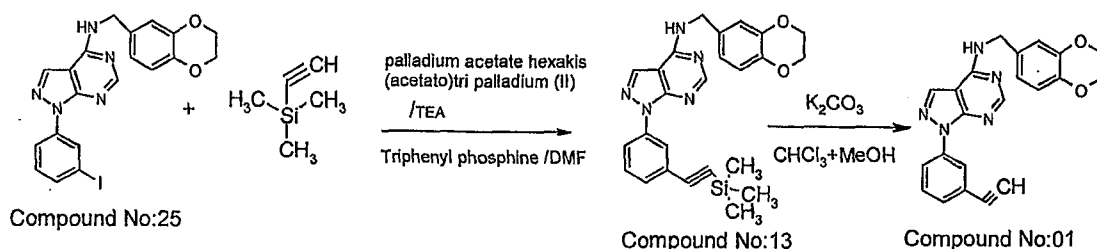
25

30

The invention will be more fully described in conjunction with the following specific examples, which are not to be construed as limiting the scope of the invention.

5 EXPERIMENTAL PROCEDURE

Example -1: Preparation of (2,3-Dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl methyl)-[1-(3-ethynyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine (Compound No. 01)



- 50 ml of dimethylformamide was charged into a 250 ml 4 necked round bottom flask, connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser, addition funnel and nitrogen gas bubbler. 10.0 g (20.60 mmol) of (2,3-Dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl methyl)-[1-(3-iodo-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl] amine (Compound No. 25), 14.50 g (0.146 mol) of ethynyl trimethyl silane, 46.0 mg of palladium acetate hexakis (acetato) tri palladium (II) 108.0 mg of triphenyl phosphine and 20.6 ml of triethyl amine were charged. Maintained the mass temperature at 25-35°C for 30-45 min. Reaction mass temperature was raised to 80-85°C. Maintained the mass temperature at 80-85°C for 4 hours. Reaction mass temperature was cooled to 50-55°C and maintained for 2 hours. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C and maintained for overnight under stirring. Solvent was completely distilled off under vacuum. The crude oil present was dissolved in 160 ml of water and compound was extracted with 300 ml of chloroform. Organic layer was dried with sodium sulphate. Sodium sulphate was filtered and washed the sodium sulphate with 50 ml of chloroform. Distilled off chloroform completely under vacuum. 9.50 g Of crude oil (Compound No. 13) was obtained. Compound was characterized by Mass spectrum [455 (M^{+1})]. 9.0g of crude oil was dissolved in 85 ml of methanol and 85 ml of chloroform mixture. 11.30 g of potassium carbonate was added. Maintained the mass temperature at 25-35°C for 14 hours. Distilled of the solvent completely under vacuum. 7.50 g Of crude oil was obtained. Crude oil was purified by the column chromatography with hexane and ethyl acetate mixture as mobile phase. Obtained 3.60 g (yield; 45.70% by theory) of product. Melting point: 161.0°C

Spectral data:

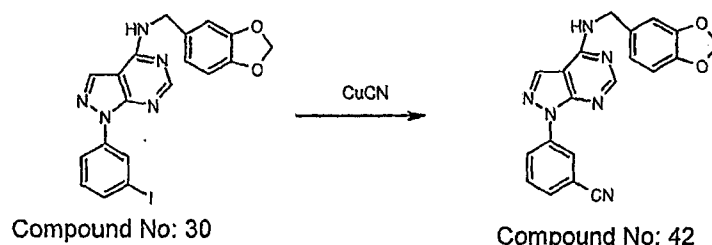
FT-IR (KBr) (cm^{-1}): 3365, 3270, 3209, 3085, 3002, 2937, 2872, 2099, 1591, 1575, 1534, 1506, 1491, 1428, 1347, , 1232, 1204, 1100, 1064, 788, 724,.

400 MHz ^1H NMR (DMSO-d_6) δ value (ppm): 4.19 (s) $\text{C}\equiv\text{CH}$ (1H), 4.30 (s) 2 (CH_2) (4H),
 5 4.63-4.64 (d) (CH_2) (2H), 6.79-6.86(m) Ar-3H, 7.42- 7.55(d&t) Ar-4H, 8.22-8.24 (d), CH
 (1H), 8.38- 8.43 (t) CH (1H), 8.89 (broad) (NH) (1H).

^{13}C NMR: δ value (ppm): 42.78(1C), 63.97(1C), 64.03(1C), 81.35(1C), 82.87(1C),
 101.86(1C), 116.29(1C), 116.89(1C), 120.45(1C), 120.73(1C), 122.43(1C), 123.02(1C),
 129.05(1C), 131.83(1C), 134.14(1C), 139.11(2C), 142.45(1C), 143.16(1C), 153.8(1C),
 10 156.30(1C), 156.63(1C).

MS: 383.2[M], 382.2 [M-1]

Example -2: Preparation of 3-{4-[(Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl)-amino] -pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl}-benzonitrile (Compound No. 42)



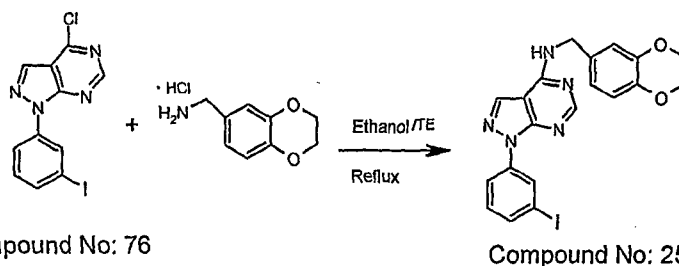
15 10 ml of dimethylformamide and 1.0 g (2.12 mmol) of benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-iodo -phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine (Compound No. 30) were charged into a 100 ml 4- necked round bottom flask, connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser, addition funnel and nitrogen gas bubbler. 0.57 g (6.40 mmol) of copper
 20 cyanide was charged. Reaction mass was heated to reflux temperature. Maintained the mass at reflux temperature for 4 hours. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. 1.0 ml of aqueous ammonia was added. Stirred the mass for 15 min. 100.0 ml of Water was added. Stirred the mass for 15 min. The product was extracted with 50 ml of ethyl acetate and dried the organic layer over sodium sulphate. Ethyl acetate was distilled off completely under
 25 vacuum. Crude oil was crystallized on addition of 5 ml of isopropyl ether. Obtained 500.0 mg of the compound. (Yield - 50% by theory).

Spectral data:

FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3383, 3361, 3091, 2912, 2226, 1619, 1594, 1579, 1492, 1435, 1318, 1037, 985, 784, 672

MS: 372.3[M+2], 371.2 [M+1]

Example -3: Preparation of (2,3-Dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl methyl)-[1-(3-iodo-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl] amine (Compound No. 25)



5 31.0 ml of ethanol and 3.0 g (8.41mmol) of 4-chloro-1- (3-iodo-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine (Compound No. 76) were charged into a 100 ml of 4 necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser and addition funnel. 2.90 g (14.40 mmol) of 2,3-dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl-methylamine hydrochloride was

10 charged at 25-30°C under stirring. Stirred the mass at 25-30°C for 15-20 min. 30.0 g (0.20 mol) of triethyl amine was added slowly at maintaining the mass temperature 25-30°C during 30-45 min. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 30-45 min. Reaction mass temperature was raised to reflux. Maintained the mass temperature at reflux for 5 hours. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-

15 30°C for 60-90 min. Reaction mass temperature was cooled to 0-5°C. Maintained the mass temperature at 0-5°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 10.0 ml of chilled ethanol. Compound was dried under vacuum at 60-65°C. 2.80 g of dry weight is obtained (yield - 68.62 % by theory).

Purity by HPLC - 99.85%.

20 Melting point: 197.9°C.

Spectra data:

FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3426,3193, 3099,2969, 2926, 1602, 1578,1509, 1472, 1102, 1067,938, 676, 633

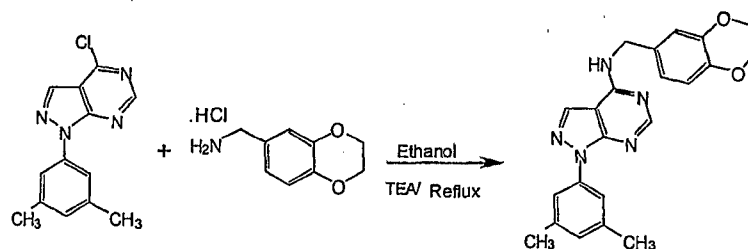
400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆) δ value (ppm): 4.20 (s) 2-CH₂ (4H), 4.63-4.65 (d) CH₂ (2H),

25 6.79-6.86 (m) Ar-H_a,H_b,H_c(3H),7.31-7.35 (t) Ar-H_d (1H), 7.67-7.69 (d) Ar-H_e,H_f,H_g (3H),8.24-8.26 (d) Ar-H_h (1H), 8.41-8.47 (d) Ar-H_i (1H), 8.85 (s) NH (1H)

¹³ C NMR: δ value (ppm): 42.74(1C), 63.98(2C), 94.44(1C), 101.81(1C), 116.23(1C), 116.81(1C), 119.41(1C), 120.39(1C), 128.28(1C) 130.99(1C), 131.74(1C), 134.19(1C), 134.40(1C), 139.93(1C), 142.41(1C), 143.11(2C), 153.04(1C), 156.24(1C), 156.60(1C).

MS: 486.4[M+1]

Example -4: Preparation of (2,3-Dihydro -Benzo [1,4] dioxin-6-yl methyl)-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-amine (Compound No. 49)



5

Compound No: 79

Compound No: 49

350.0 ml of ethanol and 25.0g (0.096 mol) of 4-chloro-1- (3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine (Compound No. 79) were charged into a 1.0L 4 necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser and addition funnel. Stirred the mass at 25-30°C for 15-20 min. 32.0g of 2,3-dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl-methylamine hydrochloride was charged at 25-30°C under stirring. Stirred the mass at 25-30°C for 15-20 min. 30.0 g of triethyl amine was added slowly at maintaining the mass temperature 25-30°C during 30-45 min. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 30-45 min. Temperature of the reaction mass was raised to refluxing. Maintained the mass at reflux temperature for 10 -11 hours. Reaction mass was cooled to 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 60-90 min. Reaction mass was cooled to 0-5°C. Maintained the mass temperature at 0-5°C for 90-120 min. Solid was filtered and washed with 50.0 ml of chilled ethanol. Compound was dried under vacuum at 60-65°C till constant weight is obtained. Dry weight of the compound is 35.50g. 175.0 ml of dimethyl sulfoxide and 35.50 g of dry crude compound were charged into a 1.0L 4-necked round bottom flask, connected to a mechanical stirrer, thermometer socket and condenser. Mass temperature was raised to 55-60°C. Maintained the mass temperature at 55-60°C for 30-45 min. Insoluble solid was filtered through hyflow bed, washed the flask with 20.00 ml of hot dimethyl sulfoxide. Clear filtrate was collected into flask. 1000.0 ml of Water is charged into a 3.0L 4 necked round bottom flask, connected to a mechanical stirrer, thermometer socket and addition funnel. Dimethyl sulfoxide solution was added slowly to water at maintaining the mass temperature at 25-35°C over a period of 30-45 min. Maintained the mass temperature at 25-35°C for 60-90 min. Temperature of the mass was cooled to 5-10°C. Maintained the mass temperature at 5-10°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 150 ml

of water. Compound was dried under vacuum at 60-65°C. 32.0 g Of dried compound is obtained (yield - 85.5% by theory). Product purity by HPLC is 99.48%.

Melting range is 183.4°C-183.6°C

Spectra data:

5 FT-IR (K Br) (cm⁻¹):

3423,3236,3158,3097,2991,2919,1593,1546,1506,1485,1457,1437,1426, 1371,1344, 1326, 1306, 1280, 1262,1252, 1234,1217,1205, 1150, 1122,1097, 1065, 1048, 962, 933, 911, 885, 851, 829, 792, 765, 732, 703, 683, 653, 634,581, 538, 467,434.

400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆) δ value (ppm): 2.34 s (2CH₃), 4.19 s (2 CH₂), 4.64 d (CH₂),

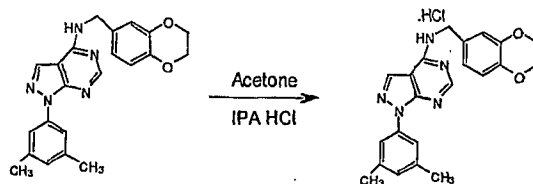
10 Ar Ha, Hb, Hc m (3H), Ar Hd, He, Hf s (3H), Hg s (1H), Hh s (1H), NH t (1H)

¹³ C NMR: δ value (ppm): 21.05(2C), 42.76(1C), 64.04(2C), 101.72(1C), 116.3(1C), 118.32(2C), 120.45(1C), 127.47(1C), 131.97(1C), 133.39(1C), 138.22(2C), 138.89(1C), 142.45(1C), 143.17(1C), 152.78(1C), 156.31(1C), 156.42(1C).

MS: 388.0[M+1]

15

Example -4a: Preparation of (2,3-Dihydro -Benzo [1,4] dioxin-6-yl methyl)-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-amine hydrochloride (Compound No. 49-A).



20

Compound No: 49

Compound No: 49-A

450 ml of acetone was charged into a 1.0L 4-necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser and addition funnel. 30.0g (0.078 mol) of 2,3-Dihydro -benzo [1,4] dioxin-6-yl methyl)-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-amine (Compound No. 49) was charged. Stirred the mass at 25-30°C for 15-20 min. 21.0 g of IPA HCl was charged at 25-30°C under stirring. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 30-45 min. Solid was filtered and washed with 150.0 ml of acetone. Compound was dried under high vacuum at 65-70°C. 30.0 g Of dried compound was obtained (yield - 91.46%)

25

Purity by HPLC -99.80%.

30

Melting point 244.1°C – 244.3°C

Spectral data:

FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3424,3227,3094,3052,2978,2878,2746,1665,1596,1561,1508, 1471, 1435, 1352, 1260, 1239, 1150, 985,917, 885, 827, 778, 684, 646

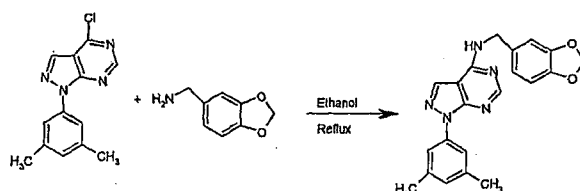
400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆) δ value (ppm): 2.49 s (2CH₃), 4.20 s (2 CH₂), 4.65 d (CH₂), 6.80-6.84Ar Ha, Hb, Hc m (3H), 6.85-6.89Ar Hd, He, Hf s (3H), 6.99Hg s (1H), 7.77Hh s (1H), 8.44 NH t (1H), 9.10 broad (HCl)

¹³ C NMR: δ value (ppm): 20.98(2C), 44.25(1C), 64.05(2C), 101.46(1C), 116.78(1C), 117.01(1C), 119.28(2C), 120.89(1C), 128.60(1C), 129.72(1C), 135.30(1C), 137.84(2C), 138.51(1C), 142.90(1C), 143.24(1C), 150.74(1C).

MS: 425.3[M+2], 424.3[M+1], 422.3[M-1], 387.4[M-HCl]

10

Example-5: Preparation of Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl)-amine (Compound No. 50)



Compound No: 79

Compound No: 50

15 40.0 ml of ethanol and 2.0g (7.74 mmol) of 4-chloro-1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine (Compound No. 79) were charged into a 250 ml of 4-necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser and addition funnel. 2.33g (15.40 mmol) of (3,5-methylenedioxy) benzyl amine was charged at 25-30°C under stirring. Mass temperature was raised to reflux. Maintained the mass temperature at reflux for 6 hours. Mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 60 min. Reaction mass temperature was cooled to 0-5°C. Maintained the mass temperature at 0-5°C for 60min. Solid was filtered and washed with 10.0 ml of chilled ethanol. Compound was dried under vacuum at 60-65°C. Dry weight of the compound: 2.20g (yield - 76.38%).

25 Melting point: 150.2°C .

Purity by HPLC - 99.79%.

Spectral data:

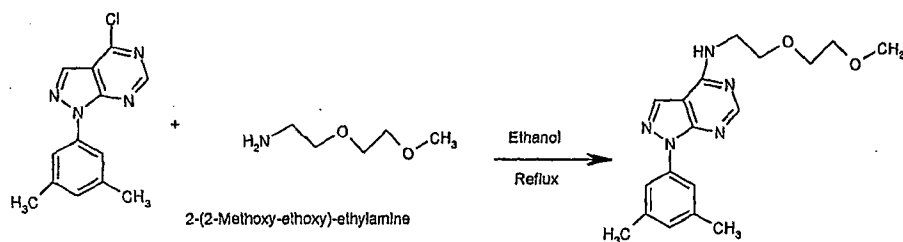
30 FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3423,3233,3149,3101,3006,2891,1593, 1542, 1501,1485,1437, 1364,1340, 1316, 1278, 1238, 1128, 1096, 1072, 1041, 946,929, 846, 829, 809, 791, 703, 687,635, 434

400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆) δ value (ppm): 2.35 s (2CH₃), 4.64 d(CH₂), 5.79 s (CH₂) 6.86 sAr Ha,Hb(2H), 6.94-6.97 d Hc d(1H), 7.81 sAr Hd,He,Hf s (3H), 8.38-8.39 (d) Hg, Hh (2H), ,NH t(1H)

¹³ C NMR: δ value (ppm): 21.02(1C), 43.09(1C), 64.04(1C), 100.82(1C), 101.72(1C), 108.05(1C), 108.12(2C), 118.31(1C), 120.74(1C), 127.44(2C), 132.78(1C), 133.36(1C), 138.19(1C), 138.86(1C), 146.24(1C), 147.28(1C), 152.77(1C), 156.30(1C), 156.37(1C)

MS: 374.0[M+1]

Example-6: Preparation of [1-(3,5-Dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]-amine (Compound No. 51).



Compound No: 79

Compound No: 51

60.0 ml of ethanol and 10.0g (0.038 mol) of 4-chloro-1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine (Compound No. 79) were charged into a 250 ml of 4 necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermometer socket, condenser and addition funnel. 22.40g (0.18 mol) of 2-(2-Methoxy-ethoxy)-ethyl amine was charged at 25-30°C under stirring. Reaction mass temperature was raised to reflux. Maintained the mass temperature at reflux for 5 hours. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 60min. Reaction mass temperature cooled to 0-5°C. Maintained the mass temperature at 0-5°C for 60min. Solid does not formed. Distilled off Ethanol completely under vacuum. Crude oily mass was obtained. Oily mass was dissolved in 45 ml of acetonitrile. 300.0 ml of isopropyl ether was added. Solid was formed. Solid was filtered and solid was washed with 50.0 ml of isopropyl ether. Compound was dried under vacuum at 60-65°C. Dry weight of the compound: 7.50g (yield - 56.80 %).

Melting point: 90.4°C

Purity by HPLC is 99.76%.

Spectral data:

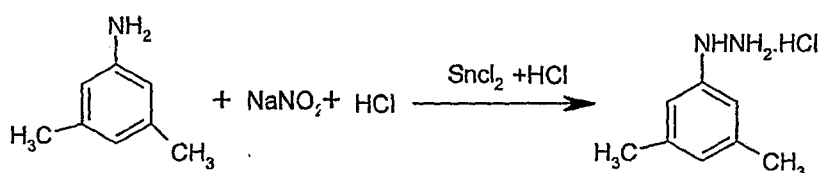
FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3537, 3362, 3265, 3132, 3050, 3012, 2915, 2883, 2872, 1627, 1602, 1568, 1528, 1479, 1389, 1201, 1166, 1134, 980, 929, 886, 684

400 MHz ^1H NMR (DMSO- d_6) δ value (ppm): 2.35 s (2 CH₃), 3.22 s (O-CH₃), 3.31 d (O-CH₂-CH₂), 3.43-3.56 t (NH-CH₂), 3.61-3.69 t (O-CH₂), 6.96 s (Ar-H_a, H_b), 7.80 s (Ar-H_c), 8.37 s (H_d), 8.38 t (NH), 8.54 d (H_e).

^{13}C NMR: δ value (ppm): 21.03(2C), 40.01(1C), 57.99(1C), 68.79(1C), 69.48(1C), 71.21(1C), 101.76(1C), 118.29(2C), 127.44(1C), 133.40(1C), 138.21(2C), 138.87(1C), 152.72(1C), 156.33(1C), 156.54(1C).

MS: 342[M+1]

10 Example -7a: Preparation of 3,5-Dimethyl phenyl hydrazine hydrochloride

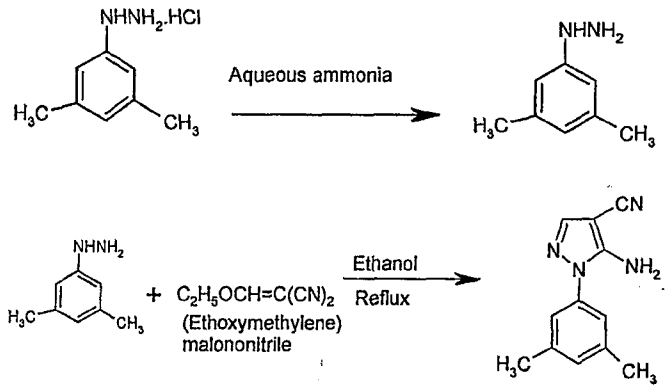


2220.0ml hydrochloric acid was charged into a 5.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser. 200.0g (1.65 mol) of 3,5-Dimethyl aniline was charged at 25-35°C. Reaction mass was stirred for 20 min. Reaction mass was cooled to -5 to 0°C. Sodium nitrite solution [120.0g (1.74 mol) of Sodium nitrite was dissolved in 1060.0ml of DM Water and cooled to 0-5°C) was added to dimethyl aniline mass at -5 to 0°C for 60-90 min. Maintained the mass temperature at -5 to 0°C for 60-75 min. 740.0ml of hydrochloric acid was charged into a 10.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser. 746.0 g of stannous chloride .2H₂O(3.30 mol) was charged. Stirred the mass for 30-45 min at 25-35°C. Reaction mass was cooled to -5 to 0°C. The diazotized solution was added slowly to stannous chloride solution at -5 to 0°C for 150-180 min. Maintained the mass temperature at -5 to 0°C for 30-45 min. Reaction mass temperature was raised to 25-35°C. Maintained the mass temperature at 25-35°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 200.0 ml of water. Compound was dried under vacuum at 55-60°C. 1000.0 ml of ethanol and crude compound were charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser. Raised the mass temperature to reflux temperature. Maintained the mass temperature at reflux for 30-45 min. 20.0 g of carbon was charged and maintained the mass temperature at reflux for 30-45 min. Carbon was filtered and carbon was

51

washed with 200.0 ml of ethanol. Collected the filtrate into a flask. Distilled off ethanol completely under vacuum at mass temperature not crossing 60°C. Mass temperature was cooled to 25-35°C and release the vacuum. 800.0 ml of isopropyl ether was charged. Maintained the mass temperature at 25-35°C for 45-60 min and mass temperature was cooled to 0 to 5°C. Maintained the mass temperature at 0 to 5 °C for 45-60 min. Solid was filtered and solid was washed with 200.0 ml of isopropyl ether. Compound was dried under vacuum at 45-50°C till obtaining constant weight. Dry weight of the compound weight: 243.0 g (yield 85.22%) Purity by HPLC: 99.6%, 3,5-Dimethyl content by HPLC is 0.13%
Spectral data: FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3237,3118, 3008, 2919, 2662,1608, 1588,1577, 1533,1518, 1308, 1276, 1159,1061, 684, cm⁻¹.
400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆): δ value (ppm): 2.20 s (2-CH₃), 2.49 s (NH₂), 6.58 s (Ar-Ha, Hb, Hc. 8.10 broad (NH), 10.09 broad (HCl).
¹³C NMR δ value: 21.11(2C), 112.33(2C), 123.02(1C), 137.98(2C), 145.56(1C).
Mass: 137.26 [M]⁺+1, -HCl, 121.20 [M-NH₂]

Example-7b: Preparation of 5-Amino-1- (3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo-4-carbonitrile



1000.0ml of water was charged into a 5.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser. 240.0 g (1.40 mol) 3,5-dimethyl phenyl hydrazine hydrochloride. Reaction mass pH was adjusted to 9.75±0.25 with aqueous ammonia at 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 30-45 min. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 45-60 min and compound was extracted with 3x500.0 ml of methylene chloride. Organic layer was dried with sodium sulphate upto obtaining moisture content is not more than 0.2 %w/v. Sodium sulphate was filtered and sodium sulphate was washed with 250.0 ml of methylene chloride. Collected the

filtrate into a flask, distilled off methylene chloride completely under vacuum at below 50°C. Finally applied high vacuum for removed the traces of methylene chloride completely at mass temperature not crossing 50°C. Cooled the mass temperature to 25-30°C and released the vacuum. 150.0 ml of hexane was charged. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 45-60 min. Solid was filtered and solid was washed with 50:0 ml of hexane. Compound was dried under vacuum at 25-30°C for 5-6 hours, weighed the dried compound. Dried weight of the compound: 121.0g. 725 ml of ethanol (absolute) and 121.0 g(0.89 mol) of 3,5-Dimethyl phenylhydrazine into a 2.0 L 4necked round bottom flask connect to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser under nitrogen atmosphere. 109.0 g(0.89 mol) of ethoxymethylenemalononitrile .Reaction mass temperature was raised to reflux. Maintained the mass temperature at reflux for 90-120 min. Reaction mass temperature was cooled to 10 to 15 °C. Maintained the mass temperature at 10 to 15°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 125 ml of isopropyl ether. Compound was dried under vacuum at 45-50°C till constant weight obtained.

Dry weight of the compound: 161.5 g (yield: 54.83%).

Purity by HPLC is 99.91%.

Spectral data:

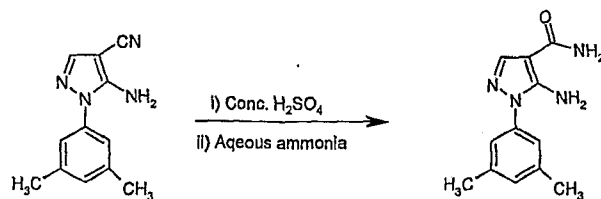
FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3406, 3340, 3237, 3015, 2921, 2210, 1647, 1616, 1601, 1567, 1375, 650

400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆): δ value (ppm): 2.39 s (2CH₃), 6.64 s (NH₂), 7.04, 7.07 d (Ar-Ha, Hb, Hc), 7.74 s (Hd)

¹³ C NMR: δ value (ppm): 20.77(2C), 73.26(1C), 114.86(1C), 121.65(2C), 129.22(1C), 137.25(2C), 138.81(1C), 141.39(1C), 151.0(1C)

MS: 213.26, 186.28

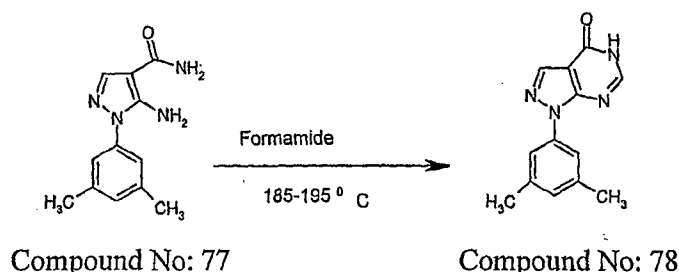
Example -7c: preparation of 5-Amino-1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid amide(Compound No: 77)



Compound No: 77

- 780.0 g of conc. sulphuric acid was charged into a 1.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser under nitrogen atmosphere. Mass was cooled to 10-15°C. 92.0 g (0.44 mol) of 5-amino-1- (3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo-4-carbonitrile was added slowly lots wise at 10-15°C for 120-150 min.
- 5 Maintained the mass temperature at 10-15°C for 30- 45 min. Reaction mass temperature was raised to 25-30°C and maintained the mass temperature at 25-30°C for 90- 120 min. 3.50 kg's of crushed ice was charged into a 10.0 L 4necked round bottom flask connect to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser. Reaction mass solution was added slowly to crushed ice under stirring and mass temperature not crossing 10°C. Maintained the
- 10 mass temperature at 5-10°C for 60-90 min and adjusted the mass pH to 9.75±0.25 with aqueous ammonia at mass temperature not crossing 40°C. Maintained the mass temperature at 30-40°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 100.0 ml of water. Compound was dried under vacuum at 55-60°C. Obtained dried weight of the compound: 95.0 g (yield 97.30%)
- 15 Purity by HPLC is 99.60%.
Spectral data:
FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3425, 3339, 3257, 3190, 3112, 3010, 2918, 1654, 1605, 1555, 1465, 1333, 961, 889, 689, 632
400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆): δ value (ppm): 2.32-2.49 s (2 CH₃), 6.30 s ((NH₂), 6.98 d [3H(Ar-Ha, Hb, Hc)], 7.14 broad (C=O-NH₂), 7.85 d (1H)
20 ¹³C NMR: δ value (ppm): 20.87(2C), 97.31(1C), 120.71(1C), 120.40(2C), 138.09(1C), 138.62(2C), 138.75(1C), 149.15(1C), 166.21(1C)
MS: 231.28[M+1], 216.28 [M-NH₂]

- 25 Example-7d: Preparation of 1-(3,5-Dimethyl-phenyl)-1,5-dihydro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-one (Compound No: 78)



- Charged 300.0 g of formamide into a 2.0 L 4necked round bottom flask connected to a
- 30 mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser under nitrogen atmosphere. 90.0 g

(0.39 mol) of 5-Amino-1- (3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid amide (Compound No. 77) was charged. Reaction mass temperature was raised to reflux (185-195°C). Maintained the mass temperature at reflux for 60-90 min. Reaction mass temperature was cooled to 140-150°C. 900.0 ml of water was added slowly at maintaining the mass temperature 80-150°C. Maintained the mass temperature at 80-90°C for 45-60 min. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 150.0 ml of water. 500.0 ml of DM Water and wet crude compound were charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser. Mass temperature was raised to reflux. Maintained the mass temperature at reflux for 75-90 min and mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 90-120 min. Solid was filtered and solid was washed with 100.0 ml of water. Compound was dried under vacuum at 60-65°C. Dry weight of the compound: 65.0 g (yield 69.21%)

Purity by HPLC - 99.47%.

15 Spectral data:

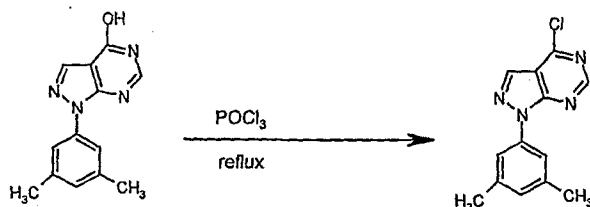
FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3156, 3112, 3015, 2950, 2876, 1708, 1615, 1591, 1529, 1474, 1136, 1097, 839, 827, 780, 711, 679, 641, 627

400 MHz ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ value (ppm): 2.34 s (CH₃), 2.49 s (CH₃), 7.03 s [Ar-Ha, Hb (2H)], 7.64 s [Ar-Hc (1H)] 8.19 s (1H), 8.29 s (1H), 12.20 broad (NH)

20 ^{13}C NMR: δ value (ppm): 20.91(2C), 107.46(1C), 119.38(2C), 128.40(1C), 135.63(2C), 138.32(2C), 148.59(1C), 151.69(1C), 157.14(1C)

MS: 241.26[M+1]

Example -7e: Preparation of 4-chloro-1- (3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine (Compound No: 79)



Compound No: 78

Compound No: 79

650.0 g of Phosphorus (V) oxychloride (POCl_3) was charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask connected to a mechanical stirrer, thermo meter socket, and condenser under nitrogen atmosphere. 60.0 g (0.25 mol) of 1-(3,5-Dimethyl-phenyl)-1,5-dihydro-pyrazolo

[3,4-d] pyrimidine-4-one (Compound No. 78) was charged. Reaction mass temperature was raised to reflux (105-108°C). Maintained the mass temperature at reflux for 8-9 hour's. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C and 600.0 ml of chloroform was charged. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 30-45 min. 2.0 kg's of crushed ice was charged into a 5.0 L 4necked round bottom flask connect to a mechanical stirrer, thermometer socket, and condenser. Reaction mass was added slowly at maintaining the mass temperature below 10°C. Maintained the mass temperature at 0-10°C for 30-45 min. Mass temperature was raised to 25-30°C. 600.0 ml of Chloroform was charged. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 30-45 min and settled the mass for 20-30 min. Separated the bottom organic layer. Organic layer was dried with sodium sulphate upto obtaining the moisture content is not more than 0.20%w/v. 15.0g of carbon was charged. Mass temperature was raised to 45-50°C. Maintained the mass temperature at 45-50°C for 30-45 min. Carbon and sodium sulphate was filtered through hyflow bed and bed was washed with 300.0 ml of chloroform. Filtrate was collected into a flask. Chloroform was distilled completely under vacuum at mass temperature not crossing 60°C. Finally applied high vacuum to complete remove the traces of chloroform at mass temperature not crossing 60°C. Mass temperature was cooled to 25-30°C and release the vacuum. 250.0 ml of isopropyl ether was charged. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 45-60 min. Solid was filtered and the solid was washed with 50.0 ml of isopropyl ether. Compound was dried under vacuum at 55-60°C.

Dry weight of the compound: 56.0 g (yield 86.6%).

Product purity by HPLC - 99.79%.

Spectral data:

FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3096, 2952, 2913, 2854, 1614, 1605, 1589, 1546, 1481, 1426, 1379, 1351, 1274, 1261, 1225, 848, 640,

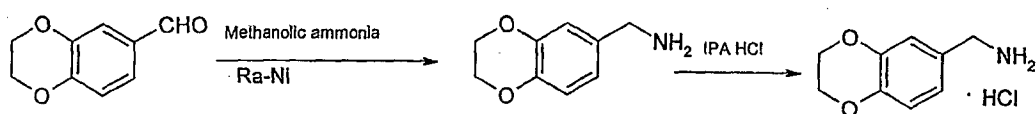
400 MHz ¹H NMR (DMSO-d₆): δ value (ppm): 2.36 s (CH₃), 2.49 s (CH₃), 7.05 s [Ar-Ha, Hb (2H)], 7.73 s [Ar-Hc (1H)], 8.69 s (1H), 8.95 s (1H)

¹³C NMR: δ value (ppm): 20.97(2C), 114.47(1C), 118.62(2C), 128.56(1C), 133.52(2C), 137.70(1C), 138.56(1C), 152.33(1C), 154.0(1C), 155.2(1C)

MS: 259.26[M+1], 223.28[M-Cl]

30

Example -8: Preparation of 2,3-dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl-methylamine hydrochloride



242.0g of Methanolic ammonia [as 100%w/w by chemical assay][Note: as chemical assay: 23.0%w/w, volume 1350.0 ml] and 30.0 g (0.183 mol) of 1,4-benzodioxan-6-carboxaldehyde were charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask, connect to a mechanical stirrer, thermo meter socket and condenser at 20-30°C. Stirred the mass for 20-30 min at 20-30°C. After dissolution is clear. Reaction mass was charged into a 2.0 L hydrogenator kettle at 20-30°C. 30.0 g of Raney Nickel (with Methanol dried) was charged under nitrogen atmosphere. Kettle was fitted to the hydrogenator. Nitrogen atmosphere was removed in Hydrogenator kettle with hydrogen gas by slowly flushing. Hydrogen gas was feeded upto 50- 55 psi in hydrogenation kettle under oscillation. Maintained the hydrogen gas pressure (50-55 psi) till the hydrogen gas consumption is stopped. Reaction mass temperature was raised to 40-45°C. After hydrogen gas consumption is stooped at 45-50°C. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the hydrogen gas pressure at 50-55 psi for till the hydrogen gas consumption is stopped (about 90-120 min). Raney nickel was filtered through hyflow bed under nitrogen atmosphere. Raney Nickel was washed with 300.0 ml of methanol under nitrogen atmosphere. Filtrate was collected into a flask. Methanol was distilled completely under vacuum at mass temperature not crossing 55°C. Mass temperature was cooled to 40-45°C and release the vacuum. 50.0 ml of isopropyl alcohol was added. Reaction mass pH was adjusted to 0.5±0.25 with IPA HCl. Maintained the mass temperature at 25-30°C for 60-90 min under stirring. Solid was filtered and solid was washed with 20.0 ml of isopropyl alcohol. Compound was dried under vacuum at 40 ±5°C. Dry compound weight: 31.0 g (yield: 84.1%).

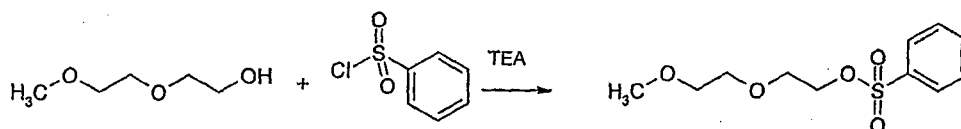
Spectral data:

FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3447.6, 2977.6, 2870.0, 1594.5, 1506.6, 1474.0, 1285.8, 1077.7, 1051.

735.2, 617.9, 472.0

MS: 202.6 [M+1]

Example -9: Preparation of benzene sulfonic acid 2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl ester (Compound No:83)



Compound No:83

100 g (0.832 mol) of diethylene glycolmethylether and 600.0 ml of methylenechloride were charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask, connect to a mechanical stirrer, thermo

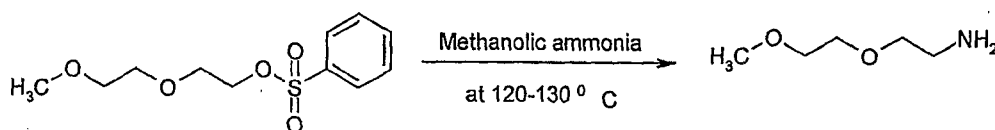
meter socket, condenser and addition funnel. Reaction mass was cooled to -5 to 0°C and then 210.0 g (2.07 mol) of triethylamine was charged. 147.0 g of benzenesulphonylchloride was added at maintaining the mass temperature at -5 to 0°C . Reaction mass temperature was raised to 25 to 30°C and maintained for 2 hours. Reaction mass was diluted with 400.0 ml of methylenechloride and reaction mass was cooled to -5 to 0°C . 500.0 ml of water was added and reaction mass temperature was raised to 25 to 30°C and maintained for 30 min. Organic layer was separated and organic layer was washed with 2X500.0 ml of 10% sodium bicarbonate solution. Organic layer was dried with sodiumsulphate and methylenechloride was completely distilled under vacuum. Obtained crude oil weight was 183.0 g (yield: 84.4%).

10 Spectral data:

FT-IR (neat)(cm^{-1}): 3066.4, 2882.1, 2824.4, 1586.1, 1448.9, 1359.2, 1187.3, 923.7, 849.9, 793.0, 689.6

MS: 261.3 [M+1]

Example -10: Preparation of 2-(2-Methoxy-ethoxy)-ethyl amine (Compound No: 84)



Compound No: 83

Compound No: 84

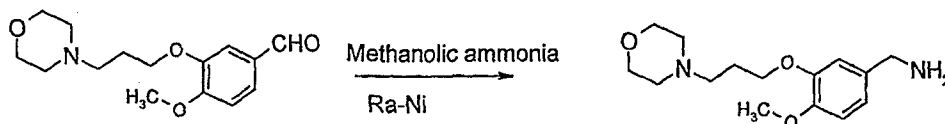
180.0 g (0.69 mol) of benzene sulfonic acid 2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl ester (Compound No. 79) and 600.0 ml of methanolic ammonia were charged into 1.0 L pressure sealed kettle. Reaction mass was heated to $120-130^{\circ}\text{C}$ under sealed conditions. Reaction mass temperature was maintained at $120-130^{\circ}\text{C}$ for 4 hours. Reaction mass temperature was cooled to $25-30^{\circ}\text{C}$ and methanol was completely distilled under vacuum. Remaining mass was diluted with 75.0 ml of water and mass pH was adjusted to 1 to 2 with 5.0 ml of conc. hydrochloric acid. Reaction mass was washed with 200.0 ml of methylene chloride. Again aqueous layer pH was adjusted to 9-10 with 130.0 ml of aqueous ammonia solution. Compound was extracted with 300.0 ml of methylene chloride and organic layer was dried with sodiumsulphate. Methylenechloride was completely distilled and finally applied vacuum at below 50°C . Crude oil weight was 39.60 g (yield: 48.1%).

Spectral data:

FT-IR (neat)(cm^{-1}): 3369.7, 2876.4, 1584.8, 1457.2, 1354.2, 1304.3, 1245.3, 1029.7, 849.3, 578.2

30 MS: 120.1 [M+1]

Example -11: Preparation of 4-methoxy-3- (3-morpholin-4-yl-propoxy benzyl amine
(Compound No : 85)



5

Compound No : 85

600.0 ml of methanolic ammonia [Note: as chemical assay: 25.0%w/w] and 33.0 g (0.118 mol) of 4-methoxy-3- (3-morpholin-4-yl-propoxy benzaldehyde were charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask, connect to a mechanical stirrer, thermo meter socket and condenser at 20-30°C. Stirred the mass for 20-30 min at 20-30°C. After dissolution is clear.

10 Reaction mass was charged into a 2.0 L hydrogenator kettle at 20-30°C. 33.0 g of Raney Nickel (with Methanol dried) was charged under nitrogen atmosphere. Kettle was fitted to the hydrogenator. Nitrogen atmosphere was removed in Hydrogenator kettle with hydrogen gas by slowly flushing. Hydrogen gas was feeded upto 50- 55 psi in hydrogenation kettle under oscillation. Maintained the hydrogen gas pressure (50-55 psi) till the hydrogen gas

15 consumption is stopped. Reaction mass temperature was raised to 40-45°C. After hydrogen gas consumption is stooped at 45-50°C. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the hydrogen gas pressure at 50-55 psi for till the hydrogen gas consumption is stopped (about 90-120 min). Raney nickel was filtered through hyflow bed under nitrogen atmosphere. Raney Nickel was washed with 300.0 ml of methanol under

20 nitrogen atmosphere. Filterate was collected into a flask. Methanol was distilled completely under vacuum at mass temperature not crossing 55°C. Mass temperature was cooled to 30-35°C and release the vacuum. Obtained oily mass weight 31.0 g (yield: 93.6% by theory).

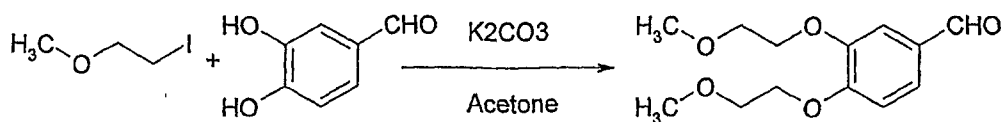
Spectral data:

FT-IR (neat)(cm⁻¹): 3356.1, 2954.9, 2857.2, 1606.7, 1591.2, 1515.0, 1444.1, 1426.4, 1260.5,

25 1235.7, 1137.9, 1116.7, 1068.5, 1028.5, 863.0, 808.7, 653.7, 589.5

MS: 281.2 [M+1]

Example -12: Preparation of 3,4-bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzaldehyde



80.0 g (0.57 mol) of 3,4-dihydroxy benzaldehyde and 800.0 ml of acetone were charged into 2.0 L 4necked round bottom flask, connect to a mechanical stirrer, thermo meter socket and condenser at 25-30°C. Reaction mass was stirred for 20 min. 324.0 g (1.74 mol) of 1-iodo-2-methoxy-ethane and 240.0 g (1.70 mol) of potassium carbonate were charged. Reaction mass was heated to reflux. Reaction mass temperature was maintained at reflux for 6 hours. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C and inorganic solid was filtered. Acetone was completely distilled under vacuum at below 60°C. Remaining mass was diluted with 400.0 ml of DM water. Compound was extracted with 400.0 ml of ethyl acetate and organic layer was dried with sodium sulphate. Ethyl acetate was completely distilled under vacuum and finally applied high vacuum at below 60°C. 69.20 g of crude product (Oil) was obtained (yield: 47.0% by theory).

Spectral Data:

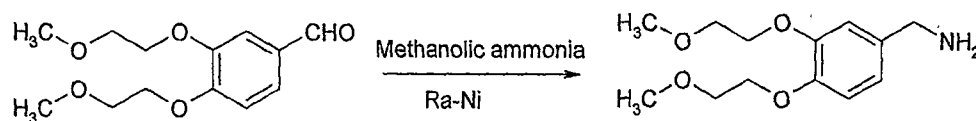
FT-IR: 3448.5, 2932.7,

2889.4, 2825.0, 1685.8, 1586.2, 1508.8, 1437.7, 1276.1, 1198.9, 1125.6, 1050.2, 810.4, 743.4, 653.

6,588.1.

MS: 255.4[M+1]

Example -13: Preparation of 3,4-bis- (2-methoxy-ethoxy)-benzyl amine (Compound No: 86)



Compound No: 86

600.0 ml of methanolic ammonia [Note: as chemical assay: 25.0%w/w] and 60.0 g (0.236mol) of 3,4-bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzaldehyde were charged into a 2.0 L 4necked round bottom flask, connect to a mechanical stirrer, thermo meter socket and condenser at 20-30°C. Stirred the mass for 20-30 min at 20-30°C. After dissolution is clear. Reaction mass was charged into a 2.0 L hydrogenator kettle at 20-30°C. 33.0 g of Raney Nickel (with Methanol dried) was charged under nitrogen atmosphere. Kettle was fitted to the hydrogenator. Nitrogen atmosphere was removed in Hydrogenator kettle with hydrogen gas by slowly flushing. Hydrogen gas was fed upto 50- 55 psi in hydrogenation kettle under oscillation. Maintained the hydrogen gas pressure (50-55 psi) till the hydrogen gas consumption is stopped. Reaction mass temperature was raised to 40-45°C. After hydrogen gas consumption is stopped at 45-50°C. Reaction mass temperature was cooled to 25-30°C. Maintained the hydrogen gas pressure at 50-55 psi for till the hydrogen gas consumption is

stopped (about 90-120 min). Raney nickel was filtered through hyflow bed under nitrogen atmosphere. Raney Nickel was washed with 300.0 ml of methanol under nitrogen atmosphere. Filtrate was collected into a flask. Methanol was distilled completely under vacuum at mass temperature not crossing 55°C. Mass temperature was cooled to 30-35°C and
5 release the vacuum. Obtained oily mass weight 52.0 g (yield: 86.3%).

Spectral data:

Mass spectra: 256.3[M+1]

10

The analogous compounds of 1-(3-ethynyl phenyl)-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, compound numbers - 1 to 12, have been prepared by following the procedure
15 mentioned in example -1

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
01	C ₂₂ H ₁₇ N ₅ O ₂	383.0	383.4 [M]	382.4 [M-1]
02	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂	337.0	337.3 [M]	336.3 [M-1]
03	C ₂₈ H ₃₀ N ₆ O ₃	498.0	498.5 [M]	497.5 [M-1]
04	C ₂₂ H ₁₉ N ₅ O ₂	385.0	385.4[M]	384.4[M-1]
05	C ₂₆ H ₂₇ N ₅ O ₄	473.0	473.5 [M]	472.5 [M-1]
06	C ₂₁ H ₁₅ N ₅ O ₂	369.0	368.3 [M]	367.3 [M-1]
07	C ₁₅ H ₁₁ N ₅ O ₂	293.0	293.2 [M]	292.2 [M-1]
08	C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O ₂	413.0	413.4[M]	412.4[M-1]
09	C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₃	415.0	415.4 [M]	414.4 [M-1]
10	C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₂	399.0	399.4 [M]	398.4 [M-1]
11	C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O	355.0	355.30 [M]	354.30 [M-1]
12	C ₂₇ H ₂₈ N ₆ O ₂	468.0	468.5[M]	467.5[M-1]

The analogous intermediate compounds of 1-(3-trimethyl silanylethynyl phenyl)-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, compound numbers - 13 to 24, have been prepared by following the procedure mentioned in example -1

20

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
13	C ₂₅ H ₂₅ N ₅ O ₂ Si	455.0	456.6[M+1]	455.6 [M]
14	C ₂₁ H ₂₇ N ₅ O ₂ Si	409.0	410.5 [M+1]	409.5 [M]
15	C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₃ Si	570.0	571.7 [M+1]	570.7 [M]
16	C ₂₅ H ₂₇ N ₅ O ₂ Si	457.0	458.3 [M+1]	457.3 [M]
17	C ₂₉ H ₃₅ N ₅ O ₄ Si	545.0	546.7 [M+1]	545.7[M]
18	C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O ₂ Si	441.0	442.5 [M+1]	441.5 [M]
19	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂ Si	365.0	365.4 [M]	364.4 [M-1]
20	C ₂₇ H ₃₁ N ₅ O ₂ Si	485.0	486.6 [M+1]	485.6 [M]
21	C ₂₆ H ₂₉ N ₅ O ₃ Si	487.0	488.6 [M+1]	487.6 [M]
22	C ₂₆ H ₂₉ N ₅ O ₂ Si	471.0	472.6 [M+1]	471.6 [M]
23	C ₂₄ H ₂₅ N ₅ OSi	427.0	428.5 [M+1]	427.5 [M]
24	C ₃₀ H ₃₆ N ₆ O ₂ Si	540.0	541.7 [M+1]	540.7 [M]

5 The analogous compounds of 3-iodophenyl -1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, compound numbers - 25 to 36, have been prepared by following the procedure mentioned in example- 2

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
25	C ₂₀ H ₁₆ N ₅ O ₂ I	485.0	486.3 [M+1]	485.3 [M]
26	C ₁₆ H ₁₈ N ₅ O ₂ I	439.0	440.2 [M+1]	439.2[M]
27	C ₂₆ H ₂₉ N ₆ O ₃ I	600.0	601.4 [M+1]	600.4 [M]
28	C ₂₀ H ₁₈ N ₅ O ₂ I	487.0	488.3 [M+1]	487.3 [M]
29	C ₂₄ H ₂₆ N ₅ O ₄ I	575.0	576.4 [M+1]	575.4 [M]
30	C ₁₉ H ₁₄ N ₅ O ₂ I	471.0	472.2 [M+1]	471.2 [M]
31	C ₁₃ H ₁₀ N ₅ O ₂ I	395.0	395.1 [M]	394.1 [M-1]
32	C ₂₂ H ₂₂ N ₅ O ₂ I	515.0	516.3 [M+1]	515.3 [M]
33	C ₂₁ H ₂₀ N ₅ O ₃ I	517.0	518.3[M+1]	517.3 [M]
34	C ₂₁ H ₂₀ N ₅ O ₂ I	501.0	502.3 [M+1]	501.3 [M]
35	C ₁₉ H ₁₆ N ₅ O I	457.0	458.2 [M+1]	457.2 [M]

36	C ₂₅ H ₂₇ N ₆ O ₂ I	570.0	571.4 [M+1]	570.4 [M]
----	---	-------	-------------	-----------

The analogous compounds of 3-cyanophenyl, -1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives compound numbers - 37 to 48, have been prepared by following the procedure mentioned in example- 3

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
37	C ₂₁ H ₁₆ N ₆ O ₂	384.0	385.40 [M+1]	384.40 [M]
38	C ₁₇ H ₁₈ N ₆ O ₂	338.0	339.3 [M+1]	338.3 [M]
39	C ₂₇ H ₂₉ N ₇ O ₃	499.0	500.5 [M+1]	499.5 [M]
40	C ₂₁ H ₁₈ N ₆ O ₂	386.0	387.4 [M+1]	386.4 [M]
41	C ₂₅ H ₂₆ N ₆ O ₄	474.0	475.5 [M+1]	474.5 [M]
42	C ₂₀ H ₁₄ N ₆ O ₂	370.0	371.3 [M+1]	370.3 [M]
43	C ₁₄ H ₁₀ N ₆ O ₂	294.0	294.2 [M]	293.2 [M-1]
44	C ₂₃ H ₂₂ N ₆ O ₂	414.0	415.4[M+1]	414.4 [M]
45	C ₂₂ H ₂₀ N ₆ O ₃	416.0	417.4 [M+1]	416.4 [M]
46	C ₂₂ H ₂₀ N ₆ O ₂	400.0	401.4 [M+1]	400.4 [M]
47	C ₂₀ H ₁₆ N ₆ O	356.0	357.3 [M+1]	356.3 [M]
48	C ₂₆ H ₂₇ N ₇ O ₂	469.0	470.5 [M+1]	469.5 [M]

5

The analogous compounds of 3,5-dimethyl pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, compound numbers - 49 to 60, have been prepared by similar way as mentioned in examples- 4,5 & 6

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
49	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₂	387.0	388.4[M+1]	387.4 [M]
50	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₂	373.0	374.3 [M+1]	373.3[M]
51	C ₁₈ H ₂₃ N ₅ O ₂	341.0	342.3 [M+1]	341.3[M]
52	C ₂₈ H ₃₄ N ₆ O ₃	502.0	503.6 [M+1]	502.6[M]
53	C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₂	389.0	390.4 [M+1]	389.4[M]
54	C ₂₆ H ₃₁ N ₅ O ₄	477.0	478.5 [M+1]	477.5[M]
55	C ₁₅ H ₁₅ N ₅ O ₂	297.0	297.3 [M]	296.3 [M-1]
56	C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₂	417.0	418.0 [M+1]	417.5 [M]

57	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₃	419.0	420.4 [M+1]	419.4 [M]
58	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₂	403.0	404.4 [M+1]	403.4[M]
59	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O	359.0	360.4 [M+1]	359.4 [M]
60	C ₂₇ H ₃₂ N ₆ O ₂	472.0	473.6 [M+1]	472.6[M]

The analogous compounds of m-tolyl-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives, compound numbers - 61 to 71, have been prepared by similar way as mentioned in

5 examples- 4,5 & 6

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
61	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₂	373.0	374.4 [M+1]	373.4[M]
62	C ₁₇ H ₂₁ N ₅ O ₂	327.0	328.3 [M+1]	327.3[M]
63	C ₂₇ H ₃₂ N ₆ O ₃	488.0	489.5 [M+1]	488.5[M]
64	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O ₂	375.0	376.4 [M+1]	375.4 [M]
65	C ₂₅ H ₂₉ N ₅ O ₄	463.0	464.2 [M+1]	463.2[M]
66	C ₁₄ H ₁₃ N ₅ O ₂	283.0	283.3 [M]	282.3 [M-1]
67	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₂	403.0	404.4 [M+1]	403.4[M]
68	C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₃	405.0	406.4 [M+1]	405.4[M]
69	C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₂	389.0	390.2 [M+1]	389.2[M]
70	C ₂₀ H ₂₀ N ₅ O	345.0	346.4 [M+1]	345.4[M]
71	C ₂₆ H ₃₀ N ₆ O ₂	458.0	459.5 [M+1]	458.5[M]

The intermediate compounds of 1-(3-iodophenyl)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine, compound numbers - 72 to 76, have been prepared by similar way as mentioned in examples – 7a-7e

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
72	C ₆ H ₈ N ₂ ICl	270.5	271.6 [M+1]	270.6 [M]
73	C ₁₀ H ₇ N ₄ I	310.0	311.1 [M+1]	310.1 [M]
74	C ₁₀ H ₉ N ₄ OI	328.0	329.1 [M+1]	328.1 [M]
75	C ₁₁ H ₇ N ₄ OI	338.0	339.2 [M+1]	338.2 [M]
76	C ₁₁ H ₆ N ₄ ICl	356.5	357.6 [M+1]	356.6 [M]

The intermediate compounds of 3,5-dimethyl pyrazolo [3,4-d] pyrimidine, compound numbers - 77 to 79, have been prepared by similar way as mentioned in examples – 7a-7e

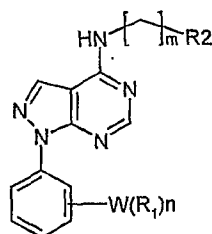
Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
77	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O	230.0	231.2 [M+1]	230.2 [M]
78	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O	240.0	241.2 [M+1]	240.2 [M]
79	C ₁₃ H ₁₁ N ₄ Cl	258.5	259.7 [M+1]	258.7 [M]

- 5 The intermediate compounds of (1-m-tolyl)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine, compound numbers - 80 to 82, have been prepared by similar way as mentioned in examples – 7a-7e

Compound Number	Molecular formula	Molecular weight	Mass peaks	
			Peak-i	Peak-ii
80	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O	216.0	217.2 [M+1]	216.2 [M]
81	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O	226.0	227.2 [M+1]	226.2 [M]
82	C ₁₂ H ₉ N ₄ Cl	244.5	245.7 [M+1]	244.7 [M]

We claim:

1. Substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-I,



Formula-I

5 and pharmaceutically acceptable salts thereof,

wherein n and m are 1, 2, or 3;

W is single bond, C₁-C₆ alkyl, alkenyl, alkynyl, NH, S, SO, SO₂, O, C=O or an amide group, each R₁ is independently selected from hydrogen, halo, hydroxy, amino, hydroxyamino, carboxy, nitro, guanidino, ureido, carbamoyl, cyano, trifluoromethyl,

10 or each R₁ is independently selected from the group consisting of C₁- C₆ alkyl, C₃- C₆ cycloalkyl, C₁-C₆ alkoxy, C₃-C₆ cycloalkoxy, (C₁-C₆) alkoxycarbonyl, aryloxy, heteroaryloxy, C₁-C₆ thioalkoxy, C₃-C₆ thiocycloalkoxy, thioaryloxy, thioheteroaryloxy, nitro, amino, N-mono(C₁-C₆) alkylamino, N,N-di(C₁-C₆) alkylamino, formamido, amido, acetamido, hydroxylamino, C₁-C₆ alkoxyamino, hydrazino, trifluoromethyl, 15 trifluoromethoxy, C₂- C₆ alkenyl, C₂- C₆ alkynyl, aryl, heterocyclyl, fused aryl, fused heteroaryl and fused heterocyclyl;

each R₁ is independently selected from R₃-sulfonylamino, phthalimido-(C₁-C₄)-alkylsulfonylamino, benzamido, benzenesulfonylamino, 3-phenylureido, 2-oxopyrrolidin- 1-yl, 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl, and C₂-C₄ alkanoylamino and wherein said benzenesulfonylamino or phenyl or phenoxy or anilino or phenylsulfanyl substituent in R¹ may optionally bear one or two halogens, (C₁-C₄) alkyl, cyano, methansulfonyl or (C₁-C₄) alkoxy substituents; or any two R₁ taken together with the carbons to which they are attached comprise a 5-8 membered ring comprising at least one or two heteroatoms selected from 20 oxygen, sulfur or nitrogen; and wherein the alkyl groups and alkyl portions of the alkoxy or alkylamino groups may be straight chained or if comprised of at least three carbons may be branched or cyclic; where R₃ is selected from C₁- C₆ -alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl

R₂ is selected from the group consisting of hydrogen, C₁-C₆ alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, C₁-C₆ alkoxy carbonyl, aryl, heteroaryl, C₁-C₆ thioalkyl, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, heterocyclyl, fused aryl, fused heteroaryl and fused heterocyclyl, such as 1,3-benzodioxol, 1,4-benzodioxin,

5

And R₂ is selected from the group consisting of phenyl or benzyl and substituted with 1,2,3 or 4 groups and the substituents are independently selected from R₄,

where R₄ is selected from hydrogen, halo, hydroxy, amino, hydroxyamino, carboxy, nitro, guanidino, ureido, carbamoyl, cyano, trifluoromethyl, C¹-C⁶ -alkyl, C₃-C₆ cycloalkyl, hydroxy, C₁-C₆ alkoxy, C₃-C₆ cycloalkoxy, C₁-C₆ alkoxy carbonyl, aryloxy, heteroaryloxy, C₁-C₆ thioalkoxy, C₃-C₆ thiocycloalkoxy, thioaryloxy, thioheteroaryloxy, nitro, amino, N-mono (C₁-C₆) alkylamino, N, N-di (C₁-C₆) alkylamino, formamido, amido, acetamido, hydroxylamino, C₁-C₆ alkoxyamino, hydrazino, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, alkenyl, alkynyl, aryl, heterocyclyl, fused aryl, fused heteroaryl and fused heterocyclyl;

2. Pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of the formula-I as claimed in claim 1 selected from:

A) [1-(3-ethynyl phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives

- a) N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-yl)-amine
- b) [2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl)-amine
- c) [2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl)-amine
- d) (3,4-Dimethoxy-benzyl)- [1-(3-ethynyl -phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- e) [3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl[1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl)-amine
- f) Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1-H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
- g) [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4ylamino)-acetic acid
- h) 3,4-Diethoxy-benzyl- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine

- i) [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
- j) [4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- 5 k) (4-methoxy-benzyl)- [1-(3-ethynyl -phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- l) [4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]- [1-(3-ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- B) [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives
- 10 a) N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4yl)-amine
- b) [2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4yl)-amine
- c) [4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl]- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
- 15 d) (3,4-Dimethoxy-benzyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- e) [3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
- 20 f) Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-trimethylsilany ethynyl -phenyl) -1-H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
- g) [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4ylamino)-acetic acid
- h) 3,4-Diethoxy-benzyl- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- 25 i). [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
- j) [4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- 30 k) (4-methoxy-benzyl)- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)- 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- l) [4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]- [1-(3-trimethylsilanyl ethynyl -phenyl)-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- C) 3-iodophenyl -1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives

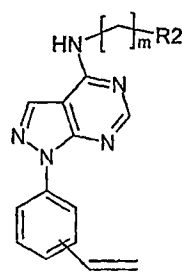
- a) N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4yl)-amine
 - b) [2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4yl)-amine
 - 5 c) [4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
 - d) (3,4-Dimethoxy-benzyl)--[1-(3-iodo-phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
 - e) [3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
 - 10 f) Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl- [1-(3-iodo-phenyl)-1-H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
 - g) [1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4ylamino)-acetic acid
 - h) 3,4-Diethoxy-benzyl-) - [1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
 - 15 i) [1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
 - j) [4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
 - 20 k) (4-methoxy-benzyl-[1-(3-iodo-phenyl) 1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
 - l) [4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]-[1-(3-iodo-phenyl) -1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
3. Pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of the formula-I as claimed in claim 1 preferably selected from the derivatives of 3-Cyanophenyl -1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine
- 25 a) 3-{4-[(2,3-Dihydro-benzo [1,4]dioxin-6-yl)methyl)-amino]-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
 - b) 3-{4-[2-(2-methoxy-ethoxy)-ethylamino]-pyrazolo [3,4-d]-1-yl}- benzonitrile
 - c) 3-{4-[4-methoxy-3-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl amino]-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1yl}- benzonitrile
 - 30 d) 3-[4-(3,4-dimethoxy- benzyl amino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1yl]- benzonitrile
 - e) 3-{4-[3,4-bis-(2-methoxy-ethoxy)- benzyl amino]-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1yl}- benzonitrile
 - f) 3-{4-[(Benzo [1,3] dioxol-5-yl methyl)-amino- pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1yl]- benzonitrile

- g) [1-(3-cyano-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-ylamino]-acetic acid
- h) 3-[4-(3,4-Diethoxy-benzyl amino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl]-benzonitrile
- i) 3-[4-(3,4,5-trimethoxy-benzylamino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl]-benzonitrile
- 5 j) 3-{4-[4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl amino] - pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
- k) 3-[4-(4-methoxy-benzylamino)-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1yl]-benzonitrile
- l) 3-{4-[4-(3-morpholin-4-yl-propoxy) benzyl amino]-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-1-yl}-benzonitrile
- 10 4. Pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of the formula-I as claimed in claim 1 more preferably selected from the derivatives of 3,5-dimethyl pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives
- a) N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine
- 15 b) N- (benzo [d][1,3] dioxol-5-ylmethyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine
- c) 1-(3,5-dimethylphenyl)-N- (2-(2-methoxyethoxy) ethyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine
- d) [1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-[4-methoxy-3-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]-amine
- 20 e) (3,4-dimethoxy-benzyl)-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4-yl]-amine
- f) [3,4-bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-amine
- 25 g) [1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-ylamino] acetic acid
- h) 3,4-diethoxy-benzyl)-[1-(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine-4-yl]-amine
- i) [1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-yl]-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
- 30 j) [1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-[4-(2-methoxy-ethoxy) benzyl amine
- k) [1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-[4-(methoxy) benzyl amine

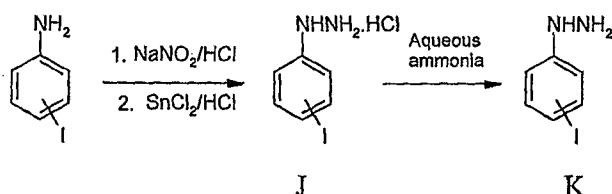
- l) [1(3,5-dimethyl-phenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-yl]-[4-(3-morpholine-4-yl-propoxy) benzyl amine
- 5 5. Pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of the formula-I as claimed in claim 1 preferably also selected from the derivatives of m-tolyl-1H- pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives
- a) N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidin-4-amine
- 10 b) [2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl]-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
- c) [4-Methoxy-3-(3-morpholine-4-yl-propoxy)-benzyl]-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
- d) (3,4-Dimethoxy-benzyl)-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- 15 e) [3,4-Bis-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]- (1-m-tolyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine-4yl)-amine
- f) (1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4ylamino)-acetic acid
- g) 3,4-Diethoxy-benzyl)- (1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- h) (1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-(3,4,5-trimethoxy-benzyl)-amine
- i) [4-(2-methoxy-ethoxy)-benzyl]-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- 20 j) (4-methoxy-benzyl)-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- k) [4-(3-morpholin-4-yl-propoxy)-benzyl]-(1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4yl)-amine
- 25 6. Compounds, which are intermediates of substituted pyrazolo [3,4-d] pyrimidine derivatives of formula-I, as claimed in claim-1
- a) 1-(3-iodophenyl)-hydrazine hydrochloride
- b) 5-Amino-1-(3-iodophenyl) -1H-pyrazolo-4-carbonitrile
- c) 5-Amino-1-(3-iodophenyl) -1H-pyrazolo -4-carboxylic acid amide
- 30 d) 1-(3-iodophenyl)-1, 5-dihydro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-one
- e) 4-chloro-1-(3-iodophenyl) -1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidine
- f) 5-Amino-1- (3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazole-4-carboxylic acid amide
- g) 1-(3,5-Dimethylphenyl)-1,5-dihydro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-one
- h) 4-chloro-1- (3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidine

- i) 5-Amino-1- m-tolyl-1H-pyrazolo -4-carboxylic acid amide
- j) 1-m-Tolyl-1, 5-dihydro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine-4-one
- k) 4-chloro-1-m-tolyl-1H-pyrazolo [3,4-d] pyrimidine
- l) benzene sulfonic acid 2-(2-methoxy-ethoxy)-ethyl ester
- 5 m) 2-(2-Methoxy-ethoxy)-ethyl amine
- n) 4-methoxy-3- (3-morpholin-4-yl-propoxy benzyl amine
- o) 3,4-bis- (2-methoxy-ethoxy)-benzyl amine
- p) 2,3-dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl-methylamine hydrochloride

10 7. A process for the preparation of Formula-I with an ethynyl substitution on the N-phenyl ring and their pharmaceutically acceptable salts thereof may be prepared by any process known to be applicable to the chemically related compounds. The active compounds of present invention with an ethynyl substitution on the N-phenyl ring can be synthesized as per the process



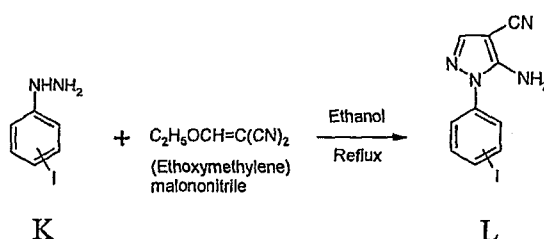
Formula-I (with acetylene group)



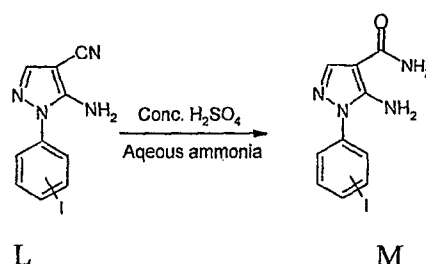
20

By known methods given in the literature, diazotising a compound of formula I with mineral acid such as hydrochloric acid and with sodium nitrite solution at temperatures -10°C to 5°C one can obtain iodo substituted phenyl hydrazine hydrochloride solid of formula-J. The other mineral acids which can be used are sulphuric acid, etc. The compound of formula-J is neutralized with a suitable base such as sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, potassium carbonate ammonium carbonate and bicarbonates of alkali metals to get the iodo substituted-phenyl hydrazine of formula-K.

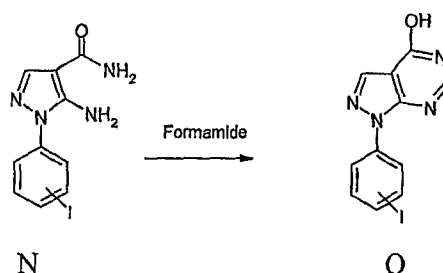
25



The compound of formula K is reacted with ethoxymethylenemalononitrile in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropanol n-butanol, dimethyl formamide or mixtures of these solvents at temperatures 60 °C to obtain novel N-(iodo substituted) phenyl –5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-L In another way of preparation the compounds of formula-K are reacted in-situ generated ethoxymethylenemalononitrile by reacting triethyl orthoformate and malononitrile to obtain novel N-(iodo substituted)phenyl –5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-L the temperature conditions range from 40 °C To 100 °C

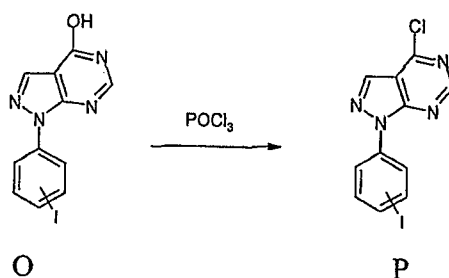


The nitrile group of compounds of formula L is hydrolysed with a mineral acid such as sulphuric acid in aqueous medium and upon basification with a suitable base such as ammonia or bicarbonates, carbonates or hydroxides of alkali metals at temperatures 10 °C to 40 °C to obtain novel N-(iodo substituted) phenyl –5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamides of formula-M.

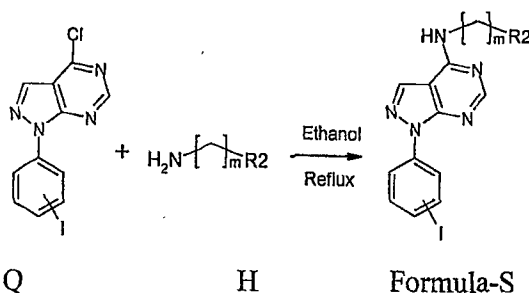


The compound of formula-N is reacted with formamide in neat conditions or in solvent such as sulfolane at temperatures 200 °C to obtain novel N-(iodo substituted) phenyl –5-amino-

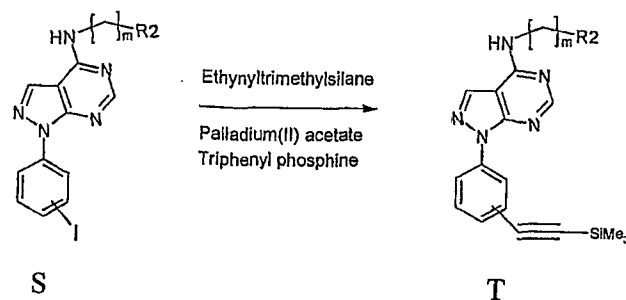
1H-pyrazole-4-carboxamide of formula-O. The temperature conditions range from 150 °C to 220 °C.



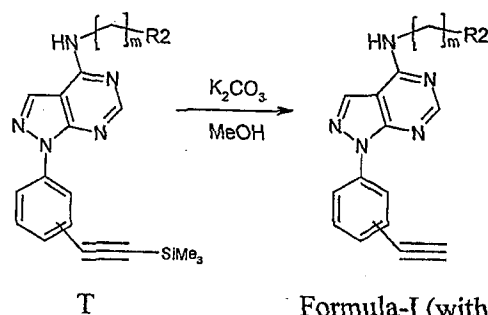
The compounds of formula O are reacted with phosphorus oxychloride in neat conditions or in aprotic solvents such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or mixtures of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel N-(iodo substituted) 4-chloro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-P. In another way of preparation of the compounds of formula-O are reacted with thionyl chloride, phosphorous trichloride or phosphorous pentachloride in aprotic solvents such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or mixtures of these solvents at temperatures 25 °C to obtain novel N-substituted 4-chloro-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-P.



By known methods given in the literature, the compound of formula Q is refluxed with substituted alkyl amine of formula-H in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropyl alcohol or mixtures of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel 1-(iodo substituted) substituted 4-amino substituted-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-S.

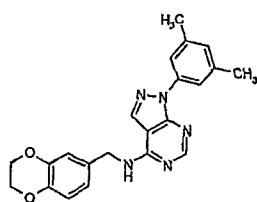


The compound of formula S is refluxed with substituted trimethyl silyl acetylene in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropyl alcohol or mixtures of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel N- (trimethyl silyl protected ethynyl substituted) phenyl-4-amino substituted-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-T.



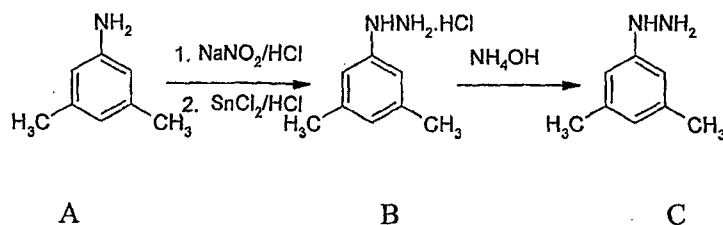
The compounds of formula T are deprotected with a suitable base such as ammonia, mono, di or trialkylamines, sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, potassium carbonate ammonium carbonate and bicarbonates of alkali metals to get the novel acetylene substituted compounds of formula-I.

8. A process for the preparation of N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine

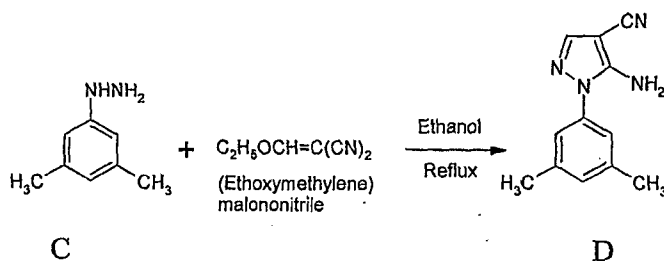


Compound NO: 49

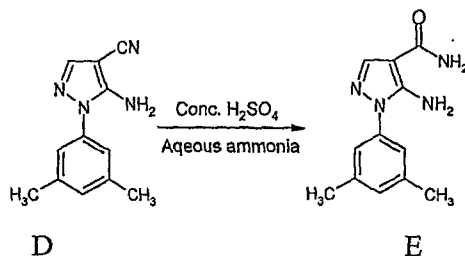
or salt thereof as claimed in claim-1 which comprises



By known methods given in the literature, diazotising a compound of formula A with mineral acid such as hydrochloric acid and with sodium nitrite solution at temperatures -10°C to 5°C to obtain substituted phenyl hydrazine hydrochloride of formula-B. The other mineral acids can be used are sulphuric acid, etc. The formula-B compound is neutralised with a suitable base such as ammonia, mono-, di- or trialkyl amines, sodium hydroxide, potassium hydroxide, sodium carbonate, potassium carbonate, ammonium carbonate and bicarbonates of alkali metals to get the novel substituted phenylhydrazines of formula-C.

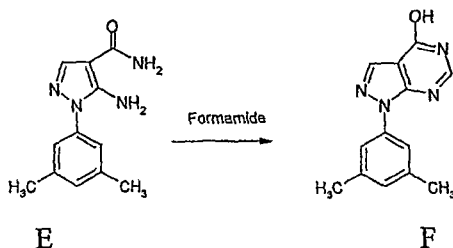


The compound of formula C is reacted with ethoxymethylenemalononitrile in protic solvents such as methanol, ethanol, isopropanol n-butanol, dimethyl formamide or mixtures of these solvents at temperatures 60°C to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-D. In another way of preparation, the compounds of formula-C are reacted in-situ generated ethoxymethylenemalononitrile by reacting triethyl orthoformate and malononitrile to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carbonitriles of formula-D. The temperature conditions range from 40°C to 100°C .

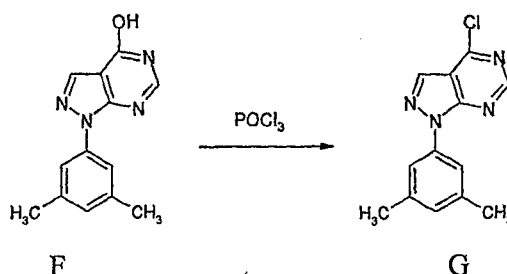


The nitrile group of compound of formula D is hydrolysed with a mineral acid such as sulphuric acid in aqueous medium and upon basification with a suitable base such as ammonia or bicarbonates, carbonates or hydroxides of alkali metals at temperatures 10°C to

40 °C to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamides of formula-E.

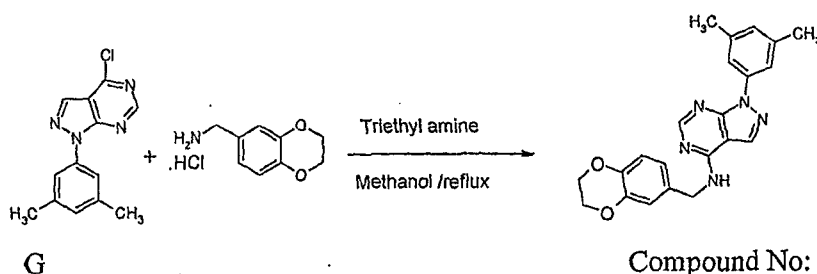


- 5 The compound of formula E is reacted with formamide in neat conditions or in solvent such as sulfolane at about 200 °C to obtain novel N-substituted phenyl-5-amino-1H-pyrazole-4-carboxamide of formula F. The temperature conditions range from 150 °C to 220 °C.



10

- The compound of formula F is reacted with phosphorus oxychloride in an aprotic solvent such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or a mixture of these solvents at reflux temperature conditions to obtain novel N-substituted 4-chloro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-G. In another way of preparation, compounds of formula-F are
- 15 reacted with thionyl chloride, phosphorous trichloride or phosphorous pentachloride in aprotic solvents such as methylene chloride, ethylene chloride, chloroform or mixture of these solvents at 25 °C to solvent reflux temperature to obtain novel N-substituted 4-chloro-pyrazolo[3,4-d]pyrimidines of formula-G.

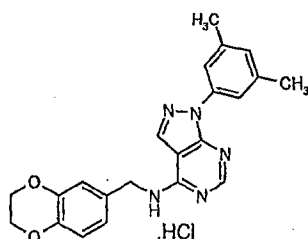


20

The compound of formula G is refluxed with 2,3-dihydro-benzo [1,4] dioxin-6-yl-methylamine hydrochloride in a protic solvent such as methanol, ethanol, isopropyl alcohol or mixture of these solvents at reflux temperature to obtain novel N- ((2,3-dihydrobenzo

[b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine (Compound No: 49)

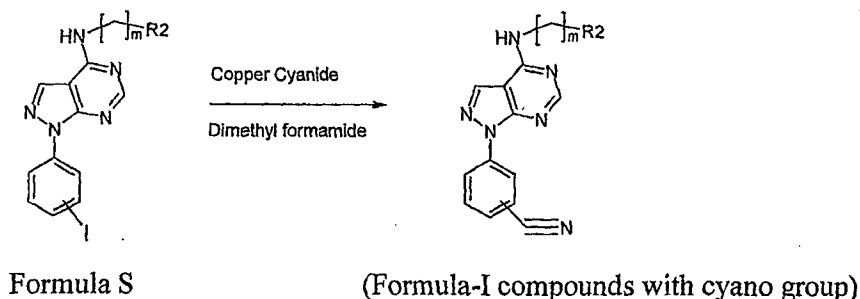
9. A process for the preparation of N- ((2,3-dihydrobenzo [b][1,4] dioxin-6-yl) methyl)-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo[3,4-d] pyrimidin-4-amine (Compound NO:49.HCl)



Compound NO: 49 hydrochloride

- which comprises treating compound of formula-V with hydrochloric acid by conventional methods in a suitable solvent medium such as water, methanol, ethanol, Isopropyl alcohol, ethyl acetate, acetonitrile, methylene chloride, acetone or mixture of these solvents.

10. A process for the preparation of Formula-I with an cyano substitution on the N-phenyl ring and their pharmaceutically acceptable salts thereof may be prepared by any process known to be applicable to the chemically related compounds. The active compounds of present invention with an cyano substitution on the N-phenyl ring can be synthesized as per the process



Scheme-III

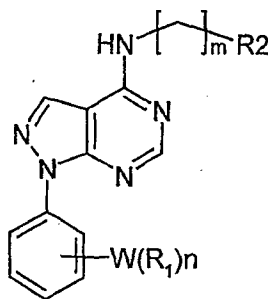
The compound of formula S is heated with copper cyanide and copper iodide in dimethyl formamide or dimethyl sulfoxide at temperatures ranging from 120 °C to 145 °C to obtain novel compounds N- (cyano substituted) phenyl-4-amino substituted-pyrazolo [3,4-d] pyrimidines of formula-V.

11. A pharmaceutical composition for the treatment of a hyperproliferative disorder in a mammal which comprises a therapeutically-effective amount of the compound of claim 1 and a pharmaceutically acceptable carrier.
- 5 12. The method of claim 11 wherein said cancer is lung, squamous cell, bladder, gastric, pancreatic, breast, head, neck, esophageal, brain, gynecological, prostate, kidney, leukemia, lymphoma or thyroid cancer.

NUEVOS DERIVADOS DE PIRAZOLO[3,4-D]PIRIMIDINA COMO FARMACOS
ANTICANCER

Campo de la Invención

La invención se refiere a derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida de la Fórmula I,



Fórmula-I

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que poseen actividad anti-proliferativa tal como actividad anti-cáncer y por consiguiente son útiles en métodos de tratamiento del cuerpo humano o animal. La invención también se refiere a procesos para la elaboración de derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida, composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto y a su uso en la elaboración de medicamentos para la producción de un efecto anti-proliferativo en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

Antecedentes de la Invención

La transducción anormal de señales es una marca de la carcinogénesis. Los receptores de superficie celular, sus

REF.:212613

ligandos y las tirosina-quinasas proteicas son componentes claves de las rutas de señalización de crecimiento y se mutan o favorecen en expresión en una amplia variedad de tumores humanos. En particular, se ha implicado en la ruta del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en eventos promotores de tumor tal como división celular, adhesión celular y migración celular, angiogénesis, y anti-apoptosis. La sobreexpresión de EGFR, encontrada en un tercio de todos los cánceres epiteliales, puede variar de 20 a 80% dependiendo del tipo histológico y se asocia con resistencia a terapia hormonal, agentes citotóxicos y radiación.

El EGFR corresponde a la familia de erbB de receptores estructuralmente relacionados, que comprenden EGFR (HER-1, erbB1), HER-2/neu (erbB2), HER-3 (erbB3), y HER-4 (erbB4). Estas glicoproteínas transmembrana poseen un dominio externo de unión a ligando, un dominio citoplásmico de tirosina-quinasas (TK), y un dominio de homología 2 de Src (SH2) para la unión a sustrato. El EGF, factor de crecimiento transformante, y la anfirregulina se usan de manera exclusiva a EGFR, en tanto que el EGF que se une a heparina, la beta-celulina y epirregulina se unen a EGFR y HER-4, y las heregulinas y las neuregulinas se unen a HER-3 y HER-4.

El papel central de EGFR en cáncer ha engendrado

esfuerzos extenuantes en desarrollar antagonistas de EGFR. Las dos estrategias que están más avanzadas en los ensayos clínicos son los anticuerpos monoclonales de receptores, que bloquean la unión a ligando y la activación de los receptores, y los inhibidores de molécula pequeña de TK de EGFR. Los inhibidores de molécula pequeña de primera generación actúan como análogos de ATP que compiten de manera reversible por el sitio catalítico de TK. Los nuevos inhibidores que están bajo desarrollo producen antagonismo irreversible y/o tienen como objetivo o diana múltiples receptores de erbB.

Las tirosina-cinasas receptoras son importantes en la transmisión de señales bioquímicas, que inician la replicación celular. Son grandes enzimas que abarcan la membrana celular y poseen un dominio extracelular de unión para factores de crecimiento tal como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y una porción intracelular que funciona como una cinasa para fosforilar los aminoácidos de tirosina en proteínas y por lo tanto para tener influencia en la proliferación celular. Se conocen varias clases de tirosina-cinasas receptoras (Wilks, Advances in Cancer Research, 1993, 60, 43-73) basadas en familias de factores de crecimiento, que se unen a diferentes tirosina-cinasas receptoras. La clasificación incluye las tirosina-cinasas receptoras, de clase I, que comprenden la familia de EGF de

tirosina-cinasas receptoras, tal como los receptores EGF, TGF α , NEU, erbB, Xmrk, HER y let23, las tirosina-cinasas receptoras, de clase II, que comprenden la familia de insulina de tirosina-cinasas receptoras tal como la insulina, 5 IGFI y receptores del receptor relacionado a insulina (IRR) y tirosina-cinasas receptoras, de clase III, que comprenden la familia de factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF) de tirosina-cinasas de receptor tal como el PDGF α , PDGF β , y los receptores del factor 1 estimulador de colonias 10 (CDF1).

Se sabe que las cinasas de la Clase I tal como la familia de EGF de tirosina-cinasas receptoras se presentan frecuentemente en cánceres humanos comunes tal como cáncer de mama (Sainsbury et al., Brit J. Cancer, 1988, 58,458; Guerin 15 et al., Oncogene Res., 1988, 3, 21 y Klijn et al., Breast Cancer Res. Treat., 1994, 29, 73), cánceres de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) que incluyen adenocarcinomas (Cerny et., Brit. J. Cancer, 1986, 54, 265; Reubi et al., Int. J. Cancer, 1990, 45, 269; y Rusch et al., Cancer 20 Research, 1993, 53, 2379) y cáncer de células escamosas del pulmón (Hendler et al., Cancer Cells, 1989, 7, 347), cáncer de vejiga (Neal, et al., Lancet, 1985, 366), cáncer esofágico (Mukaida et al., Cancer, 1991, 68, 142), cáncer gastrointestinal tal como cáncer de colon, rectal o de 25 estómago (Bolen et al., Oncogene Res., 1987, 1, 149), cáncer

de la próstata (Visakorpi et al., Histochem. J., 1992, 24, 481), leucemia (Konaka et al., Cell, 1984, 31, 1035) y cáncer de ovario, de bronquios o de páncreas (Especificación de Patente Europea Número 0400586). Puesto que los tejidos tumorales, humanos, adicionales se prueban para la familia de EGF de tirosina-cinasas de receptor, se espera que su prevalencia extendida se establezca en cánceres adicionales tal como cáncer de tiroides y de útero. También se conoce que la actividad de tirosina-cinasas tipo EGF se detecta raramente en células normales en tanto que es más frecuentemente detectable en células malignas (Hunter, Cell., 1987, 50, 823). Se ha mostrado más recientemente (W J Gullick, Brit. Med. Bull., 1991, 47, 87) que los receptores de EGF que poseen actividad de tirosina-cinasas se sobreexpresan en muchos cánceres humanos tal como tumores de cerebro, pulmón, células escamosas, vejiga, gástrico, mama, cabeza y cuello, esofágico, ginecológico y de tiroides.

Por consiguiente se ha reconocido que debe ser valioso un inhibidor de tirosina-cinasas receptoras, como un inhibidor selectivo del crecimiento de células mamíferas de cáncer (Yaish et al., Science, 1988, 242, 933). El soporte para este punto de vista se proporciona mediante la demostración que la erbstatina, un inhibidor de tirosina-cinasas receptoras tipo EGF, atenúa de manera específica el crecimiento en ratones desnudos atímicos de un carcinoma

mamario, humano, trasplantado que sobreexpresa tirosina-cinasas receptoras tipo EGF pero está sin efecto en el crecimiento de otro carcinoma que no sobreexpresa tirosina-cinasas receptoras tipo EGF (Toi et al., Eur. J. Cancer Clin. Oncol., 1990, 26, 722). También se ha señalado que varios derivados de estireno poseen propiedades inhibitorias de tirosina-cinasas (Solicitudes de Patente Europea Números 0211363, 0304493 y 0322738) y que es de uso como agentes anti-tumorales. El efecto inhibidor in vivo de estos dos derivados de estireno que son inhibidores de tirosina-cinasas receptoras tipo EGF se ha demostrado contra el crecimiento de carcinoma humano de células escamosas inoculado en ratones desnudos (Yoneda et al., Cancer Research, 1991, 51, 4430). Se describen varios inhibidores conocidos de tirosina-cinasas en una revisión más reciente por T R Burke Jr. (Drugs of the Future, 1992, 17, 119). Los ejemplos de inhibidores de transducción de señales incluyen aquel que inhibe las respuestas de EGF (receptor de factor de crecimiento epidérmico), tal como anticuerpos de EGFR, anticuerpos de EGF, y moléculas que son inhibidores de EGFR; inhibidores de VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular); e inhibidores de receptor de erbB2, tal como moléculas orgánicas o anticuerpos que se unen al receptor de erbB2, por ejemplo, HERCEPTIN^{MR} (Genentech, Inc. de South San Francisco, California, EUA). Los inhibidores de EGFR se describen por

ejemplo en WO 95/19970 (publicado el 27 de julio de 1995), WO 98/14451 (publicado el 9 de abril de 1998), WO 98/02434 (publicado el 22 de enero de 1998), y la Patente de los Estados Unidos Número 5,747,498 (emitida el 5 de mayo de 5 1998). Los agentes inhibidores de EGFR incluyen, pero no se limitan a, los anticuerpos monoclonales C225 y anti-EGFR 22Mab (ImClone Systems Incorporated of New York, New York, EUA), los compuestos ZD-1839 (AstraZeneca), BIBX-1382 (Boehringer Ingelheim), MDS-447 (Medarex Inc. of Annandale, 10 New Jersey, EUA), y OLX-103 (Merck & Co. Of Whitehouse, Station, New Jersey, EUA), VRCTC-310 (Venetch Research) y la toxina de fusión de EGF (Seragen Inc. de Hopkinton, Massachusetts). Los inhibidores de VEGF, por ejemplo, SU-5416 y SU-6668 (Sugen Inc. de South San Francisco, 15 California, EUA), también se pueden combinar o co-administrar con la composición. Se describen inhibidores de VEGF, por ejemplo, en WO 99/24440 (publicado el 20 de mayo de 1999), Solicitud Internacional PCT, PCT/IB99/00797 (presentada el 3 de mayo de 1999), en la WO 95/21613 (publicada el 17 de 20 agosto de 1995), WO 99/61422 (publicada el 2 de diciembre de 1999), Patente de los Estados Unidos Número 5,834,504 (emitida el 10 de noviembre de 1998), WO 98/50356 (publicada el 12 de noviembre de 1998), Patente de los Estados Unidos Número 5,883,113 (emitida el 16 de marzo de 1999), Patente de 25 los Estados Unidos Número 5,886,020 (emitida el 23 de marzo

de 1999), Patente de los Estados Unidos Número 5,792,783 (emitida el 11 de agosto de 1998), WO 99/10349 (publicada el 4 de marzo de 1999), WO 97/32856 (publicada el 12 de septiembre de 1997), WO 97/22596 (publicada el 26 de junio de 1997), WO 98/54093 (publicada el 3 de diciembre de 1998), WO 98/02438 (publicada el 22 de enero de 1998), WO 99/16755 (publicada el 8 de abril de 1999), y WO 98/02437 (publicada el 22 de enero de 1998), todas las cuales se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. Otros ejemplos de algunos inhibidores específicos de VEGF son IM862 (Cytran Inc. de Kirkland, Washington, EUA); anticuerpo monoclonal anti-VEGF (bevacizumab (Genentech, Inc. de South San Francisco, California), y angiozima, una ribozima sintética de Ribozyme (Boulder, Colorado) y Chiron (Emerville, California). Los inhibidores de receptor de ErbB2 tal como GW-282974 (Glaxo Wellcome pic), y los anticuerpos monoclonales AR-209 (Aronex Pharmaceuticals Inc. de The Woodlands, Texas, EUA) y 2B-1 (Chiron), se pueden administrar en combinación con la composición. Estos inhibidores de erbB2 incluyen aquellos descritos en WO 98/02434 (publicada el 22 de enero de 1998), WO 99/35146 (publicada el 15 de julio de 1990), WO 99/35132 (publicada el 15 de julio de 1999), WO 98/02437 (publicada el 22 de enero de 1998), WO 97/13760 (publicada el 17 de abril de 1997), WO 95/19970 (publicada el 27 de julio de 1995), Patente de los Estados

Unidos Número 5,587,458 (emitida el 24 de diciembre de 1996),
y la Patente de los Estados Unidos Número 5,877,305 (emitida
el 2 de marzo de 1999, cada una de las cuales se incorpora en
la presente en su totalidad. Los inhibidores de receptor de
5 ErbB2 útiles en la presente invención también se describen en
la solicitud provisional De patente de los Estados Unidos
Número 60/117,341, presentada el 27 de enero de 1999 y en la
Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos Número
60/117,346, presentada el 27 de enero de 1999, ambas de las
10 cuales se incorporan en la presente como referencia en su
totalidad. Otros agentes antiproliferativos que se pueden
usar incluyen inhibidores de la enzima farnesil-proteína-
transferasa e inhibidores de la tirosina-cinasas receptoras,
PDGFr, incluyendo los compuestos descritos y reivindicados en
15 las siguientes Solicitudes de Patente de los Estados Unidos
Números 09/221946 (presentada el 28 de diciembre de 1998);
09/454058 (presentada el 2 de diciembre de 1999); 09/501163
(presentada el 9 de febrero de 2000); 09/539930 (presentada
el 31 de marzo de 2000); 09/202796 (presentada el 22 de mayo
20 de 1997); 09/384339 (presentada el 26 de agosto de 1999); y
09/383755 (presentada el 26 de agosto de 1999); y los
compuestos descritos y reivindicados en las siguientes
Solicitudes de Patente Provisional de los Estados Unidos
Números 60/168207 (presentada el 30 de noviembre de 1999);
25 60/170119 (presentada el 10 de diciembre de 1999); 60/177718

(presentada el 21 de enero de 2000); 60/168217 (presentada el 30 de noviembre de 1999), y 60/200834 (presentada el 1 de mayo de 2000). Cada una de las solicitudes anteriores de patente y solicitudes provisionales anteriores de patente se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. Las composiciones de la invención también se pueden usar con otros agentes útiles en el tratamiento de crecimiento celular anormal o cáncer, incluyendo, pero no limitado a, agentes capaces de mejorar respuestas inmunitarias antitumorales, tal como anticuerpos de CTLA4 (antígeno 4 de linfocitos citotóxicos), y otros agentes capaces de bloquear CTLA4; y agentes anti-proliferativos tal como inhibidores de farnesil-proteína-transferasa. Los anticuerpos específicos de CTLA4 que se pueden usar en la presente invención incluyen aquellos descritos en la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos Número 60/113,647 (presentada el 23 de diciembre de 1998) que se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

Las tirosina-cinasas receptoras son de importancia particular en la transmisión de señales mitogénicas que inician la replicación celular. Estas grandes glicoproteínas, que abarcan la membrana plasmática de células, poseen un dominio de unión extracelular para sus ligandos específicos (tal como factor de crecimiento epidérmico (EGF) para el receptor de EGF). La unión del

ligando da por resultado la activación de la actividad enzimática de la cinasa de receptor que reside en la porción intracelular del receptor. Esta actividad fosforila aminoácidos clave de tirosina en proteínas diana, que da por resultado la transducción de señales proliferativas a través de la membrana plasmática de la célula.

Se conoce que la familia de erbB de tirosina-cinasas receptoras, que incluyen EGFR, erbB2, erbB3 y erbB4, están comprendidas frecuentemente en activar la proliferación y supervivencia de células tumorales (revisado en Olayioye et al., EMBO J., 2000, 19, 3159). Un mecanismo en el cual esto se puede lograr es por la expresión del receptor a nivel de proteína, en general como resultado de la amplificación génica. Esto se ha observado en muchos cánceres humanos comunes (revisado en Klapper et al., Adv. Cancer Res., 2000, 77, 25) tal como cáncer de mama (Sainsbury et al., Brit. J. Cancer. 1988, 58, 458; Guerin et al., Oncogene Res., 1988, 3, 21; Slamon et al., Science, 1989, 244, 707; Kliin et al., Breast Cancer Res. Treat., 1994, 29, 73 y revisado en Salomon et al., Crit. Rev. Oncol. Hematol., 1995, 19, 183), cánceres de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) que incluyen adenocarcinomas (Cerny et al., Brit. J. Cancer. 1986, 54, 265; Reubi et al., Int. J. Cancer. 1990, 45, 269; Rusch et al., Cancer Research. 1993, 53, 2379; Brabender et al., Clin. Cancer Res., 2001, 7, 1850) así como otros cánceres del

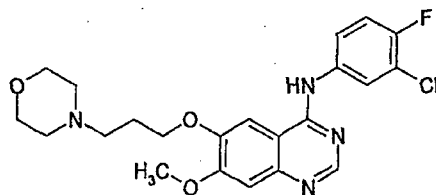
pulmón (Hendler et al., Cancer Cells. 1989, 7, 347; Ohsaki et al., Oncol. Rep., 2000, 7, 603), cáncer de vejiga (Neal et al., Lancet. 1985, 366; Chow et al., Clin. Cancer Res., 2001, 7, 1957, Zhau et al., MoI Carcinog., 3, 254), cáncer
5 esofágico (Mukaida et al., Cancer. 1991, 68, 142), cáncer gastrointestinal tal como cáncer de colon, rectal o de estómago (Bolen et al., Oncogene Res., 5 1987, 1, 149; Kapitanovic et al., Gastroenterology. 2000, 112, 1103; Ross et al., Cancer Invest., 2001, 19, 554), cáncer de la próstata
10 (Visakorpi et al., Histochem. J., 1992, 24, 481; Kumar et al., 2000, 32, 73; Scher et al., J. Natl. Cancer Inst., 2000, 92, 1866), leucemia (Konaka et al., CeU, 1984, 37, 1035, Martin-Subero et al., Cancer Genet Cytogenet. 2001, 122-174), de ovario (Hellstrom et al., Cancer Res., 2001, 6_1, 2420),
15 de cabeza y cuello (Shiga et al., O Head Neck. 2000, 22, 599) o cáncer pancreático (Ovotny et al., Neoplasma. 2001, 48, 188). Puesto que la mayoría de los tejidos tumorales humanos se prueban para la expresión de la familia erbB de tirosinasas receptoras se espera que su prevalencia extendida e
20 importancia se mejore adicionalmente en el futuro.

También se espera que los inhibidores de tirosinasas receptoras tipo EGF sean útiles en el tratamiento de otras enfermedades de proliferación celular excesiva tal como psoriasis.

25 AstraZeneca ha desarrollado y lanzado Gefitinib (US

91

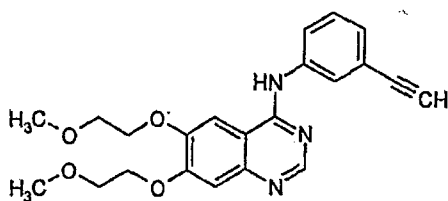
5770599), de la fórmula II,



Fórmula-II

un inhibidor selectivo, oralmente activo de tirosina-cinasas receptoras de factor de crecimiento epidérmico (EGFR-TK1). Se indica como monoterapia para el tratamiento continuo de pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, localmente avanzado o metastático, después de la falla de tanto quimioterapias basadas en platino como en docetaxel que se benefician o se han beneficiado de gefitinib. La marca comercial es Iressa.

OSI Pharmaceuticals ha desarrollado y lanzado Erlotinib (US 5747498) de la fórmula III,



Fórmula-III

un inhibidor de molécula pequeña, competitivo de ATP, oralmente activo de EGFR TK. Actualmente se está usando como un tratamiento normal para enfermedades de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) y cáncer pancreático. Se espera que su actividad se mejore cuando se combine con

fármacos anti-cáncer de antibióticos citotóxicos normales.
La marca comercial es Tarceva.

Adicionalmente, han probado ser beneficios los anticuerpos inhibidores contra EGFR y erbB2 (erbitux^{MR} (c-225 / cetuximab) y herceptin^{MR} (trastuzumab), respectivamente) en la clínica para el tratamiento de tumores sólidos seleccionados (revisado en Mendelsohn et al., 2000, 5 Oncogene, 19, 6550-6565).

Hay varias patentes publicadas con compuestos que contienen núcleos de pirazolo[3,4-d]pirimidina como fármaco anti-cáncer.

La WO 96/31510 y la WO-98/14449 describen cada una derivados de 4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina y su uso como agentes anti-tumor.

La WO-98/14451 describe 3-(3-aminobencilamino)-4-(3-clorofenilamino)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina, su uso como un agente anti-tumor y su uso en casos de hiperproliferación epidérmica.

La WO-98/14450 describe derivados de 4-amino-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina que tienen un sustituyente enlazado a nitrógeno en la posición 3 en el anillo de pirazolo[3,4-d]pirimidina, y su uso como agentes anti-tumor.

La WO-95/19774 describe derivados de pirimidina bicíclica y su uso como inhibidores de tirosina-cinasas receptoras tipo EGF, erbB2 y erbB4. Se describe un derivado

de pirazolo[3,4-d]pirimidina que incluye un grupo amino-arilo en la posición 4 del anillo de pirazolo[3,4-d]pirimidina pero ningún sustituyente en la posición 3.

Makarov et al. (Chemistry of Heterocyclic
5 Compounds, 2003, 39(2), 238-243) describen la reacción de
compuestos de 3,5-di-(N,N-dimetilaminometilen)amino-4-
metoxycarbonilpirazol y 3,5-di-(N,N-
dimetilaminometilen)amino-4-cianopirazol con ciertas aminas
para formar compuestos de pirazolo[3,4-d]pirimidina.

10 La Publicación de Patente Internacional Número WO
03/000187 describe nuevas pirazolo- y pirrolo-pirimidinas.
La Publicación de Patente Internacional Número WO 02/057267,
las Patentes de los Estados Unidos Números 6,686,366,
6,680,324 y 6,673,802 describen compuestos específicos a
15 receptores de adenosina A1, A2A, y A3. La Publicación de
Patente Internacional Número WO 01/47507 describe
combinaciones de un inhibidor de receptores de plástico de
receptor con un compuesto orgánico capaz de unirse a
glicoproteína α 1-ácida. La Publicación de Patente
20 Internacional Número WO 04/013141 describe piridinas
condensadas y pirimidinas con actividad de TIE2 (TEK). La
Publicación de Patente Internacional Número WO 04/014850
describe aminopirimidinas sustituidas como antagonistas de
neurocinina.

25 La Publicación de Patente Internacional Número WO

03/000695 describe pirrolopirimidinas como inhibidores de proteína-cinasas. La Patente de los Estados Unidos Número 6,187,778 describe 4-aminopirrol[3,4-d]pirimidinas como antagonistas del receptor de neuropéptido Y. Las Patentes de los Estados Unidos Números 6,140,317, 6,140,332 y 6,180,636 describen pirrolopirimidinas. Las Patentes de los Estados Unidos Números 6,696,455, 6,537,999, y 5,877,178 describen derivados de pirrolo-pirimidina. La Patente de los Estados Unidos Número 5,958,930 describe derivados de pirrolopirimidina y furopirimidina. [29] la Publicación de Patente Internacional Número 03/000688 describe la preparación de azaindoles como inhibidores de proteína-cinasas. Las Publicaciones de Patente Internacional Números WO 03/018021 y WO 03/018022 describen pirimidinas para tratar trastornos relacionados a IGF-IR, la Publicación de Patente Internacional Número WO 02/092599 describe pirrolopirimidinas para el tratamiento de una enfermedad que responde a una inhibición de la tirosina-cinasas tipo IGF-IR. La Publicación de Patente Internacional Número WO 01/72751 describe pirrolopirimidinas como inhibidores de tirosina-cinasas. La Publicación de Patente Internacional Número WO 00/71129 describe inhibidores de pirrolotriazina de cinasas. La Publicación de Patente Internacional Número WO 97/28161 describe pirrolo[3,4-d]pirimidina y su uso como inhibidores de tirosina-cinasas.

Referencias adicionales de literatura de derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina como agentes anti-cáncer: J. Heterocycl. Chem., 27, 647-660., J. Med. Chem., 1976, 19, 555-558, J. Heterocycl. Chem., 1990, 27, 1245-1248, Journal of the Chinese Chemical Society, 2000, 47, 347-350, Patente de los Estados Unidos Número 5,917,039, Patente de los Estados Unidos Número 6,423,871, J. Org. Chem. 1956 21(11) 1240-1256, J. Med. Chem. 1991, 34, 2892-2898, Helvetica Chimica Acta (1956)-Número 119, 987-991, J. Med. Chem. 1997, 40, 3601-3616, Patente de los Estados Unidos Número 3,600,389, Patente de los Estados Unidos Número 4,182,878.

Aunque los compuestos anticáncer descritos anteriormente han hecho una contribución significativa a la técnica, existe una necesidad continua de mejorar los productos farmacéuticos anticáncer con mejor selectividad o potencia, toxicidad reducida, o menos efectos secundarios.

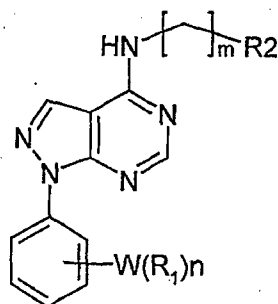
Breve Descripción de la Invención

De manera sorprendente, ahora se ha encontrado que un grupo seleccionado de derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, posee potente actividad anti-tumoral. Nada de la técnica anterior describe compuestos de pirazolo[3,4-d]pirimidina que están sustituidos en la posición 1 con un sustituyente que contiene un grupo etinilo o grupos 3,5-disustituidos y en la posición 4 bencil-

aminas sustituidas. Sin que se desee que implique que los compuestos descritos en la presente invención poseen actividad farmacológica sólo en virtud de un efecto de un proceso biológico único, se cree que los compuestos proporcionan un efecto anti-tumoral por medio de la inhibición de una o más de la familia de erbB de tirosina-cinasas receptoras que están comprendidas en los pasos de transducción de señales que conducen a la proliferación de células tumorales. En particular, se cree que los compuestos de la presente invención proporcionan un efecto anti-tumoral por medio de la inhibición de tirosina-cinasas receptoras tipo EGF y/o erbB2.

Estos procesos, cuando se usan para preparar el derivado de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se proporcionan como una característica adicional de la invención y se ilustran por los siguientes Ejemplos representativos. Se pueden obtener los materiales de inicio necesarios por procedimientos normales de química orgánica. La preparación de estos materiales de inicio se describe dentro de los Ejemplos no limitantes anexos. De manera alternativa, se pueden obtener materiales de inicio necesarios por procedimientos análogos a aquellos ilustrados, que están dentro de la habilidad ordinaria de un químico orgánico.

La invención se refiere a derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida de la fórmula I,



Fórmula-I

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos,

en donde n y m son 1, 2 ó 3;

W es un enlace individual, C₁-C₆alquilo, alquenoilo, alquinilo, NH, S, SO, SO₂, O, C=O, o un grupo amida, cada R₁ se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, hidroxiamino, carboxi, nitro, guanidino, ureido, carbamoilo, ciano, trifluorometilo,

o cada R₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste de C₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₆cicloalcoxi, (C₁-C₆)alcoxycarbonilo, ariloxi, heteroariloxi, C₁-C₆tioalcoxi, C₃-C₆tiocicloalcoxi, tioariloxi, tiorheteroariloxi, nitro, amino, N-mono(C₁-C₆)alquilamino, N,N-di(C₁-C₆)alquilamino, formamido, amido, acetamido, hidroxilamino, C₁-C₆alcoxiamino, hidrazino, trifluorometilo, trifluorometoxi, C₂-C₆alquenoilo, C₂-C₆alquinilo, arilo, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado y heterociclilo fusionado;

cada R_1 se selecciona independientemente de R_3 -sulfonilamino, ftalimido-(C_1 - C_4)-alquilsulfonilamino, benzamido, bencenosulfonilamino, 3-fenilureido, 2-oxopirrolidin-1-ilo, 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo, y C_2 - C_4 alcanoilamino y en donde el sustituyente bencenosulfonilamino o fenilo o fenoxi o anilino o fenilsulfanilo en R^1 puede tener opcionalmente uno o dos halógenos, (C_1 - C_4)alquilo, ciano, metanosulfonilo o sustituyente de (C_1 - C_4)alcoxi; o cualquiera de los dos R_1 tomados conjuntamente con los carbonos a los cuales se unen comprenden un anillo de 5-8 miembros que comprende al menos uno o dos heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre o nitrógeno; y en donde los grupos alquilo y las porciones de alquilo de los grupos alcoxi o alquilamino pueden ser de cadena recta o si comprenden al menos tres carbonos pueden estar ramificados o ser cíclicos;

donde R_3 se selecciona de C_1 - C_6 alquilo, C_3 - C_6 cicloalquilo,

R_2 se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo, C_3 - C_6 cicloalquilo, C_1 - C_6 alcoxycarbonilo, arilo, heteroarilo, C_1 - C_6 tioalquilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado y heterociclilo fusionado, tal como 1,3-benzodioxol, 1,4-benzodioxina,

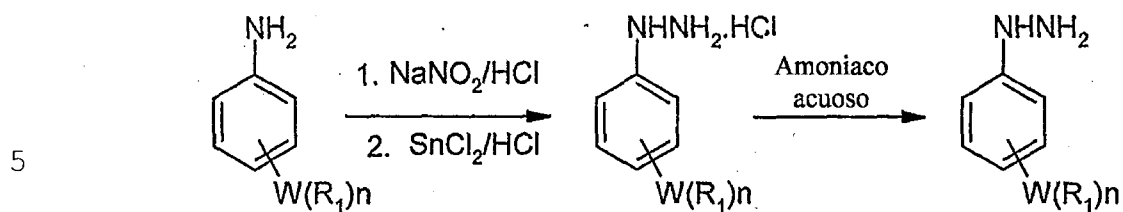
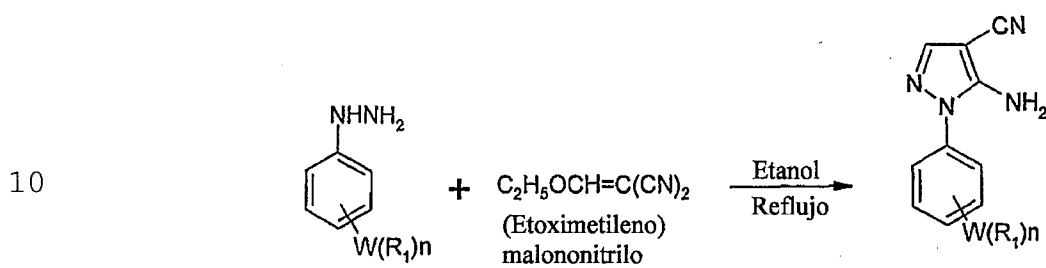
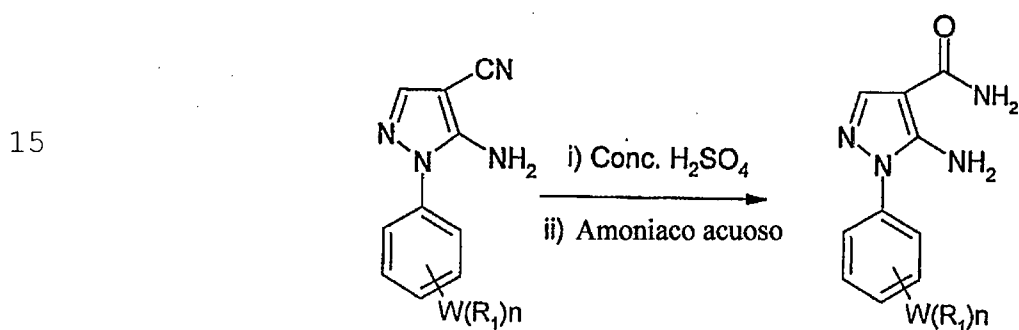
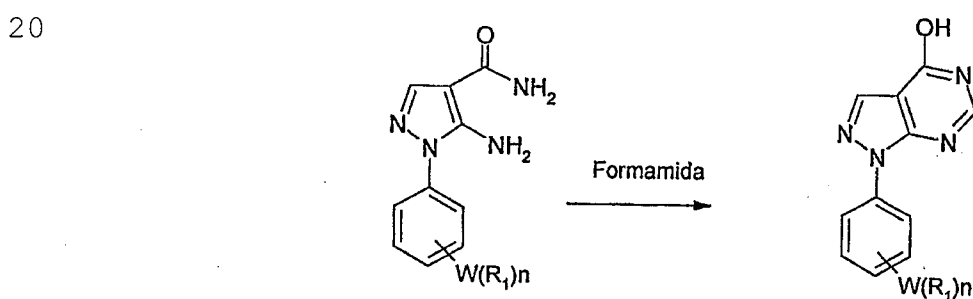
y

R₂ se selecciona del grupo que consiste de fenilo o bencilo y sustituido con 1, 2, 3 ó 4 grupos y los sustituyentes se seleccionan independientemente de R₄,

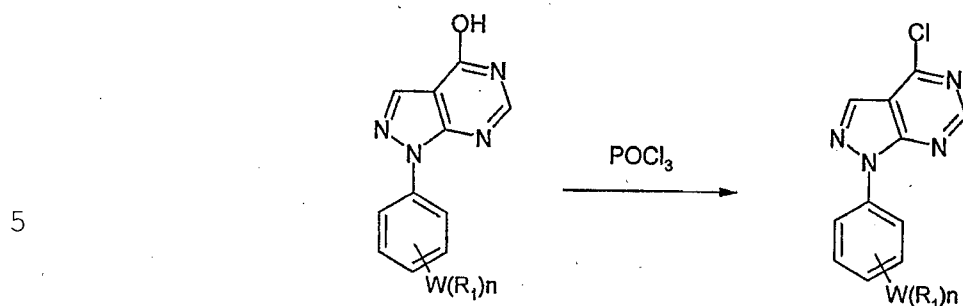
en donde R₄ se selecciona de hidrógeno, hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, hidroxiamino, carboxi, nitro, guanidino, ureido, carbamoilo, ciano, trifluorometilo, C₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, hidroxilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₆cicloalcoxi, C₁-C₆alcoxycarbonilo, ariloxi, heteroariloxi, C₁-C₆tioalcoxi, C₃-C₆tiocicloalcoxi, tioariloxi, tiorheteroariloxi, nitro, amino, N-mono(C₁-C₆)alquilamino, N,N-di(C₁-C₆)alquilamino, formamido, amido, acetamido, hidroxilamino, C₁-C₆alcoxiamino, hidrazino, trifluorometilo, trifluorometoxi, alqueno, alquino, arilo, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado y heterociclilo fusionado.

Descripción Detallada de la Invención

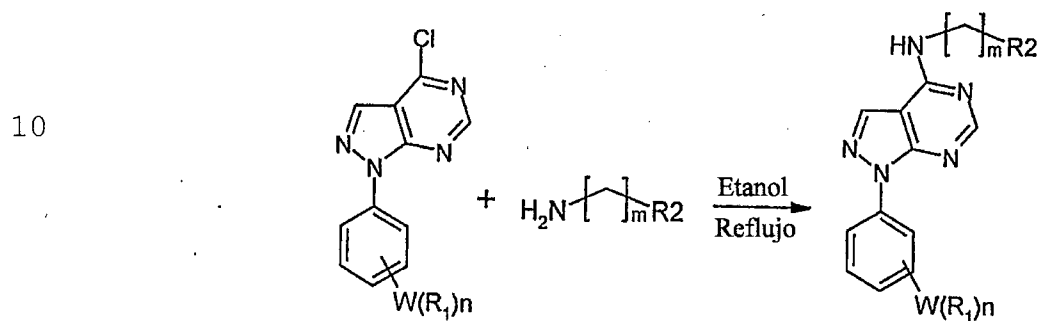
Los compuestos de la fórmula I y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se pueden preparar por cualquier proceso conocido que sea aplicable a los compuestos químicamente relacionados. Los compuestos activos de la presente invención se pueden preparar por el siguiente Esquema I de síntesis.

Esquema de reacción IEtapa IEtapa IIEtapa IIIEtapa IV

Etapa V



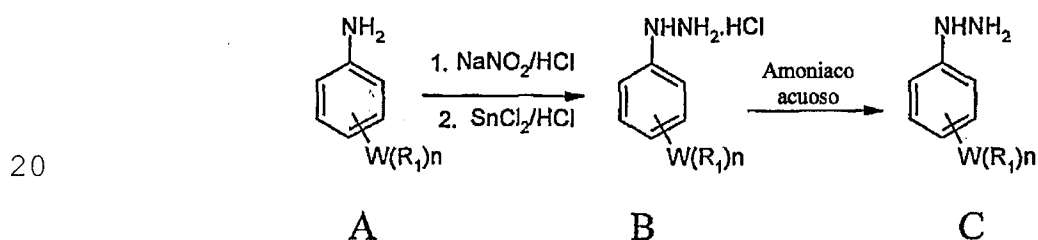
Etapa VI



R_1 , R_2 , y W se definen como antes.

15 Los varios compuestos de la fórmula I también se pueden preparar por las siguientes rutas:

(a)

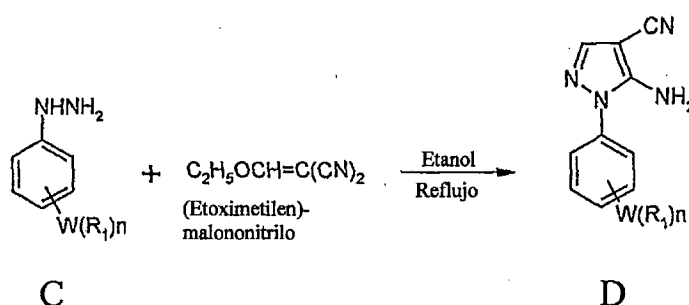


25 Por los métodos conocidos dados en la literatura, la diazotización de un compuesto de la fórmula A con ácido mineral tal como ácido clorhídrico y con solución de nitrito de sodio a temperaturas de $-10^\circ C$ a $5^\circ C$ para obtener

clorhidrato de fenil-hidrazina sustituido de la fórmula B. Los otros ácidos minerales que se pueden usar son ácido sulfúrico, etc. El compuesto de la fórmula B se neutraliza con una base adecuada tal como amoniaco, mono-, di- o tri-
 5 alquil-aminas, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de amonio y bicarbonatos de metales alcalinos para obtener las nuevas fenil-hidrazinas sustituidas de la fórmula C.

(b)

10



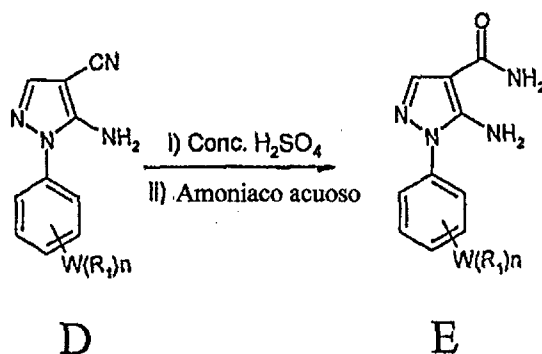
15

El compuesto de la fórmula C se hace reaccionar con etoxi-metelenomalononitrilo en solventes próticos tal como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, dimetil-formamida o mezclas de estos solventes a temperaturas de 60°C para
 20 obtener los nuevos fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carbonitrilos N-sustituidos de la fórmula D. En otro modo de preparación, los compuestos de la fórmula C se hacen reaccionar con etoxi-metilenomalononitrilo generado *in situ* al hacer reaccionar ortoformiato de trietilo y malononitrilo para obtener los
 25 nuevós fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carbonitrilos N-

sustituidos de la fórmula D. Las condiciones de temperatura varían desde 40°C a 100°C.

(c)

5



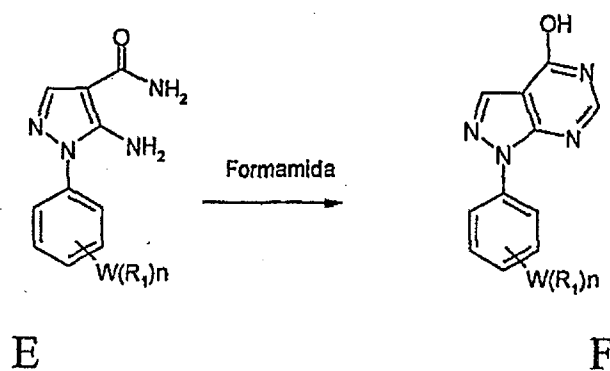
10

El grupo nitrilo del compuesto de la fórmula D se hidroliza con un ácido mineral tal como ácido sulfúrico en medio acuoso en la basificación con una base adecuada tal como amoniacu o bicarbonatos, carbonatos o hidróxidos de metales alcalinos a temperaturas de 10°C a 40°C para obtener las nuevas fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamidas N-sustituidas de la fórmula E.

15

(d)

20

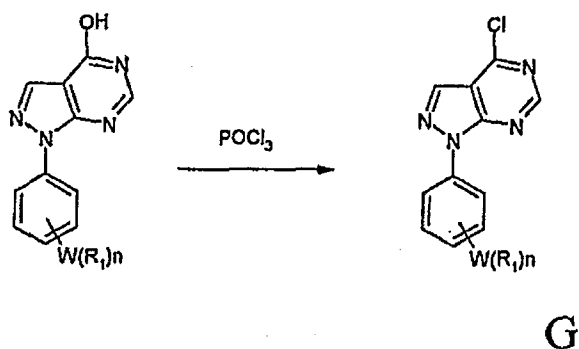


25

El compuesto de la fórmula E se hace reaccionar con

formamida en condiciones puras o en solvente tal como sulfolano a aproximadamente 200°C para obtener la nueva fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamida N-sustituida de la fórmula F. Las condiciones de temperatura varían desde 150°C a 220°C.

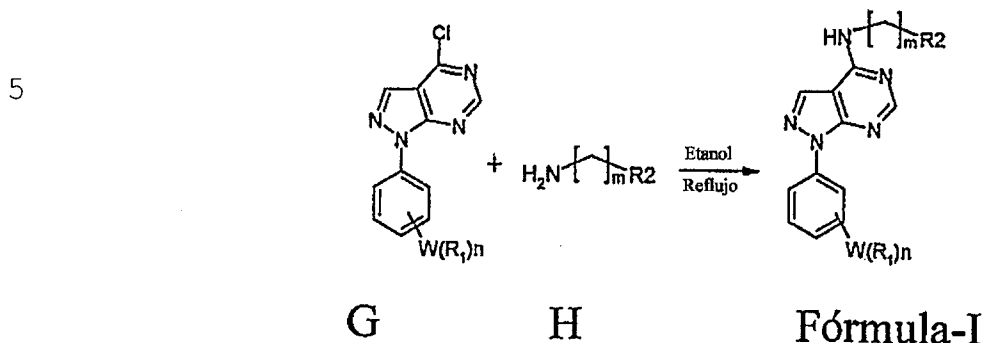
(e)



El compuesto de la fórmula F se hace reaccionar con oxicloruro de fósforo en un solvente aprótico tal como cloruro de metileno, cloruro de etileno, cloroformo o una mezcla de estos solventes a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidinas N-sustituidas de la fórmula G. En otro modo de preparación, los compuestos de la fórmula F se hacen reaccionar con cloruro de tionilo, tricloruro de fósforo o pentacloruro de fósforo en solventes apróticos tal como cloruro de metileno, cloruro de etileno, cloroformo o una mezcla de estos solventes a 25°C hasta la temperatura de reflujo del solvente para

obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidina N-sustituidas de la fórmula G.

(g)



10 El compuesto de la fórmula G se somete a reflujo con alquil-amina sustituida de la fórmula H en un solvente prótico tal como metanol, etanol, alcohol isopropílico o una mezcla de estos solventes a temperatura de reflujo para obtener las nuevas

15 pirazolo[3,4-d]pirimidinas sustituidas de 4-amino 1-sustituidas de la fórmula 1.

Adicionalmente, los compuestos de la Fórmula I con una sustitución de etinilo en el anillo de N-fenilo y sus sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se

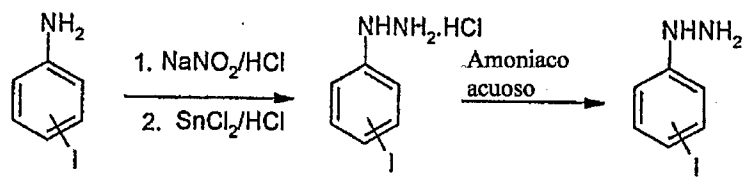
20 pueden preparar por cualquier proceso conocido que sea aplicable a los compuestos químicamente relacionados. Los compuestos activos de la presente invención con una sustitución de etinilo en el anillo de N-fenilo se pueden sintetizar de acuerdo al proceso dado en el Esquema de

25 reacción II a continuación.

Esquema de reacción II

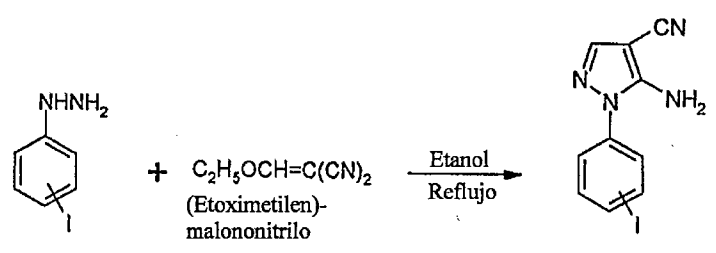
Etapa I

5



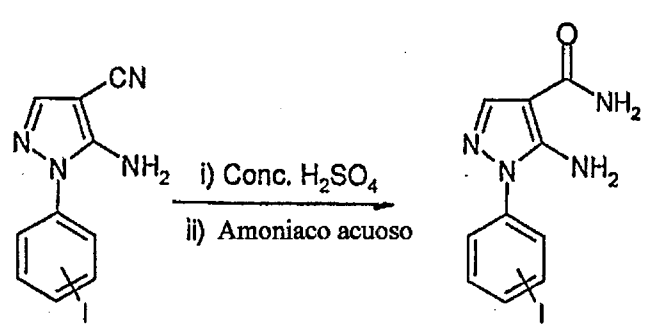
Etapa II

10



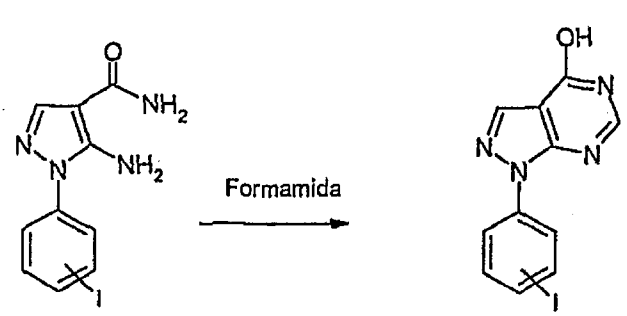
Etapa III

15



Etapa IV

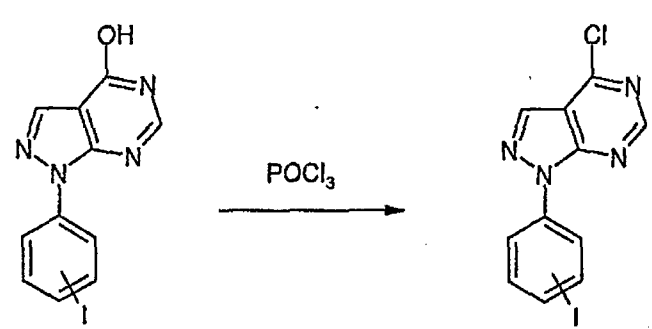
20



25

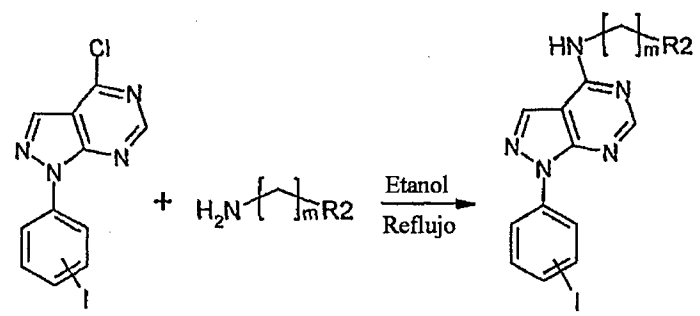
Etapa V

5



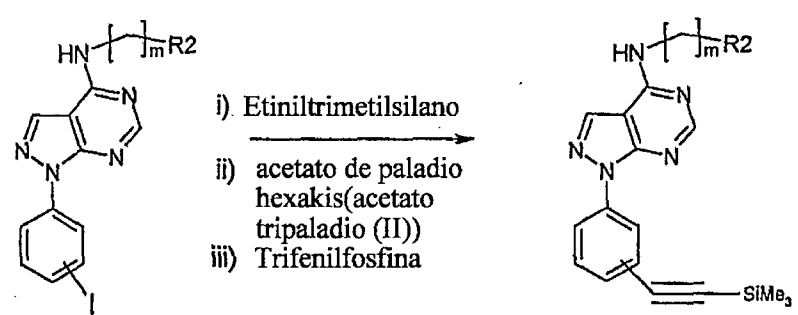
Etapa VI

10



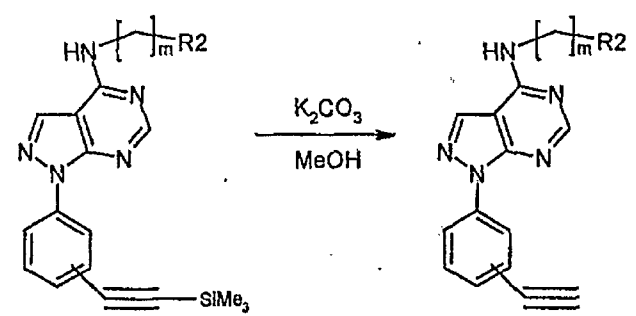
Etapa VII

15



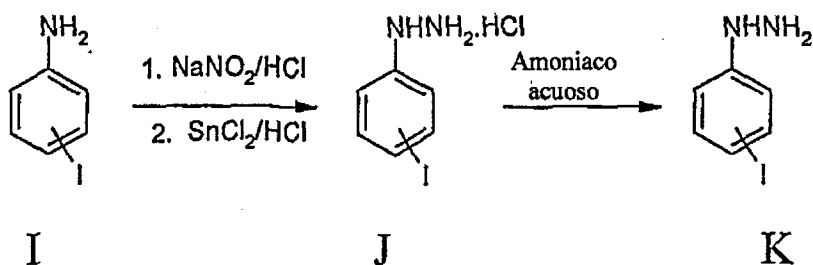
Etapa VIII

20



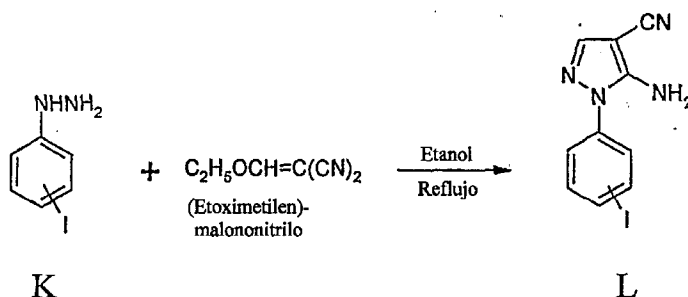
25

(h)



Por los métodos conocidos dados en la literatura, la diazotización de un compuesto de la fórmula I con ácido mineral tal como ácido clorhídrico y con solución de nitrito de sodio a temperaturas de -10°C a 5°C se puede obtener clorhidrato de fenil-hidrazina yodo-sustituido de la fórmula J. Los otros ácidos minerales que se pueden usar son ácido sulfúrico, etc. El compuesto de la fórmula J se neutraliza con una base adecuada tal como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de amonio y bicarbonatos de metales alcalinos para obtener la fenil-hidrazina yodo-sustituida de la fórmula K.

(i)

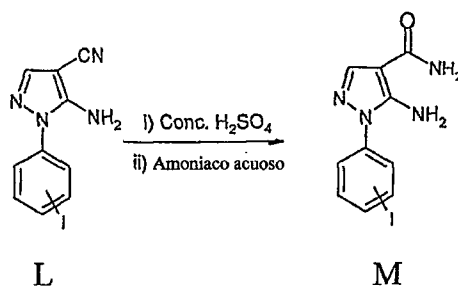


El compuesto de la fórmula K se hace reaccionar con etoxi-metelenomalononitrilo en solventes próticos tal como

metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, dimetil-formamida o mezclas de estos solventes a temperaturas de 60°C para obtener los nuevos fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carbonitrilos N-(yodo-sustituido) de la fórmula L. En otra manera de preparación, los compuestos de la fórmula K se hacen reaccionar con etoxi-metilenomalononitrilo generado *in situ* al hacer reaccionar ortoformiato de trietilo y malononitrilo para obtener los nuevos fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carbonitrilos N-(yodo-sustituidos) de la fórmula L. Las condiciones de temperatura varían desde 40°C a 100°C.

(j)

15

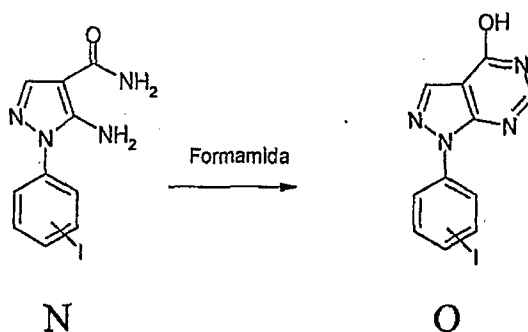


20

25

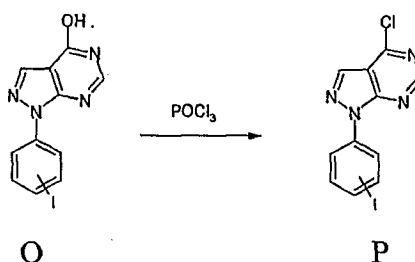
El grupo nitrilo de los compuestos de la fórmula L se hidroliza con un ácido mineral tal como ácido sulfúrico en medio acuoso y en la basificación con una base adecuada tal como amoníaco o bicarbonatos, carbonatos o hidróxidos de metales alcalinos a temperaturas de 10°C a 40°C para obtener las nuevas fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamidas N-(yodo-sustituidas) de la fórmula M.

(k)



El compuesto de la fórmula N se hace reaccionar con formamida a condiciones puras o en solvente tal como sulfolano a temperaturas de 200°C para obtener la nueva fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamida N-(yodo-sustituida) de la fórmula O. Las condiciones de temperatura varían desde 150°C a 220°C.

(l)

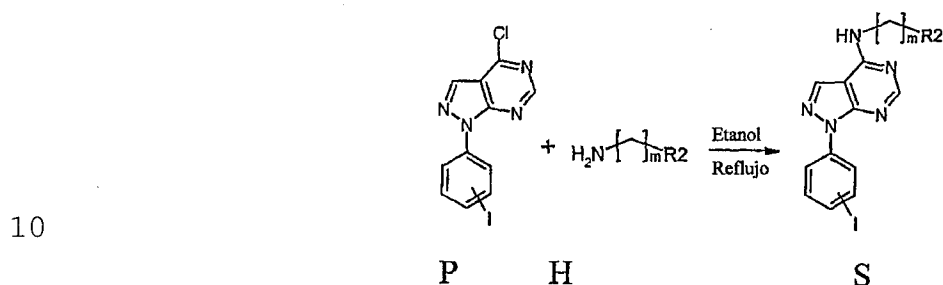


Los compuestos de la fórmula O se hacen reaccionar con oxiclорuro de fósforo en condiciones puras o en solventes apróticos tal como cloruro de metileno, cloruro de etileno, cloroformo o mezclas de estos solventes a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidinas N-(yodo-sustituidas) de la fórmula P. En otra manera de preparación, los compuestos de la fórmula O se

hacen reaccionar con cloruro de tionilo, tricloruro de fósforo o pentacloruro de fósforo en solventes apróticos tal como cloruro de metileno, cloruro de etileno, cloroformo o mezcla de estos solventes a temperaturas de 25°C para obtener las nuevas 4-cloro-

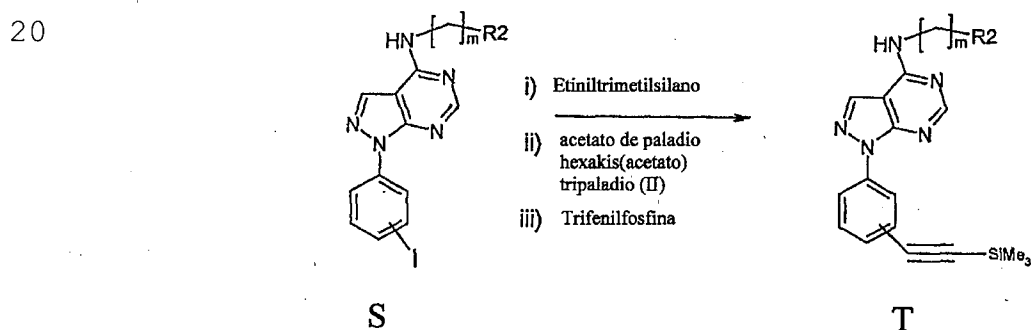
5 pirazolo[3,4-d]pirimidina N-sustituidas de la fórmula P.

(m)



Por los métodos conocidos dados en la literatura, el compuesto de la fórmula Q se somete a reflujo con alquil-
amina sustituida de la fórmula H en solventes próticos tal
15 como metanol, etanol, alcohol isopropílico o mezclas de estos
solventes, a condiciones de temperatura de reflujo para
obtener las nuevas pirazolo[3,4-d]pirimidinas sustituidas de
4-amino 1-(yodo-sustituido) de la fórmula S.

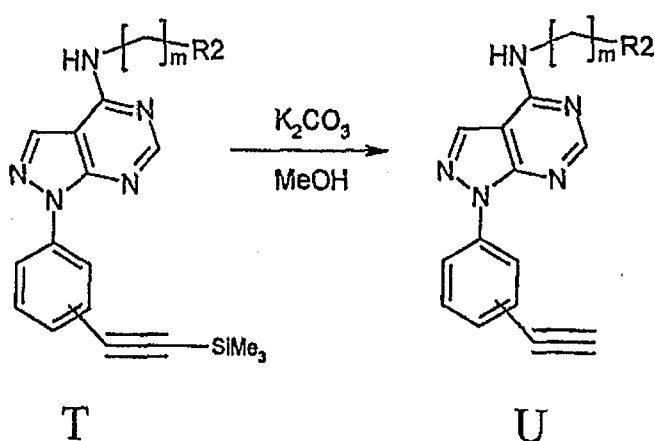
(n)



25

El compuesto de la fórmula S se somete a reflujo con trimetilsilil-acetileno sustituido en solventes próticos tal como metanol, etanol, alcohol isopropílico o mezclas de estos solventes a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas N-(trimetil-silil-protégido-etinil-sustituido) fenil-4-amino sustituido-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula T.

(o)



(Compuestos de la Fórmula I con grupo acetileno).

Los compuestos de la fórmula T se desprotegen con una base adecuada tal como amoníaco, mono-, di- o tri-alquilaminas, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de amonio y bicarbonatos de metales alcalinos para obtener los nuevos compuestos sustituidos con acetileno de la Fórmula I.

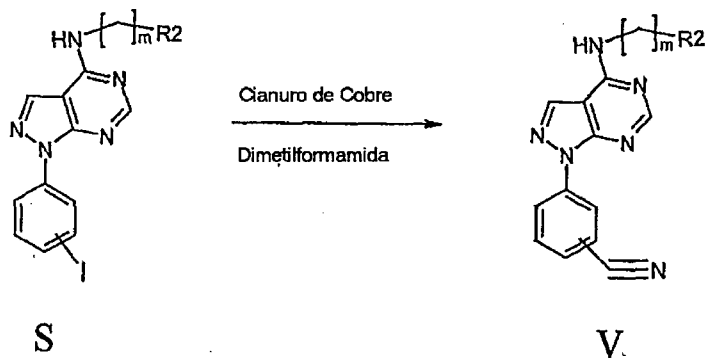
Los compuestos activos de la presente

invención con una substitución ciano en el anillo N-fenilo se pueden sintetizar según el proceso dado del Esquema de reacción III a continuación.

Esquema de reacción III

5

10

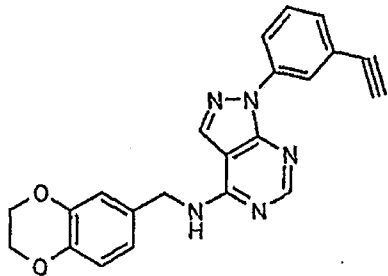
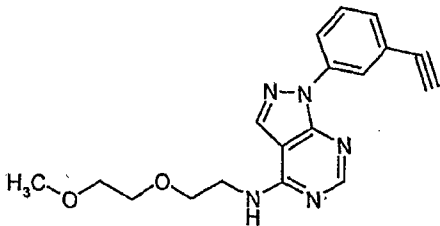
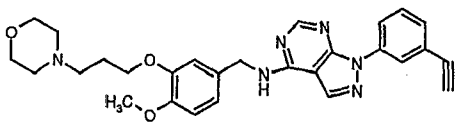


(compuestos de la Fórmula I con grupo ciano)

Los compuestos de la fórmula S se calientan con cianuro de cobre y yoduro de cobre en dimetilformamida o sulfóxido de dimetilo a temperaturas que varían desde 120°C a 145°C para obtener los nuevos compuestos N-(ciano-sustituido)-fenil-4-amino-sustituido-pirazolo[3,4-d]-pirimidinas de la fórmula V.

La invención se refiere más particularmente a compuestos de la fórmula I seleccionados del grupo que consiste de:

Derivados de [1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula U

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
01		N-((2,3-dihidrobenzo [b][1,4]dioxin-6-il) metil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidin-4-il-amina
02		[2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidin-4-il)-amina
03		[4-Metoxi-3-(3-morfolina-4-il-propoxi)-bencil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

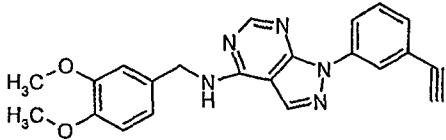
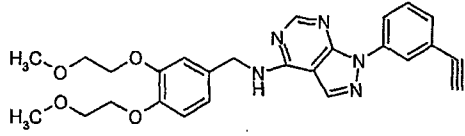
5

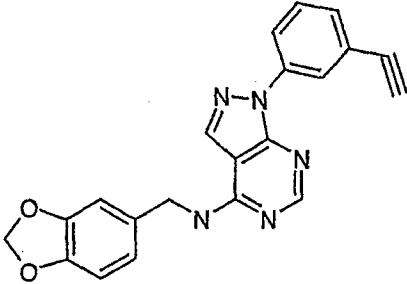
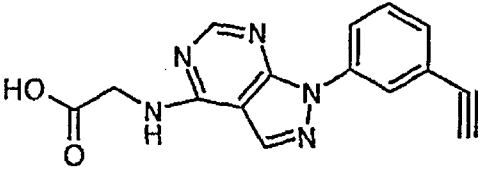
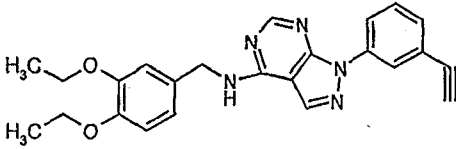
10

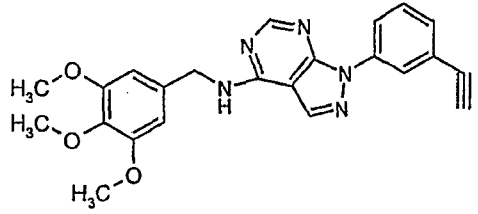
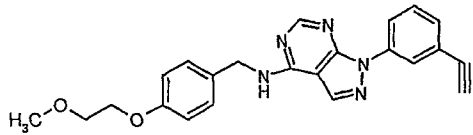
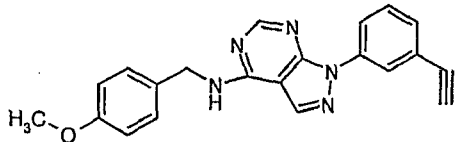
15

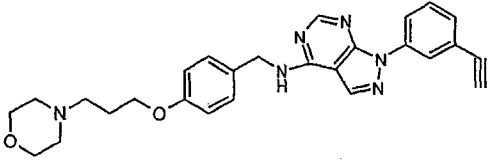
20

25

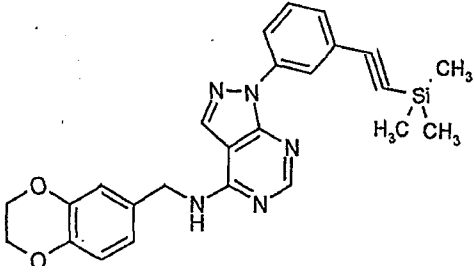
Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
04		(3,4-Dimetoxi-bencil)-[1-(3-etinil-fenil)1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il)-amina
05		[3,4-Bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

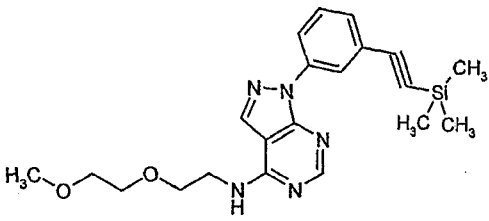
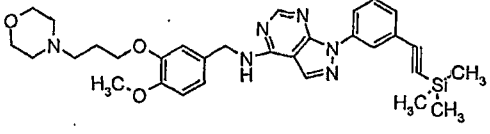
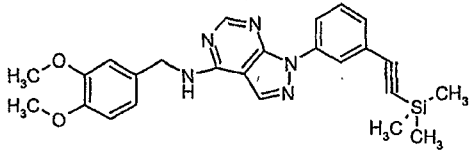
Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
06		Benzo[1,3]dioxol-5-il metil-[1-(3-ethinil-fenil)-1-H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il]-amina
07		Ácido [1-(3-ethinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-ilamino)-acético
08		3,4-Dietoxi-bencil-[1-(3-ethinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il]-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
09		[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina
10		[4-(2-metoxi-etoxi)-bencil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il)-amina
11		(4-metoxi-bencil-[1-(3-etinil-fenil)1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
12		[4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-benzil)-[1-(3-ethinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

Derivados de [1-(3-trimetilsilanil-etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina de la fórmula T.

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
13		N-((2,3-dihidrobenczo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-[1-(3-trimetilsilanil-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)-amina

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
14		[2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-trimetilsilanil-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il)-amina
15		[4-Metoxi-3-(3-morfolina-4-il-propoxi)-bencil)-[1-(3-trimetilsilanil-etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il)-amina
16		(3,4-Dimetoxi-bencil)-[1-(3-trimetilsilanil-etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

5

10

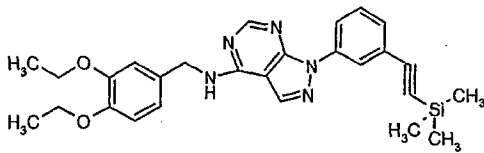
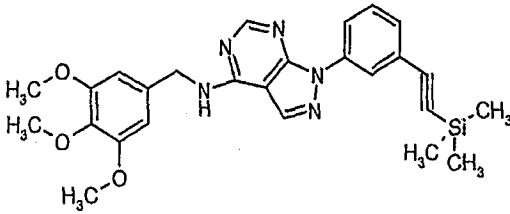
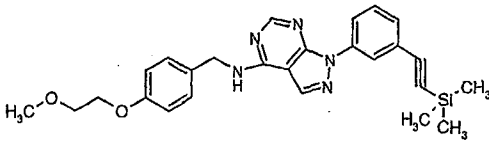
15

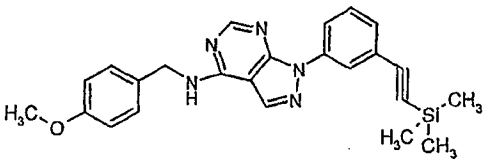
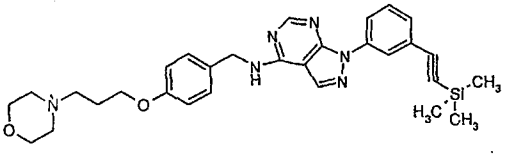
20

25

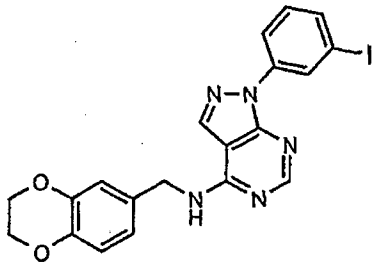
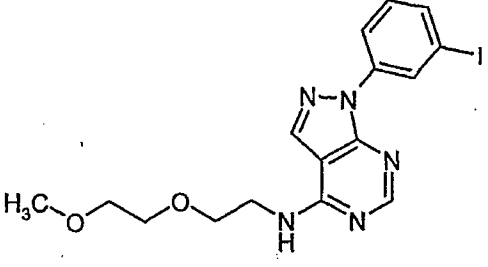
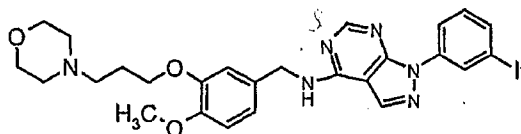
Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
17		[3,4-Bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil [1-(3-trimetilsilanil etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidina-4-il)-amina
18		Benzo [1,3] dioxol-5-il metil-[1-(3-trimetilsilani-etinil-fenil)-1-H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il]-amina
19		Ácido [1-(3-trimetilsilanil etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-ilamino)-acético

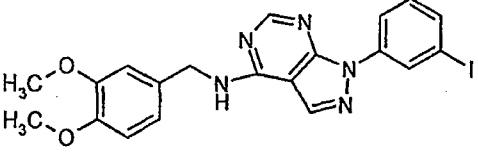
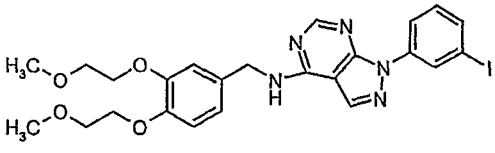
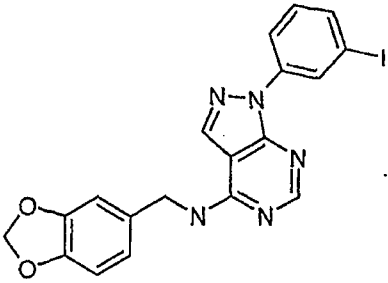
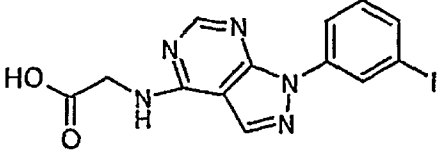
Handwritten signature

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
20		3,4-Dietoxi-bencil- [1-(3- trimetilsilanil etinil-fenil)-1H- pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina
21		[1-(3- trimetilsilanil etinil-fenil)-1H- pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- (3,4,5-trimetoxi- bencil)-amina
22		[4-(2-metoxi-etoxi)- bencil)-[1-(3- trimetilsilanil etinil-fenil)-1H- pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
23		(4-metoxi-bencil-[1-(3-trimetilsilanil etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-1-il)-amina
24		[4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-trimetilsilanil etinil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)-amina

Derivados de yodofenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina
de la fórmula S

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
25		N-((2,3-dihydrobenzo [b] [1,4] dioxin-6-il) metil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-il-amina
26		[2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-il)-amina
27		[4-Metoxi-3-(3-morfolina-4-il-propoxi)-bencil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
28		(3,4-Dimetoxi-bencil)-[1-(3-yodo-fenil)1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina-4-il)-amina
29		[3,4-Bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidina-4-il)-amina
30		Benzo[1,3]dioxol-5-il metil [1-(3-yodo-fenil)-1-H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il]-amina
31		Ácido [1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-ilamino)-acético

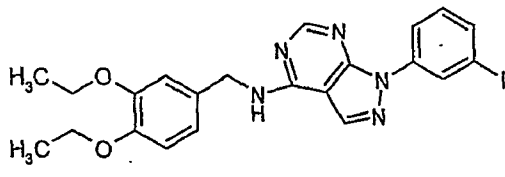
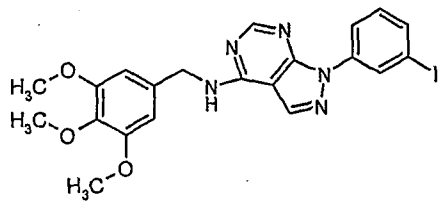
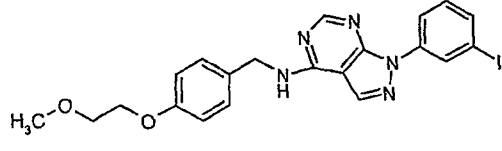
5

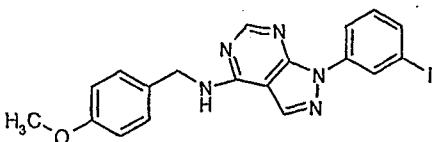
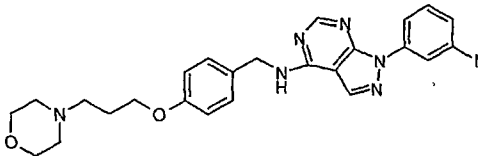
10

15

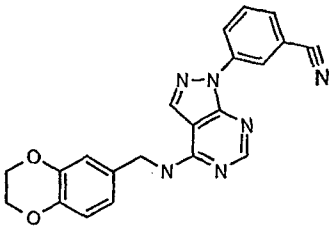
20

25

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
32		3,4-Dietoxi-bencil)- [1-(3-yodo-fenil)- 1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina
33		[1-(3-yodo-fenil)- 1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- (3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina
34		[4-(2-metoxi-etoxi)-bencil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
35		(4-metoxi-bencil-[1-(3-yodo-fenil)1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)-amina
36		[4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)-amina

Derivados de 3-ciano-fenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula V

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
37		3-{4-[(2,3-Dihidrobenzo[1,4]dioxin-6-ilmetil)-amino]-pirazolo[3,4-d] pirimidin-1-il}-benzonitrilo

5

10

15

20

25

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
38		3-{4-[2-(2-metoxi- etoxi)-etilamino]- pirazolo [3,4-d]-1- il} - benzonitrilo
39		3-{4-[4-metoxi-3- (3-morfolin-4-il- propoxi)-bencil amino]-pirazolo [3,4-d]pirimidin-1- il}-benzonitrilo
40		3-[4-(3,4-dimetoxi- bencilamino] pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il}- benzonitrilo
41		3-{4-[3,4-bis-(2- metoxi-etoxi)- bencil amino]- pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il}- benzonitrilo

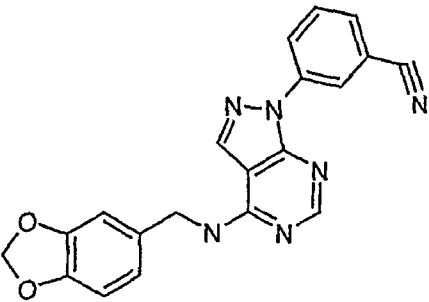
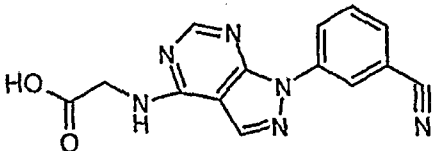
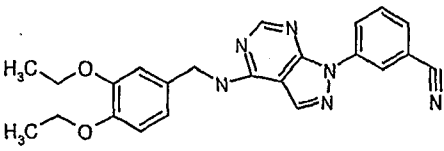
5

10

15

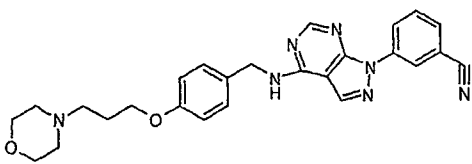
20

25

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
42		3-{4-[(Benzo [1,3] dioxol-5-il metil)-amino-pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il-}-benzonitrilo
43		Ácido [1-(3-ciano-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-ilamino]-acético
44		3-[4-(3,4-Dietoxi-bencil amino)-pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il]-benzonitrilo

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
45		3-[4-(3,4,5-trimethoxybenzylamino)-pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il]-benzonitrilo
46		3-{4-[4-(2-methoxyetoxi)-bencil amino]-pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il}-benzonitrilo
47		3-[4-(4-metoxi-bencilamino)-pirazolo [3,4-d] pirimidin-1-il]-benzonitrilo

5

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
48		3-{4-[4-(3-morfolin-4-il-propoxi)encilamino]-pirazolo [3,4-d]pirimidin-1-il}-benzonitrilo

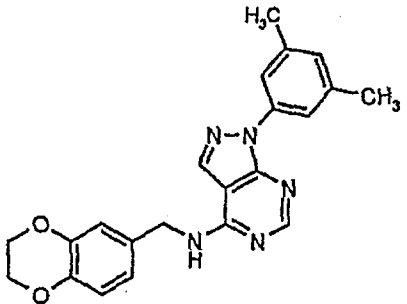
10

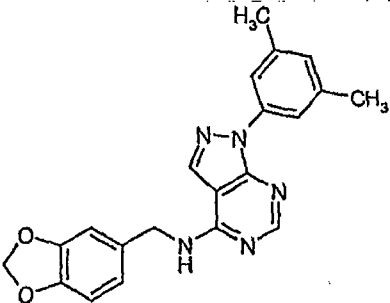
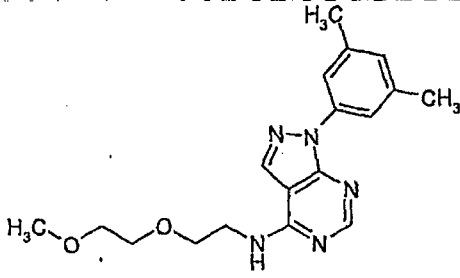
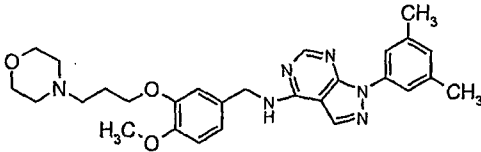
Derivados de 3,5-dimetil-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula I

15

20

25

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
49		N-((2,3-dihidrobenzo [b][1,4] dioxin-6-il) metil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
50		N-(benzo [d] [1,3] dioxol-5-ilmetil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-amina
51		1-(3,5-dimetilfenil)-N-(2-(2-metoxietoxi)etil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-4-amina
52		[1(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidina-4-il]-[4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil] amina

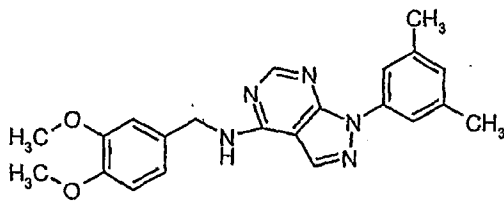
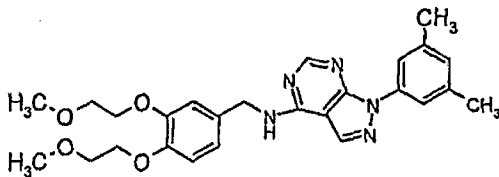
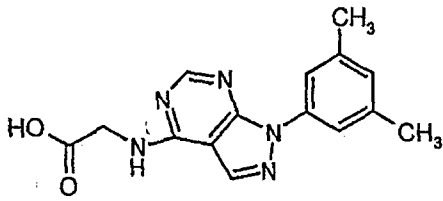
5

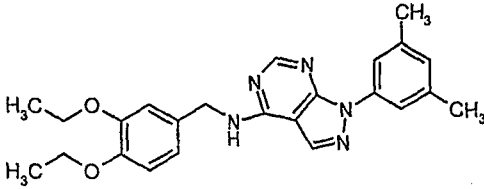
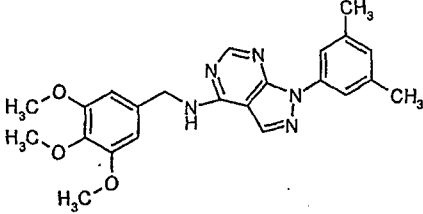
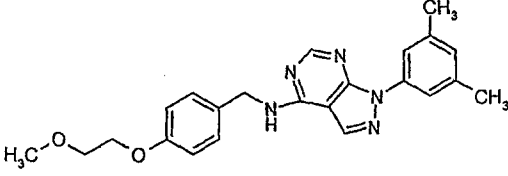
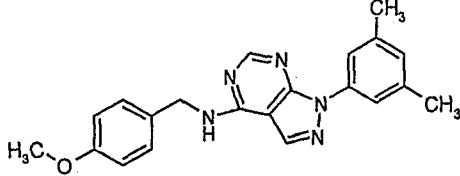
10

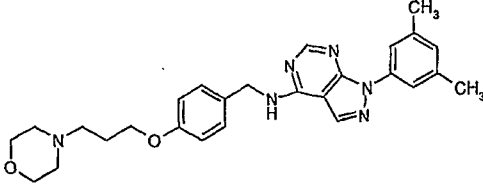
15

20

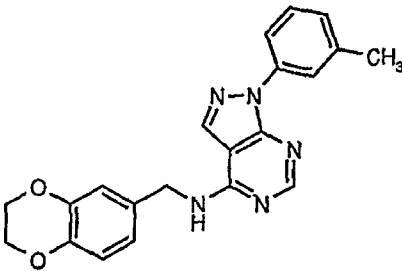
25

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
53		(3,4-dimetoxi-bencil)-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-amina
54		[3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil]-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-piazolo[3,4-d]pirimidin-4-il]-amina
55		Ácido [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidin-4-ilamino] acético

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
56		3,4-dietoxi-bencil)-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-amina
57		[1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il]-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina
58		[1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il]-[4-(2-metoxi-etoxi) bencil amina
59		[1(3,5-dimetil-fenil)-1H pirazolo[3,4-d] pirimidin-4-il]-[4-(metoxi) bencilamina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
60		[1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-il]-[4-(3-morfolina-4-il-propoxi) bencil amina

Derivados de m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula I

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
61		N-((2,3-dihiclobenzo [b] [1,4] dioxin-6-il) metil)-1-m-tolil-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidin-4-amina

139

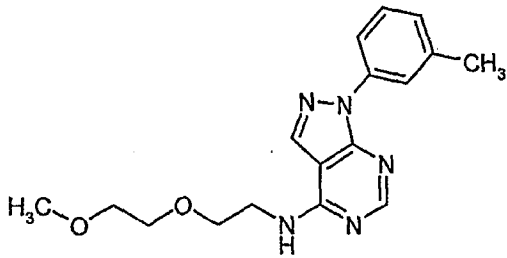
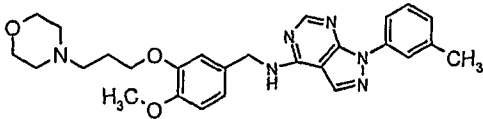
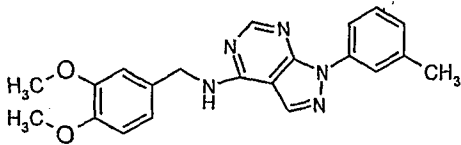
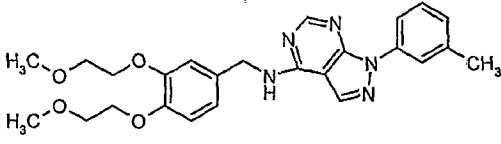
5

10

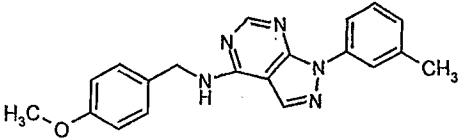
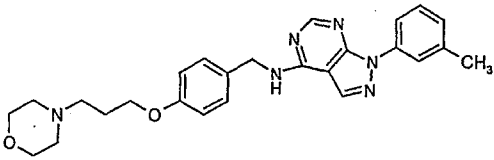
15

20

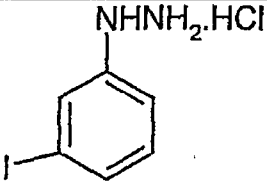
25

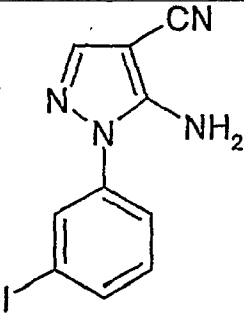
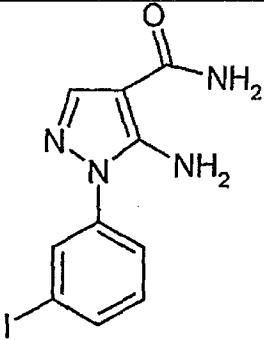
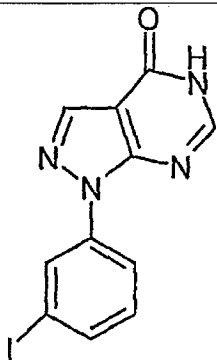
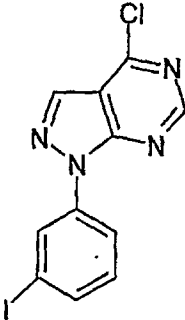
Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
62		[2-(2-metoxi- etoxi)-etil]-(1-m- tolil-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina- 4-il)-amina
63		[4-Metoxi-3-(3- morfolina-4-il- propoxi)-bencil]- (1-m-tolil-1H- pirazolo[3,4- d]pirimidina-4-il)- amina
64		(3,4-Dimetoxi- bencil)-(1-m-tolil- 1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina
65		[3,4-Bis-(2-metoxi- etoxi)-bencil]-(1- m-tolil-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina- 4-il)-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
66		Ácido (1-m-tolil- 1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4- ilamino)-acético
67		3,4-Dietoxi- bencil)-(1-m-tolil- 1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina
68		(1-m-tolil-1H- pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- (3,4,5-trimetoxi- bencil)-amina
69		[4-(2-metoxi- etoxi)-bencil]-(1- m-tolil-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina- 4-il)-amina

Número de Compuestos	Estructura	Nombre Químico
70		(4-metoxi-bencil)- (1-m-tolil-1H- pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina
71		[4-(3-morfolin-4- il-propoxi)- bencil]-(1-m-tolil- 1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-il)- amina

i) derivados de (1-3-yodo-fenil)-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula J a P

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
72		Clorhidrato de 1- (3-yodofenil)- hidrazina

Numero de compuestos	Estructura	Nombre Químico
73		5-amino-1-(3-yodofenil)-1H-pirazolo-4-carbonitrilo
74		Ácido 5-amino-1-(3-yodofenil)-1H-pirazolo-4-carboxílico de amida
75		1-(3-yodofenil)-1,5-dihidro-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-ona
76		4-cloro-1-(3-yodofenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

ii) derivados 3,5-dimetil-pirazolo[3,4-d]pirimidina
de la fórmula E a G

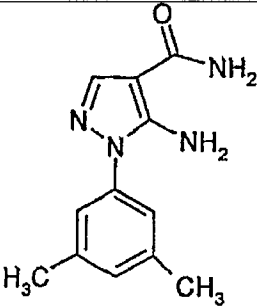
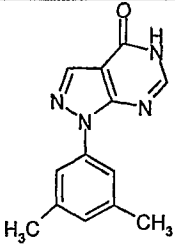
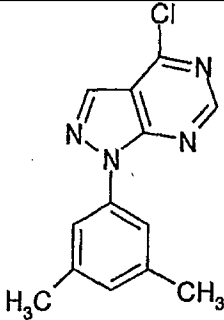
5

10

15

20

25

Número de compuestos	Estructura	Nombre Químico
77		5-amino-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazol-4-carboxílico
78		1-(3,5-dimetilfenil)-1,5-dihidro-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-ona
79		4-cloro-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina

iii) derivados (1-m-tolil-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula E a G

5

10

15

20

25

Número de Compuesto	Estructura	Nombre Químico
80		5-Amino-1-m-tolil-1H-pirazolo-4-carboxílico
81		1-m-Tolil-1,5-dihidro-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-ona
82		4-cloro-1-m-tolil-1H-pirazolo [3,4-d] pirimidina

Estudios In vitro

Ensayo de Proliferación de MTT

El ensayo de MTT [bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio] descrito primero por Mosmann en 1983, se basa en la capacidad de una enzima mitocondrial de

deshidrogenada de células viables para escindir los anillos de tetrazolio del MTT amarillo pálido y para formar cristales azul oscuro de formazan bastante impermeables a células de membrana, lo que da por resultado su acumulación dentro de células saludables. La solubilización de las células por la adición de un detergente da por resultado la liberación de los cristales, que se solubilizan. El número de células supervivientes es directamente proporcional al nivel del producto de formazan creado. El color entonces se puede cuantificar usando un ensayo colorimétrico simple. Este ensayo se realizó usando concentraciones de 0-1000 ng/ml de Erlotinib y sus derivados en células A549 y H1299. El protocolo se basó en ATCC y según las instrucciones del fabricante (Número de Catalogo 30-1010K).

15 Análisis por transferencia Western Blot

Se usaron concentraciones ideales de fármaco determinadas del ensayo de proliferación de MTT para tratar 1×10^6 células A549 o H1299 en medio apropiado durante 72 horas después de lo cual se extrajeron los lisados celulares y se fraccionaron en gel de SDS-PAGE al 10% bajo condiciones reductoras. Los geles se transfirieron sobre membranas de nailon tratadas (Bio-Rad) y se inmunosondearon para EGFR, P13K y AKT.

Ensayo de invasión de Matrigel

25 La invasión *in vitro* de células H1299 o A549 en la

presencia de varias concentraciones de los compuestos de esta invención (como se determina por el ensayo de MTT) se valoró usando un ensayo modificado de cámara Boyden. Las células se trataron con estos compuestos durante 48 horas. Se suspendieron 1×10^6 células en 600 μ l de medio libre de suero complementado con BSA al 0.2% y se colocaron en el compartimiento superior de las cámaras transconcavidad (Corning Costar Fischer Scientific # de catálogo 07-200-158, Pittsburgh PA) revestidas con Matrigel (0.7 mg/ml). El compartimiento inferior de la cámara se rellenó con 200 μ l de medio libre de suero y las células se dejaron migrar durante 24 horas. Después de la incubación, las células se fijaron y tiñeron con Hema-3 y se cuantificaron como se describe anteriormente (Mohanam, et al., 1993). Las células migradas se cuantificaron como por ciento de invasión.

Ensayo angiogénico *in vitro*

Para determinar las propiedades anti-angiogénicas de Erlotinib y sus derivados, se usaron concentraciones ideales de fármacos para tratar células A549 durante 72 horas como se describe anteriormente, después de lo cual, el medio completo se reemplazó con medio libre de suero durante 12 horas. Este medio libre de suero se llamó medio condicionado y se usó para la inducción angiogénica en células HMEC cultivadas a 80% de confluencia de acuerdo a los protocolos normales.

Estudios in vivo:Efecto de los compuestos mencionados anteriormente en tumores pulmonares subcutáneos en ratones desnudosMétodo

- 5 Se implantaron ratones desnudos con 2×10^6 células A549 en el flanco de la extremidad trasera derecha. Al observar el tumor (>2 mm), a los ratones se les da tratamiento oral o ip de Erlotinib, y los compuestos mencionados anteriormente a 1/10-ésima de dosis de Erlotinib.
- 10 De una búsqueda en la literatura, se ha indicado que 100 mg/kg de Erlotinib como la dosis de línea base. Los compuestos seleccionados de la presente invención provocaron retrasos de crecimiento tumoral similar a Erlotinib a una concentración 1/10-ésima (10-80 ng/ml).

15 Ventajas de la presente invención:

1. Los nuevos compuestos mencionados anteriormente son superiores a las terapias normales existentes de cánceres de pulmón de células no pequeñas tal como Gefitinib y Erlotinib y son potencialmente útiles en terapia de cáncer de
- 20 pulmón.

2. Los nuevos compuestos mencionados anteriormente también están trabajando en otras áreas del cáncer tal como cáncer pancreático y son potencialmente útiles en terapia de cáncer pancreático.

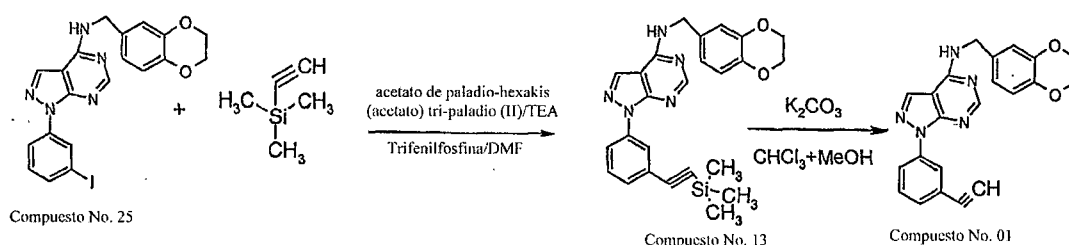
- 25 3. Los nuevos compuestos mencionados anteriormente

también están trabajando en otras áreas tal como cáncer de garganta y oral y son potencialmente útiles en terapia de cáncer oral y de garganta.

La invención se describirá más completamente en unión con los siguientes ejemplos específicos, que no se van a considerar como que limitan el alcance de la invención.

Procedimiento Experimental

Ejemplo 1.- Preparación de (2,3-Dihidro-benzo [1,4] dioxin-6-ilmetil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidina-4-il]-amina (Compuesto No. 01)



Se cargaron 50 ml de dimetilformamida en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 250 ml, conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, condensador, embudo de adición y burbujeador de gas nitrógeno. Se cargaron 10.0 g (20.60 mmol) de (2,3-Dihidro-benzo [1,4] dioxin-6-ilmetil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-4-il)amina (Compuesto No. 25), 14.50 g (0.146 mol) de etinil-trimetil-silano, 46.0 mg de acetato de paladio-hexakis (acetato) tri-paladio (II) 108.0 mg de trifenil-fosfina y 20.6 ml de trietilamina. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-35°C durante 30-45 minutos. La temperatura de la masa de

reacción se elevó a 80-85°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 80-85°C durante 4 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 50-55°C y se mantuvo durante 2 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C y se mantuvo durante la noche bajo agitación. El solvente se destiló completamente bajo vacío. El aceite crudo presente se disolvió en 160 ml de agua y el compuesto se extrajo con 300 ml de cloroformo. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio. El sulfato de sodio se filtró y se lavó el sulfato de sodio con 50 ml de cloroformo. El cloroformo se destiló completamente bajo vacío. Se obtuvieron 9.50 g de aceite crudo (Compuesto No. 13). El compuesto se caracterizó por espectro de masa [455 (M^{+1})]. Se disolvieron 9.0 g de aceite crudo en una mezcla de 85 ml de metanol y 85 ml de cloroformo. Se adicionaron 11.30 g de carbonato de potasio. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-35°C durante 14 horas. Se destiló el solvente completamente bajo vacío. Se obtuvieron 7.50 g de aceite crudo. El aceite crudo se purificó por cromatografía en columna con mezcla de hexano y acetato de etilo como fase móvil. Se obtuvieron 3.60 g (rendimiento; 45.70% en teoría) del producto.

Punto de fusión: 161.0°C

Datos espectrales:

FT-IR(KBr) (cm^{-1}); 3365, 3270, 3209, 3085, 3002, 2937, 2872, 2099, 1591, 1575, 1534, 1506, 1491, 1428, 1347, 1232, 1204,

1100, 1064, 788, 724.

400 MHz RMN-¹H (DMSOd₆) valor δ (ppm): 4.19 (s) ^{C≡CH} (1H), 4.30 (s) 2 (CH₂) (4H), 4.63-4.64 (d) (CH₂) (2H), 6.79-6.86(m) Ar-3H, 7.42- 7.55(d&t) Ar-4H, 8.22-8.24 (d), CH (1H), 8.38- 8.43 (t) CH (1H), 8.89 (amplio) (NH) (1H).

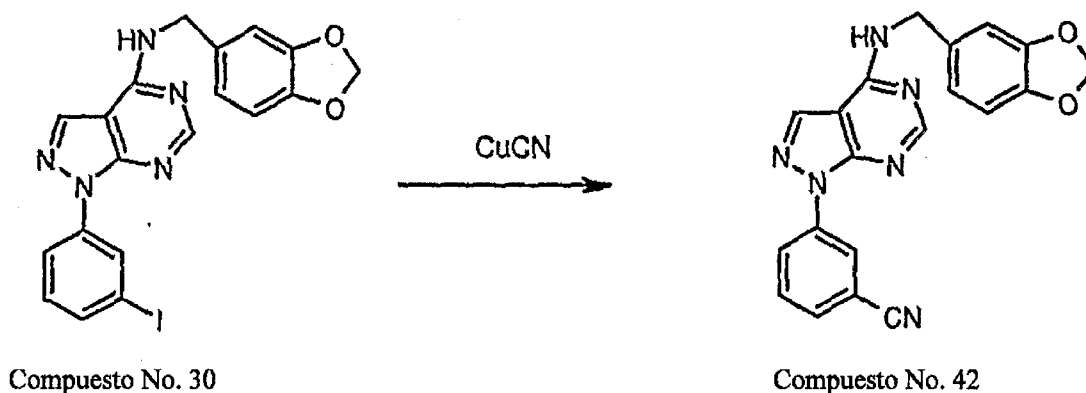
RMN-¹³C: valor δ (ppm): 42.78(1C), 63.97(1C), 64.03(1C), 81.35(1C), 82.87(1C), 101.86(1C), 116.29(1C), 116.89(1C), 120.45(1C), 120.73(1C), 122.43(1C), 123.02(1C), 129.05(1C), 131.83(1C), 134.14(1C), 139.11(2C), 142.45(1C), 143.16(1C), 153.8(1C), 156.30(1C), 156.63(1C).

MS: 383.2[M], 382.2 [M-1]

Ejemplo 2.- Preparación de 3-{4-[(Benzo[1,3]dioxol-5-ilmetil)-amino]-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-benzonitrilo (Compuesto No. 42)

15

20



Se cargaron 10 ml de dimetilformamida y 1.0 g (2.12 mmol) de benzo[1,3]dioxol-5-ilmetil-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-amina (Compuesto No. 30) en un matraz de fondo

25

redondo de 4 cuellos de 100 ml conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, condensador, embudo de adición y burbujeador de gas nitrógeno. Se cargaron 0.57 g (6.40 mmol) de cianuro de cobre. La masa de reacción se calentó a temperatura de reflujo. Se mantuvo la masa a temperatura de reflujo durante 4 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se adicionaron 1.0 ml de amoníaco acuoso. Se agitó la masa durante 15 minutos. Se adicionaron 100.0 ml de agua. Se agitó la masa durante 15 minutos. El producto se extrajo con 50 ml de acetato de etilo y se secó la capa orgánica sobre sulfato de sodio. Se destiló el acetato de etilo completamente bajo vacío. El aceite crudo se cristalizó en la adición de 5 ml de éter isopropílico. Se obtuvieron 500.0 mg del compuesto. (Rendimiento - 50% por teoría).

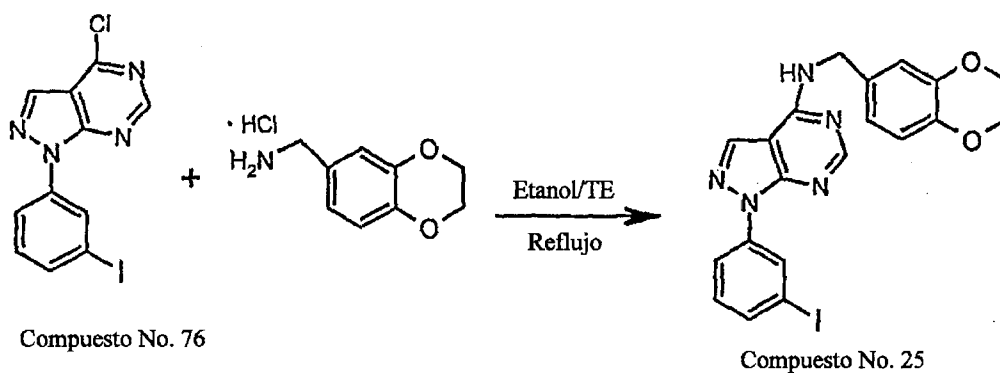
Datos espectrales:

FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3383, 3361, 3091, 2912, 2226, 1619, 1594, 1579, 1492, 1435, 1318, 1037, 985, 784, 672

MS: 372.3[M+2], 371.2 [M+1]

Ejemplo 3.- Preparación de (2,3-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-ilmetil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il) amina (Compuesto No. 25)

20



25

Se cargaron 31.0 ml de etanol y 3.0 g (8.41 mmol) de 4-cloro-1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (Compuesto No. 76) en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 100 ml conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, condensador y embudo de adición. Se cargaron 2.90 g (14.40 mmol) de clorhidrato de 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il-metilamina a 25-30°C bajo agitación. Se agitó la masa a 25-30°C durante 15-20 minutos. Se adicionó lentamente 30.0 g (0.20 mol) de trietilamina para mantener la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos. La temperatura de la masa de reacción se aumentó a reflujo. Se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo durante 5 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 60-90 minutos. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 0-5°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 0-5°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 10.0 ml de etanol enfriado. El compuesto se secó bajo vacío a 60-65°C. Se obtuvieron 2.80 g de peso seco (rendimiento - 68.62% por teoría).

Pureza por HPLC - 99.85%.

Punto de fusión: 197.9°C.

Datos espectrales:

FT-IR (K Br) (Cm⁻¹): 3426, 3193, 3099, 2969, 2926, 1602,

1578, 1509, 1472, 1102, 1067, 938, 676, 633

400 MHz RMN-¹H (DMSO-d₆) valor δ (ppm): 4.20 (s) 2-CH₂ (4H),
4.63-4.65 (d) CH₂ (2H), 6.79-6.86 (m) Ar-Ha,Hb,Hc (3H), 7.31-
7.35 (t) Ar-Hd (1H), 7.67-7.69 (d) Ar-He,Hf,Hg (3H), 8.24-8.26
5 (d) Ar-Hh (1H), 8.41-8.47 (d) Ar-Hi (1H), 8.85 (s) NH (1H)

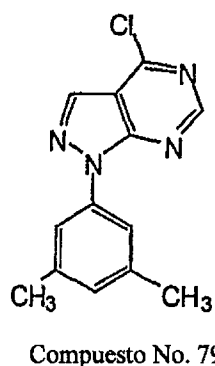
RMN-¹³C: valor δ (ppm): 42.74(1C), 63.98(2C), 94.44(1C),
101.81(1C), 116.23(1C), 116.81(1C), 119.41(1C), 120.39(1C),
128.28(1C) 130.99(1C), 131.74(1C), 134.19(1C), 134.40(1C),
139.93(1C), 142.41(1C), 143.11(2C), 153.04(1C), 156.24(1C),
10 156.60(1C).

MS: 486.4[M+1]

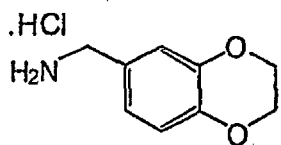
Ejemplo 4.- Preparación de (2,3-Dihidro-Benzo[1,4]dioxin-6-ilmetil)-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidin-4-il]-amina (Compuesto No. 49)

15

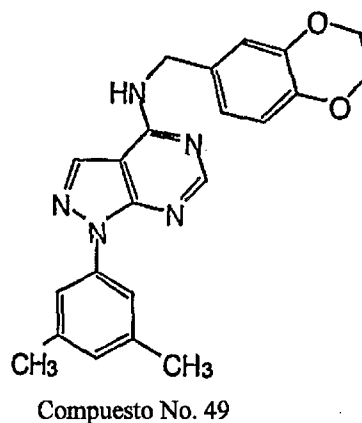
20



+ .HCl



Etanol
TEA/Reflujo



25

Se cargaron 350.0 ml de etanol y 25.0 g (0.096 mol) de 4-cloro-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d] pirimidina (Compuesto No. 79) en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 1.0 L conectado a un agitador mecánico,

cavidad para termómetro, condensador y embudo de adición. Se agitó la masa a 25-30°C durante 15-20 minutos. Se cargaron 32.0 g de clorhidrato de 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il-metilamina a 25-30°C bajo agitación. Se agitó la masa a 25-30°C durante 15-20 minutos. Se adicionaron lentamente 30.0 g de trietilamina para mantener la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos. La temperatura de reacción se aumento a reflujo. Se mantuvo la masa a la temperatura de reflujo durante 10-11 horas. La masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 05-30°C durante 60-90 minutos. La masa de reacción se enfrió a 0-5°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 0-5°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y se lavó con 50.0 ml de etanol enfriado. El compuesto se secó bajo vacío a 60-65°C hasta que se obtuvo un peso constante. El peso seco del compuesto es 35.50 g. Se cargaron 175.0 ml de dimetilsulfóxido y 35.50 g de compuesto crudo seco en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 1.0 L, conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro y condensador. La temperatura de la masa se aumentó a 55-60°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 55-60°C durante 30-45 minutos. Se filtró el sólido insoluble a través de un lecho "hyflow", se lavó el matraz con 20.00 ml de dimetilsufóxido caliente. Se recolectó el filtrado claro en el matraz. Se cargaron

1000.0 ml de agua en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 3.0 L, conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro y embudo de adición. Se adicionó lentamente solución de dimetil-sulfóxido a agua para mantener la temperatura de la masa a 25-35°C durante un período de 30-45 minutos. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-35°C durante 60-90 minutos. La temperatura de la masa se enfrió a 5-10°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 5-10°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 150 ml de agua. El compuesto se secó bajo vacío a 60-65°C. Se obtienen 32.0 g del compuesto seco (rendimiento - 85.5% por teoría). La pureza del producto por HPLC es 99.48%.

Intervalo de fusión 183.4°C-183.6°C

Datos espectrales: FT-IR (K Br) (cm^{-1}):

3423, 3236, 3158, 3097, 2991, 2919, 1593, 1546, 1506, 1485, 1457, 1437, 1426, 1371, 1344, 1326, 1306, 1280, 1262, 1252, 1234, 1217, 1205, 1150, 1122, 1097, 1065, 1048, 962, 933, 911, 885, 851, 829, 792, 765, 732, 703, 683, 653, 634, 581, 538, 467, 434.

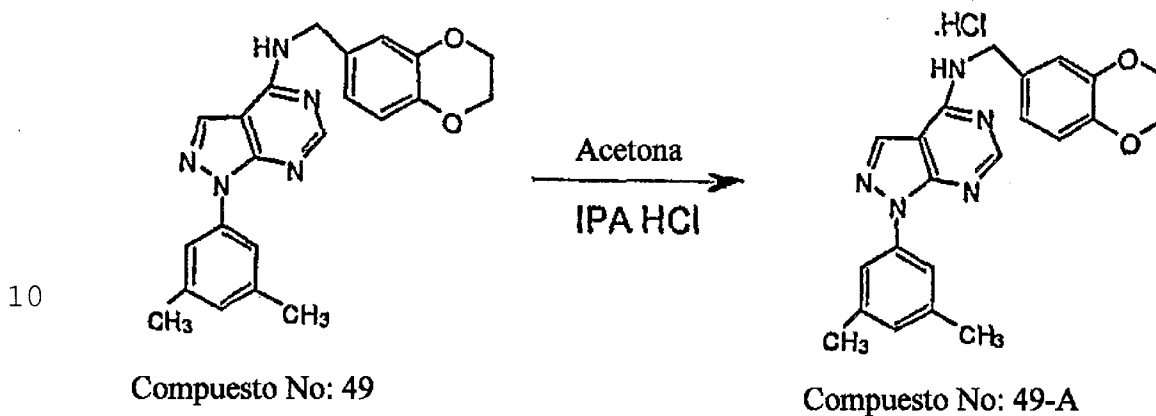
400 MHz RMN- ^1H (DMSO- d_6) valor δ (ppm): 2.34 s (2CH₃), 4.19 s (2 CH₂), 4.64 d (CH₂), Ar Ha, Hb, Hc m (3H), Ar Hd, He, Hf s (3H), Hg s (1H), Hh s (1H), NH t (1H)

RMN- ^{13}C : valor δ (ppm): 21.05(2C), 42.76(1C), 64.04(2C), 101.72(1C), 116.3(1C), 118.32(2C), 120.45(1C), 127.47(1C), 131.97(1C), 133.39(1C), 138.22(2C), 138.89(1C), 142.45(1C),

143.17(1C), 152.78(1C), 156.31(1C), 156.42(1C).

MS: 388.0[M+1]

Ejemplo 4a.-: Preparación de clorhidrato de (2,3-Dihidro-Benzo[1,4]dioxin-6-ilmetil)-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il]-amina (Compuesto No. 49-A).



Se cargaron 450 ml de acetona en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 1.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, condensador y embudo de adición. Se cargaron 30.0 g (0.078 mol) de 2,3-Dihidrobenzo[1,4]dioxin-6-ilmetil)-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-il]-amina (Compuesto No. 49). Se agitó la masa a 25-30°C durante 15-20 minutos. Se cargaron 21.0 g de IPA HCl a 25-30°C bajo agitación. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos. Se filtró el sólido y se lavó 150.0 ml de acetona. El compuesto se secó bajo alto vacío a 65-70°C. Se obtuvieron 30.0 g del compuesto seco (rendimiento - 91.46%)

Purificado por HPLC -99.80%.

Punto de fusión 244.1°C - 244.3°C

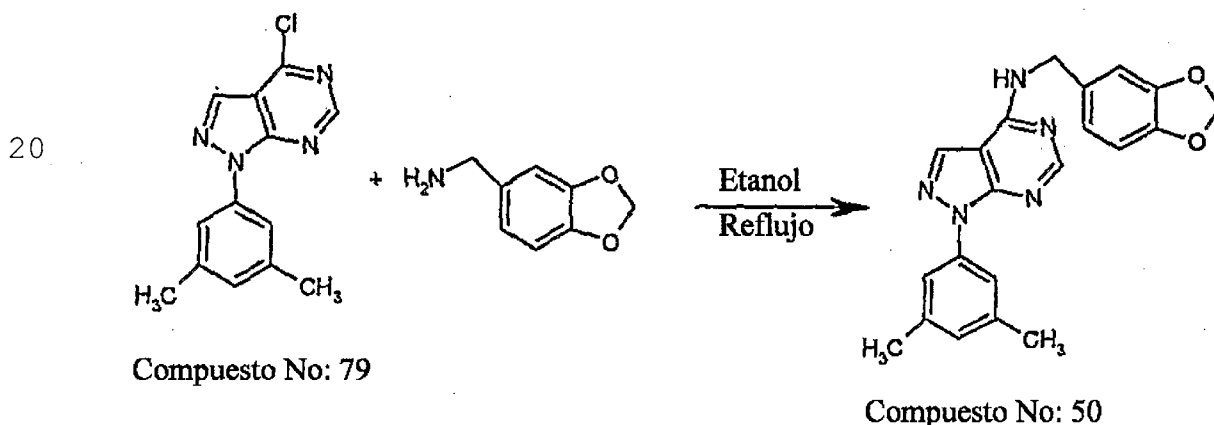
Datos espectrales:

FT-IR (KBr) (cm⁻¹): 3424, 3227, 3094, 3052, 2978, 2878, 2746, 1665, 1596, 1561, 1508, 1471, 1435, 1352, 1260, 1239, 1150, 985, 917, 885, 827, 778, 684, 646

400 MHz RMN-¹H (DMSO-d₆) valor δ (ppm): 2.49 s (2CH₃), 4.20 s (2 CH₂), 4.65 d (CH₂), 6.80-6.84Ar Ha, Hb, Hc m (3H), 6.85-6.89Ar Hd, He, Hf s (3H), 6.99Hg s (1H), 7.77Hh s (1H), 8.44 NH t (1H), 9.10 amplio (HCl)

RMN-¹³C: valor δ (ppm): 20.98(2C), 44.25(1C), 64.05(2C), 101.46(1C), 116.78(1C), 117.01(1C), 119.28(2C), 120.89(1C), 128.60(1C), 129.72(1C), 135.30(1C), 137.84(2C), 138.51(1C), 142.90(1C), 143.24(1C), 150.74(1C). MS: 425.3[M+2], 424.3[M+1], 422.3[M-I], 387.4[M-HCl]

Ejemplo 5.-: Preparación de Benzo[1,3]dioxol-5-ilmetil-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina (Compuesto No. 50)

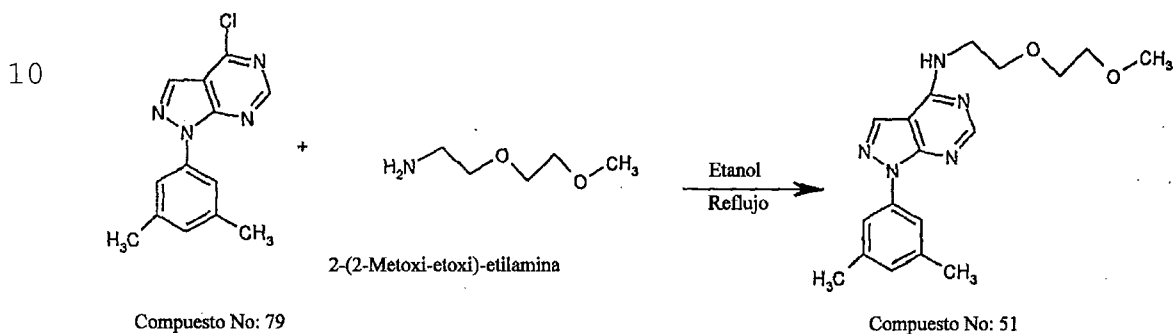


25 Se cargaron 40.0 ml de etanol y 2.0 g (7.74 mmol)

de 4-cloro-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]
pirimidina (Compuesto No. 79) en un matraz de fondo redondo
de 4 cuellos de 250 ml conectado a un agitador mecánico,
cavidad para termómetro, condensador y embudo de adición. Se
5 cargaron 2.33 g (15.40 mmol) de (3,5-metilendioxi) bencil-
amina a 25-30°C bajo agitación. La temperatura de la masa se
aumentó a reflujo. Se mantuvo la temperatura de la masa a
reflujo durante 6 horas. La temperatura de la masa se enfrió
a 25-30°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C
10 durante 60 minutos. La temperatura de la masa de reacción se
enfrió a 0-5°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 0-5°C
durante 60 minutos. Se filtró el sólido y se lavó con 10.0 ml
de etanol enfriado. Se secó el compuesto bajo vacío a 60-
65°C. Peso seco del compuesto: 2.20 g (rendimiento.- 76.38%).
15 Punto de fusión: 150.2°C.
Pureza por HPLC - 99.79%.
Datos espectrales:
FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3423, 3233, 3149, 3101, 3006, 2891, 1593,
1542, 1501, 1485, 1437, 1364, 1340, 1316, 1278, 1238, 1128,
20 1096, 1072, 1041, 946, 929, 846, 829, 809, 791, 703, 687, 635,
434
400 MHz RMN-¹H (DMSO-d₆) valor δ (ppm): 2.35 s (2CH₃), 4.64
d(CH₂), 5.79 s (CH₂) 6.86 sAr Ha, Hb(2H), 6.94-6.97 d Hc
d(1H), 7.81sAr Hd, He, Hf s (3H), 8.38-8.39 (d) Hg, Hh (2H),
25 NHt(1H)

RMN-¹³C: valor δ (ppm): 21.02(1C), 43.09(1C), 64.04(1C), 100.82(1C), 101.72(1C), 108.05(1C), 108.12(2C), 118.31(1C), 120.74(1C), 127.44(2C), 132.78(1C), 133.36(1C), 138.19(1C), 138.86(1C), 146.24(1C), 147.28(1C), 152.77(1C), 156.30(1C), 156.37(1C) MS: 374.0[M+1]

Ejemplo 6.-: Preparación de [1-(3,5-Dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-[2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-amina (Compuesto No. 51).



15 Se cargaron 60.0 ml de etanol y 10.0 g (0.038 mol) de 4-cloro-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (Compuesto No. 79) en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 250 ml conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, condensador y embudo de

20 adición. Se cargaron 22.40 g (0.18 mol) de 2-(2-Metoxi-etoxi)-etilamina a 25-30°C bajo agitación. La temperatura de la masa de reacción se aumentó a reflujo. Se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo durante 5 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se

25 mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 60

minutos. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 0-5°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 0-5°C durante 60 minutos. No se formó el sólido. El etanol se destiló completamente bajo vacío. Se obtuvo una masa
5 aceitosa cruda. La masa aceitosa se disolvió en 45 ml de acetonitrilo. Se adicionaron 300.0 ml de éter isopropílico. Se formó el sólido. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 50.0 ml de éter isopropílico. El compuesto se secó bajo vacío a 60-65°C. Peso seco del
10 compuesto: 7.50 g (rendimiento - 56.80 %).

Punto de fusión: 90.4°C

Pureza por HPLC es 99.76%.

Datos espectrales:

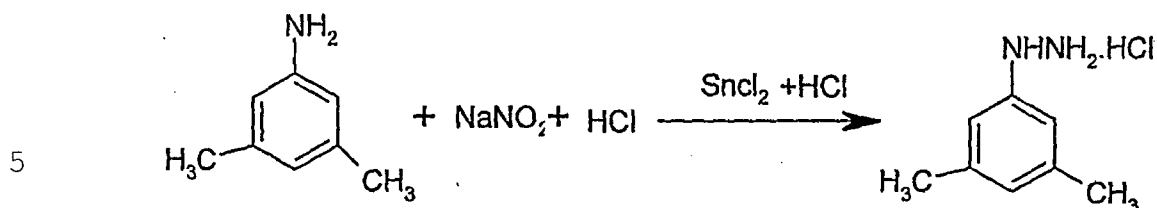
FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3537, 3362, 3265, 3132, 3050, 3012, 2915,
15 2883, 2872, 1627, 1602, 1568, 1528, 1479, 1389, 1201, 1166, 1134, 980, 929, 886, 684

400 MHz RMN-¹H (DMSO-d₆) valor δ (ppm): 2.35 s (2 CH₃), 3.22 s (O-CH₃), 3.31 d(O-CH₂-CH₂), 3.43-3.561 (NH-CH₂), 3.61-3.691 (O-CH₂), 6.96 s (Ar-Ha, Hb), 7.80 s (Ar- Hc), 8.37 s (Hd), 8.381
20 (NH), 8.54 d (He).

RMN-¹³C: valor δ (ppm): 21.03(2C), 40.01(1C), 57.99(1C) 68.79(1C), 69.48(1C), 71.21(1C), 101.76(1C), 118.29(2C), 127.44(1C), 133.40(1C), 138.21(2C), 138.87(1C), 152.72(1C), 156.33(1C), 156.54(1C).

25 MS: 342[M+1]

Ejemplo 7a.-: Preparación de clorhidrato de 3,5-Dimetilfenil-hidrazina



Se cargaron 2220.0 ml de ácido clorhídrico en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 5.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador. Se cargaron 200.0 g (1.65 mol) de 3,5-Dimetil-anilina a 25-35°C.

10 Se agitó la masa de reacción durante 20 minutos. La masa de reacción se enfrió a -5 a 0°C. La solución de nitrito de sodio [120.0 g (1,74 mol) de nitrito de sodio se disolvió en 1060.0 ml de agua DM y se enfrió a 0-5°C) se adicionó a una masa de dimetil-anilina a -5 a 0°C durante 60-90 minutos. Se

15 mantuvo la temperatura de la masa a -5 a 0°C durante 60-75 minutos. Se cargaron 740.0 ml de ácido clorhídrico en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 10.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador. Cargaron 746.0 g de cloruro estano .2H₂O(3.30 mol). Se

20 agitó la masa durante 30-45 minutos a 25-35°C. La masa de reacción se enfrió a -5 a 0°C. La solución diazotizada se adicionó lentamente la solución de cloruro estano a -5 a 0°C durante 150-180 minutos. Se mantuvo la temperatura de la masa a -5 a 0°C durante 30-45 minutos. La temperatura de la

25

masa de reacción se aumentó a 25-35°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-35°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 200.0 ml de agua. El compuesto se secó bajo vacío a 55-60°C. Se cargaron 1000.0 ml
5 de etanol y compuesto crudo en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad de termómetro, y condensador. Se elevó la temperatura de la masa a la temperatura de reflujo. Se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo durante 30-45 minutos. Se cargaron 20.0
10 g de carbono y se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo durante 30-45 minutos. Se filtró el carbón y se filtró el carbono y se lavó el carbono con 200.0 ml de etanol. Se recolectó el filtrado en un matraz. Se destiló completamente el etanol bajo vacío a una temperatura de masa que no cruza
15 60°C. La temperatura de la masa se enfrió a 25-35°C y se liberó el vacío. Se cargaron 800.0 ml de éter isopropílico. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-35°C durante 45-60 minutos y la temperatura de la masa se enfrió a 0 a 5°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 0 a 5°C durante 45-60
20 minutos. El sólido se filtró y el sólido se lavó con 200.0 ml de éter isopropílico. Es secó el compuesto bajo vacío a 45-50°C hasta obtener peso constante. Peso seco del producto: 243.0 g (rendimiento 85.22%) Pureza por HPLC: 99.6%, contenido de 3,5-Dimetilo por HPLC es de 0.13%
25 Datos espectrales: FT-IR (K Br) (cm⁻¹): 3237, 3118, 3008,

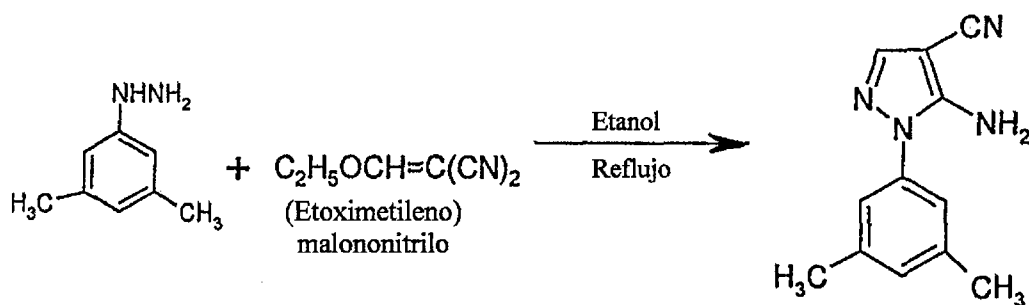
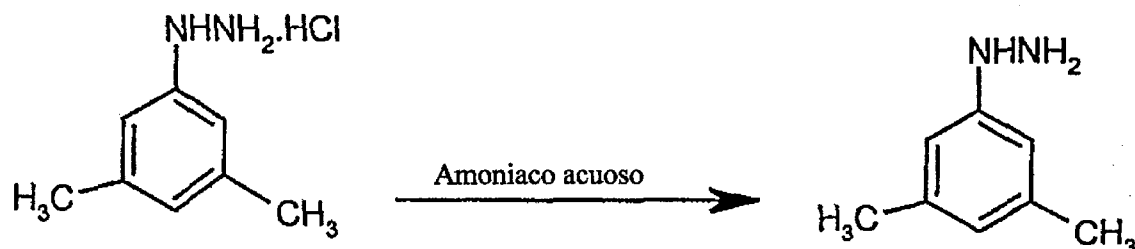
2919, 2662, 1608, 1588, 1577, 1533, 1518, 1308, 1276, 1159, 1061, 684, cm^{-1} .

400 MHz RMN- ^1H ($\text{DMSO}-d_6$): valor δ (ppm): 2.20 s (2- CH_3), 2.49 s (NH_2), 6.58 s (Ar-Ha, Hb, Hc. 8.10 amplio (NH), 10.09 amplio (HCl).

RMN- ^{13}C valor δ : 21.11(2C), 112.33(2C), 123.02(1C), 137.98(2C), 145.56(1C).

Masa: 137.26 [M]+1, -HCl, 121.20 [M-NH $_2$]

Ejemplo 7b.-: Preparación de 5-Amino-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo-4-carbonitrilo



Se cargaron 1000.0 ml de agua en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 5.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador. 240.0 g (1.40 mol) de clorhidrato de 3,5-dimetilfenil-hidrazina. Se

ajustó el pH de la masa de reacción pH a 9.75 ± 0.25 con amoníaco acuoso a $25-30^{\circ}\text{C}$. Se mantuvo la temperatura de la masa a $25-30^{\circ}\text{C}$ durante 30-45 minutos. Se mantuvo la temperatura de la masa a $25-30^{\circ}\text{C}$ durante 45-60 minutos y el
5 compuesto se extrajo con 3x500.0 ml de cloruro de metileno. Se secó la capa orgánica con sulfato de sodio hasta obtener un contenido de humedad que no sea más de 0.2 % p/v. El sulfato de sodio se filtró y se lavó el sulfato de sodio con 250.0 ml de cloruro de metileno. Se recolectó el filtrado en
10 un matraz, se destiló el cloruro de metileno completamente bajo vacío por abajo de 50°C . Finalmente se aplicó alto vacío para remover las trazas de cloruro de metileno, completamente a una temperatura de masa que no cruza 50°C . Se enfrió la temperatura de la masa a $25-30^{\circ}\text{C}$ y se liberó el vacío. Se
15 cargaron 150.0 ml de hexano. Se mantuvo la temperatura de la masa a $25-30^{\circ}\text{C}$ durante 45-60 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 50:0 ml de hexano. Se secó el compuesto bajo vacío $25-30^{\circ}\text{C}$ durante 5-6 horas, se pesó el compuesto seco. Peso seco del compuesto: 121.0 g. 725 ml de etanol
20 (absoluto) y 121.0 g (0.89 mol) de 3,5-Dimetil-fenilhidrazina en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador bajo atmósfera de nitrógeno. 109.0 g (0.89 mol) de etoximetilenmalononitrilo. La temperatura de la masa de
25 reacción se aumentó a reflujo. Se mantuvo la temperatura de

la masa de reflujo durante 90-120 minutos. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 10 a 15°C. Se mantuvo la temperatura de la masa de 10 a 15°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 125 ml de éter isopropílico. El compuesto se secó bajo vacío a 45-50°C hasta obtener el peso constante.

Peso seco del compuesto: 161.5 g (rendimiento: 54.83%).

Pureza por HPLC es 99.91%.

Datos espectrales: FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3406, 3340, 3237, 3015, 2921, 2210, 1647, 1616, 1601, 1567, 1375, 650

400 MHz RMN- ^1H ($\text{DMSO}-d_6$). valor δ (ppm): 2.39 s (2CH₃), 6.64 s (NH₂), 7.04, 7.07 d (Ar-Ha, Hb, Hc), 7.74 s (Hd)

RMN- ^{13}C : valor δ (ppm): 20.77(2C), 73.26(1C), 114.86(1C), 121.65(2C), 129.22(1C), 137.25(2C), 138.81(1C), 141.39(1C), 151.0(1C)

MS: 213.26, 186.28

Ejemplo 7c.-: Preparación de amida de ácido 5-Amino-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazol-4-carboxílico (Compuesto No: 77)

20



Compuesto No: 77

25

Se cargaron 780.0 g de ácido sulfúrico concentrado en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 1.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador bajo atmósfera de nitrógeno. Se enfrió la masa a 10-15°C. Se adicionaron lentamente por lotes 92.0 g (0.44 mol) de 5-amino-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo-4-carbonitrilo a 10-15°C durante 120-150 minutos. Se mantuvo la temperatura de la masa a 10-15°C durante 30-45 minutos. La temperatura de la masa de reacción se aumentó a 25-30°C y se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 90-120 minutos. Se cargaron 3.50 kg de hielo triturado en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 10.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador. La solución de la masa de reacción se adicionó lentamente a hielo triturado bajo agitación y la temperatura de la masa no cruza 10°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 5-10°C durante 60-90 minutos y se ajustó el pH de la masa a 9.75 ± 0.25 con amoníaco acuoso a la temperatura de la masa que no cruza 40°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 30-40°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 100.0 ml de agua. El compuesto se secó bajo vacío a 55-60°C. Peso seco obtenido del compuesto: 95.0 g (rendimiento 97.30%) Pureza por HPLC es 99.60%.

Datos espectrales:

FT-IR(KBr) (cm^{-1}): 3425, 3339, 3257, 3190, 3112, 3010, 2918,

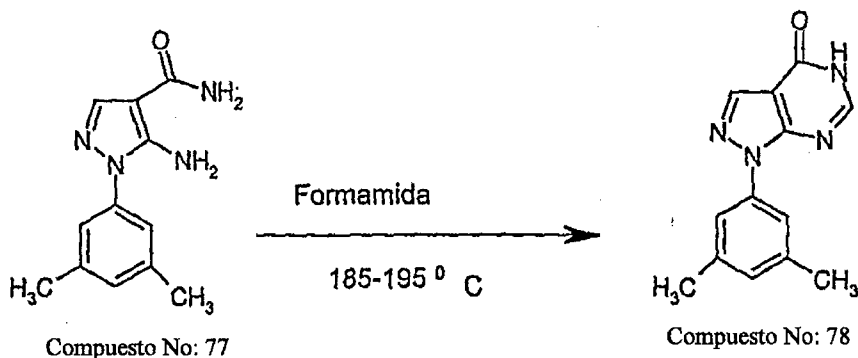
1654, 1605, 1555, 1465, 1333, 961, 889, 689, 632

400 MHz RMN-¹H (DMSO-d₆). valor δ (ppm): 2.32-2.49 s (2 CH₃), 6.30 s ((NH₂)), 6.98 d [3H(Ar-Ha, Hb, Hc)], 7.14 amplio (C=O-NH₂), 7.85 d (1H)

5 RMN-¹³C: valor δ (ppm): 20.87(2C), 97.31(1C), 120.71(1C), 120.40(2C), 138.09(1C), 138.62(2C), 138.75(1C), 149.15(1C), 166.21(1C) MS: 231.28 [M+1], 216.28 [M-NH₂]

Ejemplo 7d.-: Preparación de 1-(3,5-Dimetil-fenil)-1,5-dihidro-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-ona (Compuesto No: 78)

10



15

Se cargaron 300.0 g de formamida en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad de termómetro, y condensador bajo atmósfera de nitrógeno. Se cargaron 90.0 g (0.39 mol) de amida de ácido

20 5-amino-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazol-4-carboxílico

(Compuesto No. 77). La temperatura de la masa de reacción se aumentó a reflujo (185-195°C). Se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo durante 60-90 minutos. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 140-150°C. Se adicionaron

25 lentamente 900.0 ml de agua para mantener la temperatura de

la masa a 80-150°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 80-90°C durante 45-60 minutos. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 90- 120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 150.0 ml de agua. Se cargaron 500.0 ml de agua DM y producto crudo húmedo en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador. La temperatura de la masa se aumentó a reflujo. Se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo a 75-90 minutos y la temperatura de la masa se enfrió a 25-30°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 90-120 minutos. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 100.0 ml de agua. El compuesto se secó bajo a vacío 60-65°C. Peso seco del compuesto: 65.0 g (rendimiento 69.21%)

Pureza por HPLC.- 99.47%.

Datos espectrales:

FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3156, 3112, 3015, 2950, 2876, 1708, 1615, 1591, 1529, 1474, 1136, 1097, 839, 827, 780, 711, 679, 641, 627

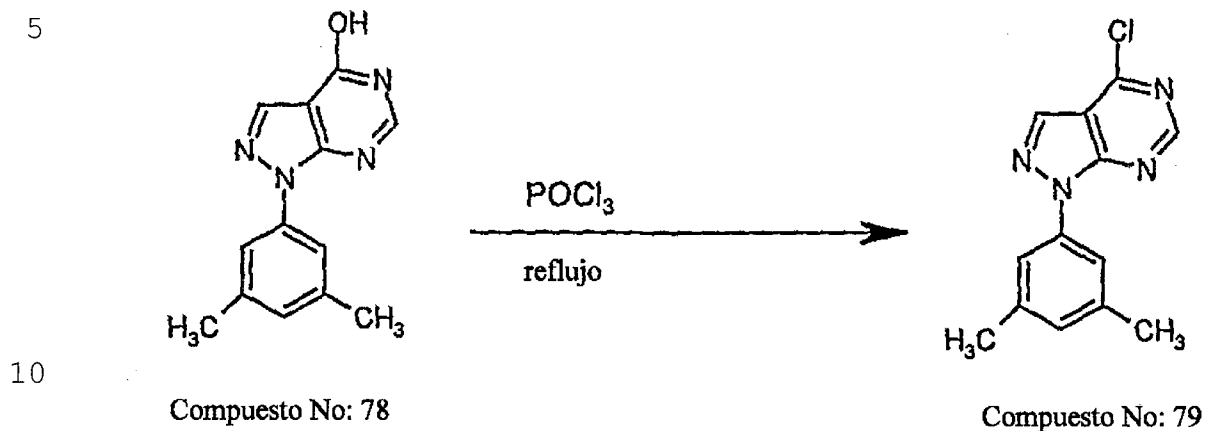
400 MHz RMN- ^1H (DMSO-d_6) valor δ (ppm): 2.34 s (CH_3), 2.49 s (CH_3), 7.03 s [Ar-Ha, Hb (2H)], 7.64 s [Ar-Hc (1H)] 8.19 s (1H), 8.29 s (1H), 12.20 amplio (NH)

RMN- ^{13}C : valor δ (ppm): 20.91(2C), 107.46(1C), 119.38(2C), 128.40(1C), 135.63(2C), 138.32(2C), 148.59(1C), 151.69(1C),

157.14(1C)

MS: 241.26[M+1]

Ejemplo 7e.-: Preparación de 4-cloro-1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina (Compuesto No: 79)



Se cargaron 650.0 g de oxicloruro de fósforo (V) (POCl₃) en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador, bajo atmósfera de nitrógeno. Se cargaron 60.0 g (0.25 mol) de 1-(3,5-Dimetil-fenil)-1,5-dihidro-pirazolo [3,4-d] pirimidina-4-ona (Compuesto No. 78). La temperatura de la masa de reacción se aumentó a reflujo (105-108°C). Se mantuvo la temperatura de la masa a reflujo durante 8-9 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C y se cargaron 600.0 ml de cloroformo. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos. Se cargaron 2.0 kg de hielo triturado en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 5.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador. La masa de

reacción es adicionó lentamente para mantener la temperatura de la masa por abajo de 10°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 0-10°C durante 30-45 minutos. La temperatura de la masa se aumentó a 25-30°C. Se cargaron 600.0 ml de cloroformo. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 30-45 minutos y se asentó la masa durante 20-30 minutos. Se separó la capa orgánica del fondo. Se secó la capa orgánica con sulfato de sodio hasta obtener un contenido de humedad de no más de 0.20% p/v. Se cargaron 15.0 g de carbono. La temperatura de la masa se aumentó 45-50°C. Se mantuvo la temperatura de la masa a 45-50°C durante 30-45 minutos. Se filtró el carbono y sulfato de sodio a través de un lecho "hyflow" y el lecho se lavó con 300.0 ml de cloroformo. Se recolectó el filtrado en un matraz. El cloroformo se destiló completamente bajo vacío a una temperatura de masa que no cruza 60°C. Finalmente se aplicó un alto vacío para terminar de remover las trazas de cloroformo al a temperatura de masa que no cruza 60°C. La temperatura de la masa se enfrió a 25-30°C y se liberó el vacío. Se cargaron 250.0 ml de éter isopropílico. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 45-60 minutos. Se filtro el sólido y el sólido se lavó con 50.0 ml de éter isopropílico. Se secó el compuesto bajo vacío a 55-60°C. Peso seco del compuesto: 56.0 g (rendimiento 86.6%). Pureza del producto por HPLC - 99.79%.

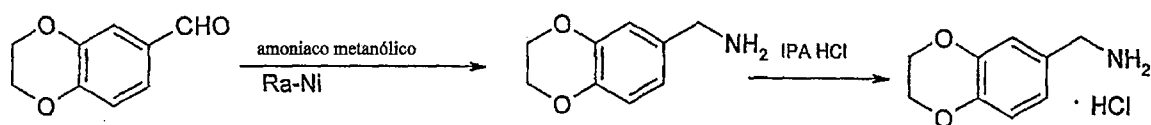
Datos espectrales:

FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3096, 2952, 2913, 2854, 1614, 1605, 1589, 1546, 1481, 1426, 1379, 1351, 1274, 1261, 1225, 848,

640, 400 MHz RMN- ^1H (DMSO-d_6): valor δ (ppm): 2.36 s (CH_3),
 5 2.49 s (CH_3), 7.05 s [Ar-Ha, Hb (2H)], 7.73 s [Ar-Hc (1H)],
 8.69 s (1H), 8.95 s (1H)

RMN- ^{13}C : valor δ (ppm): 20.97(2C), 114.47(1C), 118.62(2C),
 128.56(1C), 133.52(2C), 137.70(1C), 138.56(1C), 152.33(1C),
 154.0(1C), 155.2(1C) MS: 259.26[M+1], 223.28[M-Cl]

10 Ejemplo 8.-: Preparación de clorhidrato de 2,3-dihidro-benzo
 [1,4] dioxin-6-il-metilamina



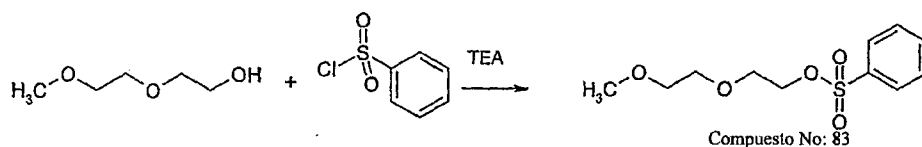
15 Se cargaron 242.0 g de amoniaco metanólico [como
 100% p/p por ensayo químico] [Nota: como ensayo químico:
 23.0% p/p, volumen 1350.0 ml] y 30.0 g (0.183 mol) de 1,4-
 benzodioxan-6-carboxaldehído en un matraz de fondo redondo de
 4 cuellos de 2.0 L, conectado a un agitador mecánico, cavidad
 para termómetro, y condensador a 20-30°C. Se agitó la masa
 20 durante 20-30 minutos a 20-30°C. Después de que es clara la
 disolución se cargó la masa de adición en un recipiente
 hidrogenador de 2.0 L a 20-30°C. Se cargaron 30.0 g de Níquel
 Raney (secado con Metanol) bajo atmósfera de nitrógeno. El
 25 recipiente se adaptó a un hidrogenador. Se removi6 la

atmósfera de nitrógeno en el recipiente hidrogenador con gas hidrógeno por enjuague lento. Se alimentó gas hidrógeno hasta 50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²) en el recipiente de hidrogenación bajo oscilación. Se mantuvo la presión de gas hidrógeno (50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)) hasta que se detiene el consumo de gas hidrógeno. La temperatura de la masa de reacción se aumentó a 40-45°C. Después de que se detuvo el consumo de gas hidrógeno a 45-50°C. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se mantuvo la presión de gas hidrógeno a 50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)) hasta que se detuvo el consumo de gas hidrógeno (aproximadamente 90-120 minutos). El Níquel Raney se filtró a través de un lecho "hyflow" bajo atmósfera de nitrógeno. Se lavó el Níquel Raney con 300.0 ml de metanol bajo atmósfera de nitrógeno. Se recolectó el filtrado en un matraz. El metanol se destiló completamente bajo vacío a la temperatura de la masa que no cruza 55°C. La temperatura de la masa se enfrió a 40-45°C y se liberó el vacío. Se adicionaron 50.0 ml de alcohol isopropílico. El pH de la masa de reacción se ajustó a 0.5±0.25 con IPA HCl. Se mantuvo la temperatura de la masa a 25-30°C durante 60-90 minutos bajo agitación. Se filtró el sólido y el sólido se lavó con 20.0 ml de alcohol isopropílico. Se secó el compuesto bajo vacío a 40±5°C. Peso seco del compuesto: 31.0 g (rendimiento: 84.1%).

Datos espectrales:

FT-IR (K Br) (cm^{-1}): 3447.6, 2977.6, 2870.0, 1594.5, 1506.6, 1474.0, 1285.8, 1077.7, 1051.735.2, 617.9, 472.0 MS: 202.6 [M+1]

- 5 Ejemplo 9.-: Preparación de éster (2-metoxi-etoxi)etílico de ácido benceno sulfónico (Compuesto No: 83)



- 10 Se cargaron 100 g (0.832 mol) de dietilenglicolmetiléter y 600.0 ml de metilencloruro de metileno en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, condensador y embudo de adición. La masa de reacción se enfrió a -5 a 0°C y
- 15 luego se cargaron 210.0 g (2.07 mol) de trietilamina. Se adicionaron 147.0 g de cloruro de bencensulfonilo para mantener la temperatura de la masa a -5 a 0°C. La temperatura de la masa de reacción se aumentó de 25 a 30°C y se mantuvo durante 2 horas. La masa de reacción se diluyó con 400.0 ml
- 20 de cloruro de metileno y la masa de reacción se enfrió a -5 a 0°C. Se adicionaron 500.0 ml de agua y la temperatura de la masa de reacción se aumentó a 25 a 30°C y se mantuvo durante 30 minutos. La capa orgánica se separó y la capa orgánica se lavó con 2X500.0 ml de solución de bicarbonato de sodio al
- 25 10%. Se secó la capa orgánica con sulfato de sodio y se

destiló completamente bajo vacío el cloruro de metileno. El peso del aceite crudo obtenido fue de 183.0 g (rendimiento: 84.4%).

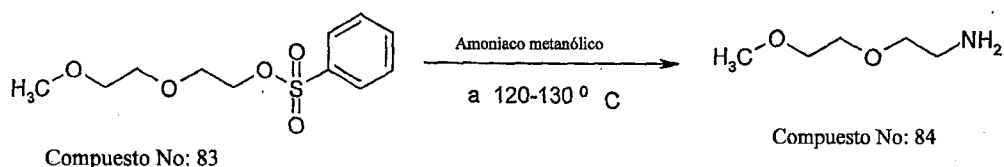
Datos espectrales:

5 FT-IR (puro Xcm^{-1}): 3066.4, 2882.1, 2824.4, 1586.1, 1448.9, 1359.2, 1187.3, 923.7, 849.9, 793.0, 689.6

MS: 261.3 $[\text{M} + 1]$

Ejemplo 10.-: Preparación de 2-(2-Metoxi-etoxi)-etilamina (Compuesto No: 84)

10



Se cargaron 180.0 g (0.69 mol) de éter 2-(2-metoxi-etoxi)etílico del ácido bencenosulfónico (Compuesto No. 79) y

15 600.0 ml de amoniaco acuoso en un recipiente sellado a presión de 1.0 L. Se calentó la masa de reacción se calentó a 120-130°C bajo condiciones selladas. La temperatura de la masa de reacción se mantuvo a 120-130°C durante 4 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C y e

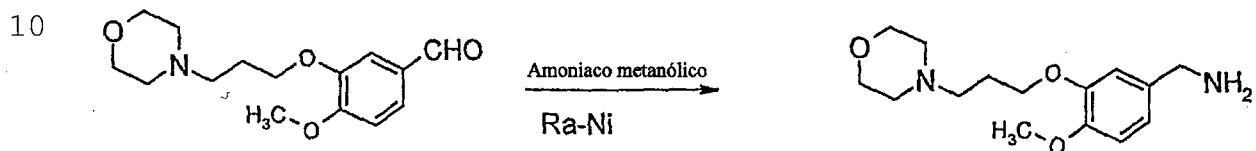
20 destiló completamente el metanol bajo vacío. La masa restante se diluyó con 75.0 ml de agua y el pH de la masa se ajustó de 1 a 2 con 5.0 ml de ácido clorhídrico concentrado. La masa de reacción se lavó con 200.0 ml de cloruro de metileno. El pH de la capa acuosa se ajustó nuevamente a 9-10 con 130.0 ml de

25 solución acuosa de amoniaco. El compuesto se extrajo con

300.0 ml de cloruro de metileno y la capa orgánica se secó con sulfato de sodio. Se destiló completamente el cloruro de metileno y se aplicó finalmente vacío por abajo de 50°C. El peso del aceite crudo fue de 39.60 g (rendimiento: 48.1%).

5 Datos espectrales: FT-IR (puro Xcm^{-1}): 3369.7, 2876.4, 1584.8, 1457.2, 1354.2, 1304.3, 1245.3, 1029.7, 849.3, 578.2
MS: 120.1 [M+1]

Ejemplo 11.-: Preparación de 4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxibencilamina (Compuesto No: 85)



Compuesto No: 85

Se cargaron 600.0 ml de amoníaco metanólico [Nota: como ensayo químico: 25.0% p/p] y 33.0 g (0.118 mol) de 4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi-benzaldehído en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro, y condensador a 20-30°C. Se agitó la masa durante 20-30 minutos a 20-30°C. Después de que es clara la disolución la masa de reacción se cargó en un recipiente hidrogenador de 2.0 L a 20-30°C. Se cargaron 33.0 g de Níquel Raney (secado con Metanol) bajo atmósfera de nitrógeno. El recipiente se adaptó al hidrogenador. Se removi6 la atmósfera de nitr6geno en el recipiente hidrogenador con gas hidrógeno por enjuague lento.

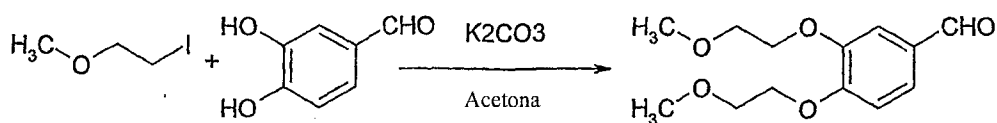
25 Se alimentó gas hidrógeno a 50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)

en el recipiente de hidrogenación bajo oscilación. Se mantuvo la presión del gas hidrógeno (50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)) hasta que se detuvo el consumo de gas hidrógeno. La temperatura de la masa de reacción se aumentó a 40-45°C. Después de que se detuvo el consumo de gas hidrógeno 45-50°C. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C. Se mantuvo la presión de gas hidrógeno a 50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)) hasta que se detuvo el consumo de gas hidrógeno (aproximadamente 90-120 minutos). El Níquel Raney se filtró a través de un lecho "hyflow" bajo atmósfera de nitrógeno. El Níquel Raney se lavó con 300.0 ml de metanol bajo atmósfera de nitrógeno. Se recolectó el filtrado en un matraz. El metanol se destiló completamente bajo vacío a la temperatura de la masa que no cruza 55°C. La temperatura de la masa se enfrió a 30-35°C y se liberó el vacío. Peso obtenido de la masa aceitosa.- 31.0 g (rendimiento: 93.6% por teoría).

Datos espectrales: FT-IR (puro Xcm⁻¹): 3356.1, 2954.9, 2857.2, 1606.7, 1591.2, 1515.0, 1444.1, 1426.4, 1260.5, 1235.7, 1137.9, 1116.7, 1068.5, 1028.5, 863.0, 808.7, 653.7, 589.5

MS: 281.2 [M+1]

Ejemplo 12.-: Preparación de 3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-benzaldehído

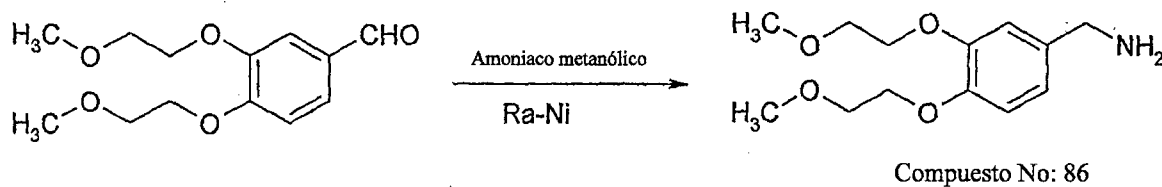


Se cargaron 80.0 g (0.57 mol) de 3,4-dihidroxi-benzaldehído y 800.0 ml de acetona en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, cavidad para termómetro y condensador a 25-30°C. La masa de reacción se agitó durante 20 minutos. Se cargaron 324.0 g (1.74 mol) de 1-yodo-2-metoxi-etano y 240.0 g (1.70 mol) de carbonato de potasio. La masa de reacción se calentó a reflujo durante 6 horas. La temperatura de la masa de reacción se enfrió a 25-30°C y se filtró el sólido inorgánico. Se destiló completamente la acetona bajo vacío por abajo de 60°C. La masa restante se diluyó con 400.0 ml de agua DM. El compuesto se extrajo con 400.0 ml de acetato de etilo y la capa orgánica se secó con sulfato de sodio. El acetato de etilo se destiló completamente bajo vacío y finalmente se aplicó alto vacío por abajo de 60°C. Se obtuvieron 69.20 g de producto crudo (aceite) (rendimiento: 47.0% por teoría).

Datos espectrales: FT-IR: 3448.5, 2932.7, 2889.4, 2825.0, 1685.8, 1586.2, 1508.8, 1437.7, 1276.1, 11988.9, 1125.6, 1050.2, 810.4, 743.4, 653.6, 588.1.

MS: 255.4 [M+1]

Ejemplo 13.-: Preparación de 3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil-amina (Compuesto No: 86)



Se cargaron 600.0 ml de amoniaco acuoso [Nota: como ensayo químico: 25.0% p/p] y 60.0 g (0.236 mol) de 3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-benzaldehído en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 2.0 L conectado a un agitador mecánico, 5 cavidad para termómetro y condensador a 20-30°C. Se agitó la masa durante 20-30 minutos a 20-30°C. Después de que es clara la disolución. Se cargó la masa de reacción en un recipiente hidrogenador de 2.0 L a 20-30°C. Se cargaron 33.0 g de Níquel Raney (secado con Metanol) bajo atmósfera de nitrógeno. El 10 recipiente se adaptó al hidrogenador. Se removi6 la atmósfera de nitr6geno en el recipiente hidrogenador con gas hidr6geno por enjuague lento. Se aliment6 gas hidr6geno a 50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²) en el recipiente de hidrogenaci6n bajo oscilaci6n. Se mantuvo la presi6n del gas hidr6geno (50-55 15 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)) hasta que se detuvo el consumo de gas hidr6geno. La temperatura de la masa de reacci6n se aument6 a 40-45°C. Despu6s de que se detuvo el consumo de gas hidr6geno a 45-50°C. La temperatura de la masa de reacci6n se enfri6 a 25-30°C. Se mantuvo la presi6n de gas hidr6geno a 20 50-55 lb/pul² (3.51-3.87 kg/cm²)) hasta que se detuvo el consumo de gas hidr6geno (aproximadamente 90-120 minutos). Níquel Raney se filtr6 a trav6s de un lecho "hyflow" bajo atmósfera de nitr6geno. El Níquel Raney se lav6 con 300.0 ml de metanol bajo atmósfera de nitr6geno. El filtrado se 25 recolect6 en un matraz. Se destil6 completamente el metanol

bajo vacío a una temperatura de masa que no cruza 55°C. La temperatura de la masa se enfrió a 30-35°C y se liberó el vacío. Peso obtenido de la masa aceitosa.- 52.0 g (rendimiento: 86.3%).

5 Datos espectrales:

Espectro de Masa: 256.3 [M+ 1]

Los compuestos análogos de los derivados de 1-(3-etinil fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números - 1 a 12 de compuestos, se han preparado por al seguir el
10 procedimiento mencionado en el ejemplo 1

15

20

Compuesto Número	Fórmula molecular	Peso molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
01	C ₂₂ H ₁₇ N ₅ O ₂	383.0	383.4 [M]	382.4 [M-1]
02	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂	337.0	337.3 [M]	336.3 [M-1]
03	C ₂₈ H ₃₀ N ₆ O ₃	498.0	498.5 [M]	497.5 [M-1]
04	C ₂₂ H ₁₉ N ₅ O ₂	385.0	385.4[M]	384.4[M-1]
05	C ₂₆ H ₂₇ N ₅ O ₄	473.0	473.5 [M]	472.5 [M-1]
06	C ₂₁ H ₁₅ N ₅ O ₂	369.0	368.3 [M]	367.3 [M-1]
07	C ₁₅ H ₁₁ N ₅ O ₂	293.0	293.2 [M]	292.2 [M-1]
08	C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O ₂	413.0	413.4[M]	412.4[M-1]
09	C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₃	415.0	415.4 [M]	414.4 [M-1]
10	C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₂	399.0	399.4 [M]	398.4 [M-1]
11	C ₂₁ H ₁₇ N ₅ O	355.0	355.30 [M]	354.30 [M-1]
12	C ₂₇ H ₂₈ N ₆ O ₂	468.0	468.5[M]	467.5[M-1]

Los compuestos intermedios análogos de los derivados de 1-(3-trimetil-silaniletinilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números - 13 a 24 de compuesto, se han preparado al seguir el procedimiento mencionado en el
25 ejemplo 1

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
13	C ₂₅ H ₂₃ N ₅ O ₂ Si	455.0	456.6 [M+1]	455.6 [M]
14	C ₂₁ H ₂₇ N ₅ O ₂ Si	409.0	410.5 [M+1]	409.5 [M]
15	C ₃₁ H ₃₈ N ₆ O ₃ Si	570.0	571.7 [M+1]	570.7 [M]
16	C ₂₅ H ₂₇ N ₅ O ₂ Si	457.0	458.3 [M+1]	457.3 [M]
17	C ₂₉ H ₃₅ N ₅ O ₄ Si	545.0	546.7 [M+1]	545.7 [M]
18	C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O ₂ Si	441.0	442.5 [M+1]	441.5 [M]
19	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂ Si	365.0	365.4 [M]	364.4 [M-1]
20	C ₂₇ H ₃₁ N ₅ O ₂ Si	485.0	486.6 [M+1]	485.6 [M]
21	C ₂₆ H ₂₉ N ₅ O ₃ Si	487.0	488.6 [M+1]	487.6 [M]
22	C ₂₆ H ₂₉ N ₅ O ₂ Si	471.0	472.6 [M+1]	471.6 [M]
23	C ₂₄ H ₂₅ N ₅ O ₂ Si	427.0	428.5 [M+1]	427.5 [M]
24	C ₃₀ H ₃₆ N ₆ O ₂ Si	540.0	541.7 [M+1]	540.7 [M]

Los compuestos análogos de los derivados de 3-yodofenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números - 25 a 36 de compuesto, se han preparado al seguir el procedimiento mencionado del ejemplo 2

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
25	C ₂₀ H ₁₆ N ₅ O ₂ I	485.0	486.3 [M+1]	485.3 [M]
26	C ₁₆ H ₁₈ N ₅ O ₂ I	439.0	440.2 [M+1]	439.2 [M]
27	C ₂₆ H ₂₉ N ₆ O ₃ I	600.0	601.4 [M+1]	600.4 [M]
28	C ₂₀ H ₁₈ N ₅ O ₂ I	487.0	488.3 [M+1]	487.3 [M]
29	C ₂₄ H ₂₆ N ₅ O ₄ I	575.0	576.4 [M+1]	575.4 [M]
30	C ₁₉ H ₁₄ N ₅ O ₂ I	471.0	472.2 [M+1]	471.2 [M]
31	C ₁₃ H ₁₀ N ₅ O ₂ I	395.0	395.1 [M]	394.1 [M-1]
32	C ₂₂ H ₂₂ N ₅ O ₂ I	515.0	516.3 [M+1]	515.3 [M]
33	C ₂₁ H ₂₀ N ₅ O ₃ I	517.0	518.3 [M+1]	517.3 [M]
34	C ₂₁ H ₂₀ N ₅ O ₂ I	501.0	502.3 [M+1]	501.3 [M]
35	C ₁₉ H ₁₆ N ₅ O I	457.0	458.2 [M+1]	457.2 [M]
36	C ₂₅ H ₂₇ N ₆ O ₂ I	570.0	571.4 [M+1]	570.4 [M]

Los compuestos análogos de los derivados de 3-cianofenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números 37 a 48 de compuesto, se han preparado al seguir el procedimiento mencionado del ejemplo 3

5

10

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
37	C ₂₁ H ₁₆ N ₆ O ₂	384.0	385.40 [M+1]	384.40 [M]
38	C ₁₇ H ₁₈ N ₆ O ₂	338.0	339.3 [M+1]	338.3 [M]
39	C ₂₇ H ₂₉ N ₇ O ₃	499.0	500.5 [M+1]	499.5 [M]
40	C ₂₁ H ₁₈ N ₆ O ₂	386.0	387.4 [M+1]	386.4 [M]
41	C ₂₅ H ₂₆ N ₆ O ₄	474.0	475.5 [M+1]	474.5 [M]
42	C ₂₀ H ₁₄ N ₆ O ₂	370.0	371.3 [M+1]	370.3 [M]
43	C ₁₄ H ₁₀ N ₆ O ₂	294.0	294.2 [M]	293.2 [M-1]
44	C ₂₃ H ₂₂ N ₆ O ₂	414.0	415.4[M+1]	414.4 [M]
45	C ₂₂ H ₂₀ N ₆ O ₃	416.0	417.4 [M+1]	416.4 [M]
46	C ₂₂ H ₂₀ N ₆ O ₂	400.0	401.4 [M+1]	400.4 [M]
47	C ₂₀ H ₁₆ N ₆ O	356.0	357.3 [M+1]	356.3 [M]
48	C ₂₆ H ₂₇ N ₇ O ₂	469.0	470.5 [M+1]	469.5 [M]

15

Los compuestos análogos de los derivados de 3,5-dimetilpirazolo[3,4-d]pirimidina, números 49 a 60 de compuesto, se han preparado de manera similar como se menciona en los ejemplos 4,5 & 6

20

25

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
49	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₂	387.0	388.4[M+1]	387.4 [M]
50	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₂	373.0	374.3 [M+1]	373.3[M]
51	C ₁₈ H ₂₃ N ₅ O ₂	341.0	342.3 [M+1]	341.3[M]
52	C ₂₈ H ₃₄ N ₆ O ₃	502.0	503.6 [M+1]	502.6[M]
53	C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₂	389.0	390.4 [M+1]	389.4[M]
54	C ₂₆ H ₃₁ N ₅ O ₄	477.0	478.5 [M+1]	477.5[M]
55	C ₁₅ H ₁₅ N ₅ O ₂	297.0	297.3 [M]	296.3 [M-1]
56	C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₂	417.0	418.0 [M+1]	417.5 [M]

57	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₃	419.0	420.4 [M+1]	419.4 [M]
58	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₂	403.0	404.4 [M+1]	403.4[M]
59	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O	359.0	360.4 [M+1]	359.4 [M]
60	C ₂₇ H ₃₂ N ₆ O ₂	472.0	473.6 [M+1]	472.6[M]

5 Los compuestos análogos de los derivados de m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números 61 a 71 de compuesto, se han preparado de manera similar como se menciona en los ejemplos 4,5 & 6

10

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
61	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₂	373.0	374.4 [M+1]	373.4[M]
62	C ₁₇ H ₂₁ N ₅ O ₂	327.0	328.3 [M+1]	327.3[M]
63	C ₂₇ H ₃₂ N ₆ O ₃	488.0	489.5 [M+1]	488.5[M]
64	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O ₂	375.0	376.4 [M+1]	375.4 [M]
65	C ₂₅ H ₂₉ N ₅ O ₄	463.0	464.2 [M+1]	463.2[M]
66	C ₁₄ H ₁₃ N ₅ O ₂	283.0	283.3 [M]	282.3 [M-1]
67	C ₂₃ H ₂₅ N ₅ O ₂	403.0	404.4 [M+1]	403.4[M]
68	C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₃	405.0	406.4 [M+1]	405.4[M]
69	C ₂₂ H ₂₃ N ₅ O ₂	389.0	390.2 [M+1]	389.2[M]
70	C ₂₀ H ₂₀ N ₅ O	345.0	346.4 [M+1]	345.4[M]
71	C ₂₆ H ₃₀ N ₆ O ₂	458.0	459.5 [M+1]	458.5[M]

15

20

Los compuestos intermedios de 1-(3-yodofenil)-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números 72 a 76 de compuesto, se han preparado de manera similar como se menciona en los ejemplos 7a-7e

25

5

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
72	C ₆ H ₈ N ₂ ICl	270.5	271.6 [M+1]	270.6 [M]
73	C ₁₀ H ₇ N ₄ I	310.0	311.1 [M+1]	310.1 [M]
74	C ₁₀ H ₉ N ₄ OI	328.0	329.1 [M+1]	328.1 [M]
75	C ₁₁ H ₇ N ₄ OI	338.0	339.2 [M+1]	338.2 [M]
76	C ₁₁ H ₆ N ₄ ICl	356.5	357.6 [M+1]	356.6 [M]

Los compuestos intermedios de 3,5-dimetil-pirazolo[3,4-d]pirimidina, números 77 a 79 de compuesto, se han preparado de manera similar como se menciona en los ejemplos 7a-7e

10

Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
77	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O	230.0	231.2 [M+1]	230.2 [M]
78	C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O	240.0	241.2 [M+1]	240.2 [M]
79	C ₁₃ H ₁₁ N ₄ Cl	258.5	259.7 [M+1]	258.7 [M]

Los compuestos intermedios de (1-m-tolil)-pirazolo [3,4-d]pirimidina, números 80 a 82 de compuesto, se han preparado de manera similar como se menciona en los 7a-7e.

15

20

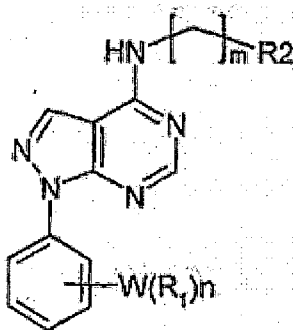
Compuesto Número	Fórmula Molecular	Peso Molecular	Picos de masa	
			Pico-i	Pico-ii
80	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O	216.0	217.2 [M+1]	216.2 [M]
81	C ₁₂ H ₁₀ N ₄ O	226.0	227.2 [M+1]	226.2 [M]
82	C ₁₂ H ₉ N ₄ Cl	244.5	245.7 [M+1]	244.7 [M]

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

25

REIVINDICACIONES

1. Derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida de la fórmula I,



Fórmula-I

10 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, caracterizados porque

n y m son 1, 2 ó 3;

15 W es un enlace individual, C₁-C₆alquilo, alquenilo, alquinilo, NH, S, SO, SO₂, O, C=O, o un grupo amida:

cada R₁ se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, hidroxiamino, carboxi, nitro, guanidino, ureido, carbamoilo, ciano y trifluorometilo,

20 o cada R₁ se selecciona independientemente del grupo que consiste de C₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alcoxi, C₃-C₆cicloalcoxi, (C₁-C₆)alcoxycarbonilo, ariloxi, heteroariloxi, C₁-C₆tioalcoxi, C₃-C₆tiocicloalcoxi, tioariloxi, tiorheteroariloxi, nitro, amino, N-mono(C₁-C₆)alquilamino, N,N-di(C₁-C₆)alquilamino, formamido, amido, acetamido,

25

hidroxilamino, C₁-C₆alcoxi-amino, hidrazino, trifluorometilo, trifluorometoxi, C₂-C₆alquenilo, C₂-C₆alquinilo, arilo, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado y heterociclilo fusionado;

5 cada R₁ se selecciona independientemente de R₃-sulfonilamino, ftalimido-(C₁-C₄)-alquilsulfonilamino, benzamido, bencenosulfonilamino, 3-fenilureido, 2-oxopirrolidin-1-ilo, 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo, y C₂-C₄alcanoilamino, y en donde el sustituyente
10 bencenosulfonilamino o fenilo o fenoxi o anilino o fenilsulfanilo en R¹ puede tener opcionalmente uno o dos halógenos, (C₁-C₄)alquilo, ciano, metanosulfonilo o sustituyentes (C₁-C₄)alcoxi, o cualquiera de dos R₁ tomados conjuntamente con los carbonos a los cuales están unidos
15 comprende un anillo de 5-8 miembros que comprende al menos uno o dos heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre o nitrógeno; en donde los grupos alquilo y porciones alquilo de los grupos alcoxi o alquilamino en R₁ pueden ser de cadena recta o si comprenden al menos tres carbonos pueden estar
20 ramificados o ser cíclicos; donde R₃ se selecciona de C₁-C₆alquilo y C₃-C₆cicloalquilo;

R₂ se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, C₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alcoxicarbonilo, arilo, heteroarilo, C₁-C₆tioalquilo, trifluorometilo,
25 trifluorometoxi, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo

fusionado y heterociclilo fusionado, tal como 1,3-benzodioxol, 1,4-benzodioxina,

y R_2 se selecciona del grupo que consiste de fenilo o bencilo y sustituido con 1, 2, 3 ó 4 grupos y los
5 sustituyentes se seleccionan independientemente de R_4 ,

en donde R_4 se selecciona de hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, hidroxiamino, carboxi, nitro, guanidino, ureido, carbamoilo, ciano, trifluorometilo, C_1 - C_6 alquilo, C_3 - C_6 cicloalquilo, hidroxilo, C_1 - C_6 alcoxi, C_3 - C_6 cicloalcoxi, C_1 -
10 C_6 alcoxycarbonilo, ariloxi, heteroariloxi, C_1 - C_6 tioalcoxi, C_3 - C_6 tioalcoxi, tioariloxi, tioheteroariloxi, nitro, amino, N-mono(C_1 - C_6)alquilamino, N,N-di(C_1 - C_6)alquilamino, formamido, amido, acetamido, hidroxilamino, C_1 - C_6 alcoxiamino, hidrazino, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquenilo, alquinilo,
15 arilo, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado, y heterociclilo fusionado.

2. Derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina de la Fórmula I de conformidad con la reivindicación 1, caracterizados porque se
20 seleccionan de:

A) Derivados de [1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

a) N-((2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il-amina

25 b) [2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-etinil-fenil)-1H-

- pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- c) [2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- d) (3,4-dimetoxi-bencil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- 5 e) [3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- f) Benzo[1,3]dioxol-5-il-metil-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- 10 g) Ácido [1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4ilamino)-acético
- h) 3,4-dietoxi-bencil-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- i) [1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina
- 15 j) [4-(2-metoxi-etoxi)-bencil)-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- k) (4-metoxi-bencil-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- 20 l) [4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-etinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina
- B) Derivados de [1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina
- a) N-((2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-
- 25

4il)-amina

b) [2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

5 c) [4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

d) (3,4-dimetoxi-bencil)-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

10 e) [3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

f) Benzo[1,3]dioxol-5-il-metil-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

15 g) Ácido [1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4ilamino)-acético

h) 3,4-dietoxi-bencil-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

20 i) [1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina

j) [4-(2-metoxi-etoxi)-bencil]-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

25 k) (4-metoxi-bencil-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-

1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

1) [4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-trimetilsilaniletinil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

5 C) Derivados de 3-yodofenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

a) N-((2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

b) [2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

10 c) [4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

d) (3,4-dimetoxi-bencil)-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

e) [3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

15 f) Benzo[1,3]dioxol-5-il-metil-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

g) Ácido [1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4ilamino)-acético

20 h) 3,4-dietoxi-bencil-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

i) [1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina

25 j) [4-(2-metoxi-etoxi)-bencil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

k) (4-metoxi-bencil-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

l) [4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-[1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-amina

5

3. Derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula I de conformidad con la reivindicación 1, caracterizados porque se seleccionan de derivados de 3-cianofenil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

10 a) 3-{4-[(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-ilmetil)-amino]-pirazolo[3,4-d]pirimidina-1-il}-benzonitrilo

b) 3-{4-[2-(2-metoxi-etoxi)-etilamino]-pirazolo[3,4-d]-1-il}-benzonitrilo

15 c) 3-{4-[4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencilamino]-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-benzonitrilo

d) 3-[4-(3,4-dimetoxi-bencilamino)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-benzonitrilo

e) 3-{4-[3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencilamino]pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-benzonitrilo

20 f) 3-{4-[benzo[1,3]dioxol-5-ilmetil)-amino-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il}-benzonitrilo

g) Ácido [1-(3-yodo-fenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-ilamino)-acético

25 h) 3-[4-(3,4-dietoxi-bencilamino)pirazolo[3,4-

187.

d]pirimidin -1-il}-benzonitrilo

i) 3-[4-(3,4,5-trimetoxi-bencilamino)-pirazolo[3,4-d]pirimidin-1-il]benzonitrilo

5 j) 3-{4-[4-(2-metoxi-etoxi)-bencilamino]-pirazolo[3,4-d]pirimidin -1-il}-benzonitrilo

k) 3-[4-[4-metoxi-bencilamino)-pirazolo[3,4-d]-1-il]-benzonitrilo

l) 3-{4-[4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencilamino]-pirazolo[3,4-d]pirimidin -1-il}-benzonitrilo

10 4. Derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula I de conformidad con la reivindicación 1, caracterizados porque se seleccionan de los derivados de 3,5-dimetil-pirazolo[3,4-d]pirimidina

15 a) N-((2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

b) N-(benzo[d][1,3]dioxo-5-ilmetil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

c) 1-(3,5-dimetilfenil)-N-(2-(2-metoxietoxi)etil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

20 d) [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-[4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-amina

e) (3,4-dimetoxi-bencil)-[1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-amina

25 f) [3,4-bis(2-metoxi-etoxi)-bencil]-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-amina

g) Ácido [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4ilamino) acético

h) 3,4-dietoxi-bencil)-[1-(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-amina

5 i) [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il)-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina

j) [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-[4-(2-metoxi-etoxi)bencilamina

10 k) [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-[4-(metoxi)bencilamina

l) [1(3,5-dimetil-fenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-il]-[4-(3-morfolina-4-il-propoxi)bencilamina

5. Derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula I, de
15 conformidad con la reivindicación 1 caracterizados porque también se seleccionan de los derivados de m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina

a) N-((2,3-dihidrobenczo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina

20 b) [2-(2-metoxi-etoxi)-etil]-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

c) [4-metoxi-3-(3-morfolina-4-il-propoxi)-bencil]-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

25 d) (3,4-dimetoxi-bencil)-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

e) [3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencil]-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

f) Ácido (1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4ilamino)-acético

5 g) 3,4-dietoxi-bencil)-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

h) (1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-(3,4,5-trimetoxi-bencil)-amina

i) [4-(2-metoxi-etoxi)-bencil]-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

j) (4-metoxi-bencil)-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

k) [4-(3-morfolin-4-il-propoxi)-bencil]-(1-m-tolil-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4il)-amina

15

6. Compuestos caracterizados porque son intermediarios de derivados de pirazolo [3,4-d]pirimidina de la fórmula-I, de conformidad con la reivindicación 1

a) clorhidrato de 1-(3-yodofenil)-hidrazina

20 b) 5-amino-1-(3-yodofenil)-1H-pirazolo-4-carbonitrilo

c) amida de ácido 5-amino-1-(3-yodofenil)-1H-pirazolo-4-carboxílico

d) 1-(3-yodofenil)-1,5-dihidro-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona

25 e) 4-cloro-1-(3-yodofenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina

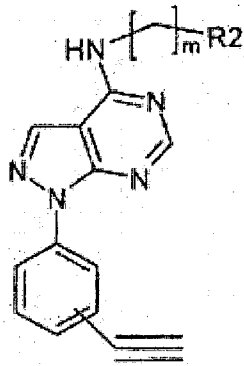
- f) amida del ácido 5-amino-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazol-4-carboxílico
- g) 1-(3,5-dimetilfenil)-1,5-dihidro-pirazolo[3,4-d]pirimidin-4-ona
- 5 h) 4-cloro-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina
- i) amida del ácido 5-amino-1-m-tolil-1H-pirazolo-4-carboxílico
- j) 1-m-tolil-1,5-dihidro-pirazolo [3,4-d]pirimidin-4-ona
- 10 k) 4-cloro-1-m-tolil-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidina
- l) éster 2-(2-metoxi-etoxi)-etílico del ácido bencensulfónico
- m) amina 2-(2-metoxi-etoxi)-etílica
- n) amina 4-metoxi-3-(3-morfolin-4-il-propoxi bencílica
- 15 o) amina 3,4-bis-(2-metoxi-etoxi)-bencílica
- p) clorhidrato de 2,3-dihidro-benzo[1,4]-dioxin-6-il-metilamina

7. Un proceso para la preparación de la Fórmula-I con una

20 sustitución de etinilo en el anillo N-fenilo y sus sales farmacéuticamente aceptables puede prepararse por cualquier proceso conocido aplicable a los compuestos relacionados químicamente. Los compuestos activos de la presente invención con una sustitución de etinilo en el anillo de N-fenilo

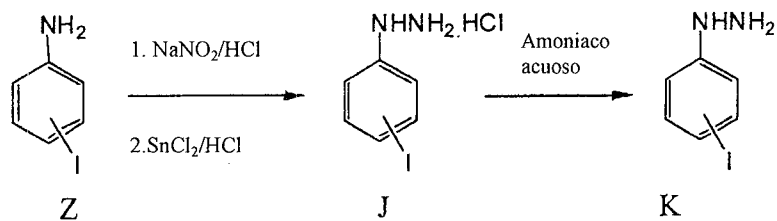
25 pueden sintetizarse con el proceso

5



Fórmula I (con grupo acetileno)

10

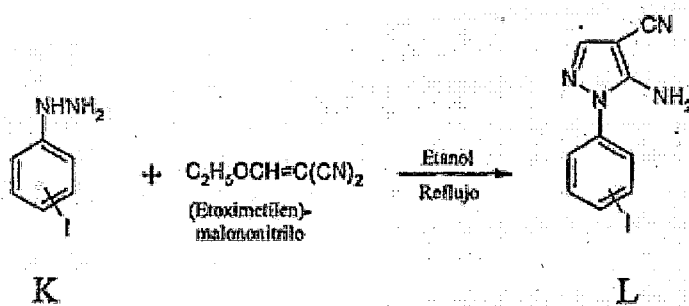


15

20

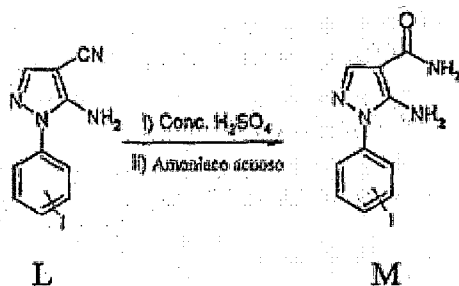
25

Por los métodos conocidos dados en la literatura, la
diazotización de un compuesto de la fórmula I con ácido
mineral tal como ácido clorhídrico y con solución de nitrito
de sodio a temperaturas de -10°C a 5°C se puede obtener
clorhidrato de fenil-hidrazina yodo-sustituido de la fórmula
J. Los otros ácidos minerales que se pueden usar son ácido
sulfúrico, etc. El compuesto de la fórmula J se neutraliza
con una base adecuada tal como hidróxido de sodio, hidróxido
de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio,
carbonato de amonio y bicarbonatos de metales alcalinos para
obtener la fenil-hidrazina yodo-sustituida de la fórmula K.



5

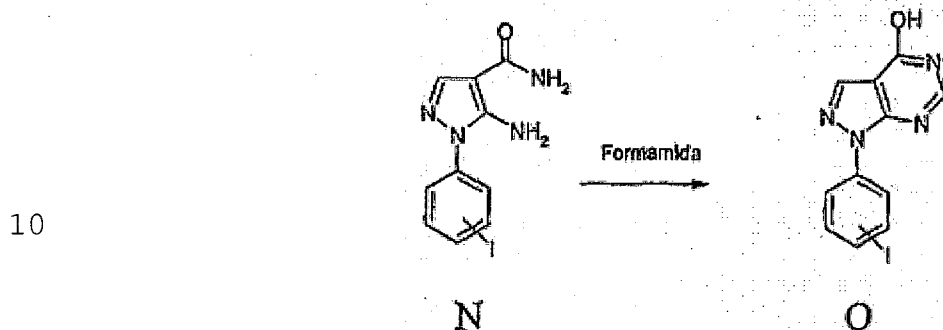
El compuesto de la fórmula K se hace reaccionar con etoxi-
 metelenomalononitrilo en solventes próticos tal como
 metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, dimetil-formamida
 o mezclas de estos solventes a temperaturas de 60°C para
 10 obtener los nuevos fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-
 carbonitrilos N-(yodo-sustituido) de la fórmula L. En
 otra manera de preparación, los compuestos de la fórmula K
 se hacen reaccionar con etoxi-metilenomalononitrilo
 generado *in situ* al hacer reaccionar ortoformiato de
 15 trietilo y malononitrilo para obtener los nuevos fenil-5-
 amino-1H-pirazolo-4-carbonitrilos N-(yodo-sustituidos) de
 la fórmula L. Las condiciones de temperatura varían desde
 40°C a 100°C.



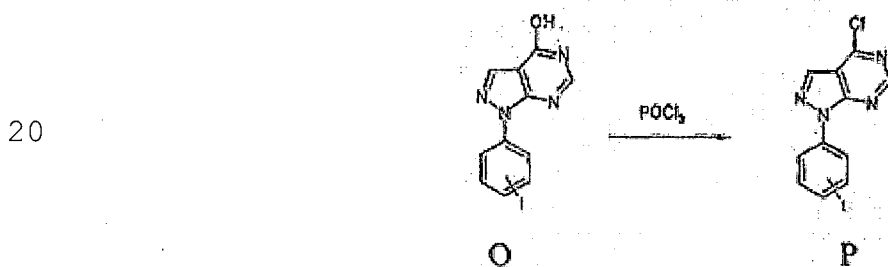
20

El grupo nitrilo de los compuestos de la fórmula L
 25 se hidroliza con un ácido mineral tal como ácido

sulfúrico en medio acuoso y en la basificación con una base adecuada tal como amoniaco o bicarbonatos, carbonatos o hidróxidos de metales alcalinos a temperaturas de 10°C a 40°C para obtener las nuevas
5 fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamidas N-(yodo-sustituidas) de la fórmula M.



El compuesto de la fórmula N se hace reaccionar con formamida a condiciones puras o en solvente tal como sulfolano a temperaturas de 200°C para obtener la nueva
15 fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamida N-(yodo-sustituida) de la fórmula O. Las condiciones de temperatura varían desde 150°C a 220°C.

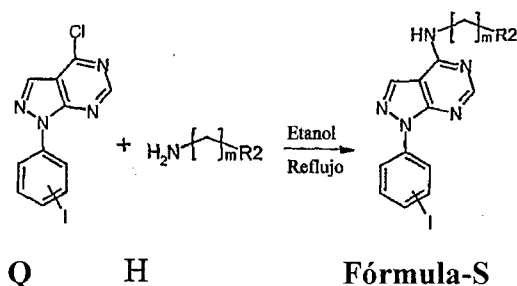


Los compuestos de la fórmula O se hacen reaccionar con oxicloruro de fósforo en condiciones puras o en solventes
25 apróticos tal como cloruro de metileno, cloruro de etileno,

cloroformo o mezclas de estos solventes a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidinas N-(yodo-sustituidas) de la fórmula P.

En otra manera de preparación, los compuestos de la fórmula O se hacen reaccionar con cloruro de tionilo, tricloruro de fósforo o pentacloruro de fósforo en solventes apróticos tal como cloruro de metileno, cloruro de etileno, cloroformo o mezcla de estos solventes a temperaturas de 25°C para obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidina N-sustituidas de la fórmula P.

10

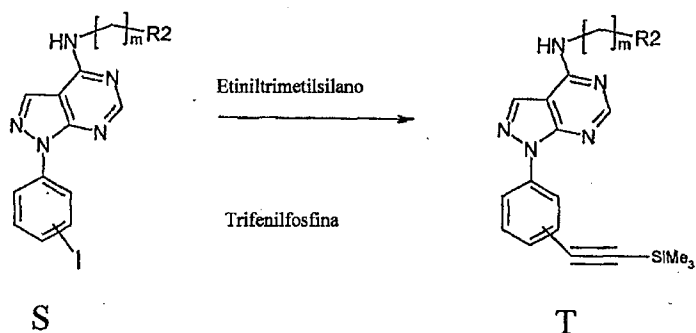


15

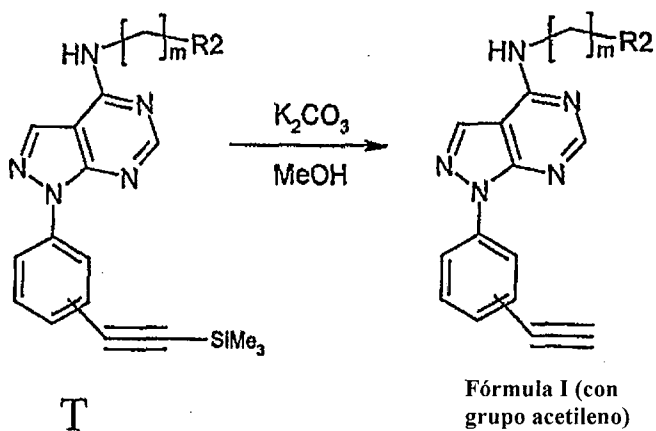
Por los métodos conocidos dados en la literatura, el compuesto de la fórmula Q se somete a reflujo con alquilamina sustituida de la fórmula H en solventes próticos tal como metanol, etanol, alcohol isopropílico o mezclas de estos solventes, a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas pirazolo[3,4-d]pirimidinas sustituidas de 4-amino sustituido 1-(yodo-sustituido) de la fórmula S.

20

25



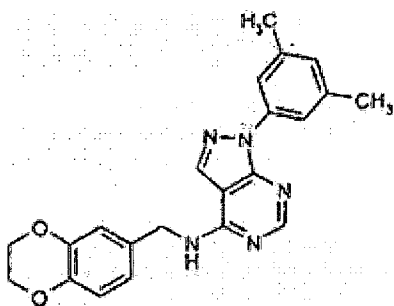
El compuesto de la fórmula S se somete a reflujo con trimetilsilil-acetileno sustituido en solventes próticos tal como metanol, etanol, alcohol isopropílico o mezclas de estos solventes a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas N-(trimetil-silil-protégido-etinil-sustituido) fenil-4-amino sustituido-pirazolo[3,4-d]pirimidina de la fórmula T.



Los compuestos de la fórmula T se desprotegen con una base adecuada tal como amoníaco, mono-, di- o tri-alquilaminas, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio,

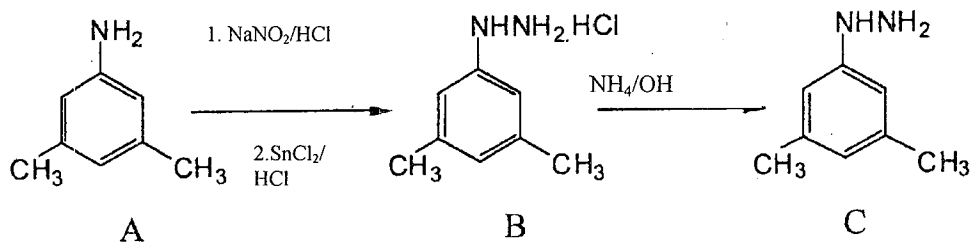
carbonato de amonio y bicarbonatos de metales alcalinos para obtener los nuevos compuestos sustituidos con acetileno de la Fórmula I.

- 5 8. Un proceso para la preparación de N-((2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina



Compuesto NO: 49

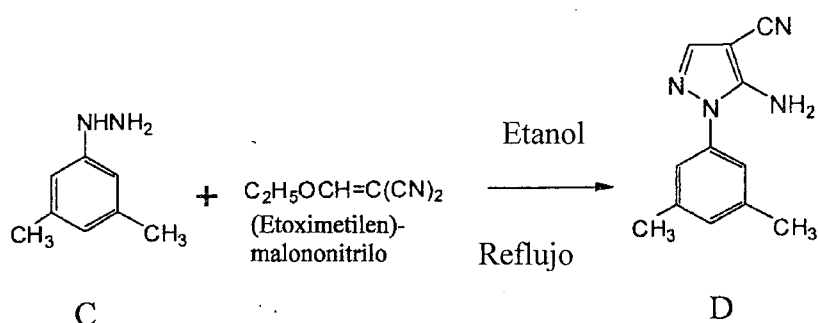
o una sal del mismo, que comprende



- 15
- 20 Por cualquier método conocido incluido en la literatura, diazotizar un compuesto de la fórmula A con ácido mineral tal como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico y con solución de nitrito de sodio a temperaturas de -10°C a 5°C para obtener clorhidrato
- 25 de fenil-hidrazina sustituida de la fórmula B. Los

ácidos minerales que pueden ser utilizados son ácido sulfúrico, etc. Neutralizar el compuesto de la fórmula B con una base adecuada tal como amoniaco, mono-, di- o tri-alquilaminas, hidróxido de sodio, 5 hidróxido de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de amonio y bicarbonatos de metales alcalinos para obtener las nuevas fenil-hidrazinas sustituidas de la fórmula C.

10



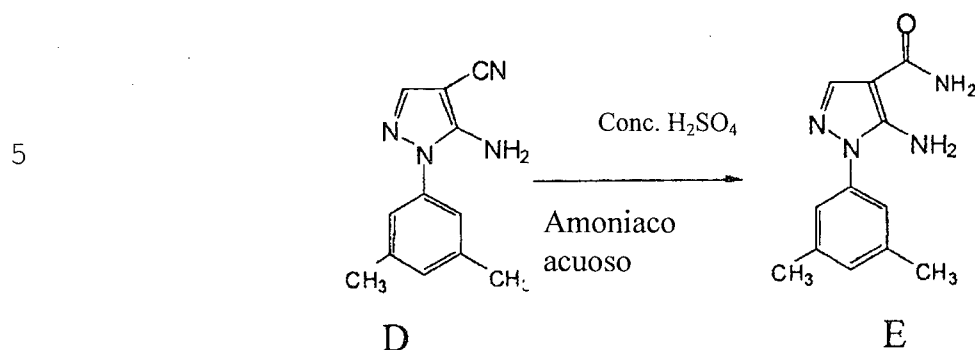
15

20

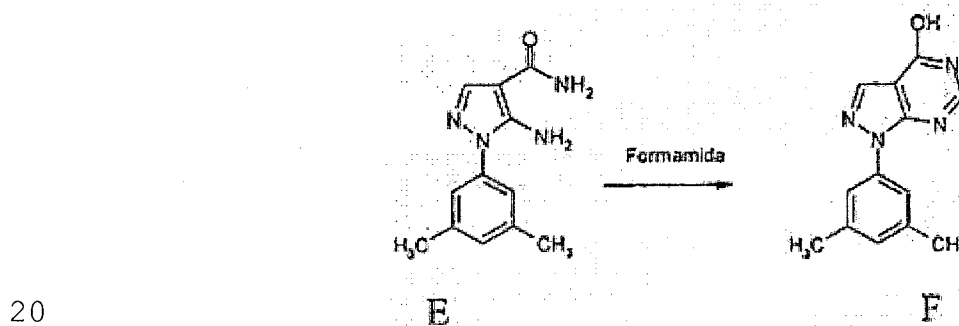
25

Hacer reaccionar el compuesto de la fórmula C con etoximetilenomalononitrilo en solventes próticos tal como metanol, etanol, isopropanol, n-butanol, dimetil-formamida o mezclas de estos solventes a temperaturas de 60°C para obtener los nuevos fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carbonitrilos N-sustituídos de la fórmula D. En otra manera de preparación, hacer reaccionar los compuestos de la fórmula C con un etoximetilenomalononitrilo generado *in situ* al hacer reaccionar ortoformiato de trietilo y malononitrilo a condiciones de temperatura en el intervalo de 40°C a 100°C para obtener los nuevos fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-

carbonitrilos N-sustituídos de la fórmula D. Las condiciones de temperatura varían de 40°C a 100°C.



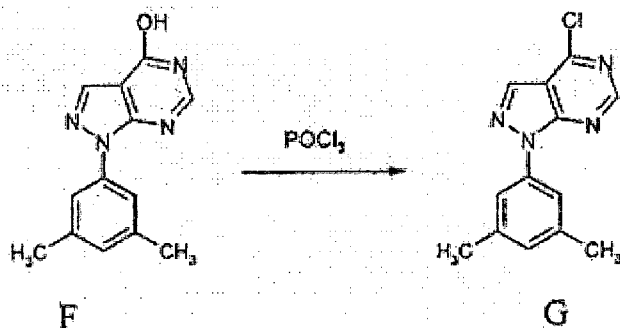
10 Hidrolizar el grupo nitrilo del compuesto de la fórmula D con un ácido mineral tal como ácido sulfúrico en medio acuoso y basificar con una base adecuada tal como amoniaco o bicarbonatos, carbonatos o hidróxidos de metales alcalinos a temperaturas de 10°C a 40°C para obtener las nuevas fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamidas N-sustituídas de la fórmula E.



20 Hacer reaccionar el compuesto de la fórmula E con formamida en condiciones puras o en solvente tal como sulfolano a aproximadamente 220°C para obtener la nueva fenil-5-amino-1H-pirazolo-4-carboxamida N-sustituída de la fórmula F. Las

condiciones de temperatura varía entre 150°C a 200°C.

5



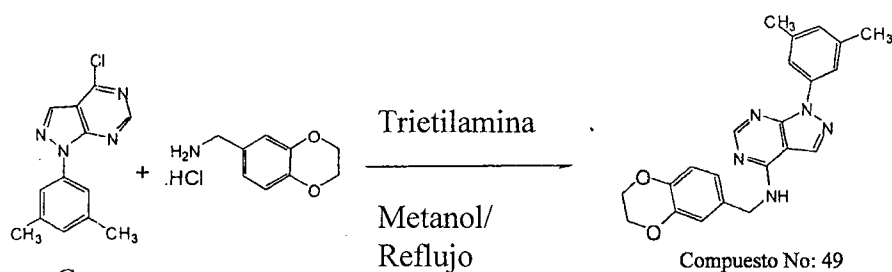
10

15

20

Hacer reaccionar el compuesto de la fórmula F con oxiclورو de fósforo en un solvente aprótico tal como clورو de metileno, clورو de etileno, cloroformo o una mezcla de estos solventes a condiciones de temperatura de reflujo para obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidinas N-sustituidas de la fórmula G. En otra manera de preparación, hacer reaccionar los compuestos de la fórmula F con clورو de tionilo, triclorورو de fósforo o pentaclورو de fósforo en solventes apróticos tal como clورو de metileno, clورو de etileno, cloroformo o mezcla de estos solventes a 25°C a temperatura de reflujo de solvente para obtener las nuevas 4-cloro-pirazolo[3,4-d]pirimidina N-sustituidas de la fórmula G.

25

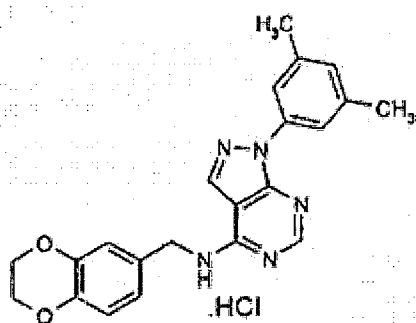


5

Someter a reflujo el compuesto de la fórmula G con clorhidrato de 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il-metilamina en un solvente prótico tal como metanol, etanol, alcohol isopropílico o mezclas de estos solventes, a temperatura de reflujo para obtener la nueva N-((2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (Compuesto número 49).

15. 9. Un proceso para la preparación de N-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)metil)-1-(3,5-dimetilfenil)-1H-pirazolo[3,4-d]pirimidina-4-amina (Compuesto número 49. HCl)

20



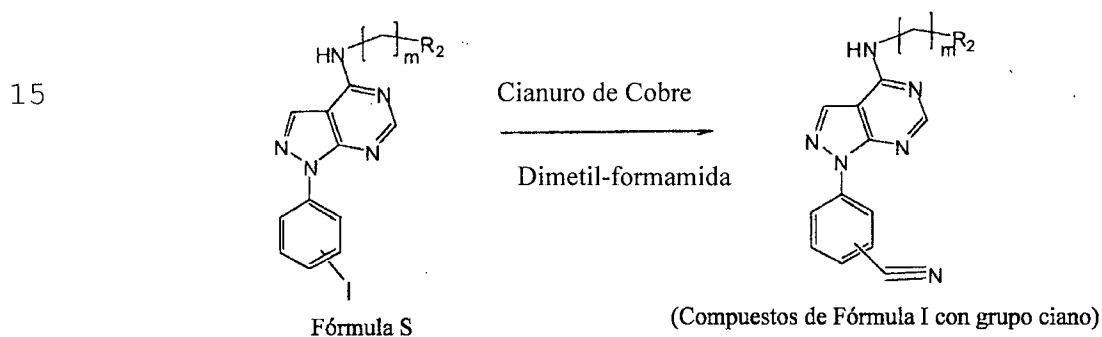
Compuesto número 49-clorhidrato

25

201

que comprende tratar el Compuesto de la fórmula V con ácido clorhídrico por métodos convencionales en un medio solvente adecuado tal como agua, metanol, etanol, alcohol isopropilo, acetato de etilo, acetonitrilo, cloruro de metileno, acetona o mezcla de estos solventes.

10. Un proceso para la preparación de la Fórmula I con un sustituyente ciano en el anillo N-fenilo, y sus sales farmacéuticamente aceptables puede prepararse con cualquier proceso conocido aplicable a los compuestos químicos relacionados químicamente. Los compuestos de la presente invención con un sustituyente ciano en el anillo N-fenilo pueden sintetizarse con el proceso



Esquema III

20 El compuesto de la fórmula S se calienta con cianuro de cobre y yoduro de cobre en dimetil-formamida o dimetil-sulfóxido a temperaturas que varían desde 120°C a 145°C para obtener los nuevos compuestos de N-(ciano-sustituido)-fenil-4-amino-sustituida-pirazolo[3,4-d]pirimidinas de la fórmula V.

25

11. Composición farmacéutica para el tratamiento de trastorno hiperproliferativo en un mamífero, caracterizada porque comprende una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de conformidad con la reivindicación 1 y un
5 portador farmacéuticamente aceptable.

12. El método de conformidad con la reivindicación 11 caracterizado porque el cáncer es cáncer de pulmón, de células escamosas, de vejiga, gástrico, pancreático, de mama,
10 de cabeza, de cuello, de esófago, de cerebro, ginecológico, de próstata, de riñón, leucemia, linfoma o cáncer de tiroides.

15

20

25

203

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención se refiere a derivados de pirazolo[3,4-D]pirimidina sustituida de la fórmula (I), o
5 sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que poseen actividad anti-proliferativa tal como actividad anti-cáncer y por consiguiente son útiles en métodos de tratamiento del cuerpo humano o animal. La invención también se refiere a procesos para la elaboración de derivados de pirazolo[3,4-
10 D]pirimidina sustituida, composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto y a su uso en la elaboración de medicamentos para la producción de un efecto anti-proliferativo en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

204

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IN2009/000037

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D487/04 A61K31/519 A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CAVASOTTO C N ET AL: "In silico identification of novel EGFR inhibitors with antiproliferative activity against cancer cells" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 16, no. 7, 1 April 2006 (2006-04-01), pages 1969-1974, XP025107008 ISSN: 0960-894X [retrieved on 2006-04-01] compound 39 ----- -/--	1,11,12
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the International filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 August 2009		Date of mailing of the international search report 24/08/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Diederien, Jeroen

205

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IN2009/000037

C(Continuation), DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ANDREW J PEAT ET AL: "Novel pyrazolopyrimidine derivatives as GSK-3 inhibitors" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 14, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 2121-2125, XP002399434 ISSN: 0960-894X Scheme 1 step ii and iii wherein Ar1=m-Me	6
X	DANIELS ET AL: "Microwave-assisted protocols for the expedited synthesis of pyrazolo[1,5-a] and [3,4-d]pyrimidines" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 49, no. 2, 17 November 2007 (2007-11-17), pages 305-310, XP022386873 ISSN: 0040-4039 23g 5-amino-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazole-4-carboxamide and 4-chloro-1-(3,5-dimethylphenyl)-1H-pyrazolo-[3,4-d]pyrimidine, see right hand column page 309	6
X	J. ORG. CHEM., vol. 21, 1956, pages 394-399, XP002540925 Table I wherein Substituent is m-I hydrochloride = 1-(3-iodophenyl)-hydrazine hydrochloride	6
X	MADUSKUIE T P ET AL: "DESIGN, SYNTHESIS, AND STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP STUDIES FOR A NEW IMIDAZOLE SERIES OF J774 MACROPHAGE SPECIFIC ACYL-COA:-CHOLESTEROL ACYLTRANSFERASE (ACAT) INHIBITORS" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, vol. 7, no. 38, 1 January 1995 (1995-01-01), pages 1067-1083, XP001084249 ISSN: 0022-2623 42c	6
A	WO 02/45716 A (MERCK PATENT GMBH [DE]; EGGENWEILER HANS MICHAEL [DE]) 13 June 2002 (2002-06-13) the whole document	1-12
A	US 5 593 997 A (DOW ROBERT L [US] ET AL) 14 January 1997 (1997-01-14) the whole document	1-12

206

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IN2009/000037

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0245716	A	13-06-2002	AU 1603302 A	18-06-2002
			BR 0115911 A	25-02-2004
			CA 2436916 A1	13-06-2002
			CN 1479619 A	03-03-2004
			CZ 20031752 A3	15-10-2003
			DE 10060388 A1	06-06-2002
			EP 1339410 A1	03-09-2003
			HU 0302645 A2	28-11-2003
			JP 2004523493 T	05-08-2004
			MX PA03004907 A	05-09-2003
			PL 361890 A1	04-10-2004
			SK 8072003 A3	07-10-2003
			US 2004023991 A1	05-02-2004
			ZA 200305181 A	04-10-2004
US 5593997	A	14-01-1997	NONE	

PATENT COOPERATION TREATY

207

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/IN2009/000037

International filing date (day/month/year)
12.01.2009

Priority date (day/month/year)
11.01.2008

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D487/04 A61K31/519 A61P35/00

Applicant
NATCO PHARMA LIMITED

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas
Tel. +31 70 340 - 2040
Fax: +31 70 340 - 3016

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Diederien, Jeroen

Telephone No. +31 70 340-1097



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/IN2009/000037

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

29

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/IN2009/000037

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>2-5,7-10</u>
	No: Claims	<u>1,6,11,12</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>2-5,7-10</u>
	No: Claims	<u>1,6,11,12</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-12</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Re Item V.

Reference is made to the following documents:

- D1 : CAVASOTTO C N ET AL: "In silico identification of novel EGFR inhibitors with antiproliferative activity against cancer cells" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 16, no. 7, 1 April 2006 (2006-04-01), pages 1969-1974, XP025107008 ISSN: 0960-894X [retrieved on 2006-04-01]
- D2 : ANDREW J PEAT ET AL: "Novel pyrazolopyrimidine derivatives as GSK-3 inhibitors" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 14, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 2121-2125, XP002399434 ISSN: 0960-894X
- D3 : DANIELS ET AL: "Microwave-assisted protocols for the expedited synthesis of pyrazolo[1,5-a] and [3,4-d]pyrimidines" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 49, no. 2, 17 November 2007 (2007-11-17), pages 305-310, XP022386873 ISSN: 0040-4039
- D4 : J. ORG. CHEM., vol. 21, 1956, pages 394-399, XP002540925
- D5: J. Med. Chem. (1995), 38, 1056-1083 (XP001084249)

1. Novelty (Article 33(2) PCT)

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1,6,11,12 is not new in the sense of Article 33(2) PCT.

Document D1 discloses compound 39 for use as an EGFR inhibitor and is therefore novelty destroying for the subject-matter of claims 1,11,12 of the present application.

Document D2 discloses in Scheme 1 the synthesis of compounds III from compounds II. In the case the Ar1=m-Me (see Table 2, 3) then the reaction products after step (ii) and (iii) are novelty destroying for claim 6 of the present application (compounds j and k of claim 6).

Document D3 discloses compounds f (23g in D3) and h (reaction of 24g with POCl₃) of claim 6 on page 309 right hand column. This is novelty destroying for claim 6.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/IN2009/000037

Document D4 discloses compound a of claim 6 (Table 1 Substituent is m-I and type of salt is hydrochloride).

Document D5 discloses compound 42, which is the same as compound m of claim 6.

2. Inventive Step (Article 33(3) PCT)

The present application does not meet the criteria of Article 33(1) PCT, because the subject-matter of claims 1,6,11,12 does not involve an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT.

Claims 1,6,11,12 which are not novel cannot be considered inventive.

The closest prior art for claims 2-5,7-10 is document D1. Document D1 discloses compound 39 which differs from the subject-matter of claims 2-5,7-10 in the fact that the pyrazolo[3,4-d] is substituted by different groups. The problem to be solved by the applicant was to provide alternative EGFR inhibitors. Starting from D1, a skilled person would not arrive at the subject-matter of the present application as he would not find an incentive in D1 or elsewhere to substitute the compound of D1. It is therefore considered that the subject-matter of claims 2-5,7-10 is inventive over the prior art.

Re Item VIII.

Claim 12 concerns a method which cannot be dependent on a composition claim.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
---------------------	---

Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
-----------------------------------	---

Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
---	---

Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
--------------------------	--

End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
--------------------------------	---

Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003
---	--

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

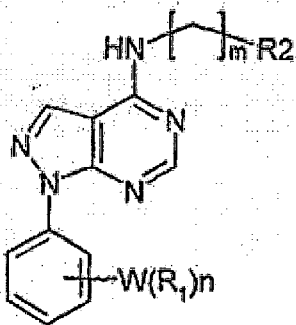
Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

PC Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:	(51) Int Cl: C07D 487/004
22) Fecha de solicitud:	(71) Solicitante(s) NATCO PHARMA LIMITED
(30) Prioridad (31) Prioridad (32) Fecha (33) País	(72) Inventor(es) DURGA PRASAD KONAKANCHI
109/CHE/2008 11/01/2008 IN	(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 11/08/2010	(87) Publicación internacional
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 13/08/2009
Fecha de presentación de la solicitud: 12/01/2009	N° publicación: WO 098715 A3
No. de solicitud PCT/IN2009/000037	
(54) Titulo: NUEVOS DERIVADOS DE PIRAZOLO[3,4-D]PYRIMIDINA COMO FARMACOS ANTICANCER	

Reivindicación(es):

1. Derivados de pirazolo[3,4-d]pirimidina sustituida de la fórmula I,



Fórmula-I

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, caracterizados porque

n y m son 1, 2 ó 3;

W es un enlace individual, C1-C6alquilo, alquenilo, alquinilo, NH, S, SO, SO2, O, C=O, o un grupo amida:

cada R1 se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, hidroxilamino, carboxi, nitro, guanidino, ureido, carbamoilo, ciano y trifluorometilo,

o cada R1 se selecciona independientemente del grupo que consiste de C1-C6alquilo, C3-C6cicloalquilo, C1-C6alcoxi, C3-C6cicloalcoxi, (C1-C6)alcoxycarbonilo, ariloxi, heteroariloxi, C1-C6tioalcoxi, C3-C6tiocicloalcoxi, tioariloxi, tioheteroariloxi, nitro, amino, N-mono(C1-C6)alquilamino, N,N-di(C1-C6)alquilamino, formamido, amido, acetamido, hidroxilamino, C1-C6alcoxiamino, hidrazino, trifluorometilo, trifluorometoxi, C2-C6alquenilo, C2-C6alquinilo, arilo, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado y heterociclilo fusionado;

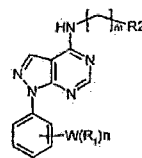
cada R1 se selecciona independientemente de R3-sulfonilamino, ftalimido-(C1-C4)-alquilsulfonilamino, benzamido, bencenosulfonilamino, 3-fenilureido, 2-oxopirrolidin-1-ilo, 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo, y C2-C4alcanoilamino, y en donde el sustituyente bencenosulfonilamino o fenilo o fenoxi o anilino o fenilsulfanilo en R1 puede tener opcionalmente uno o dos halógenos, (C1-C4)alquilo, ciano, metanosulfonilo o sustituyentes (C1-C4)alcoxi, o cualquiera de dos R1 tomados conjuntamente con los carbonos a los cuales están unidos comprende un anillo de 5-8 miembros que comprende al

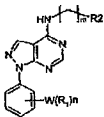
menos uno o dos heteroátomos seleccionados de oxígeno, azufre o nitrógeno; en donde los grupos alquilo y porciones alquilo de los grupos alcoxi o alquilamino en R1 pueden ser de cadena recta o si comprenden al menos tres carbonos pueden estar ramificados o ser cíclicos; donde R3 se selecciona de C1-C6alquilo y C3-C6cicloalquilo;

R2 se selecciona del grupo que consiste de hidrógeno, C1-C6alquilo, C3-C6cicloalquilo, C1-C6alcoxycarbonilo, arilo, heteroarilo, C1-C6tioalquilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado y heterociclilo fusionado, tal como 1,3-benzodioxol, 1,4-benzodioxina,

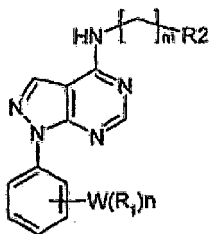
y R2 se selecciona del grupo que consiste de fenilo o bencilo y sustituido con 1, 2, 3 ó 4 grupos y los sustituyentes se seleccionan independientemente de R4,

en donde R4 se selecciona de hidrógeno, halo, hidroxilo, amino, hidroxilamino, carboxi, nitro, guanidino, ureido, carbamoilo, ciano, trifluorometilo, C1-C6alquilo, C3-C6cicloalquilo, hidroxilo, C1-C6alcoxi, C3-C6cicloalcoxi, C1-C6alcoxycarbonilo, ariloxi, heteroariloxi, C1-C6tioalcoxi, C3-C6tiocicloalcoxi, tioariloxi, tioheteroariloxi, nitro, amino, N-mono(C1-C6)alquilamino, N,N-di(C1-C6)alquilamino, formamido, amido, acetamido, hidroxilamino, C1-C6alcoxiamino, hidrazino, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquenilo, alquinilo, arilo, heterociclilo, arilo fusionado, heteroarilo fusionado, y heterociclilo fusionado.

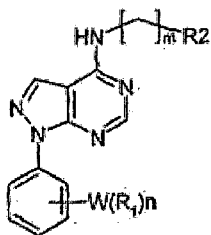




(n)



(I)



(f)

216

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 60,763
FECHA : JULIO 27 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-098749- -00000-0000

Fecha: 2010-08-11 17:34:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

***** CONSIGNACION *****

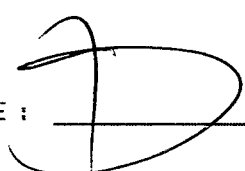
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	175542474	26/07/2010	63,413,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

0010: 57766-841-001-8

217

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 65,075
FECHA : AGOSTO 9 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-098749- -00000-0000

Fecha: 2010-08-11 17:34:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	132667006	09/08/2010	59,216,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL	26,000.00
		TOTAL :	\$ 26,000.00

SON: VEINTISEIS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO: J7766-841-001-8

218

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 65,076
FECHA : AGOSTO 9 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-098749- -00000-0000

Fecha: 2010-08-11 17:34:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	132667006	09/08/2010	59,216,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	*** REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL	26,000.00
		TOTAL :	\$ 26,000.00

SDN: VEINTISEIS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Colo: J7766-841-001-8



No. 10-098749- -00000-0000

PATENTE DE INVENCION

MODEL

Fecha: 2010-08-11 17:34:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 218

10

☐	Indicación que se solicita una patente.		
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud		
☐	Descripción de la invención		
☐	Dibujos de ser estos pertinentes		
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)		
Completa	☐	Incompleta	☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa	☐
Incompleta	☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita	Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud	
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño	
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas	
Completa ☐		Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
NATCO PHARMA LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	10 098749
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	E 11244

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.
2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

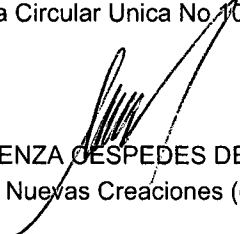
Continúa en la página siguiente...



Continuación radicado No: 10 098749



Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No. 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha
adpa11

03 SET. 2010