

## TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO

No. 2 819 648

a nome: AiCuris Anti-infective Cures GmbH

con sede a: 42117 Wuppertal / GERMANIA

dal titolo: Preparazione farmaceutica contenente un derivato di diidrocinazolo efficace antivirale

## DESCRIZIONE

La presente invenzione riguarda una preparazione farmaceutica comprendente {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]3,acido acetico4-diidrochinazolin-4-il} o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale.

L'invenzione riguarda inoltre i processi per la loro preparazione, il loro uso per il trattamento e/o la profilassi delle infezioni virali e il loro uso per la preparazione di medicinali per il trattamento e/o la profilassi delle infezioni virali, in particolare per il trattamento delle infezioni con citomegalovirus umano (HCMV) o un altro rappresentante del gruppo di herpes viridae.

{8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-dihydrochinazolin4-il}-acetico per esempio, da WO

2004/096778, la cui divulgazione è completamente incorporata nel presente documento per riferimento, ed è stata sviluppata dal richiedente come candidato promettente per un principio attivo antivirale, in particolare per combattere le infezioni con il citomegalovirus umano. Nello sviluppo, tuttavia, è stato riscontrato che sono stati riscontrati problemi di solubilità e, in particolare, si è dimostrato complicato preparare formulazioni stabili per la somministrazione endovenosa o preparazioni solide e ben solubili per la preparazione di soluzioni di somministrazione endovenosa. Il PT 1 622 880 riguarda le formulazioni iniettabili contenenti PEG il cui ingrediente attivo è 2-((4S)-8-fluoro-2-(4-(3-metossifenil)piperazin-1-il)-3-(2-metossi-5-(trifluorometil)fenil)-4H-chinazolin-4-il)acido acetico (chiamato anche letermovir). WO 2006/133822 si riferisce alla preparazione di diidrochinazoline. È quindi uno scopo dell'invenzione descrivere una preparazione farmaceutica, in particolare per la somministrazione endovenosa, la {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acido acetico, che è stabile e conservabile a lungo, e che ha inoltre un pH sostanzialmente fisio-

logico.

Un ulteriore scopo dell'invenzione è descrivere un preparato farmaceutico con il quale i preparati farmaceutici per somministrazione endovenosa possano essere preparati in modo semplice e affidabile, la piperazina {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico, che quindi rimane stabile per un tempo sufficiente, ad es. più di 24 ore.

Nel contesto dell'invenzione, per "stabilità" si intende sia la stabilità chimica degli ingredienti del preparato farmaceutico sia la stabilità della soluzione stessa. In particolare, la preparazione secondo l'invenzione dovrebbe essere stabile alla precipitazione degli ingredienti.

Nel contesto, il termine "stabilità" per i preparati farmaceutici liquidi secondo l'invenzione a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C, oppure a 25°C o a 40°C, una percentuale minima di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acido acetico >90%, preferibilmente >95% per almeno due, preferibilmente almeno tre, molto preferibilmente per almeno sei settimane di conservazione,

quando detti preparati farmaceutici liquidi vengono misurati mediante uno dei metodi HPLC 1-3. Detta stabilità dei preparati farmaceutici liquidi è considerata sufficiente nel contesto dell'invenzione.

Inoltre, il termine "stabilità" per le composizioni farmaceutiche dell'invenzione dopo diluizione o ricostituzione a una concentrazione finale di 0,8 10 mg/ml per infusione tra 2°C e 8°C, una percentuale minima di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il} acido acetico >90%, preferibilmente >95% per almeno quattro ore, preferibilmente almeno sei ore, più preferibilmente almeno 24 ore di conservazione quando detti preparati farmaceutici liquidi sono misurati dopo diluizione o ricostituzione mediante uno qualsiasi dei metodi HPLC. Detta stabilità dei preparati farmaceutici dopo diluizione o ricostituzione è considerata sufficiente nel contesto dell'invenzione.

Sorprendentemente, è stato scoperto che i preparati farmaceutici specialmente per la somministrazione endovenosa, il {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometile)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico e acqua, che possono essere stabi-

lizzati aggiungendo almeno un eccipiente selezionato tra le ciclodestrine. Inoltre, è stato trovato che tali preparati possono essere liofilizzati per dare un solido stabile per ottenere una preparazione farmaceutica che può essere ricostituita in modo semplice, ad esempio aggiungendo acqua per preparazioni iniettabili, che a sua volta può essere ottenuta una preparazione farmaceutica stabile, ad esempio per somministrazione endovenosa.

L'invenzione si riferisce quindi a preparati farmaceutici, in particolare per somministrazione endovenosa, che hanno i seguenti:

- a) {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale,
- b) un adiuvante selezionato tra le ciclodestrine e
- c) acqua.

L'invenzione ulteriori preparazioni farmaceutiche vengono preparate mediante liofilizzazione della suddetta preparazione farmaceutica.

Sali nel contesto dell'invenzione sali fisiologicamente accettabili di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-

(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico. Sali fisiologicamente accettabili di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il L'acido acetico comprende sali di addizione con acidi di acidi minerali, acidi carbossilici e acidi solfonici, ad esempio idroclo-rico, idrobromico, solforico, fosforico, metansolfo-nico, etansolfonico, toluensolfonico, benzensolfoni-co, naftalensisolfonico, acetico, trifluoroacetico, propionico, malico, citrico, malico, tartaro, lattico, malico, cronico benzoico.

Sali fisiologicamente accettabili di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acetico includono sali di basi convenzionali come per esempio e sali di metalli preferibilmente alcalini (ad esempio sali di sodio e potassio), alcalino terroso (per esempio sali di calcio e magnesio), sali di ammonio derivati da ammoniaca o ammine organiche aventi da 1 a 16 atomi di carbonio, come per esempio e preferibilmente monoetilammina, dietilammina, trietilammina, etildiisopropilammina, monoetanolammina, dietanolammina, trietanolammina, dicicloesilammina, dimetilaminoetanolo, 2-ammino-2-metil-

1,3-propandiolo, procaina, dibenzilammina, N-metilmammina, etilendiammina, asilidiammina e etilendiammina

Poiché i solvati sono nel contesto dell'invenzione, tali forme di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il} che forma un complesso coordinandosi con le molecole di solvente. Gli idrati sono una forma speciale di solvati che si coordinano con l'acqua.

Come un esperto del ramo riconoscerà prontamente, {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)-piperazin-1-il]3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico sul carbonio nella posizione 4 dell'anello diidrochinazolin uno stereocentro. Nel contesto della presente invenzione, è particolarmente preferito se questo carbonio ha la configurazione a S.

Una ciclodestrina secondo l'invenzione è intesa come qualsiasi ciclodestrina modificata o non modificata. Preferenza è data qui a causa delle dimensioni della cavità nelle cicloestrine anello e cicloestrine modificate come, in particolare, idrossialchile  $\beta$ -cicloestrine, ad esempio, idrossimetil  $\beta$ -

ciclodestrina, idrossietil  $\beta$ -ciclodestrina o idrossipropil  $\beta$ -ciclodestrina, alchil idrossietil  $\beta$ -ciclodestrine per esempio idrossipropil metil ciclodestrine o etilidrossipropil ciclodestrine o sulfoalchil ciclodestrine.

L'acqua utilizzata nella preparazione nel contesto dell'invenzione è generalmente acqua per preparazioni iniettabili.

Il termine "comprendere" o "comprendente" nel contesto della presente invenzione, un elenco aperto ed esclude altri componenti o fasi oltre ai componenti o fasi espressamente menzionati.

L'espressione "consistono di" o "costituiti da" nel contesto della presente invenzione indica un elenco chiuso ed esclude qualsiasi altro componente o passaggio oltre ai componenti o passaggi espressamente indicati.

Il termine "essenzialmente costituito" o "consistente essenzialmente di" si riferisce ad un censimento parzialmente chiuso nella presente invenzione si riferisce a metodi e formulazioni in aggiunta ai suddetti componenti o fasi, esclusivamente gli altri costituenti o avere passaggi che non cambiano materialmente il carattere inventivo della preparazione o del processo o che sono presenti in quantità che

non cambiano materialmente il carattere inventivo della preparazione o del processo.

Se, nel contesto della presente invenzione "avente" un preparato o un metodo di utilizzo dell'espressione descritto o "comprendente", tra cui in particolare un preparato o procedimento che consiste degli ingredienti menzionati, o fasi, o costituiti essenzialmente dal consistono in componenti o passaggi specifici.

È preferito nell'ambito dell'invenzione se la preparazione farmaceutica secondo l'invenzione comprende inoltre almeno un tampone, che è preferibilmente scelto tra i tamponi fosfato, i tamponi tris e i tamponi citrato.

Aggiungendo il tampone si può garantire in particolare che la preparazione abbia sempre un pH fisiologico, detti tamponi sono particolarmente preferiti per la loro buona compatibilità.

È ulteriormente preferito nell'ambito dell'invenzione se la preparazione farmaceutica secondo l'invenzione comprende inoltre almeno uno zucchero, che è preferibilmente selezionato dal gruppo costituito da glucosio, saccarosio, lattosio, maltosio, trealosio, sorbitolo e mannitolo.

È stato trovato che la preparazione farmaceutica se-

condo l'invenzione mediante l'aggiunta di uno zucchero e in particolare lo zucchero esplicitamente menzionato sopra può essere significativamente stabilizzata. Inoltre, è stato scoperto che l'aggiunta di uno zucchero può facilitare la preparazione di una preparazione solida mediante liofilizzazione e ricostituzione di una preparazione così solida per la preparazione di una preparazione farmaceutica, in particolare per la somministrazione endovenosa. Inoltre, l'aggiunta dell'almeno uno zucchero serve a regolare l'osmolalità della soluzione e a sopprimere l'eventuale emolisi.

È ulteriormente preferito nell'ambito dell'invenzione se {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il} o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale in una quantità nella preparazione farmaceutica contenente da 1 a 100 mg, preferibilmente da 2 a 50 mg, più preferibilmente da 2 a 25 mg e in particolare corrisponde a 5-20 mg di principio attivo puro per ml di preparato.

Un contenuto di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-

il}acido acetico negli intervalli sopra indicati si è rivelato vantaggioso per quanto riguarda la stabilità della soluzione, nonché per quanto riguarda una semplice conservazione.

È ulteriormente preferito nell'ambito dell'invenzione se il preparato ha un pH da 7,5 a 8,5.

L'intervallo di pH summenzionata è stato trovato essere vantaggioso per il fatto che si tratta di un pH nell'intervallo di pH fisiologico. Inoltre, è stato trovato che la solubilità della preparazione farmaceutica secondo l'invenzione nell'intervallo leggermente alcalino, cioè in un intervallo maggiore di 7,0, è di nuovo significativamente migliore rispetto a un pH di 7,0 o inferiore.

È inoltre preferito nel contesto dell'invenzione, se almeno un eccipiente in una quantità da 1 a 5 equivalenti, preferibilmente da 2 a 5 equivalenti e particolarmente preferibilmente da 2,5 a 4,5 equivalenti in base al contenuto di {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-

il}acido acetico nel livello farmaceutico La preparazione è presente.

Si preferisce inoltre quando la preparazione ottenuta nella presente invenzione (il contenuto di {8-

Fluor2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acido acetico da 1 a 10 equivalenti, preferibilmente da 2 a 7 equivalenti e in particolare da 2,5 a 5 equivalenti di ciclodestrina e da 0 a 2,0 equivalenti, preferibilmente da 0,5 a 1, 5 equivalenti e in particolare equivalenti da 0,75 a 0,9 di NaOH.

Per equivalenti nel contesto dell'invenzione si intendono equivalenti molari. È stato riscontrato che l'aggiunta di meno adiuvante, indicato come limite inferiore negli intervalli sopra indicati, porta a una stabilizzazione inadeguata della soluzione. Un'aggiunta di quantità di eccipiente superiori ai limiti superiori di cui sopra non offre ulteriori vantaggi in termini di stabilità del preparato. Si teme inoltre che l'aggiunta di maggiori quantità di adiuvante porti ulteriormente a interazioni con l'agente attivo e quindi piuttosto a una riduzione dell'efficacia del preparato.

Inoltre, nella presente invenzione, una preparazione farmaceutica è particolarmente preferita, in base a 100 ml della composizione comprendente:

a) 0,5-2,5 g, preferibilmente 1,0 2,0 g di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-

[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il} acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale,

b) 10,0-30,0 g, preferibilmente 12,5 g-22,5 g HP- $\beta$ -ciclodestrina,

c) 0,0-350 mg, preferibilmente 75-225 mg, in particolare 100-125 mg di NaOH e

d) acqua

in cui la preparazione ha un pH da 7,5 a 8,5.

In quest'ultima preparazione della soluzione acquosa di NaOH è preferibilmente usato nella forma di un approssimativamente 0.1M.

Si è trovato che le preparazioni farmaceutiche contenenti tali composizioni sono particolarmente vantaggiosa sia in termini di efficacia clinica e stabilità.

I preparati farmaceutici secondo l'invenzione vengono generalmente preparati preparando prima una soluzione acquosa dell'eccipiente e quindi [8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[si aggiunge acido 2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il} a questa soluzione, facoltativamente seguito da aggiunta di altri additivi come almeno uno zucchero e/o almeno un tampone. Dopo

l'aggiunta di tutti gli ingredienti, il pH del preparato farmaceutico viene quindi regolato al valore desiderato, in particolare dovrebbe essere garantito che quando il valore del pH aggiungendo un acido o un tampone di un valore alcalino nella direzione di fisiologico Il pH viene regolato, questo aggiustamento è lento e attento a precipitare un precipitato di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)-piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)-fenile]-3,4-diidrochinazolina-4-il} acido acetico con un forte abbassamento locale del pH.

E 'anche possibile preparare dapprima soluzioni individuali, in cui una soluzione di eccipiente e {8-Fluor2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil) contiene acido acetico fenil)-3,4-diidrochinazolin-4-il} e l'altra soluzione contiene gli ulteriori adiuvanti come almeno uno zucchero e/o almeno un tampone, in cui nella fase successiva le soluzioni sono adeguate al pH desiderato e poi mescolati insieme.

È anche possibile utilizzare {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico in una soluzione acquosa di base, ad esempio una soluzione di un idrossido di metallo

alcalino preferibilmente una soluzione di NaOH almeno parzialmente sciolta, quindi aggiungendo l'eccipiente e facoltativamente gli altri ingredienti alla soluzione e facoltativamente la soluzione al pH desiderato regolare.

È anche possibile liofilizzare le soluzioni ottenute con i metodi sopra menzionati per ottenere le composizioni farmaceutiche solide della presente invenzione.

L'invenzione fornisce quindi anche un processo per preparare una preparazione farmaceutica secondo l'invenzione con le seguenti fasi:

- A) Sciogliendo almeno un eccipiente nell'acqua,
- B) aggiungi CC(=O)OC1=CC=C(C=C1)C2=NC3=CC=CC=C3N2 {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il} acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale a quello in fase
- A) soluzione ottenuta,
- C) aggiungendo facoltativamente almeno uno zucchero e/o almeno un tampone,
- D) regolazione del pH al livello desiderato per ottenere una preparazione farmaceutica, e
- E) filtrazione sterile della soluzione ottenuta

nella fase D) e riempimento in contenitori idonei.

F) sterilizzazione facoltativa finale della soluzione ottenuta nella fase E) mediante riscaldamento.

L'invenzione fornisce inoltre un processo per la preparazione di una preparazione farmaceutica secondo l'invenzione con le seguenti fasi:

I.) sciogliere almeno un eccipiente in una parte dell'acqua,

II.) Aggiungi {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale alla soluzione ottenuta nella fase I.),

III.) Facoltativamente regolando il pH della soluzione ottenuta nella fase II.) Al valore desiderato per ottenere una prima soluzione,

IV.) Sciogliere almeno uno zucchero e/o un tampone in una parte dell'acqua,

V.) facoltativamente regolando il pH della soluzione ottenuta nella fase IV.) Al valore desiderato per ottenere una seconda soluzione,

VI.) Mescolando la prima e la seconda soluzione per ottenere una preparazione farmaceutica, e

VII.) Filtrazione sterile della soluzione ottenuta nella fase VI.) E riempimento in contenitori idonei.

VIII.) Se necessario. Sterilizzazione finale della soluzione ottenuta nella fase VII.) Per riscaldamento.

L'invenzione fornisce inoltre un processo per la preparazione di una preparazione farmaceutica secondo l'invenzione con le seguenti fasi:

a.) Aggiunta di {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4yl}

acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un sale in una soluzione acquosa di NaOH, preferibilmente una soluzione acquosa di NaOH 0,1 M per preparare una soluzione o sospensione,

b.) aggiungendo acqua a quella nella fase a.) soluzione o sospensione,

c.) Aggiunta di ciclodestrina e NaCl alla soluzione o sospensione ottenuta nella fase

b.),

d.) Filtrazione sterile della soluzione ottenuta nella fase c.) e riempimento in contenitori idonei.

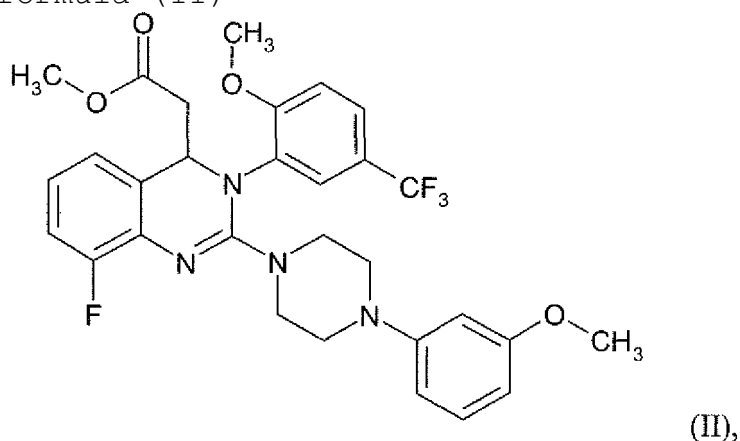
e.) se necessario, sterilizzazione finale della solu-

zione ottenuta nella fase d.) mediante riscaldamento.

L'invenzione fornisce inoltre un processo per la preparazione di una preparazione farmaceutica solida, in cui una preparazione farmaceutica preparata con il metodo sopra menzionato viene liofilizzata.

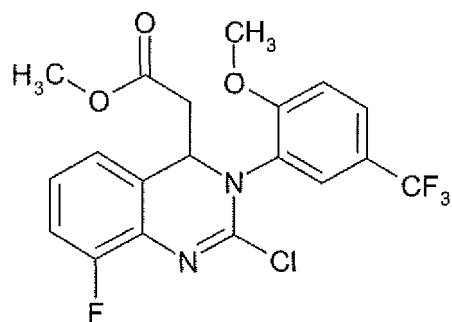
{8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3 utilizzato per la preparazione del preparato farmaceutico secondo l'invenzione L'acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il} o i suoi sali, solvati e solvati dei sali sono noti e possono essere preparati, ad esempio, mediante il processo descritto in WO 2006/133822.

In particolare, la preparazione viene effettuata mediante saponificazione dell'estere di un composto di formula (II)



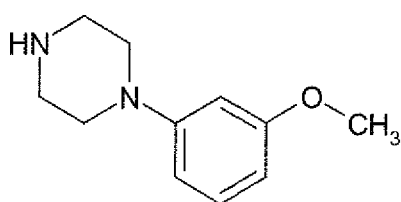
con una base.

Il composto di formula (II) possono essere preparati facendo reagire un composto di formula (III)



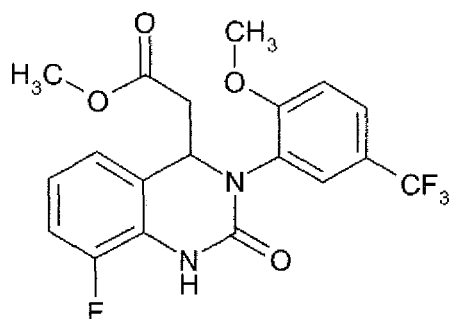
(III),

in presenza di una base con un composto di formula (IV).



(IV),

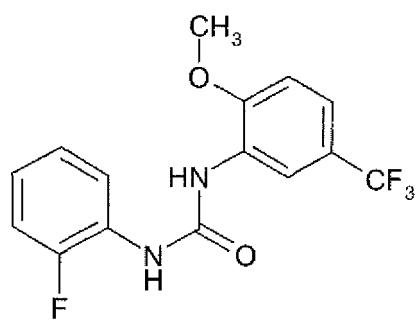
Il composto di formula (III) può essere preparato facendo reagire un composto di formula (V)



(V),

con ossicloruro di fosforo, tricloruro di fosforo o pentacloruro di fosforo in presenza di una base.

Il composto di formula (V) possono essere preparati facendo reagire un composto di formula (VI)



(VI),

nel primo stadio con metil acrilato in presenza di un catalizzatore di palladio e oleum e nel secondo stadio con una base.

I composti di formule (IV) e (VI) sono noti nell'arte in sé o possono essere preparati con metodi convenzionali noti in letteratura.

Saponificazione dell'estere di un composto di formula (II) a {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenile]acido acetico -3,4-diidrochinazolina-4-il} viene effettuato facendo reagire un composto di formula (II) con una base in un solvente inerte, in un intervallo di temperatura da 18°C a riflusso del solvente, preferibilmente tra 18 e 50°C, in particolare preferibilmente tra 20 e 30°C, a pressione atmosferica, ad esempio tra 0,5 e 10 ore, preferibilmente tra 1 e 5 ore.

Esempi di basi sono idrossidi di metalli alcalini come sodio, litio o idrossido di potassio, o carbonati di metalli alcalini come carbonato di cesio,

sodio o carbonato di potassio, o alcolati come sodio o metossido di potassio o sodio o etossido di potassio, la base facoltativamente presente in soluzione acquosa.

Solventi inerti sono, per esempio, eteri come 1,2-dimetossietano, metil ter-butil etere (MTBE), diossano, tetraidrofurano, etere glicol dimetil o dietilenglicol dimetil etere, alcoli come metanolo, etanolo, n-propanolo, iso-propanolo, n-butanolo o terzbutanolo, o acqua, o miscele di solventi,

Viene data preferenza all'idrossido di sodio in acqua e MTBE.

La sintesi di un composto di formula (II) da un composto di formula (III) e un composto di formula (IV) in presenza di una base viene effettuata in un solvente inerte, in un intervallo di temperatura di 40°C al riflusso del solvente, preferibilmente a riflusso del solvente, a pressione normale, ad esempio tra 2 e 48 ore, preferibilmente tra 4 e 12 ore.

Esempi di basi sono basi amminiche come 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ene (DBU), 1-(3-metossifenil)piperazina o trietilammina, o altre basi come terz-butossido di potassio.

Solventi inerti sono, ad esempio, clorobenzene o eteri, come 1,2-dimetossietano, diossano, glicol di-

metil etere o dietilenglicole dimetiletere.

La DBU è preferibilmente in diossano.

La reazione di un composto di formula (V) a dare un composto di formula (III) viene effettuata dalla reazione di un composto di formula (V) con fosforo ossicloruro, fosforo tricloruro o fosforo pentacloruro, la preferenza è data al fosforo ossicloruro in presenza di una base in un solvente inerte, in un intervallo di temperatura da 40°C a riflusso del solvente, preferibilmente a riflusso del solvente, a pressione atmosferica, ad esempio tra 1 e 48 ore, preferibilmente tra 2 e 12 ore.

Esempi di basi sono ammine come 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-ene (DBU), piridina o trietilammina o altre basi come terz-butossido di potassio.

I solventi inerti sono, ad esempio, idrocarburi come benzene, xilene, toluene o clorobenzene.

DBU è preferito nel clorobenzene.

La reazione di un composto di formula (VI) per formare un composto di formula (V) viene effettuata nel primo stadio per reazione di un composto di formula (VI) con metil acrilato in presenza di un catalizzatore di palladio e oleum in un solvente in un intervallo di temperatura di 0°C a 40°C, preferibilmente

a temperatura ambiente e nel secondo stadio per reazione con una base in un solvente inerte, in un intervallo di temperatura da 40°C a riflusso del solvente, preferibilmente a riflusso del solvente, a pressione atmosferica, entro, per esempio 1 a 48 ore, preferibilmente entro 2 a 12 ore.

Esempi di catalizzatori di palladio nel primo stadio sono palladio (II) acetato, bis (trifenilfosfina) palladio (II) cloruro, tetrakis (trifenilfosfina) palladio (0), bis (tris (o-tolil) fosfino) palladio (II) il cloruro o un bis (acetonitrile) - dichloropalladium o palladio (II) acetato e un ligando, ad esempio tris (o-tolil) fosfina, trifenilfosfina o difenilfosfinoferrocene, producevano un catalizzatore di palladio.

I solventi nel primo stadio sono, ad esempio, acidi organici come acido acetico o acido propionico.

Viene data preferenza all'acetato di palladio (II) in acido acetico.

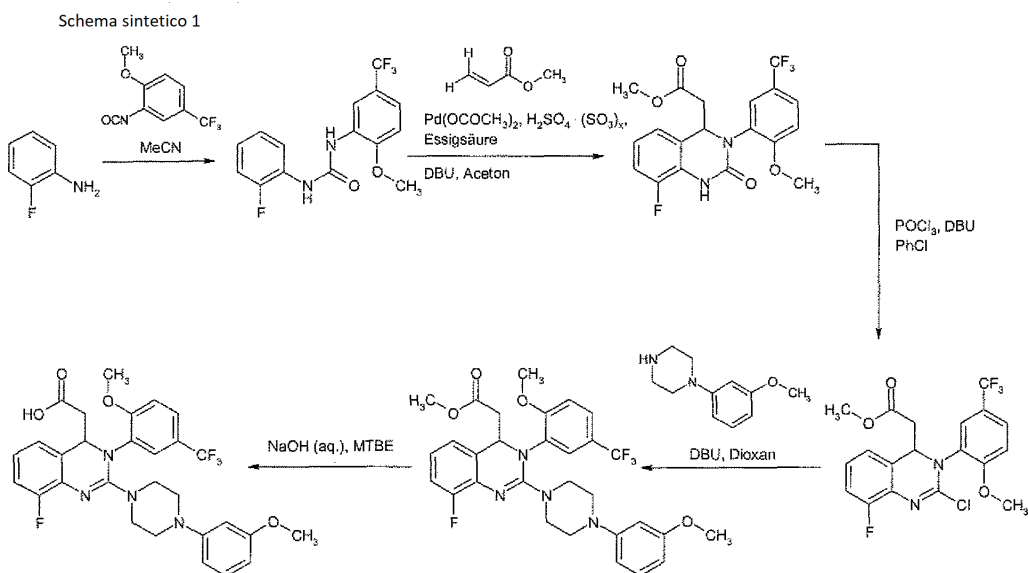
Esempi di basi nel secondo stadio sono DBU, trietilammina o diisopropilettilammina.

Solventi inerti nel secondo stadio sono, ad esempio, eteri come 1,2-dimetossietano, diossano, glicol dimetil etere o dietilenglicole dimetiletere, idrocar-

buri come benzene, xilene o toluene o altri solventi come isobutirronitrile, acetonitrile, acetone, dimetammide, dimetammide, dimetilammide, dimetilammide o N-metilpirrolidone.

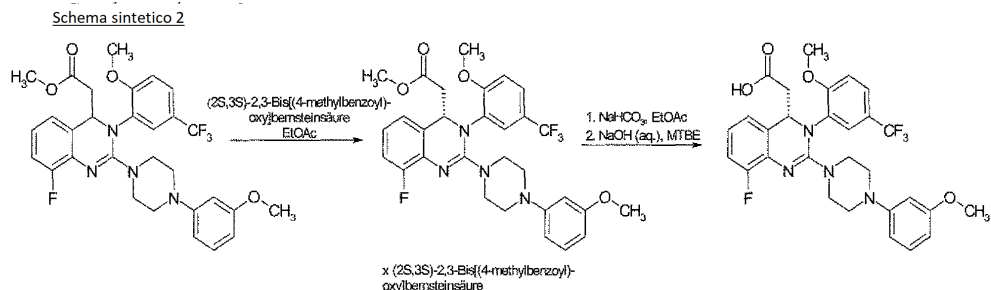
DBU è preferito in acetone.

La preparazione del {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3} utilizzata per la preparazione del preparato farmaceutico secondo l'invenzione, L'acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il} è esemplificato in maggior dettaglio nel seguente schema sintetico 1. Lo schema di sintesi è qui puramente esemplare e in alcun modo limitante.



Come accennato in precedenza, il {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-l'acido acetico diidrochinazolin-4-il} è preferibilmente usato sotto forma di

S-enantiomero. Questo enantiomero S può essere preparato, ad esempio, come mostrato nello schema di sintesi 2 di seguito.



Il {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-contenuto nella preparazione farmaceutica diidro-chinazolin-4-il} acetico e loro sali, solvati e solvati dei sali mostrano un effetto antivirale sui rappresentanti del gruppo degli herpes viridae (herpes virus), in particolare contro cytomegaloviruses (CMV), in particolare contro il citomegalovirus umano (HCMV). I preparati farmaceutici secondo l'invenzione sono quindi adatti per il trattamento e/o la profilassi di malattie, in particolare infezioni da virus, in particolare i virus citati nel presente documento e le malattie infettive causate da ciò. Per infezione virale si intende sia un'infezione con un virus sia una malattia causata da un'infezione con un virus.

Per le loro proprietà, i preparati farmaceutici se-

condo l'invenzione possono essere utilizzati per la preparazione di medicinali adatti alla profilassi e/o al trattamento di malattie, in particolare di infezioni virali. Come indicazione, ad esempio, si può menzionare:

- 1) Trattamento e profilassi delle infezioni da HCMV nei pazienti con AIDS (retinite, polmonite, infezioni gastrointestinali).
- 2) Trattamento e profilassi delle infezioni da citomegalovirus nei pazienti con trapianto di midollo osseo e di organi, che spesso sviluppano polmonite da HCMV potenzialmente letale, encefalite, infezioni gastrointestinali e sistemiche da HCMV.
- 3) Trattamento e profilassi delle infezioni da HCMV nei neonati e nei neonati.
- 4) Trattamento dell'infezione acuta da HCMV in donne in gravidanza.
- 5) Trattamento dell'infezione da HCMV in pazienti immunodepressi nel cancro e terapia del cancro.
- 6) Trattamento di pazienti affetti da carcinoma HCMV-positivi con l'obiettivo di ridurre la progressione tumorale mediata da HCMV (vedere J. Cinatl, et al., FEMS Microbiology Review 2004, 28, 59-77).

I preparati farmaceutici secondo l'invenzione sono

preferibilmente utilizzati per la preparazione di medicinali adatti per la profilassi e/o il trattamento di infezioni con un membro del gruppo di herpes viridae, in particolare un citomegalovirus, in particolare il citomegalovirus umano.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione possono essere utilizzati da soli e, se necessario, in combinazione con altri agenti, farmaci particolarmente antivirali come valganciclovir, ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, foscarnet, cidofovir e derivati correlati a causa delle loro proprietà farmacologiche per il trattamento e/o la prevenzione di infezioni virali, in particolare delle infezioni da HCMV.

Ulteriormente la presente invenzione riguarda l'uso delle preparazioni farmaceutiche dell'invenzione in un metodo di trattamento e/o la profilassi di disturbi, preferibilmente di infezioni virali, in particolare di infezioni da citomegalovirus umano (HCMV) o un altro rappresentante del gruppo dell'herpes viridae.

Un altro scopo della presente invenzione è l'uso delle composizioni farmaceutiche secondo l'invenzione per il trattamento e/o la profilassi delle malattie, in particolare le suddette malattie.

Un altro scopo della presente invenzione è l'uso delle composizioni farmaceutiche dell'invenzione per la fabbricazione di un medicinale per il trattamento e/o la profilassi delle malattie, in particolare le malattie sopra menzionate. Un altro scopo della presente invenzione è un metodo per il trattamento e/o la profilassi delle malattie, in particolare le suddette malattie, usando una quantità antivirale efficace delle composizioni farmaceutiche dell'invenzione.

Il termine "quantità efficace antivirale" indica i preparati farmaceutici secondo l'invenzione in una quantità di dosaggio di almeno 0,001 mg/kg.

In generale, è stato trovato vantaggioso somministrare i preparati farmaceutici in modo tale che tra 0,001 e 10 mg per kg, preferibilmente tra 0,01 e 5 mg per kg di peso corporeo di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acido acetico.

Tuttavia, essa può eventualmente essere necessario deviare dalle quantità citate, ovvero a seconda del peso corporeo, del comportamento individuale verso il principio attivo e il tempo o intervallo in cui la somministrazione avviene. Pertanto, in alcuni ca-

si può essere sufficiente gestire con un importo inferiore al suddetto importo minimo, mentre in altri casi, detto limite superiore deve essere superato. Nel caso di applicazione di quantitativi maggiori, può essere consigliabile distribuirli in più dosi singole durante il giorno.

L'invenzione verrà ora spiegato più dettagliatamente in seguito a titolo di esempi non limitativi.

Le percentuali nei seguenti test ed esempi sono in peso se non diversamente indicato, le parti sono parti in peso, rapporto solvente, rapporto di diluizione e dati di concentrazione delle soluzioni liquide sono ciascuno per volume.

*Abbreviazioni:*

ACN acetonitrile

API-ES-pos. Ionizzazione a pressione atmosferica, elettrospray, positivo (in MS)

API-ES neg. Ionizzazione a pressione atmosferica, elettrospray, negativo (in MS)

ca. circa

CI, NH<sub>3</sub> ionizzazione chimica (con ammoniaca)

DBU 1,8-diazabicyclo[5.4.0] undec-7-ene

DMAP 4-(dimetilammino)piridina

DMSO dimetilsolfossido

ESTD	Standardizzazione esterna
h	ora/e
HPLC	Cromatografia liquida ad alta pressione
conc.	concentrato
min.	Minuti
MS	Spettroscopia di massa
MTBE	metil terz-butil etere
NMR	Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare
R <sub>T</sub>	Tempo di ritenzione (tramite HPLC)
VTS	Forno di essiccazione sottovuoto

#### **Metodi generali HPLC:**

Metodo 1 (HPLC): Strumento: HP 1050 con rilevamento di lunghezza d'onda variabile; colonna: Phenomenex-Prodigy ODS (3) 100A, 150mm x 3mm, 3µm; eluente A: (1,0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 1,0 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)/1 acqua, eluente B: acetonitrile; gradiente: 0 min 10% B, 25 min 80% B, 35 min 80% B; flusso: 0,5 ml/min; Temp.: 45°C; rilevamento UV: 210 nm.

Metodo 2 (HPLC): Strumento: HP 1050 con rilevamento di lunghezza d'onda variabile; colonna: Chirale AD-H, 250 mm x 4,6 mm, 5 µm; eluente A: n-eptano + 0,2% dietilammina, eluente B: Isopropanolo + 0,2% dietilammina; gradiente: 0 min 12,5 % B, 30 min 12,5% B;

Flusso: 1 ml/min; Temp.: 25°C; rilevamento UV: 250 nm.

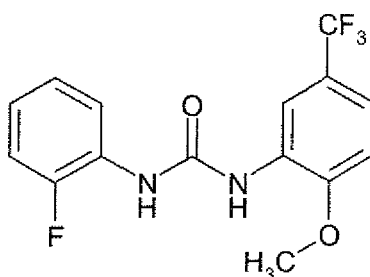
Metodo 3 (HPLC): Strumento: HP 1050 con rilevamento di lunghezza d'onda variabile; colonna: Chirale AD-H, 250 mm x 4,6 mm, 5 µm; eluente A: n-eptano + 0,2% dietilammina, eluente B: Isopropanolo + 0,2% dietilammina; gradiente: 0 min 25 % B, 15 min 25 % B; Flusso: 1 ml/min; Temp.: 30°C; rilevamento UV: 250 nm.

### Esempi

#### A. Preparazione dell'acido {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4diidrochinazolin-4-il}

##### Esempio 1A

N-(2-fluorofenil)-N'-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil] urea



2-metossi-5-trifluorometilfenil isocianato (78 kg) viene fuso a circa 35°C e sciolto in acetonitrile (per un totale di circa 270 l), quindi viene aggiunta 2-fluoroanilina (39,9 kg) e trattata con acetonitrile

(circa 25 l) risciacquato. La soluzione limpida risultante viene agitata a riflusso per 4 ore e quindi raffreddata a circa 75°C. A questa temperatura, la soluzione viene inoculata con cristalli di semi del prodotto finale desiderato (200 g) per altri 15 minuti, mescolato e poi raffreddato a 0°C per 3 ore. Il prodotto cristallino risultante viene isolato mediante centrifugazione isolato con acetonitrile freddo (due volte circa 13 l) ed essiccato a 45°C in VTS con azoto per trascinarsi (circa 3,5 ore). Pertanto, si ottiene un totale di 101,5 kg di N-(2-fluorofenil)-N'-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]urea come solido, corrispondente all'85,9% della teoria.

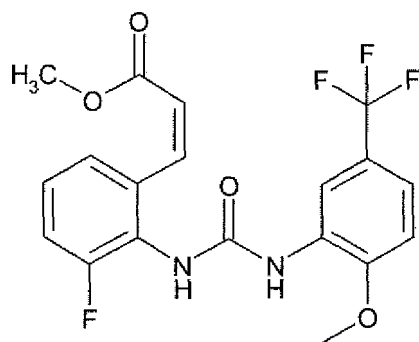
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 8,93 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,52 (d,  $^3J$  = 2,3, 2H), 7,55 (d,  $^2J$  = 7,7, 1H), 7,38-7,26 (m, 3H), 7,22 (d,  $^2J$  = 8,5, 1H), 4,00 (s, 3H) ppm;

MS (API-ES-pos.):  $m/z$  = 409 [(M+H)<sup>+</sup>, 100 %];

HPLC (metodo 1):  $R_T$  = 22,4 e 30,6 min.

### **Esempio 2A**

Metil-(2Z)-3-[3-fluoro-2-([2-metossi-5-(trifluorometil)fenil] carbamoyl)amino] fenil] acrilato



In un primo reattore, N- (2-fluorofenil)-N'-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]urea (51 kg) viene sciolto in acido acetico (circa 430 L) in atmosfera di azoto. Alla soluzione risultante viene aggiunto metil acrilato (20,1 kg) e la sospensione risultante viene agitata fino a ulteriore utilizzo. L'acido acetico (950 l) viene inizialmente caricato in un secondo reattore, l'olio (57 kg) viene aggiunto con cautela e il palladio (II) acetato (7 kg) viene sciolto nella miscela risultante. La sospensione formata nel primo reattore viene quindi aggiunta per circa 2 ore alla miscela contenuta nel secondo reattore, in cui la miscela di reazione con una miscela di azoto al 96% e ossigeno al 4% viene fatta scorrere e la miscela di reazione risultante è per circa 18 ore mescolata a temperatura ambiente. Quindi, una porzione dell'acido acetico (circa 900 l) viene distillata via, alla miscela di reazione rimanente per circa 1 ora di acqua (circa 500 l) è stata aggiunta e la sospensione risultante viene agitata per 1 ora. Il so-

lido risultante viene filtrato, una volta con una miscela di acido acetico e acqua (1: 1) e lavato due volte con acqua e poi asciugato a circa 30 mbar e 50°C. Pertanto, si ottiene un totale di 44,8 kg di metil (2Z) -3- [3-fluoro-2 - ([2-metossi-5- (trifluorometil) fenil] carbamoil} ammino) fenil] acrilato come solido, corrispondente a 65,0% della teoria.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):  $\delta = 9,16$  (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,45 (d, 1,7Hz, 1H), 7,73 (m, 2H), 7,33 (m, 3H), 7,22 (d, 8,6Hz, 1H), 6,70 (d, 16Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,71 (s, 3H) ppm;

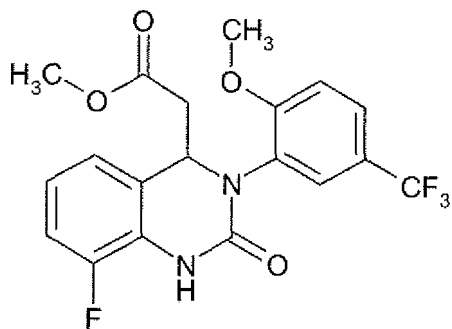
MS (API-ES-pos.):  $m/z = 429,9$  [(M+NH<sub>4</sub>)<sup>+</sup>]; 412,9 [(M+H)<sup>+</sup>]

HPLC : RT = 46,4 min.

Strumento: HP 1100 con rilevamento di lunghezza d'onda variabile; colonna: Phenomenex-Prodigy ODS (3) 100A, 150mm x 3mm, 3 $\mu\text{m}$ ; eluente A: (1,36 g KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> + 0,7 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)/1 acqua, eluente B: acetonitrile; gradiente: 0 minuti 20% B, 40 minuti 45% B, 50 minuti 80% B, 65 minuti 80% B; river: 0,5 ml/min; Temp.: 55°C; rilevamento UV: 210 nm.

### **Esempio 3A**

{8-fluoro-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-2-osso-1,2,3,4-tetrahydroquinazolin-4-il}acetato di metile

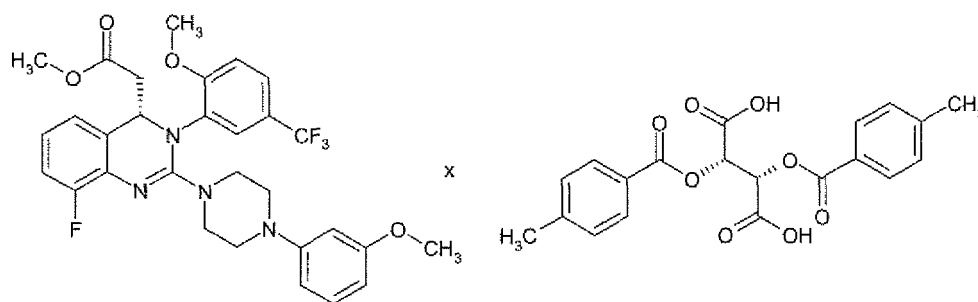


Il composto dell'Esempio 2A (75 kg) viene sospeso in acetone (1600 L) e viene aggiunto DBU (5,7 Kg). La sospensione risultante viene riscaldata a riflusso e agitata a riflusso per 4 ore. La soluzione risultante viene raffreddata ad una temperatura della camera di 55°C e filtrata attraverso terra di diatomee. Una parte del solvente viene rimossa per distillazione dalla miscela di reazione (circa 1125 l) e il residuo rimanente viene raffreddato a 0°C per 2 ore. Il solido risultante viene separato per centrifugazione e lavato due volte con acetone freddo (circa 15 l) ed essiccato per una notte a 45°C a pressione ridotta con trascinamento di azoto su massa costante. Pertanto, si ottiene un totale di estere metilico dell'acido {8-fluoro-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-2-osso-1,2,3,4-tetraidrochinazolina-4il}-acetico come solido, secondo l'84,1% della teoria.

HPLC (metodo 1):  $R_T = 19,4$  min.

#### **Esempio 4A**

(2S,3S)-2,3-bis[(4-metilbenzoil)ossi]acidosuccinico -  
 {(4S)-8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-  
 3-Estere metilico dell'acido[2-metossi-5-  
 (trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}-  
 acetico(sale 1:1) clorazio-  
 ne/amminazione/cristallizzazione



Una soluzione di {8-fluoro-3-[2-metossi-5-  
 (trifluorometil)fenil]-2-osso-1,2,3,4-  
 tetrahydroquinazolin-4-il} acetato di metile (Esempio  
 3A, 129,2 kg) in clorobenzene (800 l) viene riscalda-  
 to a riflusso ed essiccato azeotropicamente. Viene  
 aggiunto ossicloruro di fosforo (144 kg) e la miscela  
 di reazione viene agitata a riflusso per 3 ore. Quin-  
 di si aggiungono DBU (95 kg) e clorobenzene (45 l) e  
 si agitano per ulteriori 9 ore a riflusso. La miscela  
 di reazione viene raffreddata a temperatura ambiente,  
 idrolizzata mediante aggiunta in acqua, diluita con  
 clorobenzene (80 L) e neutralizzata con soluzione ac-  
 quosa di ammoniaca (25%). Le fasi vengono separate e  
 la fase organica viene lavata con acqua e il solvente  
 viene distillato. Il residuo rimanente viene sciolto

in diossano (170 l). Si aggiungono 3-metossifenilpiperazina (66 Kg), DBU (52 Kg) e altri 90 L di diossano e la miscela di reazione viene riscaldata a riflusso per 4 ore. La miscela di reazione viene raffreddata a temperatura ambiente, trattata con acetato di etile (1300 l), lavata 1x con acqua, 3 x con HCl 0,2 N e 1x con soluzione acquosa di NaCl e il solvente viene distillato. Il residuo ottenuto viene sciolto in acetato di etile (800 l) e aggiunto a una soluzione di acido (2S, 3S) -2,3-bis [(4-metilbenzoil)ossi]succinico(121 kg) in acetato di etile (600 l). La miscela risultante è di circa 60 minuti. Agitato a temperatura ambiente, quindi con (2S, 3S)-2,3-bis[(4-metilbenzoil)ossi]succinico-{(4S)-8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazina- Estere metilico di acido acetico 1-il] -3- [2-metossi-5- (trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il} e agitato per 3 giorni a temperatura ambiente. La miscela viene quindi raffreddata a 0 5°C e agitata per altre 3 ore. La sospensione viene filtrata con aspirazione e lavata in porzioni con acetato di etile. Pertanto, si ottiene un totale di circa 141 kg (calcolato come secco) di sale, corrispondente a circa il 46,2% della teoria in tre fasi

(Clorurazione, aminazione e cristallizzazione) in ba-

se al racemo.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 7,90 (d,  $^2J$  = 7,8, 4H), 7,56 (d,  $^2J$  = 8,3, 1H), 7,40 (d,  $^2J$  = 7,8, 4H), 7,28-7,05 (m, 4H), 6,91-6,86 (m, 2H), 6,45 (d,  $^2J$  = 8,3, 1H), 6,39-6,36 (m, 2H), 5,82 (s, 2H), 4,94 (m, 1H), 4,03 (q,  $^2J$  = 7,1, 2H), 3,83 (brs, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 3,47-3,36 (m, 8H und Wasser, 2H), 2,98-2,81 (m, 5H), 2,58-2,52 (m, 1H), 2,41 (s, 6H), 1,99 (s, 3H), 1,18 (t,  $^2J$  = 7,2, 3H) ppm;

HPLC (metodo 1):  $R_T$  = 16,6 e 18,5 min.

### **Esempio 5A**

(2S, 3S)-2,3-bis[(4-metilbenzoil)ossi]acido succinico -{(4S)-8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-(2-Metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il} estere metilico di acido acetico (sale 1: 1)/ricristallizzazione (2S, 3S)-2,3-bis[(4-metilbenzoil)ossi]acido succinico(S){(4S)-8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)-piperazin-1-il]- Il metil3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acetato(sale1:1) (141kg, calcolato come secco) è sospeso in acetato di etile (1400 l) e sciolto per riscaldamento a riflusso (77°C). La soluzione viene filtrata e raffreddata lentamente a temperatura ambiente. Questa è una cristallizzazione spontanea. La

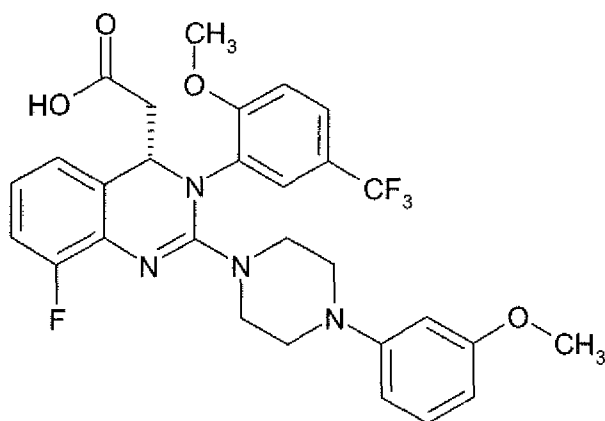
sospensione viene agitata per 16 ore a temperatura ambiente, quindi raffreddata a 0-5°C e agitata per altre 3 ore. La sospensione viene filtrata con aspirazione e lavata con acetato di etile freddo. I cristalli vengono essiccati per 16 ore sotto vuoto a circa 40°C. Pertanto, si ottiene un totale di 131,2 kg di sale come solido, corrispondente al 93,0% della teoria.

HPLC (metodo 1):  $R_T = 16,9$  e  $18,8$  min.;

HPLC (metodo 3): 99,9% ee

### **Esempio 6A**

(S)-{8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-(2-metossi-5-trifluorometil-fenil)-3,4-dihydroquinazolin-4-il} acetico



Una miscela di acido (2S,3S)-2,3-bis[(4-metilbenzoil)ossi]succinico{(4S)-8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazina-1]Metil il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il}acetato (sale1:1) (30,8kg), bicarbonato di sodio

(16,4kg) e acqua (315 l) viene miscelato con MTBE (160 l). Le fasi vengono separate e la fase organica viene trattata con 35 L di una soluzione acquosa di bicarbonato di sodio al 7% circa. Le fasi vengono separate e la fase organica viene trattata con 125 l di una soluzione acquosa di idrossido di sodio al 4% circa. La miscela di reazione viene riscaldata a riflusso, il solvente viene delicatamente distillato a secchezza e il contenuto del reattore viene quindi agitato per altre 5 ore a 55-60°C. La miscela di reazione viene quindi trattata a circa 22°C con MTBE (160 l) e acqua (65 L) e agitata. Le fasi vengono separate e la fase organica viene estratta con una soluzione acquosa di cloruro di sodio al 6% circa (30 L). Le fasi acquose combinate vengono agitate con acqua (25 l) e MTBE (160 l) e il pH viene regolato a circa 6,5 con acido cloridrico circa 1N. La fase organica viene separata, il solvente viene delicatamente distillato a secchezza e il residuo viene sciolto in acetone (circa 75 l). Si tratta di uno scambio di solvente con acetone (6 operazioni di distillazione, ciascuna con circa 130 l) eseguite. Il prodotto target viene quindi precipitato aggiungendo in acqua, isolato per centrifugazione ed essiccato in un essiccatore sotto vuoto. Pertanto, un totale

di 16,5 kg di (S)-{8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-(2-metossi-5-trifluorometilfenil)-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico come solido amorfo, corrispondente al 96,4% della teoria.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $d_6$ -DMSO):  $\delta$  = 7,53 (d,  $^2J$  = 8,4, 1H), 7,41 (brs, 1H), 7,22 (d,  $^2J$  = 8,5, 1H), 7,09-7,01 (m, 2H), 6,86 (m, 2H), 6,45 (dd,  $^2J$  = 8,2,  $^3J$  = 1,8, 1H), 6,39-6,34 (m, 2H), 4,87 (t,  $^2J$  = 7,3, 1H), 3,79 (brs, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,50-3,38 (m, 4H), 2,96-2,75 (m, 5H), 2,45-2,40 (m, 1H) ppm;

MS (API-ES-neg.): m/z = 571 [(M-H), 100 %];

HPLC (metodo 1):  $R_T$  = 15,1 min;

HPLC (metodo 2): 99,8 % e.e.; Pd (ICP): <1 ppm.

## **B. Realizzazioni esemplificative di preparati farmaceutici secondo l'invenzione**

### Esempio 1

Preparazione di una preparazione farmaceutica con ciclodestrina:

In un pallone a tre colli da 250 ml, 30,03 g di idrossipropil  $\beta$ -ciclodestrina HP5 (Kleptose HPB, Roquette) vengono miscelati con 68,365 g di acqua per preparazioni iniettabili e 6,6 g di una soluzione di idrossido di sodio 1 M vengono aggiunti alla miscela. Dopo aver aggiunto 5,005 g del composto dell'e-

sempio 6A, la miscela viene riscaldata a 50°C e agitata per 24 ore fino a formare una soluzione limpida. La soluzione viene filtrata sterile (diametro dei pori 0,22 µm) e riempita in condizioni asettiche in contenitori di vetro sterili da 20 ml. I contenitori di vetro riempiti sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare.

#### Esempio di riferimento 2

Preparazione di una prima preparazione farmaceutica usando arginina come adiuvante:

Per preparare una prima soluzione madre, 262,38 mg di L-arginina vengono pesati in un matraccio tarato da 25 ml e quindi sciolti in circa 22 ml di acqua per preparazioni iniettabili. Alla risultante soluzione di arginina vengono aggiunti 504,51 mg del composto dell'esempio 6A e la miscela viene agitata per circa 1 ora fino ad ottenere una soluzione limpida. Infine, il volume viene riempito con acqua per preparazioni iniettabili.

Per preparare una seconda soluzione madre, 40,05 mg di sodio diidrogeno fosfato diidrato vengono pesati in un matraccio tarato da 50 ml e sciolti in circa 48 ml di acqua per preparazioni iniettabili. La miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida e il volume viene composto con acqua per

preparazioni iniettabili.

Per preparare una soluzione avente una concentrazione di 10 mg per ml di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenile]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico in un matraccio tarato da 25 ml, mescolare 12,5 ml della prima soluzione madre con 10 ml della seconda soluzione madre e regolare il pH lentamente e con attenzione con circa 200  $\mu$ l di HCl 1 M. Il volume viene quindi reintegrato con la seconda soluzione madre per ottenere una miscela finale a pH 7,9. Usando questo protocollo, i preparati contenenti varie concentrazioni di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico, in cui deve essere variata solo la quantità della prima soluzione madre utilizzata. Se necessario, tuttavia, va notato che il pH non varia troppo e in particolare non entra nell'area acida.

Le soluzioni risultanti sono filtrate sterili (diametro dei pori 0,22  $\mu$ m) e riempite in condizioni asettiche in contenitori sterilizzati. I contenitori sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare.

Esempio di riferimento 3

Preparazione di una seconda preparazione farmaceutica usando arginina come adiuvante:

Per preparare una prima soluzione madre, 2,1 g di L-arginina vengono sciolti in 88,8 g di acqua per preparazioni iniettabili. Alla risultante soluzione di arginina vengono aggiunti 2 g del composto dell'esempio 6A e la miscela viene agitata per circa 1 ora fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione risultante viene regolato a 7,8 dall'aggiunta goccia a goccia di HCl 1 M, prestando attenzione durante l'aggiunta per renderlo lento in modo che il composto dell'Esempio 6A non precipiti. Infine, se necessario, il volume della soluzione è composto da 100 ml.

Per la preparazione di una seconda soluzione madre, 3,1 g di sodio diidrogeno fosfato diidrato e 8,4 g di glucosio vengono pesati in un recipiente adatto e sciolti in circa 74,5 g di acqua per preparazioni iniettabili. La miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida e il pH della soluzione risultante viene regolato a pH 7,8 con NaOH 1 M. Infine, se necessario, il volume della soluzione è composto da 100 ml.

Per preparare una soluzione avente una concentrazione di 10 mg per ml di {8-fluoro-2-[4-(3-

metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenile]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico, 50,5 g della prima soluzione madre vengono miscelati con 53,0 g della seconda soluzione madre e lasciati per 5 minuti.

Usando questo protocollo preparazioni può con differenti concentrazioni di {8Fluor-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3, Si prepara l'acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il}, in cui deve essere variata solo la quantità della prima soluzione madre utilizzata.

Le soluzioni così ottenute vengono sterilizzati per filtrazione (diametro dei pori 0,22 µm) ed erogato sotto condizioni asettiche in contenitori sterilizzati. I contenitori sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare.

Esempio di riferimento 4

Preparazione di un terzo preparato farmaceutico con arginina come adiuvante:

Per preparare una prima soluzione madre, 1,05 g di L-arginina e 1 g del composto dell'esempio 6A vengono sciolti in circa 50,0 g di acqua per preparazioni iniettabili in un matraccio tarato da 100 ml e la miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione

limpida è. Il pH della soluzione risultante viene regolato a 7,8 dall'aggiunta goccia a goccia di HCl 0,1 M (circa 43,5 ml), facendo attenzione durante l'aggiunta per renderla lenta in modo che non precipitare viene il composto dell'esempio 6A. Infine, il volume della soluzione è composto da 100 ml. Per preparare una seconda soluzione madre, 1,56 g di sodio diidrogeno fosfato diidrato e 4,18 g di glucosio vengono sciolti in circa 80,0 g di acqua per preparazioni iniettabili in un matraccio tarato da 100 ml. La miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida e il pH della soluzione risultante viene regolato a pH 7,8 (circa 9,1 ml) con NaOH 1 M. Infine, il volume della soluzione è composto da 100 ml.

Per preparare una soluzione avente una concentrazione di 5 mg per ml di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenile]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico, 50,24 g della prima soluzione madre vengono miscelati con 51,35 g della seconda soluzione madre e agitati per 5 minuti.

Usando questo protocollo preparazioni può con differenti concentrazioni di {8Fluor-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-

(trifluorometil)fenil]-3, Si prepara l'acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il}, in cui deve essere variata solo la quantità della prima soluzione madre utilizzata.

Le soluzioni così ottenute vengono sterilizzati per filtrazione (diametro dei pori 0,22 µm) ed erogato sotto condizioni asettiche in contenitori sterilizzati. I contenitori sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare.

Esempio di riferimento 5

Preparazione di un quarto preparato farmaceutico con arginina come adiuvante:

Per preparare una prima soluzione madre, mescolare 2,11 g di L-arginina e 2,01 g del composto dell'Esempio 6A in un matraccio tarato da 100 ml e portare a volume con acqua per preparazioni iniettabili. Il pH di questa prima soluzione madre era 9,8.

Per preparare una seconda soluzione madre, 3,12 g di sodio diidrogeno fosfato diidrato, 8,35 g di glucosio e 0,50 g di NaCl vengono sciolti in circa 80,0 g di acqua per preparazioni iniettabili in un matraccio tarato da 100 ml. La miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida e il pH della soluzione risultante viene regolato a un pH di 6,5 (circa 9,7 ml) con NaOH 1 M. Infine, il volume della

soluzione è composto da 100 ml.

Per preparare una soluzione avente una concentrazione di 10 mg per ml di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico, 50,50 g della prima soluzione madre vengono miscelati con 52,65 g della seconda soluzione madre e lasciati per 5 minuti. agitata.

Usando questo protocollo preparazioni può con differenti concentrazioni di {8Fluor-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3, Si prepara l'acido acetico 4-diidrochinazolin-4-il}, in cui varia solo la quantità della prima soluzione madre utilizzata e, se necessario, il pH deve essere regolato.

Le soluzioni risultanti sono filtrate sterili (diametro dei pori 0,22  $\mu\text{m}$ ) e riempite in condizioni asettiche in contenitori sterilizzati. I contenitori sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare.

Esempio di riferimento 6

Preparazione di una preparazione farmaceutica che utilizza lisina come eccipiente

Per preparare una prima soluzione madre, 217,24 mg di lisina vengono pesati in un matraccio tarato da

25 ml e quindi sciolti in 22 ml di acqua per preparazioni iniettabili. Alla soluzione così ottenuta vengono aggiunti 500,71 mg del composto dell'esempio 6A e la miscela viene agitata per circa 1 ora fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione risultante viene quindi regolato a pH 8 con circa 460  $\mu$ l di HCl 1 M, facendo di nuovo attenzione che non vi sia un eccessivo abbassamento locale del pH e, di conseguenza, precipitazione del composto dell'esempio 6A viene. Infine, il volume viene riempito per iniezioni per ottenere una prima soluzione madre.

Per preparare una seconda soluzione madre, pesare 242,01 mg di sodio diidrogeno fosfato in un matraccio tarato da 50 ml e quindi sciogliere in circa 48 ml di acqua per preparazioni iniettabili. La miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione risultante viene regolato su un pH di 8 con circa 1.825  $\mu$ l di NaOH 1 M e il volume viene quindi compensato con acqua per preparazioni iniettabili.

Per preparare una soluzione avente una concentrazione di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-5mg di diidrochinazolina-4-il} acido acetico per ml di

soluzione, 6,5 ml della prima soluzione madre vengono posti in un matraccio tarato da 25 ml e il volume viene composto con la seconda soluzione madre per ottenere una soluzione con un pH finale di 8.

Come già detto, ad esempio, nell'esempio 2, variando la quantità della prima soluzione madre, i preparati farmaceutici con altre concentrazioni di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)-piperazin-1-il]-3-Acidoacetico [2metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}.

La soluzione risultante viene filtrata sterile (diametro dei pori 0,22 µm) e riempita in condizioni aseptiche in contenitori sterilizzati.

Esempio di riferimento 7

Preparazione di una preparazione farmaceutica solida che può essere ricostituita per la preparazione di una soluzione per infusione:

Per preparare una prima soluzione madre, 261,16 mg di L-arginina vengono pesati in un matraccio tarato da 25 ml e quindi sciolti in 22 ml di acqua per preparazioni iniettabili. Alla soluzione risultante vengono aggiunti 502,45 mg del composto dell'esempio 6A e la miscela viene agitata per circa 1 ora fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH di questa soluzione viene regolato su un valore di 7,8 con

circa 660  $\mu\text{l}$  di HCl 1 M, facendo di nuovo attenzione a che il composto dell'esempio 6A non precipiti e il volume venga riempito con acqua per preparazioni iniettabili.

Per preparare una seconda soluzione madre, 240,05 mg di sodio di idrogeno fosfato vengono pesati in un matraccio tarato da 50 ml e sciolti in circa 48 ml di acqua per preparazioni iniettabili. La miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione risultante viene regolato su un valore di 7,8 con circa 1850  $\mu\text{l}$  di NaOH 1 M e il volume viene composto con acqua per preparazioni iniettabili.

Per preparare una soluzione avente una concentrazione di {8-fluoro-2- [4- (3-metossifenil) piperazin-1-il] -3- [2-metossi-5- (trifluorometil) fenil] -3,4-Diidrochinazolina-4-il} acido acetico di 10 mg per ml, aggiungere 12,5 ml della prima soluzione madre in un matraccio tarato da 25 ml e portare a volume con la seconda soluzione madre per dare una soluzione pH finale di 7,8. 1 ml di ciascuna soluzione limpida incolore viene posto in contenitori di vetro da 2 ml, dotati di un tappo adeguato, e liofilizzati in un liofilizzatore EPSILON 2-4 D (Martin Christ GmbH, Germania) per ottenere una polvere incolore ottenuta

mediante aggiunta di nuovo 1 ml di acqua può essere facilmente convertito in una soluzione adatta per uso endovenoso.

Esempio di riferimento 8

Preparazione di una preparazione farmaceutica solida che può essere ricostituita per la preparazione di una soluzione per infusione:

Per preparare una prima soluzione madre, miscelare 210,49 g di L-arginina con 9665,8 g di acqua per preparazioni iniettabili e mescolare la miscela fino ad ottenere una soluzione limpida. 199,23 g del composto dell'esempio 6A vengono aggiunti alla soluzione risultante in piccole porzioni e con agitazione, e la miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida, ma almeno per 30 minuti.

Per preparare una seconda soluzione madre, 309,19 g di sodio diidrogeno fosfato diidrato, 827,47 di glucosio, 49,55 g di cloruro di sodio e 7900,0 g di acqua vengono agitati ai fini dell'iniezione fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione risultante viene regolato a 6,55 con NaOH 1 M e alla soluzione risultante 1418,29 g meno la quantità di soluzione NaOH utilizzata per regolare il pH viene aggiunta all'acqua per preparazioni iniettabili.

Per preparare la soluzione desiderata, la seconda

soluzione madre viene aggiunta lentamente e in piccole porzioni agitando delicatamente nella prima soluzione madre e la soluzione risultante viene filtrata sterile. 15 ml di ciascuna soluzione limpida incolore vengono riempiti in appositi contenitori di vetro sterili, dotati di un tappo adeguato, e liofilizzati in un liofilizzatore per ottenere una polvere incolore.

Il liofilizzato così ottenuto può essere ricostituito senza problemi, ad esempio aggiungendo 30 ml di acqua ai fini dell'iniezione, a una soluzione che viene quindi nuovamente diluita se necessario per l'uso nelle infusioni.

#### Esempio 9

Preparazione di una seconda preparazione farmaceutica con ciclodestrina:

2,00 g del composto dell'esempio 6A vengono pesati e trattati con 30 g di una soluzione NaOH 0,1 M e la miscela risultante è di 30 min. agitato (non è necessario dissolvere completamente il composto dell'esempio 6A). Alla miscela risultante vengono aggiunti 57,7 g di acqua per preparazioni iniettabili e 15,0 g di idrossipropil ciclodestrina HP5 (HPT, Roquette) e 0,31 g di NaCl e la miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida. La solu-

zione viene filtrata sterile (diametro dei pori 0,22  $\mu\text{m}$ ) e riempita in condizioni asettiche in contenitori di vetro sterili da 20 ml. I contenitori di vetro riempiti sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare. I contenitori di vetro riempiti così ottenuti possono facoltativamente essere sterilizzati a caldo.

#### Esempio 10

Preparazione di una terza preparazione farmaceutica con ciclodestrina:

2,00 g del composto dell'esempio 6A vengono pesati e trattati con 30 g di una soluzione NaOH 0,1 M e la miscela risultante è di 30 min. agitato (non è necessario dissolvere completamente il composto dell'esempio 6A). Alla miscela risultante vengono aggiunti 54,8 g di acqua per preparazioni iniettabili e 20,0 g di idrossipropil  $\beta$ ciclodestrina HP5 (HPT, Roquette) e 0,205 g di NaCl e la miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida. La soluzione viene filtrata sterile (diametro dei pori 0,22  $\mu\text{m}$ ) e riempita in condizioni asettiche in contenitori di vetro sterili da 20 ml. I contenitori di vetro riempiti sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare. I contenitori di vetro riempiti così ottenuti possono facoltativamente essere

sterilizzati a caldo.

#### Esempio 11

Preparazione di una quarta preparazione farmaceutica con ciclodestrina:

0,5 g del composto dell'esempio 6A vengono pesati e aggiunti a 8,75 g di una soluzione di NaOH 0,1 M e la miscela risultante è di 30 min. agitato (non è necessario dissolvere completamente il composto dell'esempio 6A). Alla miscela risultante vengono aggiunti 12,45 g di acqua per preparazioni iniettabili e 5,0 g di 2-O-metil- $\beta$ -ciclodestrina (Crysmeb, Roquette) e la miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione viene regolato a pH 7,5 con HCl 1M, la soluzione viene filtrata sterile (diametro dei pori 0,22  $\mu\text{m}$ ) e riempita in condizioni asettiche in contenitori di vetro sterili da 20 ml. I contenitori di vetro riempiti sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare. I contenitori di vetro riempiti così ottenuti possono facoltativamente essere sterilizzati a caldo.

#### Esempio 12

Preparazione di una quinta preparazione farmaceutica con ciclodestrina:

0,5 g del composto dell'esempio 6A vengono pesati e

trattati con 13.125 g di una soluzione NaOH 0,1 M e la miscela risultante è di 30 min. agitato (non è necessario dissolvere completamente il composto dell'esempio 6A). Alla miscela risultante vengono aggiunti 8,075 g di acqua per preparazioni iniettabili e 5,0 g di solfoalchil etere  $\beta$ -ciclodestrina (Captisol, CyDex Pharmaceuticals Inc.) e la miscela viene agitata fino ad ottenere una soluzione limpida. Il pH della soluzione viene regolato a pH 7,5 con 500  $\mu$ l di HCl 1M, la soluzione viene filtrata sterile (diametro dei pori 0,22  $\mu$ m) e riempita in condizioni asettiche in contenitori di vetro sterili da 20 ml. I contenitori di vetro riempiti sono sigillati con tappi per infusione e tappi a crimpare. I contenitori di vetro riempiti così ottenuti possono facoltativamente essere sterilizzati a caldo.

Prima della somministrazione, la soluzione descritta può essere diluita con una soluzione isotonica, ad esempio una soluzione di infusione isotonica.

### **C. Misurazione della stabilità**

Per misurare la stabilità delle soluzioni preparate negli Esempi da 1 a 6, 25°C, 40°C e per due e tre e sei settimane, sono stati tra 2 e 8°C, memorizzati, in cui tutte le soluzioni hanno dimostrato sufficiente stabilità.

Inoltre, la stabilità di un prodotto dalla preparazione dell'Esempio 7 ricostituita soluzione 24 è stata agitata a 2 e 8°C, testato 25°C e 40°C, in cui la soluzione è stata trovata in tutte le condizioni nelle 24 ore per essere stabile.

**D. Esperimenti comparativi per preparati farmaceutici solidi**

Per dimostrare le proprietà vantaggiose della preparazione farmaceutica solida ottenuta nell'esempio 7 rispetto ad altre preparazioni solide, gli ingredienti solidi contenuti nella soluzione sono stati miscelati e quindi sono stati condotti esperimenti di ricostituzione. In nessuno dei casi studiati è stato possibile ottenere una soluzione chiara.

**E. Valutazione dell'attività fisiologica**

L'effetto in vitro delle preparazioni dell'invenzione sulla replicazione di HCMV (citomegalovirus umano) può essere dimostrata nel seguente saggio antivirale:

**F. Test di riduzione della fluorescenza HCMV**

La soluzione dell'esempio 8 viene utilizzata senza ulteriore diluizione nel test. Per confronto, il composto dell'esempio 6A viene usato come soluzioni da 50 millimolari (mM) in dimetilsolfossido (DMSO). Ad esempio, ganciclovir®, foscarnet® o cidofovir® posso-

no essere utilizzati come composti di riferimento. Un giorno prima del test,  $1,5 \times 10^4$  fibroblasti di pre-puzio umano (cellule NHDF)/pozzetto in terreno di coltura cellulare da 200  $\mu$ l vengono seminati nei pozzetti B2-G11 di piastre da 96 pozzetti (nero con fondo trasparente). I pozzetti marginali di ciascuna piastra da 96 pozzetti sono riempiti solo con terreno da 200 $\mu$ l per evitare effetti sui bordi. Il giorno del test, il terreno di coltura cellulare dei pozzetti B2 G11 di ciascuna piastra da 96 pozzetti viene aspirato e sostituito da 100  $\mu$ l di sospensione virale (molteplicità di infezione (MOI):0,1-0,2). Il virus utilizzato è un HCMV ricombinante che ha integrato una cassetta di espressione per la proteina di fluorescenza verde (GFP) nel genoma virale (HCMV AD 169 RV-HG (Borst EM, K. Wagner, A. Binz, B. Sodeik, e M. Messerle, 2008, J. Virol. 82:2065-2078.)). Dopo un periodo di incubazione di 2 ore a 37°C e 5% CO<sub>2</sub>, il virus inoculato viene aspirato e tutti i pozzetti, tranne i pozzetti nella colonna 3, vengono riempiti con 200 $\mu$ l di terreno di coltura cellulare. La colonna 2 non viene ulteriormente trattata e funge da controllo del virus. I pozzetti nella colonna 3 sono ciascuno riempito in duplicato con 300 $\mu$ l di preparazione o soluzione della sostanza in esame (quest'ultima diluita

nel mezzo di coltura cellulare). La concentrazione della rispettiva sostanza antivirale nella colonna 3 è la concentrazione di 27 volte del valore  $EC_{50}$  atteso rispettivamente. La sostanza in esame nella colonna 3 viene diluita 1:3 in 8 passaggi sulla piastra a 96 pozzetti trasferendo in ciascun caso  $100\mu\text{l}$  di una colonna nella rispettiva colonna di destra e mescolandola con il terreno di coltura cellulare esistente da  $200\mu\text{l}$ . In questo modo, tre sostanze antivirali vengono testate in doppio. Le piastre vengono incubate per 7 giorni a  $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$ . Successivamente, tutti i pozzetti di una piastra vengono lavati 3 volte con PBS (fosfato tamponato salino) e riempiti con  $50\mu\text{l}$  di PBS. Successivamente, l'intensità GFP di ciascun pozzetto di una piastra a 96 pozzetti viene determinata mediante un lettore a fluorescenza (FluoBox, Bayer Technology Services GmbH; GFP, Ex 480nm, Em 520nm). Dai valori misurati così ottenuti, l' $EC_{50}$  di una sostanza anti-HCMV può essere determinato:

$EC_{50}$  (GFP-RA) = Concentrazione della sostanza in  $\mu\text{M}$ , la quale riduce del 50% la fluorescenza GFP nelle cellule infette, rispetto a quanto riscontrato nei virus non trattati.

Rappresentativa in vitro dati relativi all'attività

per composti dell'invenzione sono riportati in tabella 1:

Tabella 1

<b>Ceppo virale</b>	Esempio 6A EC <sub>50</sub> [µM]	Esempio 8 EC <sub>50</sub> [µM]	Ganciclovir EC <sub>50</sub> [µM]
AD169 RV-HG	0.0022 ± 0.0002	0.0026 ± 0.0005	2.5 ± 0.4

#### RIVENDICAZIONI

1. Preparazione farmaceutica per somministrazione endovenosa, comprendente:

- a) {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-il} acido acetico o sale, un solvato o un solvato di un suo sale,
- b) un adiuvante selezionato tra le ciclodestrine e
- c) acqua.

2. Preparato farmaceutico secondo la rivendicazione 1, comprendente inoltre almeno un tampone selezionato tra i tamponi fosfato, i tamponi tris e i tamponi citrato.

3. Preparato farmaceutico secondo la rivendicazione 1 o 2, comprendente inoltre almeno uno zucchero.

4. Preparato farmaceutico secondo la rivendicazione 3, in cui lo zucchero è selezionato dal gruppo costituito da glucosio, saccarosio, lattosio, maltosio, trealosio, sorbitolo e mannitolo.

5. Preparazione farmaceutica secondo una delle ri-

vendicazioni da 1 a 4, **caratterizzata dal fatto che** {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il} acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale in una quantità corrispondente a 1 - 100 mg di principio attivo puro per ml di preparato.

6. Preparazione farmaceutica secondo una delle rivendicazioni da 1 a 5, **caratterizzata dal fatto che** la preparazione ha un pH da 7,5 a 8,5.

7. Preparazione farmaceutica secondo una delle rivendicazioni da 1 a 6, **caratterizzata dal fatto che** almeno un eccipiente in una quantità da 1 a 5 equivalenti basato sul contenuto di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazina-1 il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il} acido acetico.

8. Formulazione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 7, **caratterizzata dal fatto che** almeno un eccipiente in una quantità da 2 a 5 equivalenti basato sul contenuto di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazina-1 il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina-4-il}acido acetico.

9. Preparazione farmaceutica secondo una delle ri-

vendicazioni da 1 a 6, **caratterizzata dal fatto che** l'eccipiente viene scelto tra le  $\beta$  ciclodestrine e le  $\beta$  ciclodestrine modificate, in particolare le idrossialchil  $\beta$ -ciclodestrine, le alchilidrossialchil  $\beta$ -ciclodestrine e le sulfoalchil ciclodestrine.

10. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 9, **caratterizzata dal fatto che** il preparato si basa sul contenuto di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometile)acido (aceticofenil)]-3,4-diidrochinazolin-4-il} ha da 1 a 10 equivalenti di ciclodestrina e da 0 a 2,0 equivalenti di NaOH.

11. Preparazione farmaceutica secondo una delle rivendicazioni da 1 a 6 o secondo la rivendicazione 9 o 10, **caratterizzata dal fatto che**, rispetto a 100 ml, comprende

- a) 0,5 2,5 g di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolina4-il}acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale,
- b) 10,0 30,0 g di HP-  $\beta$ -ciclodestrina,
- c) 0,0-350 mg, in particolare 100 125 mg di NaOH e
- d) acqua in cui la preparazione ha un pH da 7,5 a 8,5.

12. Preparazione farmaceutica secondo una delle rivendicazioni da 1 a 6 o secondo le rivendicazioni da 9 a 11, **caratterizzata dal fatto che**, rispetto a 100 ml, comprende

- a) preferibilmente 1,0 2,0 g di {8-fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil) fenil]-3,4-diidrochinazolina 4-il}acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale,
- b) preferibilmente 12,5 g 22,5 gHP- $\beta$ ciclodestrina,
- c) preferibilmente da 75 a 225 mg, in particolare da 100 a 125 mg di NaOH, e
- d) acqua in cui la preparazione ha un pH da 7,5 a 8,5.

13. Una preparazione farmaceutica solida preparata liofilizzando una preparazione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 12.

14. Procedimento per la preparazione di un preparato farmaceutico secondo una delle rivendicazioni da 1 a 8, comprendente le seguenti fasi, vale a dire:

- A) Sciogliendo almeno un eccipiente nell'acqua,
- B) Aggiungi {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-

il}acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale alla soluzione ottenuta nella fase A),

C) aggiungendo facoltativamente almeno uno zucchero e/o almeno un tampone,

D) Regolazione del pH al livello desiderato per ottenere una preparazione farmaceutica, e

E) filtrazione sterile della soluzione ottenuta nella fase D) e riempimento in contenitori idonei.

F) sterilizzazione facoltativa finale della soluzione ottenuta nella fase E) mediante riscaldamento.

15. Procedimento per la preparazione di un preparato farmaceutico secondo una delle rivendicazioni da 1 a 8, comprendente le seguenti fasi, vale a dire:

I.) sciogliere almeno un eccipiente in una parte dell'acqua,

II.) Aggiungi {8-Fluoro-2-[4-(3-metossifenil)piperazin-1-il]-3-[2-metossi-5-(trifluorometil)fenil]-3,4-diidrochinazolin-4-

il}acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un suo sale alla soluzione ottenuta nella fase I.),

III.) Facoltativamente regolando il pH della soluzione ottenuta nella fase II.) Al valore desiderato

per ottenere una prima soluzione,

IV.) Sciogliere almeno uno zucchero e / o un tampone in una parte dell'acqua,

V.) facoltativamente regolando il pH della soluzione ottenuta nella fase IV.) Al valore desiderato per ottenere una seconda soluzione,

VI.) Mescolando la prima e la seconda soluzione per ottenere una preparazione farmaceutica, e

VII.) Filtrazione sterile della soluzione ottenuta nella fase VI.) E riempimento in contenitori idonei.

VIII.) Se necessario, sterilizzazione finale della soluzione ottenuta nella fase VII.) Per riscaldamento.

16. Procedimento per la preparazione di un preparato farmaceutico secondo una delle rivendicazioni da 1 a 6 o da 9 a 12, comprendente le seguenti fasi, vale a dire:

a.) Aggiunta di {8-Fluoro-2- [4- (3-metossifenil) piperazin-1-il] -3- [2-metossi-5- (trifluorometil) fenil] -3,4-diidrochinazolina-4 yl} acido acetico o un sale, un solvato o un solvato di un sale in una soluzione acquosa di NaOH, preferibilmente una soluzione acquosa di NaOH 0,1 M, per la preparazione di una soluzione o sospensione,

b.) aggiungere acqua alla soluzione o sospensione ot-

tenuta nella fase a.),

c.) Aggiunta di ciclodestrina e NaCl alla soluzione o sospensione ottenuta nella fase b.),

d.) Filtrazione sterile della soluzione ottenuta nella fase c.) e riempimento in contenitori idonei.

e.) se necessario, sterilizzazione finale della soluzione ottenuta nella fase d.) mediante riscaldamento.

17. Procedimento per produrre una preparazione farmaceutica solida secondo la rivendicazione 13, che comprende la preparazione di una preparazione farmaceutica secondo un processo di una qualsiasi delle rivendicazioni 14-16, seguita da una fase di liofilizzazione della preparazione farmaceutica ottenuta per ottenere una preparazione farmaceutica solida.

18. Preparazione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 13 per l'uso in un metodo per il trattamento e / o la profilassi delle malattie.

19. Una preparazione farmaceutica secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 13 per l'uso nel trattamento e / o nella profilassi delle infezioni virali.

20. Preparazione farmaceutica secondo una qualsiasi

delle rivendicazioni da 1 a 13 per l'uso nel trattamento delle infezioni da HCMV o da un altro membro del gruppo di herpes viridae.

---

Per traduzione conforme al testo originale

Titan Patents & Trademarks s.r.l.