

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1 Titulo de la Invención(200 caracteres o espacios máximos)

FORMAS SÓLIDAS DE CEFTOLOZANO.

2 Datos del Solicitante

Nombre:

MERCK SHARP
& DOHME CORP

**Dirección
Electrónica:**

patents@olartemoure.com

Dirección:

126 East Lincoln
Avenue, Rahway,
New Jersey 07065-
0907

**Domicilio/País de
constitución:**

ESTADOS UNIDOS DE
AMERICA - NEW JERSEY -
RAHWAY

Identificación:

☐ CEDULA DE
CIUDADANIA

☐ CEDULA DE
EXTRANJERIA

☒ EMPRESA
EXTRANJERA

☐ NIT

☐ PASAPORTE

Número:

4099004-

3 Solicitantes

**Apellidos - Nombres o Razón
Social**

Tipo

Identificación

1.

MERCK SHARP & DOHME
CORP

NN

4099004

4 Datos del Inventor

Nombre:		You Seok HWANG	Dirección Electrónica:	patents@olartemoure.com																																								
Dirección:		42 Mitchell Pond Road Windham, NH 03087	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - NEW HAMPSHIRE - WINDHAM																																								
Identificación:																																												
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT ☒ No Aplica																																												
Número:		-																																										
5	Inventor(es)																																											
<table><thead><tr><th colspan="2">Apellidos - Nombres</th><th colspan="2">Domicilio</th></tr></thead><tbody><tr><td>1.</td><td>HWANG You Seok</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>2.</td><td>DAMOUR Nicole Miller</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>3.</td><td>DUONG Lisa</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>4.</td><td>JURKAUSKAS Valdas</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>5.</td><td>MOSHOS Kristos Adrian</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>6.</td><td>MUDUR Sanjay</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>7.</td><td>OVAT Asli</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>8.</td><td>TERRACCIANO Joseph</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>9.</td><td>WOERTINK Jason</td><td colspan="2">ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr></tbody></table>					Apellidos - Nombres		Domicilio		1.	HWANG You Seok	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		2.	DAMOUR Nicole Miller	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		3.	DUONG Lisa	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		4.	JURKAUSKAS Valdas	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		5.	MOSHOS Kristos Adrian	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		6.	MUDUR Sanjay	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		7.	OVAT Asli	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		8.	TERRACCIANO Joseph	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		9.	WOERTINK Jason	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	
Apellidos - Nombres		Domicilio																																										
1.	HWANG You Seok	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
2.	DAMOUR Nicole Miller	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
3.	DUONG Lisa	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
4.	JURKAUSKAS Valdas	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
5.	MOSHOS Kristos Adrian	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
6.	MUDUR Sanjay	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
7.	OVAT Asli	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
8.	TERRACCIANO Joseph	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
9.	WOERTINK Jason	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																																										
6	Datos Inventor(es)																																											
<table><thead><tr><th>País de Residencia</th><th>Departamento/Estado</th><th>Ciudad</th><th>Dirección</th></tr></thead><tbody><tr><td>1. ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td><td>NEW HAMPSHIRE</td><td>WINDHAM</td><td>42 Mitchell Pond Road Windham, NH 03087</td></tr></tbody></table>					País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección	1. ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	NEW HAMPSHIRE	WINDHAM	42 Mitchell Pond Road Windham, NH 03087																																
País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección																																									
1. ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	NEW HAMPSHIRE	WINDHAM	42 Mitchell Pond Road Windham, NH 03087																																									

2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	BELMONT	81 Pine Street Belmont, MA 02478
3.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	LYNN	670 Boston Street Lynn, MA 01905
4.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CAMBRIDGE	226 Brattle Street Cambridge, MA 02138
5.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	BELMONT	44 Bartlett Avenue Belmont, MA 02478
6.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	WOBURN	51 Cedar Street, Apt 4114 Woburn, MA 01801
7.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	MAYNARD	2 Oscar´s Way Maynard MA 01754
8.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MASSACHUSETTS	CONCORD	280 Deacon Haynes Road Concord MA 01742
9.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	MICHIGAN	MIDLAND	5401 Wallbridge Lane, Midland MI 48640
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		CARLOS R. OLARTE GARCIA	Dirección Electrónica:	patents@olartemoure.com
Dirección:		patents@olartemoure.com	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación:				
☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT				

Número:		79782747-	
Presentación de Poder			
Año de Radicación			
Número de Radicación			
8	Datos Solicitud: PCT / WO		
Número Solicitud:	PCT/US2014/057343	Fecha Solicitud:	25/09/2014
Número Publicacion:	WO2015/048217	Fecha Publicacion:	02/04/2015
9	Declaraciones de prioridad	☒ SI ☐ NO	
	(33) País de origen	Codigo del país	(31) No. Solicitud
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	US	61/883,530
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	US	14/289,224
3.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	US	14/289,251
			(32) Fecha
			27/09/2013
			28/05/2014
			28/05/2014
10	Reivindicaciones		
Número reivindicaciones:		48	Pago Reivindicaciones:
			No
11	Reducción de tasas.		
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
12	Documentos Anexos		
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias			

- ☐ Artes finales 12 x 12 cm
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☒ Otros Anexos

FORMAS SÓLIDAS DE CEFTOLOZANO

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos No. 61/883.530, presentada el 27 de septiembre de 2013, la Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 14/289.224, presentada el 28 de mayo de 2014, y la solicitud de patente No. 14/ 289.251, presentada el 28 de mayo de 2014, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

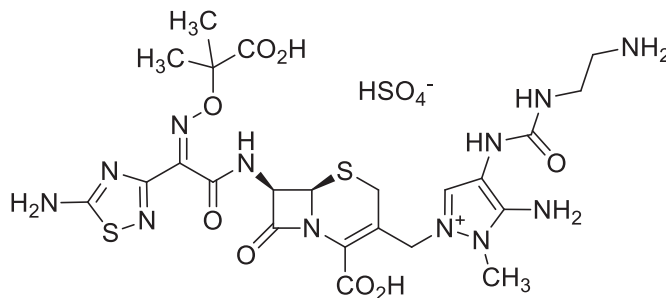
CAMPO TÉCNICO

Esta descripción se refiere a formas sólidas de ceftolozano.

FUNDAMENTO

El estado cristalino de un compuesto puede ser importante cuando el compuesto se utiliza para fines farmacéuticos. En comparación con un sólido amorfo, las propiedades físicas sólidas de un compuesto cristalino pueden cambiar de una forma sólida a otra, lo que puede afectar a su idoneidad para el uso farmacéutico. Además, diferentes formas sólidas de un compuesto cristalino pueden incorporar diferentes tipos y/o diferentes cantidades de impurezas. Las diferentes formas sólidas de un compuesto también pueden tener diferente estabilidad química tras la exposición a calor y/o agua durante un periodo de tiempo.

El ceftolozano es un agente antibacteriano de cefalosporina, también conocido como CXA-101, FR264205, o por nombres químicos tales como (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino}-1-metil-1H-pirazol-2-ilo-2-il)metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino)-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato, y 7β -[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metiletoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxilato. El sulfato de ceftolozano es una sal de ceftolozano farmacéuticamente aceptable de la fórmula (I) que se pueden formular para la administración intravenosa o infusión.



(I)

La patente de Estados Unidos No. 7.129.232 da a conocer la sal de sulfato ácido de ceftolozano entre otras sales "con una base o una sal de adición de ácido tal como una sal con una base inorgánica, por ejemplo, una sal de metal alcalino [por ejemplo, sal de sodio, sal de potasio, etc.] , una sal de metal alcalinotérreo [ej., sal de calcio, sal de magnesio, etc.], una sal de amonio; una sal con una base orgánica, por ejemplo, una sal de amina orgánica [ej., sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de picolina, sal de etanolamina, sal de trietanolamina, sal de dicitclohexilamina, sal de N, N'-dibenciletilendiamina, etc.]; una sal de adición de ácido inorgánico [ej., hidrocloreuro, hidrobromuro, sulfato, sulfato de hidrógeno, fosfato, etc.]; sal de adición ácida de un ácido orgánico carboxílico o sulfónico [por ejemplo, formiato, acetato, trifluoroacetato, maleato, tartrato, citrato, fumarato, metanosulfonato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, etc.]; y una sal con un amino ácido básico o ácido [por ejemplo, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, etc.]." Además, la Patente de Estados Unidos No. 7.129.232 da a conocer una forma sólida cristalina de sulfato de ceftolozano obtenida disolviendo sulfato de ceftolozano en una solución de agua y etanol y agregando los cristales de siembra para obtener la forma cristalina descrita en la presente como el Ejemplo 1 (Comparativo). Una síntesis de ceftolozano también se describe en la Patente de Estados Unidos No. 7.129.232.

Como se reporta en el presente documento, sigue habiendo una necesidad de formas sólidas de ceftolozano que tiene una estabilidad aumentada del ceftolozano. Por ejemplo, la pureza de ceftolozano en una solución acuosa de etanol durante la precipitación de acuerdo con los métodos de la patente de Estados Unidos 7.129.232 se redujo de 97% a 68% durante una prueba de estabilidad de 6 días (véase el Ejemplo 3), como se mide mediante cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC). En consecuencia, sigue existiendo una necesidad de formas

sólidas de ceftolozano que tienen una mayor estabilidad del ceftolozano para su uso como fármacos y en el desarrollo de medicamentos.

RESUMEN

Nuevas formas sólidas de ceftolozano (ej., sulfato de ceftolozano cristalino) descritas en este documento incluyen sulfato de ceftolozano en Forma 1 y Forma 2, así como composiciones que comprenden una forma sólida de ceftolozano que comprende al menos una o más de forma 1 de sulfato de ceftolozano y la Forma 2 de sulfato de ceftolozano. Nuevas composiciones también incluyen Forma sólida 1 de sulfato de ceftolozano, forma sólida 2 de sulfato de ceftolozano y/o formas sólidas cristalinas y amorfas de ceftolozano. Una nueva forma sólida 1 de ceftolozano y una nueva forma sólida 2 de ceftolozano de sulfato de ceftolozano pueden ambas ser identificadas por medio de difracción de rayos-X de polvo (XRPD), ambas con una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8. Además, las difracciones de ceftolozano en ambas la Forma sólida 1 y la Forma sólida 2 pueden producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} . Una composición de ceftolozano preferida puede incluir ceftolozano en una o más formas sólidas (por ejemplo, forma sólida 1 y/o forma sólida 2), caracterizadas por un patrón de XRPD con difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8, además de los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos en alrededor de 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} .

Una nueva Forma sólida 1 de ceftolozano de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0. Además, el ceftolozano en la forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .

Una nueva Forma sólida de ceftolozano 2 de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7. Además, el ceftolozano en la forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

Los solicitantes también han descubierto que nuevas formas sólidas de sal de ceftolozano (por ejemplo, la Forma 1 y la Forma 2 de sulfato de ceftolozano) también se pueden obtener al mantener una forma sólida de sal de ceftolozano bajo condiciones físicas eficaces para convertir una sal de ceftolozano en una primera forma sólida en una sal ceftolozano en una segunda forma sólida. Por ejemplo, la realización de una isoterma de sorción de agua (por ejemplo, Figura 5) de sulfato de ceftolozano en Forma 1 mostró una transformación reversible entre sulfato de ceftolozano en la forma sólida 1 y la forma sólida 2 como una función de la humedad relativa. La forma sólida de ceftolozano puede ser cambiada por el mantenimiento del ceftolozano en ciertas condiciones de humedad relativa (por ejemplo, como se describe en la isoterma de sorción de agua para el sulfato de ceftolozano en la Figura 5). ceftolozano en la forma sólida 2 se puede convertir en ceftolozano en la Forma 1 mediante el mantenimiento de una muestra a una humedad relativa (RH) eficaz para convertir ceftolozano en la Forma 2 en ceftolozano en la Forma 1 a una temperatura adecuada (por ejemplo, RH de aproximadamente 50% o mayor a una temperatura de alrededor de 20 a 25 grados C, preferiblemente al menos aproximadamente 70% de humedad relativa a una temperatura de alrededor de 25 grados C). Una vez formado de esta manera, ceftolozano en la forma sólida 1 se puede convertir en sulfato de ceftolozano en la Forma 2 mediante la reducción de la humedad relativa (por ejemplo, RH de aproximadamente 20 a 40%). El sulfato de ceftolozano en la Forma 2 se puede convertir en una mezcla de sulfato de ceftolozano amorfo y la Forma 2 al reducir la humedad relativa a menos de aproximadamente 20%.

Las formas sólidas de ceftolozano (Forma 1 y Forma 2) pueden obtenerse a partir de una solución que comprende isopropanol, o mediante el mantenimiento de una forma sólida de ceftolozano en condiciones eficaces para convertir una primera forma sólida en una segunda forma sólida (por ejemplo, mediante el mantenimiento de sulfato de ceftolozano en Forma 1 en condiciones físicas eficaces para formar sulfato de ceftolozano en la Forma 2, o la conversión de la forma 2 en condiciones físicas eficaces para formar sulfato de ceftolozano de la Forma 1). Un método de fabricación mejorado puede incluir las etapas de (a) combinar sulfato de ceftolozano con un exceso molar de ácido sulfúrico (por ejemplo, aproximadamente 2,5 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano) e isopropanol (por ejemplo, aproximadamente 20 a 40 volúmenes de isopropanol con respecto a la cantidad de ceftolozano activo) en condiciones eficaces para producir una forma sólida de ceftolozano (por ejemplo, forma de sulfato de

ceftolozano 1), y (b) aislar la forma sólida de ceftolozano (por ejemplo, mediante el filtrado de la forma sólida de ceftolozano a partir de una solución que comprende el isopropanol).

Los solicitantes han descubierto nuevos métodos de fabricación de formas sólidas de sulfato ceftolozano que proporcionan una mayor estabilidad de ceftolozano durante la
5 fabricación en comparación con los métodos de fabricación de formas sólidas de ceftolozano descritos en la patente de Estados Unidos 7.129.232 (véase el Ejemplo Comparativo 1 en el presente documento). Los métodos de fabricación mejorados se basan en parte en el descubrimiento de que las formas sólidas de sulfato de ceftolozano obtenidos por ciertos
10 procesos que comprenden el uso de isopropanol (por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 2a) con ceftolozano proporcionan estabilidad mejorada de ceftolozano en una fase líquida durante la fabricación (en comparación con los métodos de fabricación descritos en la patente de EE.UU. 7.129.232), como se mide por una pureza de ceftolozano de aproximadamente 82% después de un ensayo de estabilidad de ceftolozano de 6-días del Ejemplo 3 (en comparación con
15 alrededor de 68% a partir de formas sólidas de ceftolozano divulgadas en la Patente de Estados Unidos 7.129.232). Las nuevas formas sólidas de ceftolozano, incluyendo la forma sólida de sulfato de ceftolozano 1 y forma sólida de ceftolozano 2, se pueden obtener a partir de una solución acuosa con alcohol isopropílico, incluso en ausencia de etanol. Por el contrario, la patente EE.UU. No. 7.129.232 da a conocer una forma sólida de ceftolozano obtenida a partir de una solución acuosa sin alcohol isopropílico.

20 Los métodos de fabricación son útiles para la fabricación de composiciones antibióticas que comprenden ceftolozano en una o más formas sólidas adecuadas para el tratamiento de infecciones. Por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende ceftolozano para la administración parenteral se puede obtener a partir de sulfato de ceftolozano en la forma sólida 1 y/o la forma sólida 2 mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) formar una solución
25 de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano en una Forma sólida 1 y/o Forma sólida 2, y (b) liofilizar la solución de ceftolozano para obtener una composición liofilizada de ceftolozano. La composición de ceftolozano liofilizado se puede combinar con tazobactam (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) para obtener una composición farmacéutica CXA-201 adecuada para la administración por vía intravenosa después de la reconstitución.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1** muestra dos patrones de difracción de rayos X de polvo de nuevas formas sólidas de sulfato de ceftolozano. El patrón superior corresponde al producto del Ejemplo 2a. El patrón inferior corresponde al producto del Ejemplo 2b.

5 La **Figura 2** representa dos espectros Raman de las nuevas formas sólidas de sulfato de ceftolozano. El patrón superior corresponde al producto del Ejemplo 2a. El patrón inferior corresponde al producto del Ejemplo 2b.

La **Figura 3** es una curva de análisis termogravimétrico (TGA) para el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada en la presente como la Forma 2.

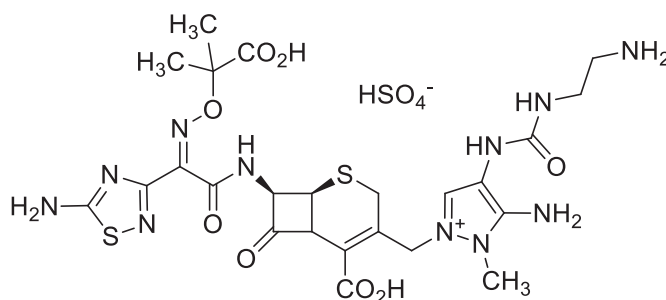
10 La **Figura 4** es un termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designado en la presente como la Forma 2.

La **Figura 5** es una isoterma de la sorción/desorción de humedad para formas sólidas de sulfato de ceftolozano.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA

ceftolozano puede prepararse como una sal farmacéuticamente aceptable en una o más formas sólidas. ceftolozano también se conoce como CXA-101; número de registro CAS 689293-68-3; (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino)-1-metil-1H-pirazol-2-io-2-il)metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino)-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato, y 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metiletoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxilato; ácido 5-Tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico, 3-[[4-[[[(2-aminoetil)amino]carbonil]amino]-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1H-pirazol-1-il]metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino]-8-oxo-, (6R,7R)-; y (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino)-1-metil-1H-pirazol-2-io-2-il)metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino)-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato. Sulfato ceftolozano es un ejemplo de una sal

farmacéuticamente aceptable de ceftolozano. La estructura de sulfato de ceftolozano se muestra a continuación.



Sulfato de ceftolozano

- 5 Sulfato ceftolozano también se conoce como: Número de registro CAS 936111-69-2; 1H-Pirazolio, 5-amino-4-[[[(2-aminoetil)amino]carbonil]amino]-2-[[[(6R,7R)-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metil-etoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil]-1-metil-, sulfato (1:1); y monosulfato de 5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino}-2-[[[(6R,7R)-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4 tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metil-etoxi)imino]acetil]amino)-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil}-1-metil-1H-pirazolio.
- 10

El sulfato de ceftolozano puede producirse en una forma sólida amorfa o en una forma sólida cristalina o en mezclas de formas sólidas. Las formas sólidas cristalinas de ceftolozano pueden existir en una o más formas sólidas únicas, que pueden comprender adicionalmente uno o más equivalentes de agua o disolvente (es decir, hidratos o solvatos, respectivamente).

15

Como se describe en el presente documento, el sulfato de ceftolozano cristalino precipitado o cristalizado a partir de isopropanol/agua tiene estabilidad significativamente mejorada en una solución que comprende isopropanol en comparación con la estabilidad en una solución que comprende etanol, tal como se utiliza para preparar sulfato de ceftolozano cristalino precipitado a partir de etanol/agua, como se describe anteriormente en Patente de Estados Unidos No. 7.129.232 (véase el Ejemplo 3). Por otra parte, las formas cristalinas precipitadas o cristalizadas a partir de isopropanol/agua tienen distintos picos de XRPD característicos (véanse los Ejemplos 1 y 2, y las Tablas 4 y 6) que no se observaron en las formas cristalinas previamente descritas de ceftolozano descritas en la Patente de Estados Unidos No. 7.129.232.

20

25 En consecuencia, se proporcionan en la presente, nuevas formas sólidas cristalinas de sulfato de

ceftolozano, composiciones farmacéuticas de las mismas, y métodos de preparación de dichas formas sólidas cristalinas de sulfato de ceftolozano y métodos de uso de los mismos.

Las nuevas formas sólidas de ceftolozano se pueden obtener a partir de soluciones acuosas que comprenden ceftolozano y alcohol isopropílico (en la presente, también llamado IPA, o isopropanol). Como se describió en el Ejemplo 2a, el sulfato de ceftolozano en la forma sólida 1 se puede obtener mediante la formación de una solución de ceftolozano que comprende una sal de ceftolozano, un ácido fuerte e IPA y el mantenimiento de la solución bajo condiciones eficaces para formar una torta húmeda de ceftolozano que contiene la Forma 1 de la sal de ceftolozano. Preferiblemente, la solución de ceftolozano es una solución acuosa que comprende ceftolozano y el ácido fuerte (por ejemplo, ácido sulfúrico) en una cantidad que proporciona al menos 1 equivalente molar del ácido fuerte a la cantidad molar de ceftolozano en la solución. En ciertos ejemplos, la Forma 1 de ceftolozano se obtiene a partir de una solución de ceftolozano que es filtrada por refinamiento y la temperatura se ajusta y se mantiene durante todo el proceso de formación y aislamiento de sales. Una solución de ácido sulfúrico acuoso (H_2SO_4) puede cargarse al lote. Opcionalmente, esto puede ser seguido por la siembra con cristales de sulfato de ceftolozano. El lote es añejado, seguido por la adición de IPA durante un período de tiempo. Después de la adición de IPA, el lote se agita durante un período adicional, y después se filtra. La torta húmeda de sulfato de ceftolozano se lava con una solución de IPA y agua

La solución de ceftolozano se mantiene preferiblemente a una temperatura eficaz para proporcionar una pureza deseada y rendimiento del ceftolozano en la forma sólida 1, tal como 8-12 grados C. Además de la temperatura (ej., 8-12 grados C, preferiblemente 10 grados C aproximadamente), y la cantidad de ácido fuerte (ej., ácido sulfúrico en una cantidad que proporciona 1-3 equivalentes molares, y preferiblemente 2.45-2.55 equivalentes molares, con relación a la cantidad molar de ceftolozano), la concentración de ceftolozano antes de la formación de sales (ej., 75-85 g/L), la cantidad de semillas (ej., 0.1 a 1 w/w%) y tiempo de añejamiento después de la siembra (ej., 2-4 horas) también son parámetros que se pueden ajustar para obtener ceftolozano en la forma sólida de la Forma 1. Los procesos particularmente preferidos para la fabricación de la forma sólida de sulfato de ceftolozano de la Forma 1 incluyen el mantenimiento de una solución acuosa de sulfato de ceftolozano, alcohol isopropílico y ácido sulfúrico a una temperatura de 8-12 grados C. La Tabla 1 proporciona el rango de ejemplo de los valores de varios parámetros del proceso para la fabricación de formas sólidas de sulfato de

ceftolozano, junto con intervalos preferidos y valores onjetivo (los más preferidos) para cada parámetro de proceso.

Tabla 1: Parámetros de Proceso para la Formación y Aislamiento de Formas Sólidas de Sulfato de ceftolozano

Parámetro de Proceso	Rango de Ejemplo	Rango Preferido	Valor Objetivo
Concentración de ceftolozano después de la nanofiltración final (g/L)	72 a 100	75 a 85	80
Ácido sulfúrico (equivalente)	1.50 a 2.95	2.45 a 2.55	2.5
Cantidad de Semilla (p/p%)	0.03 a 4.0	0.1 a 1.0	0.3
Tiempo de añejamiento, después de la siembra (h)	1 a 5	2 a 4	3
Cantidad de IPA (vol)	20 a 40	29 a 31	30
Tiempo de adición de IPA (h)	0.5 a 8	6 a 7	6.5
Tiempo de añejamiento, después de la adición de IPA (h)	0 a 8	1 a 6	2
Temperatura (°C)	5 a 15	8 a 12	10
4:1 (v/v) IPA/solución de lavado con agua (vol)	≥ 2	≥ 2	4

Las formas sólidas de ceftolozano se pueden obtener por métodos que comprenden la etapa de combinar sulfato de ceftolozano y un disolvente, tal que se forma una solución que comprende sulfato de ceftolozano, y tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita a partir de la solución. Las formas sólidas cristalinas de sulfato de ceftolozano se pueden obtener a partir de métodos que incluyen las etapas de: (1) combinar sulfato de ceftolozano y un disolvente, tal que se forma una solución de sulfato de ceftolozano; y (2) combinar un antidisolvente con la solución, en donde el antidisolvente es miscible con el disolvente y en donde el sulfato de ceftolozano es parcial o totalmente insoluble en el antidisolvente, tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o se cristaliza a partir de la solución.

Una composición de sulfato de ceftolozano puede obtenerse mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) formar una solución que comprende agua, 72-100 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano; (b) combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico agregado a la solución durante 0.5-8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y (c) aislar el sulfato de ceftolozano sólido a partir de la solución. La temperatura de la solución puede ser de aproximadamente 0-20 grados C, preferiblemente 8-12 grados C (por ejemplo, 10 grados C). Opcionalmente, el procedimiento puede incluir además la adición de semilla de cristal de sulfato de ceftolozano, preferiblemente en una cantidad de 0.03-4.0% w/w y permitir que el cristal de siembra madure en la solución durante aproximadamente 1-5 horas. Opcionalmente, el procedimiento puede incluir permitir que la solución madure durante hasta aproximadamente 8 horas después de añadir el alcohol isopropílico.

En otro aspecto, los métodos de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino puede incluir las etapas de: (1) combinar la base libre de ceftolozano (es decir, la forma no salina de ceftolozano que tiene una carga neta formal de cero) y un disolvente, tal que se forma una solución de base libre ceftolozano; (2) combinar un ácido con la solución de la base libre de ceftolozano (ej., en una cantidad que proporciona un equivalente molar o un exceso del ácido a la base libre de ceftolozano, y/o una cantidad eficaz para ajustar el pH de la solución de ceftolozano a 1.5 a 2.0 aproximadamente); y (3) permitir que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipite o cristalice a partir de la solución. Además, el método puede incluir la adición de un antidisolvente (preferiblemente alcohol isopropílico) en una cantidad eficaz para proporcionar una tasa o medida deseada de precipitación y/o cristalización de la ceftolozano en la solución. Por consiguiente, la etapa (3) puede comprender además combinar un antidisolvente con la solución, en donde el antidisolvente es miscible con el disolvente y en donde el sulfato de ceftolozano es parcial o totalmente insoluble en el antidisolvente, tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o se cristaliza a partir de la solución. En algunas modalidades, la temperatura de la solución se ajusta a 0-20° C. En otras modalidades, la etapa (3) comprende la etapa de sembrar la solución con uno o más cristales de sulfato de ceftolozano. En algunas modalidades, el volumen de antidisolvente que se añade a la solución es de 20-40 volúmenes relativos al ceftolozano. En algunas modalidades, la temperatura de la solución formada en la etapa (1) se ajusta a 0-20 °C antes de proceder a la etapa (2). En una modalidad, el método de

fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino también puede incluir la etapa de: (4) secar el sulfato de ceftolozano cristalino precipitado o cristalizado. El secado puede comprender técnicas incluyendo, pero no limitado a, secado al aire, exposición al vacío, exposición a un flujo de gas neutro (por ejemplo, nitrógeno) y calor.

- 5 En una modalidad alternativa, el ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) primero se puede combinar con el disolvente, y luego la mezcla resultante se combina con ceftolozano. Alternativamente, ceftolozano y el ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) primero se pueden combinar, y luego la mezcla resultante se combina con el disolvente. En una modalidad, se añade el anti-disolvente a la solución de sulfato de ceftolozano o base libre. En otra modalidad, la
- 10 solución de sulfato de ceftolozano o base libre se añadió al antidisolvente. En ciertas modalidades, el disolvente se selecciona del grupo que consiste de agua y ácido sulfúrico. En ciertas modalidades, el antidisolvente se selecciona del grupo que consiste en alcoholes, éteres, ésteres, cetonas, nitrilos, amidas, nitroalcanos, nitroarenos, disolventes aromáticos sustituidos o no sustituidos, disolventes alifáticos sustituidos o no sustituidos y mezclas de los mismos. En
- 15 ciertas modalidades, el antidisolvente se selecciona de entre el grupo constituido por acetona, acetonitrilo, 1-butanol, ciclohexano, diclorometano, éter diisopropílico, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, 1,4-dioxano, etanol, acetato de etilo, heptanos, metanol, acetato de isopropilo, metil etil cetona, metil isobutil cetona, N-metil-2-pirrolidinona, nitrometano, isopropanol, éter
- 20 terc-butilmetílico, tetrahidrofurano, tolueno y mezclas de los mismos. En una modalidad preferida, el disolvente es agua. En otra modalidad preferida, el anti-disolvente es isopropanol.

- También se proporciona en este documento un método de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino, que comprende uno o más pasos seleccionados del grupo que consiste en: (1) combinar base libre de ceftolozano, ácido sulfúrico y agua, de manera que se forma una solución acuosa de sulfato de ceftolozano; y (2) combinar isopropanol con la solución acuosa, tal
- 25 que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o cristaliza a partir de la solución. En otro aspecto, se proporciona en la presente un método de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino, que comprende: (1) combinar la base libre de ceftolozano, ácido sulfúrico y una mezcla de disolvente/antidisolvente, tal que se forma una solución de sulfato de ceftolozano; y (2) combinar un antidisolvente con la solución, en donde el antidisolvente es miscible con el
- 30 disolvente y en donde el sulfato de ceftolozano es parcial o totalmente insoluble en el antidisolvente, tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o se cristaliza a partir de la

solución. En otro aspecto, se proporciona en la presente un método de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino que comprende las etapas de: a) disolver sulfato de ceftolozano en agua para obtener una primera solución de sulfato de ceftolozano; b) combinar la primera solución de sulfato de ceftolozano con isopropanol para proporcionar una segunda solución de sulfato de ceftolozano; c) cristalizar el sulfato de ceftolozano de la segunda solución para obtener sulfato de ceftolozano cristalino. En otro aspecto, se proporciona en la presente, sulfato de ceftolozano cristalino producido de acuerdo con una cualquiera de los métodos anteriores. En otro aspecto, se proporciona en la presente, sulfato de ceftolozano cristalino obtenible por uno cualquiera de los métodos anteriores. Los procesos y métodos descritos en este documento también pueden comprender además la adición de uno o más cristales de siembra de sulfato de ceftolozano cristalino.

Tal como se utiliza en la presente, el término "precipitado" se refiere a la formación de una sustancia sólida a partir de una solución que contiene la misma sustancia. Una sustancia que se precipita a partir de la solución puede ser amorfa o cristalina. La precipitación puede producirse bajo una variedad de condiciones conocidas por los expertos en la técnica, incluyendo el tratamiento de una solución de un soluto (por ejemplo, soluto A en disolvente B) con un antidisolvente (es decir, un disolvente que es miscible con el disolvente B, pero no disuelve el soluto A). Ejemplos no limitantes de pares disolventes/antidisolventes incluyen agua/isopropanol.

Las formas sólidas de ceftolozano pueden ser identificadas por diversas técnicas analíticas, tales como la difracción de rayos X de polvo (XRPD). Las formas sólidas de sulfato de ceftolozano en forma sólida 1 y una nueva forma sólida de ceftolozano 2 de sulfato de ceftolozano pueden ambas ser identificadas mediante XRPD, teniendo ambas una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0,2$) de 24.2 y 37.8. Además, ceftolozano en ambas la Forma sólida 1 y la Forma sólida 2 pueden ambas producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} . Una composición de ceftolozano preferida puede incluir ceftolozano en una o más formas sólidas (por ejemplo, forma sólida 1 y/o forma sólida 2), caracterizadas por un patrón de XRPD con difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8, además de los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , y 1329 cm^{-1} . Además, las composiciones que comprenden sulfato de ceftolozano

en la forma sólida 1 y/o la forma sólida 2 pueden ser identificadas por los patrones XRPD con difracciones en los valores 2-theta ($2\theta \pm 0,2$) indicados en la Tabla 4 (para la Forma 1) y/o la Tabla 6 (para la Forma 2), respectivamente.

Una nueva Forma sólida de ceftolozano 1 de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0. Además, el ceftolozano en la forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} . En una modalidad, se proporciona en la presente la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos en sustancialmente los mismos ángulos que el espectro superior de la Figura 1. En otra modalidad, la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene uno o más picos sustancialmente en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) como se muestra en la Tabla 4.

Una nueva Forma sólida de ceftolozano 2 de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7. Además, el ceftolozano en la Forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , y 2953 cm^{-1} . En una modalidad, la Forma 2 de sulfato de ceftolozano cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos característicos a sustancialmente los mismos ángulos que el espectro inferior en la Figura 1. En otra modalidad, la Forma 2 de sulfato de ceftolozano cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene uno o más picos en sustancialmente los mismos ángulos ($2\theta \pm 0.2$) como se muestra en la Tabla 6.

Las formas cristalinas de sulfato de ceftolozano también pueden caracterizarse por su contenido de agua. En una modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende 11-27%, 12-26%, 13-25%, 14-24%, 15-23%, 16-22%, o 17-21% de agua en peso. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende 18 a 20% de agua por peso. En otra modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende aproximadamente 26.3% por peso de

agua. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino es decahidrato de sulfato de ceftolozano.

Las formas cristalinas de sulfato de ceftolozano también se pueden definir por su contenido de agua. En una modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende 4-10%, 5-9%, o 6-8% de agua por peso. La Forma 1 de sulfato de ceftolozano puede incluir aproximadamente 18-20% de agua. La Forma 2 de sulfato de ceftolozano puede incluir menos de aproximadamente 11% de agua, y preferiblemente aproximadamente 5-11% de agua, y más preferiblemente aproximadamente 7-8% de agua.

En otra modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende alrededor de 7% de agua por peso. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino es trihidrato de sulfato de ceftolozano.

En algunas modalidades, el sulfato de ceftolozano cristalino se puede caracterizar mediante espectroscopia Raman. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 1 tiene un espectro Raman sustancialmente de acuerdo con el espectro superior mostrado en la Figura 2. En otra modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 1 tiene un espectro Raman con uno o más picos en sustancialmente las mismas posiciones ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) como se muestra en la Tabla 5. La Forma sólida 1 de ceftolozano puede producir picos de desplazamiento Raman que comprenden uno o más de los determinados picos no observados en la Forma 1, en alrededor de ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .

En otras modalidades, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 2 tiene un espectro Raman sustancialmente de acuerdo con el espectro inferior mostrado en la Figura 2. En otra modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 2 tiene un espectro Raman con uno o más picos en sustancialmente las mismas posiciones ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) como se muestra en la Tabla 7. La Forma sólida 2 de ceftolozano puede producir picos de desplazamiento Raman que comprenden uno o más de los picos a aproximadamente ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1.174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

ceftolozano en la Forma sólida 1 y la Forma sólida 2 se caracterizan ambas por picos de desplazamiento Raman intensos ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) a aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} . Además, la forma sólida 1 y la Forma sólida 2 de ceftolozano pueden producir picos de

desplazamiento Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos como se indica en las Tablas 5 y 7 ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$).

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición que comprende formas sólidas amorfas y cristalinas de sulfato de ceftolozano. En una modalidad, la composición
5 comprende sulfato de ceftolozano cristalino y sulfato de ceftolozano amorfo, en donde el sulfato de ceftolozano amorfo está presente en una cantidad seleccionada a partir de los siguientes rangos: 90-99%, 80-89%, 70-79%, 60-69%, 50-59%, 40-49%, 30-39%, 20-29%, 10-19%, 1-9% y 0-0,99%.

En algunas modalidades, el sulfato de ceftolozano cristalino es un hidrato. En una
10 modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino es decahidrato de sulfato de ceftolozano. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende monosulfato de 5-amino-4 - $\{[(2\text{-aminoetil}) \text{ carbamoil}] \text{ amino}\} - 2 - \{(6 R, 7 R) - 7 - (\{(2 Z) - 2 - (5\text{-amino-1,2,4 tiadiazol-3-il}) - 2 - [(1\text{-carboxi-1-metiletoxi}) \text{imino}] \text{acetil}\} \text{ amino}) - 2\text{-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo}[4.2.0] \text{oct-2-en-3-il}\} \text{metil}\} - 1\text{-metil-1 } H\text{-pirazolio y agua en una proporción molar 1:10.}$

En otra modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino es trihidrato de sulfato
15 de ceftolozano. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano comprende monosulfato de 5-amino-4 - $\{[(2\text{-aminoetil}) \text{ carbamoil}] \text{ amino}\} - 2 - \{(6 R, 7 R) - 7 - (\{(2 Z) - 2 - (5\text{-amino-1,2,4 tiadiazol-3-il}) - 2 - [(1\text{-carboxi-1-metiletoxi}) \text{imino}] \text{acetil}\} \text{ amino}) - 2\text{-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo}[4.2.0] \text{oct-2-en-3-il}\} \text{metil}\} - 1\text{-metil-1 } H\text{-pirazolio y agua en una proporción molar 1:3.}$

En comparación con las formas cristalinas anteriores de sulfato de ceftolozano, ciertas
20 nuevas formas cristalinas de sulfato de ceftolozano tienen propiedades ventajosas. Por ejemplo, se encontró que estas formas cristalinas fueron químicamente más estables, lo cual puede ser beneficioso para la preparación de diversas formulaciones de fármacos.

Una composición farmacéutica puede comprender, y/o puede obtenerse a partir de la forma
25 sólida de sulfato de ceftolozano designada como la Forma 2 de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2 \text{ theta} \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9 y 17.7. El sulfato de ceftolozano puede producir picos de desplazamiento Raman en aproximadamente 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

Una composición farmacéutica puede contener o ser obtenida a partir de una forma sólida de ceftolozano caracterizada por uno o más de los siguientes: (a) la forma sólida de sulfato de ceftolozano produce un patrón XRPD que comprende además difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$): 4.4, 8.8, 11.0, 14.9 y 17.7; (b) la forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 1 que produce un patrón XRPD que comprende además una o más difracciones adicionales en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) enumerados en la Tabla 6; (c) la forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman a aproximadamente ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} ; (d) la forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 1 que produce uno o más picos de desplazamiento Raman en valores listados en la Tabla 7; y cualquier combinación de una o más de las características (a) - (d).

Una composición farmacéutica puede contener o ser obtenida a partir de una composición de ceftolozano liofilizada obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de: (a) combinar sulfato de ceftolozano en la forma sólida designada aquí como sulfato de ceftolozano en la forma sólida 2, con agua, cloruro de sodio y L-arginina para formar una solución acuosa; y (b) liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada que comprende sulfato de ceftolozano. La composición farmacéutica obtenida por un método de este tipo puede incluir la realización de un ciclo de liofilización que se caracteriza por una o más de las siguientes características: (a) concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano/g de solución a granel, (b) no más de 3 cm de profundidad de relleno, (c) congelar a al menos $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante el ciclo de liofilización, (d) secar a no más de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, y (e) secado de una o de varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de secado primario a no más de 400 μbar .

Una composición de sulfato de ceftolozano puede obtenerse mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) formar una solución que comprende agua, 72-100 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano; (b) combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico agregado a la solución durante 0.5-8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y (c) aislar la composición de sulfato de ceftolozano sólido a partir de la solución.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano y tazobactam se pueden obtener mediante la mezcla de una primera composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de ceftolozano con una segunda composición que comprende una

cantidad terapéuticamente eficaz de tazobactam para formar una composición farmacéutica mezclada. La composición farmacéutica puede comprender ceftolozano o una sal terapéuticamente eficaz del mismo y tazobactam o una sal farmacéuticamente eficaz del mismo en una cantidad que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo. La composición antibiótica farmacéutica incluye preferiblemente ceftolozano y tazobactam en una proporción de peso 2: 1 de ceftolozano activo a tazobactam activo ("CXA-201"), que muestra actividad antibacteriana, incluyendo la actividad antibiótica contra infecciones causadas por muchos patógenos Gram-negativos tales como *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). En particular, CXA-201 es una composición farmacéutica útil para la administración intravenosa para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas y/o infecciones del tracto urinario complicadas, y se está evaluando para el tratamiento de la neumonía.

Los métodos de tratamiento de una infección seleccionada del grupo que consiste en: infección intra-abdominal complicada (cIAI), infección del tracto urinario complicada (cUTI), o neumonía bacteriana asociada a ventilador o adquirida en hospital (HABP/VABP) también se proporcionan en el presente documento. Estos métodos pueden incluir administrar a un paciente una composición farmacéutica inyectable que comprende ceftolozano en una preparación inyectable preparada a partir de una composición liofilizada obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de: (a) combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y (b) liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano.

Las composiciones farmacéuticas se pueden obtener mediante la combinación de tazobactam (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) en una o más formas sólidas con una composición de ceftolozano que comprende ceftolozano en una o más sales y/o formas sólidas. El ceftolozano en la composición farmacéutica puede ser sulfato de ceftolozano en una o más formas sólidas descritas en este documento, incluyendo amorfo, Forma 1, Forma 2 y/o combinaciones de los mismos. El ceftolozano en la composición farmacéutica se puede obtener por un proceso que comprende liofilizar una solución de sulfato de ceftolozano en la Forma sólida 1, Forma sólida 2 y/o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, el ceftolozano en la

composición farmacéutica se puede preparar en ausencia de tazobactam mediante la formación de una solución acuosa que comprende sulfato de ceftolozano en la Forma sólida 1, Forma sólida 2 y/o combinaciones de los mismos y otros componentes, incluyendo excipientes, estabilizadores, aditivos de ajuste del pH (por ejemplo, buffers) y similares. Ejemplos no limitantes de estos aditivos incluyen cloruro de sodio, ácido cítrico y L-arginina. Por ejemplo, el uso de cloruro de sodio resulta en una mayor estabilidad; L-arginina se utiliza para ajustar la solución acuosa a un pH de 5-7 (por ejemplo, a un pH de 6-7) y para aumentar la solubilidad de ceftolozano; y el ácido cítrico se usa para prevenir la decoloración del producto, debido a su capacidad de quelar iones metálicos. En una modalidad, el pH de la primera solución acuosa es adecuado para la fabricación de un producto inyectable (ej., un rango de pH de 5-7, incluyendo 6-7). Preferiblemente, la primera solución acuosa comprende alrededor de 125 mg - 500 mg de un agente de estabilización de ceftolozano (tales como cloruro de sodio) por 1.000 mg de ceftolozano activo. El ceftolozano puede ser incluido como una cantidad de sulfato de ceftolozano de la fórmula (I) que contiene al menos aproximadamente 1.000 mg de ceftolozano activo. Luego la solución acuosa que comprende ceftolozano (ej., sulfato de ceftolozano en la Forma 2, y/o otras formas sólidas descritas en este documento) se liofiliza para formar una primera composición liofilizada de ceftolozano, que se combina con tazobactam, por ejemplo, el tazobactam liofilizado (ej., Tazobactam sódico liofilizado) o tazobactam cristalino.

La composición farmacéutica se puede obtener mediante la combinación de la composición de ceftolozano con una (segunda) composición tazobactam (ej., preferiblemente, pero no necesariamente, preparada en ausencia de ceftolozano) mediante la formación de una segunda solución que comprende tazobactam. El tazobactam se puede incluir en una cantidad que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo (es decir, una relación de peso 1:2 de tazobactam activo a ceftolozano activo).

Tazobactam es un inhibidor de beta-lactamasa en su forma de ácido libre. A menos que se indique lo contrario, el tazobactam puede ser un ácido libre, una sal de sodio, una sal de arginina, o un hidrato o solvato del mismo. En una modalidad, el tazobactam en la composición de tazobactam (segunda) es ácido de tazobactam y la segunda composición comprende además bicarbonato de sodio o hidróxido de sodio. La liofilización de tazobactam en la presencia de bicarbonato de sodio o hidróxido de sodio forma un sodio de tazobactam liofilizado, que puede ser mezclado adicionalmente con la (primera) composición de ceftolozano liofilizada.

Las composiciones farmacéuticas pueden obtenerse por liofilización (por ejemplo, liofilizar una solución acuosa de ceftolozano obtenida al disolver ceftolozano en la Forma 2 y/o la Forma 1 con otros componentes tales como un agente estabilizante, un agente quelante y/o un agente alcalinizante). Métodos específicos de liofilización se describen en Remington

- 5 Pharmaceutical Sciences, Capítulo 84, página 1565, Decimoctava Edición, A.R. Gennaro, (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990).

Las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano y tazobactam se pueden formular para tratar infecciones por administración parenteral (incluyendo administración subcutánea, intramuscular, e intravenosa). Las composiciones farmacéuticas pueden comprender
10 adicionalmente excipientes, estabilizadores, aditivos reguladores del pH (por ejemplo, buffers) y similares. Ejemplos no limitantes de estos aditivos incluyen cloruro de sodio, ácido cítrico y L-arginina. Por ejemplo, el uso de cloruro de sodio resulta en una mayor estabilidad; L-arginina se utiliza para ajustar el pH y aumentar la solubilidad de ceftolozano; y el ácido cítrico se usa para prevenir la decoloración del producto, debido a su capacidad de quelar iones metálicos. En una
15 modalidad particular, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se formulan para administración por inyección intravenosa o infusión.

Las composiciones antibióticas farmacéuticas se pueden proporcionar en un recipiente de forma de dosificación unitaria (por ejemplo, en un vial o bolsa, o similares). La forma de dosificación unitaria se puede disolver con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y luego se
20 administra por vía intravenosa. La forma de dosificación unitaria comprende 1.000 mg de ceftolozano activo y 500 mg de tazobactam, típicamente 1,000 mg de ceftolozano activo como sulfato de ceftolozano y 500 mg de tazobactam activo como tazobactam sódico, argininato o ácido libre. Las formas de dosificación unitaria se almacenan comúnmente en viales.

En un aspecto, se proporciona en la presente un recipiente de forma de dosificación
25 unitaria (ej., una bolsa, vial o similares) que contiene una forma de dosificación unitaria de una composición farmacéutica formulada para la administración parenteral para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas, la composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfato de ceftolozano y tazobactam en una proporción de 1,000 mg de ceftolozano activo por 500 mg de tazobactam activo, la composición farmacéutica
30 obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

a. liofilización de una primera solución acuosa en ausencia de tazobactam, la primera solución acuosa que comprende sulfato de ceftolozano, 125 mg a 500 mg de cloruro de sodio por 1.000 mg de ceftolozano activo, L-arginina y / o ácido cítrico en una cantidad eficaz para ajustar el pH de la primera solución acuosa para 5-7 (por ejemplo, 6-7) antes de la liofilización para
5 obtener una primera composición ceftolozano liofilizada,

b. liofilizar una segunda solución en ausencia de ceftolozano, la segunda solución que comprende tazobactam que se liofiliza para formar una segunda composición liofilizada de tazobactam; y

c. mezclar la primera composición liofilizada de ceftolozano y la segunda
10 composición liofilizada de tazobactam para obtener una composición farmacéutica mezclada en la forma de dosificación unitaria.

En una modalidad del contenedor de la forma de dosificación unitaria, el tazobactam en la segunda solución es el ácido de tazobactam, y en donde el ácido de tazobactam en la segunda solución se liofiliza en presencia de bicarbonato de sodio o hidróxido de sodio, formando así
15 tazobactam sódico liofilizado en la segunda composición liofilizada de tazobactam.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento que comprenden sulfato de ceftolozano y tazobactam en una proporción de 1,000 mg de ceftolozano activo por 500 mg de tazobactam activo, se pueden obtener mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

20 a. liofilizar una primera solución acuosa en ausencia de tazobactam, la primera solución acuosa que comprende sulfato de ceftolozano a un pH de 5-7 (ej., 6-7) antes de la liofilización para obtener una primera composición liofilizada de ceftolozano,

b. mezclar la primera composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam para obtener una composición antibacteriana.

25 Según se proporciona en la presente, ceftolozano puede ser estabilizado en una composición farmacéutica que comprende ceftolozano y una cantidad estabilizante eficaz de un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en: cloruro de sodio, dextrano 40, lactosa, maltosa, trehalosa y sacarosa. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento se basan en parte en el sorprendente descubrimiento de que las composiciones

farmacéuticas de ceftolozano que comprenden estos agentes estabilizantes demuestran mejores proporciones residuales de ceftolozano (ej., % de ceftolozano restante después de 3 días a 70 grados C, medido por HPLC) y/o la estabilidad química (ej., menor reducción en la pureza de ceftolozano medida por HPLC después de 7 días a 60 grados C en un ensayo de estabilidad) en comparación con las muestras de control que comprenden ceftolozano sin un agente de estabilización.

De acuerdo con ello, las composiciones farmacéuticas antibióticas preferidas pueden incluir sulfato de ceftolozano y un agente estabilizante (ej., 300 a 500 mg de un agente estabilizante por 1000 mg de ceftolozano activo) en una forma de dosificación unitaria liofilizada (ej., polvo en un recipiente). La forma de dosificación unitaria puede ser disuelta con un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, solución salina acuosa de cloruro de sodio al 0.9% y/o agua para inyección), y después se administra por vía intravenosa. En ciertas composiciones de ceftolozano, el agente estabilizante puede seleccionarse del grupo que consiste en: cloruro de sodio, lactosa, maltosa y dextrano 40, y/o puede seleccionarse del grupo que consiste en: cloruro de sodio, trehalosa y sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas de ceftolozano que comprenden 125-500 mg (por ejemplo, 480 a 500 mg) de cloruro de sodio por 1000 mg de ceftolozano activo demuestran pureza de ceftolozano y estabilidad química mejoradas en comparación con composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano con cloruro de sodio comparativamente menor. Las composiciones farmacéuticas de ceftolozano divulgadas comprenden una cantidad estabilizante de cloruro de sodio (por ejemplo, 125 a 500 mg de cloruro de sodio [más específicamente, 480-500 mg] por 1000 mg de ceftolozano activo). Ciertas composiciones preferidas demuestran pureza y estabilidad química mejoradas del ceftolozano en comparación con las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano con comparativamente menos cloruro de sodio. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas descritas comprenden típicamente menos de 4% de impureza total aproximadamente después de ser almacenadas durante siete días a 60 grados C, como se determina por HPLC. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas descritas comprenden menos de aproximadamente 2% de la impureza representada por el pico 1 después de haber sido almacenadas durante siete días a 60° C, como se determinó por HPLC (consultar el método HPLC descrito en la Tabla 10), donde el pico 1 tiene un tiempo de retención relativo a ceftolozano de aproximadamente 0.15.

Otra modalidad de la invención es un recipiente que contiene una forma de dosificación unitaria de una composición farmacéutica formulada para administración parenteral para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas o infecciones complicadas del tracto urinario. El recipiente puede ser obtenido por un procedimiento que comprende las etapas de: a) 5 liofilizar una solución acuosa que comprende 189 mg de sodio a partir de cloruro de sodio por 1.000 mg de ceftolozano activo en la forma de sulfato de ceftolozano y que comprende además ácido cítrico, y L-arginina para obtener una composición liofilizada de ceftolozano; y b) llenar una cantidad suficiente de la composición liofilizada en un recipiente para obtener una forma de dosificación unitaria que comprende un ceftolozano que estabiliza una cantidad estabilizante 10 efectiva de sodio a partir de cloruro de sodio (por ejemplo, 125-500 mg de cloruro de sodio por 1 g de ceftolozano activo) y 1000 mg de ceftolozano activo en la forma de sulfato de ceftolozano. En un aspecto, el pH de la solución acuosa es 6.0 a 7.0. En otro aspecto, la composición farmacéutica se formula para administración parenteral mediante la reconstitución de la composición farmacéutica en el recipiente (por ejemplo, con 10 ml de diluyente tal como agua 15 para inyección o solución salina isotónica) seguido de la adición de la composición farmacéutica reconstituida a un vehículo para inyección (por ejemplo, aproximadamente 100 ml de solución salina isotónica u otro vehículo farmacéuticamente aceptable para la administración intravenosa). Opcionalmente, el recipiente también se llena con tazobactam (por ejemplo, un tazobactam liofilizado como tazobactam sódico). En aún otro aspecto, la composición farmacéutica es una 20 composición líquida que comprende 487 mg de cloruro de sodio por 1.000 mg de ceftolozano activo y tazobactam en una cantidad que proporciona aproximadamente 500 mg de ácido de tazobactam equivalente por 1.000 mg de ceftolozano activo, formulada para administración parenteral y el pH de la solución acuosa es de 5.0 a 7.0 y preferiblemente de aproximadamente 6.0 a 7.0.

25 La composición farmacéutica en el recipiente también puede ser un ceftolozano/tazobactam para Fármaco de Inyección, 1,000 mg/500 mg. Se presenta como una combinación de dos polvos estériles activos en un único recipiente destinado a la reconstitución e infusión intravenosa. En una modalidad, el fármaco se prepara mediante la conversión de sulfato de ceftolozano a una composición estéril como un polvo con excipientes ácido cítrico, cloruro de 30 sodio y L-arginina. Esto se puede hacer por liofilización, como se describe en el presente documento. El fármaco Tazobactam sódico se puede presentar como un polvo estéril sin

excipientes. El fármaco tazobactam sódico se puede liofilizar, secar por pulverización o proporcionar como un material cristalino. Luego el fármaco se prepara al llenar de manera aséptica los dos polvos (ej., los dos polvos de fármaco liofilizados por separado) secuencialmente en un solo recipiente.

- 5 En una modalidad, el recipiente de ceftolozano/tazobactam para inyección contiene aproximadamente 2255 mg de polvo de composición estéril de ceftolozano que contiene 1147 mg de sulfato de ceftolozano, que es equivalente a 1 000 mg de la base libre de ceftolozano, así como aproximadamente 537 mg de fármaco estéril de tazobactam sódico, equivalente a 500 mg de ácido libre de tazobactam. En el momento de la administración, el recipiente se reconstituye
- 10 con 10 mL de vehículo, inyección de dextrosa USP estéril al 5%, Agua para Inyección o Inyección de Cloruro de Sodio USP al 0.9%, luego el contenido del recipiente se diluyó adicionalmente en una bolsa de infusión de Inyección de Cloruro de Sodio USP al 0.9% o Inyección de Dextrosa USP al 5% para la administración.

- Las composiciones farmacéuticas que contienen ceftolozano también pueden incluir una
- 15 cantidad de tazobactam en una forma farmacéuticamente aceptable que proporciona 500 mg de ácido de tazobactam por 1.000 mg de ceftolozano activo como una composición formulada para inyección, o para la reconstitución antes de la administración parenteral. En una presentación del producto, el ceftolozano/tazobactam se puede proporcionar en un único recipiente que comprende sulfato de ceftolozano y tazobactam sódico, administrada mediante la reconstitución
- 20 de la forma de dosificación unitaria de ceftolozano/tazobactam del contenedor para formar una formulación inyectable reconstituida. En una presentación (por ejemplo, para el tratamiento de ciertas infecciones del tracto urinario y/o ciertas infecciones intra-abdominales), cada recipiente de forma de dosificación unitaria de CXA-201 puede contener 1.000 mg de ceftolozano activo (peso equivalente de base libre, por ejemplo, proporcionado como una sal farmacéuticamente
- 25 aceptable, tal como sulfato de ceftolozano) y tazobactam sódico estéril a una cantidad equivalente de 500 mg de ácido libre de tazobactam, en una forma sólida. En otra presentación (por ejemplo, para el tratamiento de neumonía bacteriana asociada a ventilador o adquirida en hospital (HABP/VABP) (HABP/VABP)), un producto de ceftolozano/tazobactam puede incluir un recipiente de forma de dosificación unitaria que proporciona 2,000 mg de ceftolozano activo
- 30 (ej., como una cantidad equivalente de sulfato de ceftolozano) y 1,000 mg de ácido de tazobactam (ej., como una cantidad equivalente de tazobactam sódico). Las composiciones de

ceftolozano/tazobactam muestran una potente actividad antibacteriana contra diversas infecciones gram-negativas, tales como, por ejemplo, infección intra-abdominal complicada (cIAI), infección complicada del tracto urinario (CUTI), o neumonía bacteriana asociada a ventilador o adquirida en hospital (HABP/VABP).

5 El ceftolozano/tazobactam se puede utilizar para el tratamiento de una infección seleccionada del grupo que consiste en: infecciones del tracto urinario e infecciones intra-abdominales. Los métodos de tratamiento pueden incluir administrar por vía intravenosa a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende sulfato de ceftolozano y una cantidad de tazobactam que

10 proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo, el sulfato de ceftolozano en la composición farmacéutica obtenida a partir de una forma sólida de sulfato de ceftolozano obtenida por un proceso que comprende las etapas de: (a) combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida, designada como forma de sulfato ceftolozano 2, con agua, cloruro de sodio y L-arginina para formar una solución acuosa; (b) liofilizar la solución

15 acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano; (c) combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam para obtener la composición farmacéutica; (d) reconstituir la composición farmacéutica en un diluyente farmacéuticamente aceptable; y (e) administrar por vía intravenosa, la composición farmacéutica reconstituida al paciente.

20 En algunas modalidades de las formas sólidas de sulfato de ceftolozano y composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, la forma sólida, composición o composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a:

Tabla 1a. Análisis de difracción de rayos X de polvo (por el sistema de difracción de rayos X

25 Rigaku MultiFlex)

2θ
8.0
12.7
13.8
16.1

18.9
20.4
21.5
22.4
23.3
24.0
25.5
26.7
27.9
28.5
31.3
Rayos-X: Cu/40 kV/30 mA

En un aspecto, se proporciona en este documento una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1 y 28.0, en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7, en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento es una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a aproximadamente 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} , en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en

alrededor de 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} y 802 cm^{-1} , en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce:

5 a. un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8 y

 b. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} ;

 en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la
10 combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada en la presente
15 como Forma 1 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y

 b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

 en donde la composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1 a.

20 En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de
25 24.2 y 37.8 y los picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} , con agua para formar una solución acuosa; y

 b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

 en donde la composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que
30 tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición farmacéutica que comprende la forma sólida de sulfato de ceftolozano designado como Forma 2 de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7, en donde la

5 composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 10 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada como Forma 2 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y
- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que

15 comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada como Forma 2 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y
- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano
- 20 que comprende sulfato de ceftolozano;

en donde la composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición de sulfato de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 25 a. formar una solución que comprende agua, 72-90 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano;
- b. combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 0.5 -8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y
- c. aislar la composición de sulfato de ceftolozano sólido desde la solución;
- 30 en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y

b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

EJEMPLOS

Instrumentación y Métodos

Con excepción del Ejemplo Comparativo 1, y a menos que se indique lo contrario, la siguiente instrumentación y métodos fueron utilizados en los Ejemplos elaborados descritos en la presente. El Ejemplo Comparativo 1 se informa en la patente EE.UU. 7.232.129.

Difracción de rayos-x de Polvos (XRPD):

Se realizaron experimentos de difracción de rayos X de polvo de alta resolución (Bruker, AXS D8 Avance) en un difractómetro Bruker D8 usando radiación Cu K α (40 kV, 40 mA), goniómetro θ - 2θ , y las primaria y secundaria rejillas soller (2.5°), un Monocromador Ge y un detector Lynxeye (ángulo de apertura de 2.948°). Se utilizó un patrón de corindón certificado (NIST 1976) para comprobar el desempeño del instrumento. La recolección de datos se realizó mediante el software Diffrac.Suite Measurement Center v2.2.47.1 y los datos se analizaron y presentaron utilizando Diffrac.EVA v2.0 o v3.0.

Las muestras se ensayaron en condiciones ambientales. Aproximadamente 500 mg de cada muestra se trituraron durante 3 minutos en un mortero con mano. La mezcla fue preparada al empacar de nuevo el material triturado en un soporte de muestra y sosteniéndola con un soporte libre redondo de silicio en el fondo. Una vez empacada de forma ajustada, se formó una

superficie plana. Cuando la muestra se volcó cuidadosamente sobre, la apariencia de la API en el soporte de la muestra era muy similar a la apariencia de la muestra de corindón para NIST utilizada para verificar el rendimiento del instrumento. El tipo de barrido de TwoTheta/Theta acoplado se utilizó para la recolección de datos. El rango angular era de 2 a $50^{\circ}2\theta$, y el tamaño de paso era de $0.001^{\circ}2\theta$. El tiempo de recolección fue de 1 s para el cada paso. El radio del geniómetro se definió a 280 mm. La velocidad de rotación de la muestra fue de 15 rpm, y el tamaño de la hendidura fue 0.1 mm.

10

Análisis Térmico

Se realizaron experimentos de Análisis Termo Gravimétrico (TGA) en instrumentos TA Discovery de la serie TGA. La calibración de la temperatura se llevó a cabo usando indio certificado. Típicamente, 3 - 15 mg de la muestra se aplanan en bandejas selladas de aluminio.

15 Los datos fueron adquiridos para las muestras con y sin un agujero. Para muestras con un agujero, una vez eran engarzadas y selladas, el muestreador automático golpeó la tapa de la muestra con su punzón interno justo antes del análisis de la muestra. Las muestras se calentaron a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ de 30°C a 400°C . Se purgó nitrógeno seco en el sistema durante el experimento a una tasa de 50 ml/min. El software utilizado para controlar el instrumento fue TRIOS Explorer
20 Software v5.3.0.75 El software TRIOS v2.40.1838 o v2.04.04563 se utilizó para el análisis de datos.

Los experimentos de la Calorimetría diferencial de barrido (DSC) se llevaron a cabo en instrumentos TA Q2000 y fueron usados para recoger los datos de la DSC. La calibración de la capacidad térmica se llevó a cabo usando zafiro y la calibración para energía y temperatura se
25 llevó a cabo usando indio certificado. Típicamente, 3 - 10 mg de la muestra se aplanan en bandejas selladas de aluminio y se registra el peso de manera precisa. Los datos fueron adquiridos para las muestras con un agujero en la tapa. Las muestras se calentaron a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ de 25°C a 350°C . El nitrógeno seco se purgó en el sistema durante el experimento a una tasa de 50 ml/min. El software utilizado para controlar el instrumento es el Advantage Q Series
30 v2.9.0.396 y el Thermal Advantage V5.4.0. Los datos fueron analizados utilizando el software Universal Analysis v4.5A.

Gravimetría dinámica de sorción de vapor

Los datos la gravimetría dinámica de sorción de vapor (Figura 5) se obtuvieron utilizando un analizador intrínseco de sorción de humedad SMS DVS, controlado por software de control intrínseco de DVS v1.0.0.30. La temperatura de la muestra se mantuvo a 25° C mediante los controles de instrumentos. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo. La humedad relativa se midió mediante una sonda Rotronica calibrada, situada cerca de la muestra. El cambio de peso de la muestra como una función del porcentaje de humedad relativa se monitoreó constantemente mediante el microbalance (precisión ± 0.005 mg). Se colocaron aproximadamente 40 mg de muestra en una cesta de malla de acero tarada en condiciones ambientales. El peso de referencia se estableció al inicio de un experimento. Los parámetros de las isothermas de sorción de humedad se describen a continuación:

Tabla 2

Parámetros	Valores
Barrido 1 Adsorción	40-90%
Barrido 2 Desorción/Adsorción	90%-0%/0%-40%
Intervalo (Aumentos graduales de humedad relativa)	10%
Número de Barridos	4(doble ciclo)
Tasa de Flujo para N₂ seco y húmedo	200 ml/min
Temperatura	25° C
Estabilidad de Temperatura	0.2° C/min
Tiempo fuera	6 horas

El análisis de datos se realizó en Microsoft Excel utilizando DVS Analysis Suite v6.0. La muestra se recuperó después de la finalización del experimento de isoterma para la caracterización de estado sólido.

Medición de Espectroscopia

Los espectros de Raman fueron adquiridos en un espectrómetro de transformada de Fourier Raman 960 (Thermo Nicolet) equipado con un detector de germanio (Ge). La verificación de longitud de onda se realizó usando azufre y ciclohexano. Cada muestra se envasó en un pellet y se colocó en un soporte de pellet para el análisis. Aproximadamente 0.505 W de polvo láser Nd:YVO₄ (1.064 nm de longitud de onda de excitación) se utilizó para irradiar cada muestra. Las listas de picos se generaron utilizando el software OMNIC v7.2a.

Ejemplo (Comparativo) 1: Forma sólida divulgada en 7.129.232

Una solución de 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metiletoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxilato (36 g) en agua se purificó mediante HPLC preparativa utilizando una columna de ODS. El eluato que contiene un producto deseado se concentró a aproximadamente 1.5 L al vacío. El concentrado se ajustó a aproximadamente pH 1 con ácido clorhídrico concentrado y se cromatografió en Diaion® HP-20 (6 L) eluyendo con 2-propanol acuoso al 20%. El eluato se concentró a aproximadamente 800 ml a vacío, y se añadió ácido sulfúrico 2M (17 ml). La solución resultante se liofilizó para proporcionar una sal de ácido sulfúrico como un polvo amorfo (23.6 g).

El polvo se disolvió en agua (71 ml) y etanol (57 ml). Después de la adición de cristales de siembra (310 mg), que resultaron en la precipitación de un sólido blanco, la mezcla se agitó durante 1 hora. Se añadió una mezcla de etanol (47 ml) y agua (37 ml) durante 30 minutos, y se añadió etanol (33 ml) durante 20 minutos. A continuación, la suspensión se agitó durante 1.5 horas adicionales. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con etanol/agua (60 ml/20 ml) y etanol (60 ml) y se secó para proporcionar hidrógeno sulfato del ácido 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metilethoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxílico en forma de cristales (17.3 g).

IR(KBr) 3353, 3183, 1778, 1652, 1558, 1403, 1321, 1143, 1118, 997, 619 cm⁻¹

¹H-NMR(D₂O) δ 1.61 (6H, s), 3.10–3.55 (6H, m), 3.71 (3H, s), 5.02 y 5.23 (2H, ABq, J=16.7 Hz), 5.25 (1H, d, J=4.9 Hz), 5.87 (1H, d, J=4.9 Hz), 7.91 (1H, s)

ESI-MS: m/z=667(M+H⁺)

Tabla 3. Analisis de difracción de rayos X de polvo (por el sistema de difracción de rayos X Rigaku MultiFlex)

2θ	intensidad
8.0	1286
12.7	586
13.8	423
16.1	618
18.9	520
20.4	748
21.5	667
22.4	1058
23.3	944
24.0	618
25.5	813
26.7	472
27.9	537
28.5	455
31.3	390
Rayos-X: Cu/40 kV/30 mA	

5 Ejemplo 2a Forma sólida novedosa de sulfato de ceftolozano

Para obtener sulfato de ceftolozano en la Forma 1: ceftolozano (1 equivalente molar) se disolvió en agua para proporcionar una solución a una concentración de 80 g/L. Se añadió una solución acuosa de ácido sulfúrico (20-98%, 2.5 equivalentes molares) a 0-20 °C. La solución resultante se sembró con sulfato de ceftolozano (0.01 a 0.05% por peso con respecto a

10 ceftolozano activo) y se dejó agitar durante 1-3 horas a 0-20 °C. Se observó una precipitación. Se añadió isopropanol (20-40 volúmenes relativos a ceftolozano activo) para dar lugar a una suspensión a 0-20 °C. Después de la filtración, se obtuvo sulfato de ceftolozano cristalino. El patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino se representa en la Figura 1 (patrón de difracción superior), y los datos correspondientes se resumen

en la Tabla 4. El espectro Raman de la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino se representa en la Figura 2 (espectro superior), y los datos correspondientes se resumen en la Tabla 5.

Tabla 4: Patrones de Difracción de Rayos X de polvo para la Forma 1 de Sulfato de ceftolozano

5 1 (Ejemplo 2a)

Forma 1 de Sulfato de ceftolozano	
Ángulo [°2θ]	Intensidad (cts)
4.061	629
8.126	3275
9.748	511
10.865	521
12.435	399
12.954	1225
14.016	867
14.284	613
16.177	937
16.413	1048
18.796	847
19.094	1024
20.200	484
20.596	1393
21.732	1260
22.278	1098
22.603	1816
23.490	1554
23.777	720
24.268	913
25.059	590
25.678	1261
25.929	1107
26.746	701
27.102	619
28.017	854
28.668	792
29.265	390
29.972	428
31.513	612
32.917	423

Forma 1 de Sulfato de ceftolozano	
Ángulo [$^{\circ}2\theta$]	Intensidad (cts)
33.526	512
34.773	431
35.191	408
36.111	361
37.504	366
37.723	373
38.778	312
40.860	299
41.631	350
44.084	281
45.997	235

Table 5. Lista de picos Raman para la Forma 1 de sulfato de ceftolozano (Ejemplo 2a)

Forma 1 de Sulfato de Ceftolozano	
Posición (cm^{-1})	Intensidad (Recuentos)
170.5	5.402
276.5	3.852
336.1	2.78
381.2	3.172
424	3.787
530.9	2.974
596.7	2.607
680.9	3.385
716.2	3.408
742.8	2.64
798.8	4.282
818.7	12.666
951.9	3.307
980.9	5.46
1055.3	1.794
1135.1	3.121
1242	2.471
1285	2.835
1328.5	3.402

Forma 1 de Sulfato de Cefotolozano	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad (Recuentos)
1418.7	7.494
1464.1	15.996
1607.7	10.642
1642.3	8.252
1786	3.322
2893.8	5.886
2940.8	7.789
2976.1	8.658
3265.8	1.5

Ejemplo 2b: Forma sólida novedosa de sulfato de ceftolozano

Obtener el Sulfato de ceftolozano en la Forma 2: El sulfato de ceftolozano obtenido como la Forma 1 en el Ejemplo 2a se secó al vacío y el nitrógeno se purgó a 20-25 °C durante 24-48 horas para proporcionar sulfato de ceftolozano cristalino (secado al vacío). El patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano cristalino se representa en la Figura 1 (patrón de difracción inferior), y los datos correspondientes se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6: *Patrón de Difracción de Rayos X de Polvo de la Forma 2 de Sulfato de ceftolozano (Ejemplo 2b)*

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Ángulo [°2θ]	Intensidad (cts)
4.400	348
7.900	950
8.827	700
9.381	466
11.000	536
12.861	981

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Ángulo [$^{\circ}2\theta$]	Intensidad (cts)
13.980	534
14.913	479
15.753	610
17.673	711
18.749	923
20.488	858
21.692	924
22.178	1020
24.235	1000
25.678	842
27.180	708
28.593	587
31.482	546
33.277	508
34.397	438
35.789	428
37.767	403

El espectro Raman de la Forma 2 de sulfato de cefotolozano cristalino se representa en la Figura 2 (espectro inferior), y los datos correspondientes se resumen en la Tabla 7. La Tabla 7 enumera los picos de desplazamiento Raman para el sulfato de cefotolozano en Forma sólida 2.

5

Tabla 7. Lista de picos Raman para la forma 2 de sulfato de cefotolozano (Ejemplo 2b)

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Posición (cm^{-1})	Intensidad (Recuentos)
151	11.618
282	6.341
418.1	6.139
530.2	4.005
596.8	5.656
683.7	7.226
716.2	6.968
802.3	7.45
976.9	7.505
1174.2	3.974

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad (Recuentos)
1237	4.582
1282.1	6.944
1328.1	6.577
1414.3	12.424
1458.5	25.508
1602.2	20.204
1637.5	15.561
1782	5.388
2952.8	7.588

La propiedad de sorción/desorción de la humedad de la Forma 2 de cefotolozano cristalino se representa en la Figura 5. Se observó una histéresis reversible asociada con alrededor de 23% por peso de agua entre 0% y 90% de humedad relativa (RH). La isoterma DVS en la Figura 5 es consistente con la presencia de dos formas cristalinas que se pueden interconvertir como función de la humedad relativa. La presencia de la Forma sólida 1 de sulfato de cefotolozano y la Forma sólida 2 de sulfato de cefotolozano en la muestra ensayada para obtener la isoterma DVS en la Figura 5 se confirmó por una medición de XRPD de humedad variable (VH-XRPD), con base en los ángulos de difracción XRPD descritos para la Forma 1 y la Forma 2 de sulfato de cefotolozano (como se describe en la presente). Haciendo referencia a la gráfica de isoterma de DVS en la Figura 5, la curva inferior corresponde a sulfato de cefotolozano en Forma sólida 2, y la curva superior corresponde con sulfato de cefotolozano en Forma sólida 1. El eje Y de la gráfica DVS es el cambio en masa. El eje X de la gráfica DVS se refiere al porcentaje de humedad relativa (RH) de la muestra. El punto de referencia 10 en la Figura 5 es el punto de partida de la Forma 2 en el experimento DVS. La porción inferior de la curva en la Figura 5 se obtuvo midiendo el cambio en masa de una muestra de sulfato de cefotolozano en la Forma sólida 2 mientras que el aumento de humedad relativa (RH) en la muestra, comenzando en el punto de referencia 10 de la curva inferior desde el punto de referencia 10 (Forma 2) y moviéndose hacia el punto de referencia 20 (Forma 1). Con base en los datos recolectados, el sulfato de cefotolozano en la muestra convertida de la Forma 2 a la Forma 1 cuando la muestra se expone a condiciones entre el 50% HR (punto de referencia 12) y 70% de humedad relativa (punto de referencia 15). Haciendo referencia de nuevo a la curva inferior en la Figura 5, el sulfato de cefotolozano en

Forma 1 está presente en la muestra de 70% de humedad relativa al punto de referencia 20, donde la muestra es sulfato de ceftolozano en la Forma cristalina 1. Con referencia a la curva superior en la Figura 5, desde el punto de referencia 20 al punto de referencia 30, el sulfato de ceftolozano en el material de la muestra sigue como la Forma sólida 1. Desde el punto de referencia 30 a alrededor de 20% RH (punto de referencia 35 en la curva superior), la forma cristalina de sulfato de ceftolozano en el material se transforma de la Forma 1 a la Forma 2. Como la humedad relativa de la muestra cayó por debajo de aproximadamente 20% en la curva superior entre el punto de referencia 30 y el punto de referencia 40 (HR al 0%), el sulfato de ceftolozano se hizo más amorfo, con alguna forma residual 2 restante en el punto de referencia 40. En resumen, el sulfato de ceftolozano en la muestra estuvo presente como la Forma 2 en el punto de referencia 10 (humedad relativa del 40%), convertido de la Forma 2 a la Forma 1 entre el punto de referencia 12 y el punto de referencia 15 en la curva inferior, se mantuvo como la Forma sólida 1 entre el punto de referencia 20 y el punto de referencia 30 en la curva superior, convertida de la Forma 1 a la Forma 2 entre el punto de referencia 30 y el punto de referencia 35 en la curva superior, y se mantuvo como la Forma sólida 2 desde el punto de referencia 35 al punto de referencia 40 (con la formación de forma sólida amorfa en la muestra). Desde el punto de referencia 40 al punto de referencia 10 (curva inferior), aumentar la humedad relativa del material de la Forma 2 parcialmente cristalina resultó en el material que conserva algo de sulfato de ceftolozano en la Forma 2 (parcialmente cristalina).

Ejemplo 2d: Ejemplo representativo del proceso para la fabricación de formas sólidas novedosas de sulfato de ceftolozano

Usando el proceso de los pasos 1-9 (a continuación), se obtuvo la Forma 2 de sulfato de ceftolozano activo como un sólido blanco, con un ensayo de peso de 76.2% (determinado mediante el método HPLC descrito con respecto a los parámetros en la Tabla 9 en la presente) y la pureza de 98.7 % AUC usando HPLC (determinado usando el método HPLC descrito con respecto a la Tabla 10 en la presente). La forma sólida de sulfato de ceftolozano 1 fue producida por los pasos 1-8 del procedimiento siguiente, y se secó adicionalmente (paso 9) para obtener la Forma 2 de sulfato de ceftolozano. Los materiales utilizados en el proceso a continuación se resumen en la Tabla 8a.

Tabla 8a

Paso	Material	MW (g/mol)	Activo (kg)	Cantidad (L)	Volumen (L/kg)	Equivalente Molar
1	Solución de ceftolozano	666.7	55	650	N/A	1
2	Ácido sulfúrico al 50% por peso	98.1	41	29	N/A	2.5
3	Semilla de sulfato de ceftolozano	666.7	0.20	N/A	N/A	N/A
5	Alcohol isopropílico (IPA)	60.1	N/A	1653	30	N/A
8	IPA/Agua (4:1)	N/A	N/A	221	4	N/A

1. Filtro de refinamiento (1 micra) la solución de Ceftolozano (85 g/L, 650 L) en un reactor revestido de vidrio y ajuste de la temperatura a 8-12 grados C, con una temperatura objetivo de aproximadamente 10 grados C. Esta temperatura se mantiene a través de paso 6.
2. Carga de ácido sulfúrico al 50% (por peso) (41 kg, 29 L, 2,5 equiv) a la solución en el reactor de la etapa 1 durante 10-30 minutos.
3. (Opcional, pero etapa preferida) Cargar las semillas de sulfato de ceftolozano (200 g, 0.3% por peso) al reactor y agitar la solución. (Nota: se observó nucleación tras la siembra)
4. Añejamiento del lote en el reactor durante 3 horas.
5. Carga de isopropanol (IPA) (1,650 L, 30 volúmenes) al reactor a una tasa uniforme de 4-5 vol/hr. (6-7 horas de tiempo de adición, blanco de 6.5 horas) (Nota: si la tasa de la adición de IPA no es uniforme, los niveles de pureza del producto pueden verse afectados negativamente).
6. Agitación del lote en el reactor durante 1-6 horas, blanco de 2 horas.
7. Filtro de la suspensión de sulfato de ceftolozano resultante desde el reactor.
8. Lavado de la torta de suspensión de ceftolozano del paso 7 con una solución de 4: 1 de IPA/agua. (221 L, 4 volumes)

9. Secado del sólido de la etapa 8 al vacío utilizando una purga de nitrógeno seco, con una temperatura de nitrógeno de 15-35 grados C, temperatura objetivo de aproximadamente 25 grados C. El proceso de secado debe ser controlado por la medición de agua residual y los niveles IPA en la torta. El proceso de secado se puede completar cuando el contenido de agua residual es inferior a aproximadamente 8.5% y los niveles de IPA son menores de aproximadamente 5.000 ppm. Típicamente, el secado se completa dentro de las 48 horas.

Ejemplo 3: Prueba Comparativa de Estabilidad del Solvente de Cefotolozano

Este estudio de estabilidad fue para evaluar la estabilidad y pureza del sulfato de cefotolozano en diferentes sistemas de disolventes.

La muestra 1 fue un sistema de disolvente utilizado para preparar sulfato de cefotolozano cristalino a partir de una mezcla de isopropanol y agua, como se describe en el Ejemplo 2b (en ausencia de etanol). La muestra 2 fue el sistema disolvente usado para obtener sulfato de cefotolozano cristalino preparado según el procedimiento de la Patente EE.UU. No. 7.129.232, en donde los cristales se precipitan a partir de una mezcla de etanol y agua.

La muestra 1 y la muestra 2 se mantuvieron durante 6 días (como se describe en el Ejemplo 2a, con agitación continua). La pureza de cefotolozano en las muestras en cada sistema de disolventes se midió por HPLC en día 0, día 3, y día 6.

Sorprendentemente, la pureza del sulfato de cefotolozano en la muestra 1 fue significativamente mayor que la pureza del sulfato de cefotolozano en la muestra 2 (véase la Tabla 8b).

Tabla 8b. *La pureza de cefotolozano en sulfato de cefotolozano en diferentes sistemas de disolventes utilizados para obtener diferentes formas sólidas*

Muestra	0	3 días	6 días
1	96.74 %	87.39 %	81.94 %
2	96,84 %	87.97 %	67.74 %

Ejemplo 4: Determinación del Contenido de Agua para Cefotolozano Cristalino

El contenido de agua de sulfato de ceftolozano cristalino (preparado de acuerdo con el Ejemplo 2a como la Forma 1) se determinó utilizando un valorador volumétrico Karl Fischer V30 Mettler Toledo que estaba conectado a un cambiador de muestras en horno Mettler Toledo Stromboli. AquaStar CombiTitrant 5 (EMD; Cat. No.1.88005.1045; Lote No. 51096) se utilizó como el agente valorante y AquaStar Combi-metanol (EMD; Cat. No 1.88009.1045; Lote No 53046) se utilizó como el disolvente. Para el procesamiento de los datos, se empleó la versión del software LabX 3.1.1.0.

El patrón de agua hidranal para el horno KF (Fluka; Cat. No. 34693; Lot No. SZBB010AV) que se espera que contenga 5% de agua fue precisamente pesado por duplicado en un valor estrechamente cercano a 200 mg. El sulfato de ceftolozano cristalino (15-18 mg) se pesó exactamente por triplicado en viales de muestras Stromboli separados de 20 mL. Los viales se sellaron con sellos de aluminio y tapones de goma. Un vial de blanco fue preparado al sellar un vial vacío de 20 ml de Stromboli con el sello de aluminio y la tapa de goma. El vial de blanco se utilizó para determinar la humedad de fondo en el aire dentro del vial. Todos los viales fueron cargados en el cambiador de muestras con horno Stromboli. Se introdujeron los pesos del patrón de agua y las muestras de la torta húmeda de sulfato ceftolozano en gramos en la secuencia del programa valorador. El estándar de agua y el vial de blanco se equilibraron a 150° C. Las muestras de sulfato de ceftolozano cristalino se equilibraron a 130° C. El flujo de nitrógeno a 40-50 ml/min fue utilizado para el transporte de la humedad a través del tubo de transferencia en el recipiente del valorador. Se utilizó el tiempo de mezclado de 180 s, y se programó la adquisición de datos con una desviación de inicio máximo de 15 µg/min. Al final de las corridas, el software valorador proporcionó el contenido de agua en porcentaje por peso. El valorador KF pasó la prueba de precisión a medida que la media de las lecturas duplicadas para el estándar de agua estaba entre el rango de aceptación de 4.80-5.20%. Los resultados del contenido de agua de sulfato de ceftolozano cristalino derivado de las pesadas por triplicado se registraron y la media se reportó. La determinación del contenido de agua sigue la ecuación como se describe a continuación. El software descrito anteriormente proporciona el resultado directamente después de tener el contenido de humedad de fondo sin necesidad de cálculo manual.

Se encontró que una muestra de sulfato de ceftolozano cristalino preparado según el Ejemplo 1 contenía aproximadamente 26.3% por peso de agua.

Ejemplo 5: Determinación de la Concentración de Cefotolozano

Los patrones y muestras se preparan en monohidrato de perclorato de sodio 50 mM, pH 4.00. Un estándar de cuantificación (Solución estándar 1) y estándar de comprobación (Solución Estándar 2) se prepararon ambos a la concentración de trabajo objetivo de 0.3 mg/mL, teniendo en cuenta la potencia, tal como es de la norma. Las muestras se preparan en la concentración activa objetivo de 0.3 mg/ ml mediante la preparación de una muestra a 0.04% (peso/volumen).

Tabla 9. Condiciones HPLC para la Determinación de la Concentración

Columna	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 250 mm x 4,6 mm, o		
Columnas de custodia	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 10 mm x 4,0 mm, o		
Temperatura de columna	40°C ± 2°C		
Modo	Gradiente:		
Fase móvil A:	Perclorato monohidrato de sodio 50 mM, pH 2.50		
Fase móvil B	Acetonitrilo en agua al 90%		
Condiciones de bombeo	Tiempo (min):	% A	% B
	0.0	89.5 ^a	10.5 ^a
	10.0	89.5 ^a	10.5 ^a
	15.0	20	80
	20.0	20	80
	20.1	89.5 ^a	10.5 ^a
	25.0	89.5 ^a	10.5 ^a
Tasa de flujo:	1.0 mL/minute		
Deteccion	UV a 254 nm		
Temperatura de auto-	4°C ± 2°C		
Volumen de inyección	10 µL		
Tiempo de Ejecución	25 minutos.		

^a La relación de fase móvil A a la fase móvil B se puede ajustar para lograr el tiempo de retención deseado, sin embargo, la proporción isocrática de %A a %B debe ser idéntica para ambos intervalos isocráticos.

La solución estándar 1 se inyecta 6 veces al comienzo del análisis para establecer la idoneidad y la precisión del sistema.

La idoneidad del sistema se determina usando la primera inyección de Solución Estándar 1. El factor de asimetría para el pico ceftolozano debería ser 0.8 a 1.5 y el tiempo de retención para el pico de ceftolozano debería ser 10.0 ± 1.5 minutos. El ajuste de la bomba binaria en porciones isocráticas de la corrida (0.0 a 10.0 minutos y 20.1 a 25.0 minutos) se puede ajustar para lograr el tiempo de retención del pico de ceftolozano.

La idoneidad adicional de la corrida se determinada por:

- % RSD de 6 inyecciones de la Solución Estándar 1 debe ser inferior a 1.0%. La recuperación de la Solución Estándar 2 debe ser $100.0 \pm 1.0\%$.
- El tiempo de retención de la Solución Estándar 2 debe ser $\pm 5\%$ del RT de la primera inyección de la Solución Estándar 1.
- El factor de asimetría de ceftolozano en la Solución Estándar 2 debe ser de 0.8 a 1.5.

Cada muestra se prepara por duplicado y se inyecta por separado. La relación del factor de respuesta para las dos preparaciones debe estar dentro de $100.0 \pm 1.0\%$.

La potencia media del ceftolozano, como es, se reporta en $\mu\text{g}/\text{mg}$ y se calcula utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Potency, as-is } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{Ac \times Cstd \times 1000 \times Vc}{Astd \times Wc} ;$$

donde:

Ac = Área del pico de ceftolozano en el cromatograma de muestra;

Cstd = Concentración del Estándar de ceftolozano 1, mg/mL;

Astd = Área del pico promedio en 6 inyecciones del estándar 1;

Wc = Peso de la muestra, mg;

Vc = Volumen de la muestra, mL;

1000 = Conversión de mg a μg ; y

$$\text{Mean Potency, as-is } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{(\text{Preparation 1} + \text{Preparation 2})}{2} .$$

El ensayo de ceftolozano medio, anhidro y ácido sulfúrico libre, se reporta en % y se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Mean Assay } (\%) = \text{Potency} \times 10 / (100 - \text{Water Content} - \text{Sulfuric Acid}) ;$$

donde:

Potencia = Potencia Media, $\mu\text{g}/\text{mg}$;

Contenido de Agua = Contenido medio de agua, %; y

Ácido sulfúrico = Contenido medio de ácido sulfúrico, %.

5

Ejemplo 6: Determinación del contenido de agua de ceftolozano

La prueba del contenido de agua se lleva a cabo usando un horno Stromboli y valorador volumétrico por triplicado utilizando un pesaje separado de 180 mg de sulfato de ceftolozano.

La muestra de prueba se extrae a 130° C, la humedad se transfiere al recipiente de valoración y se titula hasta el punto potenciométrico final. El porcentaje de humedad se calcula con base en el peso de la muestra, y se informa el promedio de los tres valores.

Ejemplo 7: Determinación de la Pureza del Sulfato de Ceftolozano.

Las muestras de sulfato de ceftolozano se preparan a una concentración de 1 mg/mL en diluyente (perclorato monohidrato de sodio 50 mM, pH 4.00). El estándar de idoneidad del sistema (SST) se prepara a una concentración de 1 mg/mL de sulfato de ceftolozano que contiene impurezas especificadas en diluyente (monohidrato perclorato de sodio 50 mM, pH 4.00). Las muestras de ceftolozano y SST se almacenan en una bandeja del automuestreador refrigerado a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ y las muestras solamente son estables durante 5 horas a esta condición. Las condiciones de HPLC se enumeran en la **Tabla 10**.

20

Tabla 10. Condiciones de HPLC para HPLC-RT, Sustancias Relacionadas, y Método de Pureza

Columna	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 250 mm x 4,6 mm, o equivalente		
Columnas de Custodia	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 10 mm x 4,0 mm, o equivalente		
Temperatura de columna:	$45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$		
Modo	Gradiente:		
Fase móvil A:	Monohidrato Perclorato de sodio 50 mM, pH 2.50		
Fase móvil B	Monohidrato Perclorato de sodio 63 mM, pH 2.50; ACN 80:20		
Condiciones de bombeo	Tiempo (min):	% A	% B
	0.0	97.5	2.5
	3.0	73.0 ^a	27.0 ^a

	33.0	68.0 ^a	32.0 ^a
	63.0	0.0	100
	88.0	0.0	100
	88.1	97.5	2.5
	105.0	97.5	2.5
Tasa de flujo:	1.0 mL/minuto		
Detección	UV a 254 nm		
Temperatura de auto-	4°C ± 2°C		
Volumen de inyección	10 µL		
Tiempo de Ejecución	105 minutos.		

^a La relación de fase móvil A a fase móvil B de 3 a 33 minutos se puede ajustar para lograr los tiempos de retención deseados.

Al comienzo de cada corrida, el diluyente en blanco y el SST se inyectan por separado.

La idoneidad del sistema se determina mediante el SST. El factor de asimetría para el pico

- 5 ceftolozano debería ser entre 0.8 y 1.5 y el tiempo de retención para el pico de ceftolozano debería ser 24.0 ± 1.0 minutos. El ajuste de la bomba binaria entre 3.0 y 33.0 minutos se puede ajustar para conseguir el tiempo de retención del pico de ceftolozano.

Cada muestra se prepara por separado y se inyecta dos veces. Solamente impurezas >LOD (0.008% Area) se integran. El porcentaje de área de pico para cada impureza > LOD se
 10 toma directamente a partir del cromatograma. Se calcula el porcentaje de área media y la diferencia absoluta de cualquier pico en las dos repeticiones no puede ser > 0.030%. La pureza y sustancias relacionadas se determinan con base en el porcentaje del área relativa de cada pico con respecto al área total del pico de la muestra. Las impurezas totales son la suma de las impurezas individuales > LOD. Los cálculos son como sigue:

15 ;

$$\% \text{ de impureza (\% de Área)} = \frac{\text{Área}_{\text{impureza}}}{\text{Área}_{\text{total}}} \times 100\%;$$

donde:

Área-Impureza = área del Pico de Impureza Individual; y

20 Área Total = Área Total de todos los picos > LOD incluyendo ceftolozano.

$$\text{Pureza (\% de \u00c1rea)} = \frac{\text{\u00c1rea}_{\text{ceftolozano}}}{\text{\u00c1rea}_{\text{total}}} \times 100\%;$$

5 donde:

$\text{\u00c1rea}_{\text{ceftolozano}} = \text{\u00c1rea del pico de cefotolozano};$ y

$\text{\u00c1rea}_{\text{Total}} = \text{\u00c1rea Total de todos los picos} \geq \text{LOD incluyendo cefotolozano}.$

$\text{Impurezas Totales (\% de \u00c1rea)} = 100 - \text{Pureza (\% de \u00c1rea)}.$

10 Se reportan impurezas individuales especificadas iguales o mayores al l\u00edmite de cuantificaci\u00f3n (LOQ) (\u00c1rea del 0.027%). Tambi\u00e9n se reportan impurezas individuales no especificadas iguales o superiores a 0.03%.

Ejemplo 8: Liofilizaci\u00f3n de formas s\u00f3lidas de Cefotolozano

Composiciones est\u00e9riles de cefotolozano adecuadas para la combinaci\u00f3n con tazobactam para formar una composici\u00f3n farmac\u00e9utica se preparan como un polvo liofilizado a partir del sulfato de cefotolozano que comprende la forma s\u00f3lida 2 mezclando el f\u00e1rmaco con excipientes en una soluci\u00f3n acuosa, al filtrar de manera as\u00e9ptica la soluci\u00f3n, liofilizando la soluci\u00f3n, luego moliendo, tamizado y empacando el polvo liofilizado est\u00e9ril. La estabilidad f\u00edsica de la soluci\u00f3n a granel a concentraciones variables se examin\u00f3 y las concentraciones de hasta 150 mg de base libre de cefotolozano /g de soluci\u00f3n se encontraron adecuadas. Todos los lotes de registro se prepararon utilizando concentraci\u00f3n de 150 mg/g de cefotolozano en la soluci\u00f3n de composici\u00f3n y esta concentraci\u00f3n se propone para la fabricaci\u00f3n comercial. La solubilidad de la composici\u00f3n de cefotolozano resultante se evalu\u00f3 en un rango de concentraci\u00f3n propuesto para la fabricaci\u00f3n, en la presencia de excipientes para uso en la formulaci\u00f3n de cefotolozano para su uso en la composici\u00f3n farmac\u00e9utica. Para cada muestra, se conserv\u00f3 la proporci\u00f3n de ingredientes activos a inactivos. Las muestras se ajustaron a pH 6.9, se mantuvieron a 2-8 \u00b0C, y se evaluaron visualmente para detectar cualquier precipitaci\u00f3n. Los resultados se reportan en la Tabla 11.

Tabla 11: Tiempo de Precipitación de ceftolozano como Función de la Concentración de Solución, 2-8° C

Concentración de Sulfato de ceftolozano, mg/g	Concentración de Base Libre de ceftolozano, mg/g	Tiempo para Precipitar
200	174	2 horas.
189	165	<18 horas.
178	156	>24 hours ¹⁾
172	150	<48 horas.
149	130	>24 horas ^a

¹⁾ La ultima observación se realizó a las 24 horas; no se observó ninguna señal de precipitación

Con base en estas observaciones, la solución a granel de ceftolozano con hasta 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución se puede mantener entre 2 y 8° C por hasta 48 horas sin que afecte su solubilidad. La idoneidad de la formación de compuestos a 150 mg de la base libre de ceftolozano a $10 \pm 2.5^\circ \text{C}$ se confirmó durante la fabricación de lotes a escala de laboratorio, piloto e ingeniería. Consultar la Tabla 12 para datos de estabilidad de la solución. Los datos de la pureza en la Tabla 12 se generó usando una versión modificada del método de HPLC que se describe en la Tabla 10. Como parte de la modificación, la composición de la fase móvil inicial comprendía 75% de fase móvil A y 25% de fase móvil B. Esta composición se elevó a 70% de la fase móvil A y 30% de fase móvil B en 30 minutos seguido de una elevación a 100% de la fase móvil B durante otros 30 minutos. La fase móvil B al 100% luego se mantuvo constante durante 25 minutos, después de lo cual la composición de fase móvil fue revertida de nuevo en 0.1 minutos a condiciones iniciales de fase móvil A al 75% y 25% de la fase móvil B. El equilibrio de columna se realizó en la composición de fase móvil inicial durante hasta 110 minutos, lo que da un tiempo total de corrida HPLC de 110 minutos. El límite de cuantificación determinado para el método con las condiciones descritas anteriormente fue 0.015% y, por tanto se reportaron todas las impurezas individuales especificadas iguales o superiores a 0.015%.

Una temperatura de mezcla de $10 \pm 2.5^\circ \text{C}$ fue dirigida a mantener la pureza de ceftolozano. Para confirmar la estabilidad de la solución de mezcla, se realizó un estudio en el que el ceftolozano se preparó de acuerdo con el proceso comercial propuesto y se mantuvo a $10 \pm 2.5^\circ \text{C}$ durante un máximo de 2 días. La solución se muestreó y se ensayó para la potencia y

pureza/impurezas de ceftolozano. Los resultados se proporcionan en la Tabla 12. Los datos indicaron que el perfil de impurezas de ceftolozano fue esencialmente el inicial y ninguna de las sustancias relacionadas individuales aumentó más de 0.10%. Por lo tanto, se propone un tiempo de espera máximo de 24 horas para el proceso comercial.

5

Tabla 12: Efecto del tiempo de Espera sobre el perfil de purezas/impurezas de solución a granel de ceftolozano

Tiempo de Formación del Compuesto	t₀	4h	18h	2h	Día 2:
Pureza total, %	98.7	98.8	98.6	98.6	98.7
Impurezas totales, %	1.3	1.2	1.4	1.4	1.3

La solución a granel de ceftolozano se hace aséptica a través de la filtración esterilizante.

10 Para la fabricación comercial de rutina, la solución de compuesto se filtró primero a través de un filtro de reducción de carga biológica, 0.45 µm, a continuación, se esterilizó por filtración a través de dos filtros de 0.22 micras en secuencia y la integridad del filtro de los filtros de 0.22 micras será evaluada durante la fabricación.

15 A través de una serie de estudios sobre el equipo de liofilización tanto a escala piloto como comercial, el proceso de liofilización fue desarrollado y mostrado como adecuado: a través de una gama de concentraciones de la solución, en una variedad de profundidades de llenado de la bandeja del liofilizador, siguiendo una serie de parámetros del ciclo de liofilización, en una serie de liofilizadores, tanto a escala de laboratorio como comercial, y en dos cuartos diferentes de liofilización comerciales.

20 En particular, seis liofilizadores diferentes (un liofilizador piloto y cinco liofilizadores comerciales de dos cuartos comerciales separadas) se han utilizado para hacer el material de ceftolozano aceptable utilizando concentraciones tan altas como 150 mg de base libre de ceftolozano/g de solución, profundidades de llenado de 1 a 3 cm, y los diferentes parámetros del ciclo, incluyendo temperaturas de secado primarias y/o secundarias tan altas como 40° C. Sobre
25 la base de estos estudios, la congelación del producto a por lo menos -40 a -45°C se considera un objetivo apropiado. Las temperaturas de secado primario típicamente también se establecen en función de la temperatura de transición vítrea de la solución a granel congelada para minimizar

el colapso. Sin embargo, en ocasiones, el colapso se puede prevenir mediante el uso de temperaturas de secado primario que se dictan por la temperatura de fusión completa, vs. la temperatura de transición vítrea. Por lo tanto, se realizaron estudios para examinar estas dos temperaturas de más de cerca, para determinar que se controla para evitar el colapso. Una

5 variedad de condiciones de liofilización e instrumentación han demostrado ser robustas en una variedad de condiciones de liofilización. Por lo tanto, los ciclos de liofilización preferidos para producir composiciones liofilizadas de ceftolozano a partir de una solución que comprende la Forma 2 sólida de sulfato de ceftolozano tienen una o más de las siguientes características: (1) no más de 150 mg de concentración de base libre de ceftolozano/g de solución a granel, (2) no más

10 de 3 cm de profundidad de relleno, (3) parámetros de ciclo incluyendo congelación a al menos -40 a -45 °C, (4) secar a no más de 40 °C, y (4) secado de una o de varias etapas y establecimiento de la presión de cámara durante el inicio de secado primario a no más de 400 µbar.

15 *Ejemplo 9: Composición farmacéutica Preferida que Comprende Ceftolozano y Tazobactam ("Producto Representativo de ceftolozano/Tazobactam")*

Las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano y tazobactam se pueden obtener como se describe en el presente documento. Un producto representativo de ceftolozano/Tazobactam se describe en la Tabla 14 a continuación (ceftolozano y tazobactam para inyección) como un producto de combinación antibacteriana inyectable que consta de

20 sulfato de ceftolozano antibacteriano de cefalosporina y el inhibidor de beta-lactamasa, tazobactam sódico para administración intravenosa.

Tabla 13: Excipientes utilizados en la Composición de ceftolozano

Componente	Función	Cantidad, mg/vial	Concentración en la Solución de Infusión, %	Criterios de Inclusión	Rango de Base de Datos de Ingredientes Inactivos (IID)
Ácido cítrico	Agente quelante	21	0.02	Se utiliza para prevenir decoloración y degradación	0.0025 a 50%
Cloruro de sodio	Agente estabilizador	487	0.49	Se utiliza como un agente estabilizante para el sulfato de ceftolozano	0.187 a 45%
L-arginina	Agente alcalinizante	600 ¹⁾ Q.S. para el ajuste del pH	0.60	Se utiliza para ajustar el pH de la solución de ceftolozano	0.29 a 88%

¹⁾ Se añade L-arginina como sea necesario para alcanzar $\text{pH } 6.5 \pm 0.5$; 600 mg por vial se considera una cantidad total representativa.

5 **Tabla 14:** Composiciones unitarias de ceftolozano/Tazobactam para Inyección, 1.000 mg/500 mg

Componente		Función	Composición nominal mg por vial
Composición de ceftolozano ¹⁾	Sulfato de ceftolozano (Forma Sólida 2)	Sustancia Activa	1147
	Ácido cítrico, anhidro	Agente quelante	21

Componente		Función	Composición nominal mg por vial
	Cloruro de sodio	Agente Estabilizante	487
	L-Arginina	Agente alcalinizante	600 ²⁾ Q.S. para ajuste del pH
Tazobactam sódico ³⁾		Sustancia Activa	537
Nitrógeno		Ayuda de Procesamiento ⁱⁱ⁾	Q.S.
Peso Total			2792
1) La cantidad real de la composición de ceftolozano variará en función de la potencia medida. El sulfato de ceftolozano, 1147 mg, corresponde a 1000 mg de base libre de ceftolozano. 2) Se añade L-arginina como sea necesario para alcanzar pH 6.5 ± 0.5; 600 mg por vial se considera una cantidad total representativa. 3) El peso real del tazobactam sódico puede variar en función de la potencia medida. 537 mg de tazobactam sódico corresponde a 500 mg de ácido libre de tazobactam. 4) Se aplica una capa de nitrógeno después de dispensar los polvos al vial y antes de la inserción de tapón.			

Una primera solución acuosa que comprende la Forma 2 de sulfato de ceftolozano y los ingredientes en la composición de ceftolozano en la Tabla 13 se liofiliza en ausencia de tazobactam para proporcionar la composición liofilizada de ceftolozano. La primera solución

5 acuosa comprende sulfato de ceftolozano y los excipientes específicos en las composiciones preferidas, en una cantidad por forma de dosificación unitaria proporcionada por las cantidades y funciones conforme a lo dispuesto en la Tabla 14. Todos los excipientes son compendio y típicos de formas de dosificación farmacéuticas estériles, que no requieren un tratamiento adicional antes de su uso en la formulación. Los excipientes se usan en niveles dentro del rango

10 establecido en otros productos aprobados por la FDA como se describe en la Base de Datos de Ingredientes Inactivos (IID). Una segunda solución que comprende ácido de tazobactam y bicarbonato de sodio se liofiliza en ausencia de ceftolozano para obtener la composición de

tazobactam sódico en la Tabla 14. Posteriormente, la composición liofilizada de tazobactam sódico se mezcla en seco con la composición liofilizada de ceftolozano que comprende tazobactam sódico y sulfato de ceftolozano en una relación de peso que proporciona 500 mg de equivalente de ácido de tazobactam por 1.000 mg de equivalente activo de ceftolozano.

5

Ejemplo 10: Reconstitución de Preparación de Ceftolozano/Tazobactam antes de la Administración a un Sujeto

La composición de ceftolozano/tazobactam del Ejemplo 9 se reconstituyó antes de la administración intravenosa (iv). De acuerdo con una modalidad del método de tratamiento, inmediatamente antes de la inyección a un paciente, un único vial, que contiene 1,500 mg de ceftolozano y tazobactam, se reconstituyó con 20 ml de NaCl al 0.9% (solución salina normal) y se diluyó en una bolsa de 80 ml de agua estéril para inyección para un volumen total de 100 mL.

La composición de ceftolozano y tazobactam se reconstituyó en conformidad con el procedimiento de la siguiente manera:

Obtener 1 vial de forma de dosificación unitaria de ceftolozano/ tazobactam, 1500 mg/vial. Registrar el sitio y número de sujeto y la hora y fecha de elaboración en los espacios indicados en la etiqueta del vial. El ceftolozano/tazobactam del Ejemplo 9 no contiene un conservante bacteriostático. La técnica aséptica debe ser seguida en la preparación de la solución de infusión.

Reconstituir asépticamente un vial liofilizado de la forma de dosificación unitaria de ceftolozano/tazobactam, 1500 mg con 10 ml de agua para inyección o 0.9% de cloruro de sodio para inyección, USP (solución salina normal) y agitar suavemente para disolver. El volumen final es de aproximadamente 11.4 ml. La concentración resultante es de aproximadamente 132 mg/mL.

Utilizando una técnica aséptica, retirar el contenido completo (aproximadamente 11.4 ml) del vial reconstituido utilizando una jeringa y añadirlo a una bolsa de infusión que contiene 100 mL de de cloruro de sodio al 0.9% para inyección, USP (solución salina normal) o Inyección de Dextrosa al 5%, USP. Asegúrese de que se añadió todo el volumen del vial reconstituido a la bolsa de infusión.

Hacer girar suavemente el contenido de la bolsa iv para asegurar una mezcla y disolución completa del fármaco. El volumen final de la forma de dosificación unitaria diluida de ceftolozano/ tazobactam del Ejemplo 9 para infusión será ~111 ml. Todo el contenido de la bolsa de infusión de ceftolozano/tazobactam se administra a cada sujeto. Esto significa que la línea de infusión se lava con solución salina estéril para administrar completamente la dosis apropiada).

Inspeccionar la bolsa de infusión para exceso de aire, contaminación visible y fugas. La solución diluida debe ser clara.

Tras la reconstitución con agua estéril para inyección o inyección de cloruro de sodio al 0,9% (solución salina normal), la solución de ceftolozano/tazobactam en el vial se puede conservar durante 1 hora antes de transferirla y diluirla en la bolsa de infusión.

Después de la dilución de la solución con solución salina normal o dextrosa al 5%, la solución de ceftolozano/tazobactam obtenida a partir de la composición de ceftolozano/tazobactam del Ejemplo 9 es estable durante 24 horas cuando se almacena a temperatura ambiente o 10 días cuando se almacena en condiciones de refrigeración de 2 a 8° C (36 a 46° F).

Ejemplo 11: Punto de Fusión de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano

El experimento del punto de fusión se realizó para la forma 2 de sulfato de ceftolozano usando el aparato de punto de fusión SRS Optimelt. Vainillina y fenacetina certificadas por SRS se utilizan para verificar el rendimiento del sistema. El barrido de temperatura de 100° C a 400° C se llevó a cabo para el sulfato de ceftolozano. El material se descompuso antes de la fusión. La descomposición, como lo indica el cambio notable en su color, pareció comenzar a alrededor de 170° C.

Ejemplo 12: TGA y DSC de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano

El análisis termogravimétrico (TGA) y termogramas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se muestran en la Figura 3 y la Figura 4, respectivamente. Una pérdida de peso inicial de 6.8% observada en el termograma TGA desde la temperatura inicial a 181° C es consistente con el contenido de agua y el isopropanol residual presente en sulfato de ceftolozano,

lote 440637 0004 2. El análisis del termograma más allá de 181° C indicó que el sulfato de ceftolozano probablemente sufre degradación más allá de esta temperatura. El termograma DSC mostró una amplia endoterma con los mínimos en alrededor de 105.49° C. La exoterma posterior en el termograma es indicativa de descomposición que es coherente con la observación en el experimento de punto de fusión.

10 Ejemplo 13: Higroscopicidad de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano

La higroscopicidad de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano se evaluó mediante el analizador de sorción de humedad intrínseca SMS DVS equipado con una sonda Rotronic calibrado. La temperatura se mantuvo a 25° C y el material se expuso a una humedad relativa de 0 a 90%. El sulfato de ceftolozano mostró adsorción continua de agua a través del ciclo con la absorción total de 23% a 90% de humedad relativa indicando que el sulfato de ceftolozano es higroscópico.

REIVINDICACIONES

1. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0.
5
2. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .
10
3. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce:
 - a. un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8 y
 - b. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} .
15
4. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 3 que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones adicionales en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0.
20
5. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 4 que produce picos de desplazamiento Raman adicionales ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .
6. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 3 que produce picos de desplazamiento Raman adicionales ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .
25
7. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:
30

- 5 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada en la presente como Forma 1 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y
- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde el ciclo de liofilización se caracteriza por una o más de las siguientes características:
- 10 a. Concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución a granel,
- b. no más de 3 cm de profundidad de llenado,
- c. congelar a por lo menos -40 °C durante el ciclo de liofilización,
- d. secar a no más de 40° C, y
- 15 e. secar en una o varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de secado primario en no más de 400 μ bar.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, que comprende además tazobactam.
- 20 10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, que se obtiene por un proceso que comprende además combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam en una combinación de dosis fija que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo en la composición farmacéutica.
- 25 11. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8 y los picos de desplazamiento Raman ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) en
- 30 aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} , con agua para formar una solución acuosa; y

- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
12. Una composición de sulfato de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:
- 5
- a. formar una solución que comprende agua, 72-80 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano;
- b. combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 0.5 - 8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y
- 10
- c. aislar la composición de sulfato de ceftolozano sólido desde la solución;
13. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución comprende 75-85 g/L de ceftolozano activo como una sal de ceftolozano farmacéuticamente aceptable.
- 15
14. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución comprende de 2.45-2.55 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano activo.
15. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución de la etapa (a) se combina con 29-31 volúmenes de alcohol isopropílico.
- 20
16. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución de la etapa (a) se combina con alcohol isopropílico añadido a la solución durante 6-7 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido.
- 25
17. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, obtenida por un procedimiento en donde:
- a. la solución comprende agua, alrededor de 75-85 g/L de ceftolozano activo y aproximadamente 2.45-2.55 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano a una temperatura de alrededor de 5-15 grados C; y
- 30

- b. la solución de la etapa (a) se combina con aproximadamente 29-31 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 6-7 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido.
- 5 18. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, obtenida por un procedimiento que comprende además las etapas de:
- a. combinar los aislados de sulfato de ceftolozano sólido con el agua forman una segunda solución acuosa; y
- 10 b. liofilizar la segunda solución acuosa para formar una composición farmacéutica liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano.
19. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 18, obtenida por un proceso en donde la segunda solución acuosa comprende además cloruro de sodio y L-arginina.
- 15 20. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 18, obtenida por un proceso que comprende además la etapa de combinar la composición farmacéutica liofilizada de ceftolozano con tazobactam.
- 20 21. El uso de un ceftolozano en una preparación inyectable para el tratamiento de una infección, la preparación inyectable que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida mediante un procedimiento que comprende las etapas de:
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y
- 25 b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
22. Un método de fabricación de una composición de sulfato de ceftolozano, el método que
- 30 comprende las etapas de:

- 5
- a. formar una solución que comprende agua, 72-90 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano;
 - b. combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 0.5 - 8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y
 - c. aislar una composición sólida de sulfato de ceftolozano desde la solución;
- 10
23. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, y 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7.
- 15
24. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 23 que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} y 802 cm^{-1} .
- 20
25. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de cualquiera de las reivindicaciones 23-24 caracterizada por una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C.
- 25
26. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de cualquiera de las reivindicaciones 23-25, caracterizada por un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de 6.8% entre 25-181 grados C.
- 30
27. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de cualquiera de las reivindicaciones 23-26, caracterizada por
- a. una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C;
 - b. un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de 6.8% entre 25-181 grados C; y
 - c. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

28. Una composición farmacéutica que comprende la forma sólida de sulfato de ceftolozano designado como Forma 2 de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7.

5

29. La composición farmacéutica de la reivindicación 28, en donde el sulfato de ceftolozano produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a aproximadamente 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

10 30. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 28-29, que comprende además sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 251 y 28.0.

15 31. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 23-30, que comprende además tazobactam.

20 32. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28-31, en donde el sulfato de ceftolozano se caracteriza por uno o más de los siguientes:

- a. una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C;
- b. un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de
- 25 6.8% entre 25-181 grados C; y
- c. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

30 33. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 5
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada como Forma 2 de sulfato de ceftolozano con agua, cloruro de sodio y L-arginina para formar una solución acuosa; y
 - b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
- 10
34. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en donde el ciclo de liofilización se caracteriza por una o más de las siguientes características:
- a. Concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución a granel,
 - b. no más de 3 cm de profundidad de llenado,
 - c. congelar a por lo menos -40 °C durante el ciclo de liofilización,
 - d. secar a no más de 40° C, y
 - e. secar en una o varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de
- 15
- secado primario en no más de 400 μ bar.
- 20
35. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 33-34, que comprende además tazobactam.
- 25
36. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 33-35, obtenida por un proceso que comprende además combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam en una combinación de dosis fija que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo en la composición farmacéutica.
- 30
37. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos (2θ $\pm$ 0.2) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y

- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

- 5 38. La composición farmacéutica de la reivindicación 37, en donde la solución acuosa en la etapa (b) comprende además tazobactam.
39. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 37-38, en donde la composición farmacéutica comprende tazobactam sódico.
- 10 40. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde la solución acuosa en la etapa (b) se liofiliza en ausencia de tazobactam.
- 15 41. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 37-40, en donde la composición farmacéutica que comprende el sulfato de ceftolozano en una cantidad que proporciona aproximadamente 1000 mg de ceftolozano activo.
42. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 37-41, en donde la composición farmacéutica comprende además unos 500 mg de tazobactam activo.
- 20
43. La composición farmacéutica de la reivindicación 42, que se obtiene por un proceso que comprende además combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam en una combinación de dosis fija que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo en la composición farmacéutica.
- 25
44. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica comprende tazobactam sódico.
- 30

45. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica comprende tazobactam cristalino.

46. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la solución acuosa se liofiliza en la etapa (b) con un ciclo de liofilización que se caracteriza por una o más de las siguientes características:

- a. Concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución a granel,
- b. no más de 3 cm de profundidad de llenado,
- c. congelar a por lo menos -40 °C durante el ciclo de liofilización,
- d. secar a no más de 40° C, y
- e. secar en una o varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de secado primario en no más de 400 μ bar.

47. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 37-46, caracterizada por una o más de las siguientes:

- a. una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C;
- b. un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de 6.8% entre 25-181 grados C; y
- c. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

48. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 o 23-47, en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a:

Tabla 1a. Análisis de difracción de rayos X de polvo (por el sistema de difracción de rayos X Rigaku MultiFlex)

2 θ
8.0
12.7
13.8

16.1
18.9
20.4
21.5
22.4
23.3
24.0
25.5
26.7
27.9
28.5
31.3
Rayos-X: Cu/40 kV/30 mA

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44bis)

Applicant's or agent's file reference 561389: CPT-227PC	FOR FURTHER ACTION	See item 4 below
International application No. PCT/US2014/057343	International filing date (<i>day/month/year</i>) 25 September 2014 (25.09.2014)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 27 September 2013 (27.09.2013)
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237		
Applicant MERCK SHARP & DOHME CORP.		

1.	This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 bis.1(a).																								
2.	This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.																								
In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.																									
3.	This report contains indications relating to the following items: <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 5%; text-align: center;">☒</td> <td style="width: 25%;">Box No. I</td> <td style="width: 70%;">Basis of the report</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Box No. II</td> <td>Priority</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☒</td> <td>Box No. III</td> <td>Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Box No. IV</td> <td>Lack of unity of invention</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☒</td> <td>Box No. V</td> <td>Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Box No. VI</td> <td>Certain documents cited</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Box No. VII</td> <td>Certain defects in the international application</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">☐</td> <td>Box No. VIII</td> <td>Certain observations on the international application</td> </tr> </table>	☒	Box No. I	Basis of the report	☐	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 Article 35(2) 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
☒	Box No. I	Basis of the report																							
☐	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 Article 35(2) 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																							
4.	The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44bis.3(c) and 93bis.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44bis .2).																								

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70	Date of issuance of this report 29 March 2016 (29.03.2016) Authorized officer Athina Nickitas-Etienne e-mail: pt04.pct@wipo.int
--	---

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To: BRIAN C. TRINQUE, ESQ.
LATHROP & GAGE LLP
28 STATE STREET
BOSTON, MA 02109

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year)

17 DEC 2014

Applicant's or agent's file reference
561389: CPT-227PC

FOR FURTHER ACTION

See paragraph 2 below

International application No.

PCT/US 14/57343

International filing date (day/month/year)

25 September 2014 (25.09.2014)

Priority date (day/month/year)

27 September 2013 (27.09.2013)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
IPC(8) - A61K 31/431; A61K 31/546; A61K 47/18 (2014.01)

CPC - A61K 31/431; A61K 31/546; A61K 47/183; A61K 47/12; A61K 47/02; A61K 9/19; A61K 31/43

Applicant CALIXA THERAPEUTICS, INC.

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 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 66.1 bis(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.

Name and mailing address of the ISA/US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-3201

Date of completion of this opinion

19 November 2014 (19.11.2014)

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300
PCT OSP: 571-272-7774

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US 14/57343

Box No. I Basis of this 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, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
- a. (means)
- ☐ on paper
- ☐ in electronic form
- b. (time)
- ☐ in the international application as filed
- ☐ together with the international application in electronic form
- ☐ 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 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:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 14/57343

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 26-27, 31-32, 36 and 40-48

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. see below are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

Claims 26-27, 31-32, 36 and 40-48 are unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 26-27, 31-32, 36 and 40-48

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit
- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13ter.1(a) or (b).

- ☐ See Supplemental Box for further details.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US 14/57343

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)	Claims	1-25;28-30;33-35;37-39	YES
	Claims	none	NO
Inventive step (IS)	Claims	none	YES
	Claims	1-25;28-30;33-35;37-39	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-25;28-30;33-35;37-39	YES
	Claims	none	NO

2. Citations and explanations:

Claims 1-6, 12-17, 22-24, 28-30 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over US 2007/0037786 A1 to OHKI et al. (hereinafter 'Ohki').

As to Claim 1, Ohki discloses a solid form of cefotolozane sulfate that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles (2 theta + or - 0.2) of 12.7, 16.1, 22.4, 25.5 and 27.9 (para [0289]-[0290];[0294]). Ohki does not disclose a salt form that produces the exact diffraction angles listed in claim 1 and as the only diffraction angles observed in the XRPD. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to produce a sulfate salt having the claimed XRPD pattern based on routine experimentation, because each polymorph of a solid, is expected to have a different diffraction pattern depending on the conditions used to isolate the polymorph, that can effect the packing of the atoms in the solid.

As to Claim 2, Ohki discloses a solid form of cefotolozane sulfate that produces an infrared spectrum with peaks in the same regions as found by Raman IR (para [0291]). Ohki does not disclose the same peak shifts disclosed in claim 2. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to produce a sulfate salt having the claimed peak shifts through routine experimentation, because the Raman infrared method and the KBR infrared method, while, both using infrared detectors, will give different peak reading within the same spectral regions, for solids of different crystal packing.

As to Claims 3-6, they are obvious for reasons as set forth in claims 1 and 2.

As to Claim 12, Ohki discloses a ceftolozane sulfate composition obtained by a process comprising the steps of:

- a) forming a solution comprising water, 36 g/L ceftolozane active and 1.5 -2.95 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane;
- b. combining the solution from step (a) with of 800ml isopropyl alcohol added to the solution to obtain solid ceftolozane sulfate (para [0289]); and
- c. isolating the solid ceftolozane sulfate composition from the solution (para [0290]). Ohki does not disclose the scale of 72-100g of ceftolozane active used with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added over 0.5 to 8 hours. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art that the stoichiometry used by Ohki could be scaled up to accommodate a reaction on a 72-100 g scale of ceftolozane, by doubling Ohki's 36g/l concentration of ceftolozane, and proportionally increasing the sulfuric acid and isopropanol accordingly. Further, the higher amount of isopropanol, to precipitate out a larger amount of sulfate salt, would require a longer time, period to add to the base composition, since the slower addition, would allow for a slower precipitation and improved purity and yield.

As to Claims 13-16, they are obvious for reasons as set forth in claim 12.

As to Claim 17, it is obvious for reasons as set forth in claim 12 and further Ohki does not disclose the temperature for adding sulfuric acid. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art, that when forming a salt, and trying to precipitate the salt from solution, one of ordinary skill would know to use lower temperatures, to slow the crystallization in order to isolate, better crystals, in purer form.

As to Claim 22, Ohki discloses a method of manufacturing a ceftolozane sulfate composition obtained the method comprising the steps of:

- a) forming a solution comprising water, 36 g/L ceftolozane active and 1.5 -2.95 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane;
- b) combining the solution from step (a) with of 800ml isopropyl alcohol added to the solution to obtain solid ceftolozane sulfate (para [0289]); and
- c. isolating the solid ceftolozane sulfate composition from the solution (para [0290]). Ohki does not disclose the scale of 72-100g of ceftolozane active used with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added over 0.5 to 8 hours. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art that the stoichiometry used by Ohki could be scaled up to accommodate a reaction on a 72-100 g scale of ceftolozane, by doubling Ohki's 36g/l concentration of ceftolozane, and proportionally increasing the sulfuric acid and isopropanol accordingly. Further, the higher amount of isopropanol, to precipitate out a larger amount of sulfate salt, would require a longer time, period to add to the base composition, since the slower addition, would allow for a slower precipitation and improved purity and yield.

As to Claims 23-24 and 28-30, they are obvious for reasons as set forth in claims 1-2.

*****CONTINUED IN SUPPLEMENTAL BOX*****

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.

PCT/US 14/57343

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
PREVIOUS BOX:

Claims 7-8, 11, 18, 21 and 37 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Ohki in view of US 2010/0286031 A1 to CHARAN et al. (hereinafter 'Charan').

As to Claim 7, Ohki discloses a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a lyophilization of the ceftolozane sulfate polymorph (para [0289]). Ohki does not disclose the steps in the lyophilization process. Charan discloses a process for lyophilizing antibiotics comprising : a) combining the salt of the antibiotic in a solid form with water to form an aqueous solution and b) lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized antibiotic composition (para [0118]-[0119];[0129]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the methods disclosed by Ohki and Charan, to isolate a pure solid form of ceftazolane sulfate because both disclose lyophilization as a means of isolating antibiotics from aqueous solutions.

As to Claim 8, Charan discloses the pharmaceutical composition of claim 7 wherein the lyophilization cycle is characterized by freezing to at least -40 deg C during the lyophilization cycle (para [0125]; [0129]).

As to Claim 11, Ohki discloses a solid form of cefolozane sulfate that is lyophilized to produce an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles (2 theta + or minus 0.2) of 12.7, 16.1, 22.4, 25.5 and 27.9 and IR peaks (para [0289]-[0290];[0294]). Ohki does not disclose the exact diffraction angles and Raman IR peaks listed in claim 11 and the lyophilization process for cefolozane. Charan discloses a process for lyophilizing antibiotics comprising combining the salt of the antibiotic in a solid form with water to form an aqueous solution and lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized antibiotic composition (para [0118]-[0119];[0129]). It would have been obvious to one of ordinary skill to combine the methods disclosed by Ohki and Charan, to isolate a pure solid form of ceftazolane sulfate because both disclose lyophilization of antibiotic solutions and further is expected to have a different diffraction pattern and IR peaks from Raman IR peaks, depending on the conditions used to isolate the polymorph, because each polymorph would have a different crystal packing.

As to Claim 18, it is obvious for reasons as set forth in claim 12 and further Ohki does not disclose the lyophilization process of ceftolozane salt. Charan discloses a lyophilization process for antibiotics comprising the steps of:

a. combining the isolate solids of the antibiotics with water to form an aqueous solution; and b. lyophilizing the aqueous solution to form a lyophilized ceftolozane pharmaceutical composition comprising ceftolozane sulfate. (para [0118]-[0119];[0129]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the methods disclosed by Ohki and Charan, to isolate a pure solid form of ceftazolane sulfate because both disclose lyophilization of antibiotic solutions.

As to Claim 21, Ohki discloses the use of cefolozane sulfate in an injectable preparation (para [0224] 'parenteral') for the treatment of an infection (para [0001];[0005]), the injectable preparation comprising a lyophilized ceftolozane composition that produces a solid form with an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles (2 theta + or minus 0.2) of 12.7, 16.1, 22.4, 25.5 and 27.9 (para [0289]-[0290];[0294]). Ohki does not disclose the exact diffraction angles listed in claim 21 and the lyophilization process for cefolozane. Charan discloses a process for lyophilizing antibiotics comprising combining the salt of the antibiotic in a solid form with water to form an aqueous solution and lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized antibiotic composition (para [0118]-[0119];[0129]). It would have been obvious to one of ordinary skill to combine the methods disclosed by Ohki and Charan, to isolate a pure solid form of ceftazolane sulfate because both disclose lyophilization of antibiotic solutions and further is expected to have a different diffraction pattern, depending on the conditions used to isolate the polymorph, because each polymorph would have a different crystal packing.

As to Claim 37, Ohki discloses a pharmaceutical composition cefolozane sulfate (para [0224]) that is lyophilized to produce an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles (2 theta + or minus 0.2) of 12.7, 16.1, 22.4, 25.5 and 27.9 (para [0289]-[0290];[0294]). Ohki does not disclose the exact diffraction angles listed in claim 37 and the lyophilization process for cefolozane. Charan discloses a process for lyophilizing antibiotics comprising combining the salt of the antibiotic in a solid form with water to form an aqueous solution and lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized antibiotic composition (para [0118]-[0119];[0129]). It would have been obvious to one of ordinary skill to combine the methods disclosed by Ohki and Charan, to isolate a pure solid form of ceftazolane sulfate because both disclose lyophilization of antibiotic solutions and further is expected to have a different diffraction pattern depending on the conditions used to isolate the polymorph, because each polymorph would have a different crystal packing.

Claim 25 lacks an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Ohki in view of WO 2013/063275 A1 to WEEKS et al. (hereinafter 'Weeks').

As to Claim 25, it is obvious for reasons as set forth in claim 22 and further Ohki does not disclose the characterization of Ceftolozane by DSC. Weeks discloses the use of Differential Scanning Calorimetry (DSC) to assess the identification of the active ingredients in a pharmaceutical composition (para [0520]; [0523];[0524];[0525]). Weeks does not specifically disclose the DSC of Ceftoloxane as 105 deg C. It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to measure the endotherm of the ceftoloxane sample, as method of identification, since the DSC is a unique property of a compound.

Claims 9-10, 20 and 38 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Ohki in view of Charan in further view of US 2013/0065874 A1 to CHANDORKAR et al. (hereinafter 'Chandorkar').

As to Claim 9, it is obvious for reasons as set forth in claim 8 and further Ohki and Charan do not disclose the addition of Tazobactam to the composition. Chandorkar discloses a pharmaceutical composition comprising ceftolozane sodium and tazobactam (para [0003];[0016]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine both Tazabactam and Ceftotolozane, together, within one composition because Chandokar discloses the combination as being more effective than either of the individual components (para [0007], [0019]).

*****CONTINUED IN NEXT SUPPLEMENTAL BOX*****

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US 14/57343

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of:
PREVIOUS BOX:

As to Claim 10, Chandorkar discloses the pharmaceutical composition of claim 9, obtained by a process further comprising combining the lyophilized ceftolozane composition with tazobactam in a fixed dose combination providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000 mg of ceftolozane active in the pharmaceutical composition (para [0059];[0061]).

As to Claim 20, Chandorkar discloses the ceftolozane sulfate composition of claim 18, obtained by a process further comprising the step of combining the lyophilized ceftolozane pharmaceutical composition with tazobactam (para [0061];[0062], Scheme 1).

As to Claim 38, it is obvious for reasons as set forth in claim 37 and further Ohki and Charan do not disclose the addition of Tazobactam to the composition. Chandorkar discloses a pharmaceutical composition comprising ceftolozane sodium and tazobactam (para [0003];[0016]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the two antibiotics, Tazabactam and Ceftotolozane, together, within one pharmaceutical composition, because, Chandokar discloses the combination as being more effective than either of the individual components (para [0007], [0019]).

Claims 19, 33-34 lacks an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Ohki in view of Charan in further view of US 5,254,545 A to ISHIBASHI et al. (hereinafter 'Ishibashi').

As to Claim 19, it is obvious for reasons as forth in claim 18 and further Okhi and Charan do not disclose the addition of L-arginine and sodium chloride to second aqueous solution. Ishibashi discloses the preparation of a cephalosporin composition, comprising the lyophilization of an aqueous solution further comprising sodium chloride and L-arginine (Col 1 In 60 to Col 2, In 32; Col 3, In 24-36). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the teachings of Ishibashi with those of Charan and Okhi because Ishibashi discloses that the addition of L-arginine and sodium chloride to cephalosporin compositions, such as described by Charan and Okhi, improves the stability of these antibiotic preparations over time (col 2, In 34-39).

As to Claim 33, Ohki discloses a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a lyophilization of the ceftolozane sulfate polymorph (para [0289]). Ohki does not disclose the steps in the lyophilization process and the addition of sodium chloride and L-arginine. Charan discloses a process for lyophilizing antibiotics comprising : a) combining the salt of the antibiotic in a solid form with water to form an aqueous solution and b) lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized antibiotic composition (para [0118]-[0119];[0129]). Charan does not disclose the addition of sodium chloride and L-arginine. Ishibashi discloses the preparation of a cephalosporin composition, comprising the lyophilization of an aqueous solution further comprising sodium chloride and L-arginine (Col 1 In 60 to Col 2, In 32; Col 3, In 24-36). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the teachings of Ishibashi with those of Charan and Okhi because Ishibashi discloses that the addition of L-arginine and sodium chloride to cephalosporin compositions, such as described by Charan and Okhi, improves the stability of these antibiotic preparations over time (col 2, In 34-39).

As to Claim 34, Charan discloses the pharmaceutical composition of claim 34 wherein the lyophilization cycle is characterized by freezing to at least -40C during the lyophilization cycle (para [0125]; [0129]).

Claim 39 lacks an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Ohki in view of Charan and in further view of Weeks.

As to Claim 39, it is obvious for reasons as set forth in claim 37. However Ohki and Charan do not disclose Tazobactam as the sodium salt. Weeks discloses the combination of CXA-201 as ceftoloxane sulfate and tazobactam sodium (para [0350], Table 6). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to use a sodium salt of tazobactam in the composition, in order to improve solubility, because tazobactam is a free acid that can easily form a sodium salt, when reacted with sodium hydroxide.

Claim 35 lacks an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Ohki in view of Charan and Ishibashi and further view of Chandorkar.

As to Claim 35, it is obvious for reasons as set forth in claims 33-34 and further Ohki, Charan and Ishibashi do not disclose the addition of Tazobactam to the composition. Chandorkar discloses a pharmaceutical composition comprising ceftolozane and tazobactam (para [0003];[0016]). It would have been obvious to one of ordinary skill in the art to combine the two antibiotics, Tazabactam and Ceftotolozane, together, within one pharmaceutical composition, because, Chandokar discloses the combination as being more effective than either of the individual components (para [0007], [0019]).

Claims 1-25, 28-30, 33-35 and 37-39 have industrial applicability as defined by PCT Article 33(4), because the subject matter can be made or used in industry.

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

TRINQUE, Brian, C.
Lathrop & Gage LLP
28 State Street
Boston, MA 02109
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

Date of mailing (day/month/year) 04 September 2015 (04.09.2015)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 561389: CPT-227PC	
International application No. PCT/US2014/057343	International filing date (day/month/year) 25 September 2014 (25.09.2014)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☒ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address CALIXA THERAPEUTICS, INC. 65 Hayden Avenue Lexington, MA 02421 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
☒ the person	☐ the name	☐ the address
☐ the nationality	☐ the residence	
Name and Address MERCK SHARP & DOHME CORP. 126 East Lincoln Avenue Rahway, NJ 07065 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	E-mail address ☐ Notifications by e-mail authorized	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
☒ the receiving Office	☐ the International Preliminary Examining Authority	
☐ the International Searching Authority	☒ the designated Offices concerned	
☐ the Authority(ies) specified for supplementary search	☐ the elected Offices concerned	
		☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Nissen Diana e-mail diana.nissen@wipo.int Telephone No. +4122 338 8054
Facsimile No. +41 22 338 82 70	

FORMAS SÓLIDAS DE CEFTOLOZANO

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos No. 61/883.530, presentada el 27 de septiembre de 2013, la Solicitud de Patente de Estados Unidos No. 14/289.224, presentada el 28 de mayo de 2014, y la solicitud de patente No. 14/ 289.251, presentada el 28 de mayo de 2014, cada una de las cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

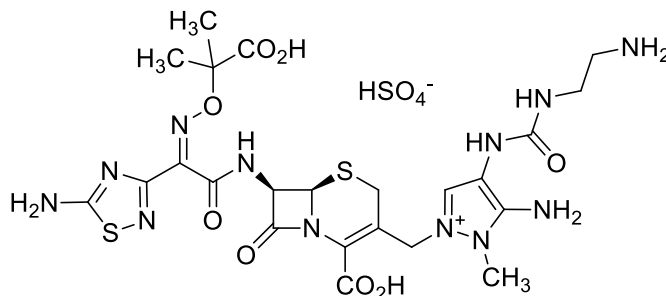
CAMPO TÉCNICO

Esta descripción se refiere a formas sólidas de ceftolozano.

FUNDAMENTO

El estado cristalino de un compuesto puede ser importante cuando el compuesto se utiliza para fines farmacéuticos. En comparación con un sólido amorfo, las propiedades físicas sólidas de un compuesto cristalino pueden cambiar de una forma sólida a otra, lo que puede afectar a su idoneidad para el uso farmacéutico. Además, diferentes formas sólidas de un compuesto cristalino pueden incorporar diferentes tipos y/o diferentes cantidades de impurezas. Las diferentes formas sólidas de un compuesto también pueden tener diferente estabilidad química tras la exposición a calor y/o agua durante un periodo de tiempo.

El ceftolozano es un agente antibacteriano de cefalosporina, también conocido como CXA-101, FR264205, o por nombres químicos tales como (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino}-1-metil-1H-pirazol-2-ilo-2-il)metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino)-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato, y 7β -[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metiletoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxilato. El sulfato de ceftolozano es una sal de ceftolozano farmacéuticamente aceptable de la fórmula (I) que se pueden formular para la administración intravenosa o infusión.



(I)

La patente de Estados Unidos No. 7.129.232 da a conocer la sal de sulfato ácido de ceftolozano entre otras sales "con una base o una sal de adición de ácido tal como una sal con una base inorgánica, por ejemplo, una sal de metal alcalino [por ejemplo, sal de sodio, sal de potasio, etc.] , una sal de metal alcalinotérreo [ej., sal de calcio, sal de magnesio, etc.], una sal de amonio; una sal con una base orgánica, por ejemplo, una sal de amina orgánica [ej., sal de trimetilamina, sal de trietilamina, sal de piridina, sal de picolina, sal de etanolamina, sal de trietanolamina, sal de dicitclohexilamina, sal de N, N'-dibenciletilendiamina, etc.]; una sal de adición de ácido inorgánico [ej., hidrocloreuro, hidrobromuro, sulfato, sulfato de hidrógeno, fosfato, etc.]; sal de adición ácida de un ácido orgánico carboxílico o sulfónico [por ejemplo, formiato, acetato, trifluoroacetato, maleato, tartrato, citrato, fumarato, metanosulfonato, bencenosulfonato, toluenosulfonato, etc.]; y una sal con un amino ácido básico o ácido [por ejemplo, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, etc.]." Además, la Patente de Estados Unidos No. 7.129.232 da a conocer una forma sólida cristalina de sulfato de ceftolozano obtenida disolviendo sulfato de ceftolozano en una solución de agua y etanol y agregando los cristales de siembra para obtener la forma cristalina descrita en la presente como el Ejemplo 1 (Comparativo). Una síntesis de ceftolozano también se describe en la Patente de Estados Unidos No. 7.129.232.

Como se reporta en el presente documento, sigue habiendo una necesidad de formas sólidas de ceftolozano que tiene una estabilidad aumentada del ceftolozano. Por ejemplo, la pureza de ceftolozano en una solución acuosa de etanol durante la precipitación de acuerdo con los métodos de la patente de Estados Unidos 7.129.232 se redujo de 97% a 68% durante una prueba de estabilidad de 6 días (véase el Ejemplo 3), como se mide mediante cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC). En consecuencia, sigue existiendo una necesidad de formas

sólidas de ceftolozano que tienen una mayor estabilidad del ceftolozano para su uso como fármacos y en el desarrollo de medicamentos.

RESUMEN

Nuevas formas sólidas de ceftolozano (ej., sulfato de ceftolozano cristalino) descritas en este documento incluyen sulfato de ceftolozano en Forma 1 y Forma 2, así como composiciones que comprenden una forma sólida de ceftolozano que comprende al menos una o más de forma 1 de sulfato de ceftolozano y la Forma 2 de sulfato de ceftolozano. Nuevas composiciones también incluyen Forma sólida 1 de sulfato de ceftolozano, forma sólida 2 de sulfato de ceftolozano y/o formas sólidas cristalinas y amorfas de ceftolozano. Una nueva forma sólida 1 de ceftolozano y una nueva forma sólida 2 de ceftolozano de sulfato de ceftolozano pueden ambas ser identificadas por medio de difracción de rayos-X de polvo (XRPD), ambas con una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8. Además, las difracciones de ceftolozano en ambas la Forma sólida 1 y la Forma sólida 2 pueden producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} . Una composición de ceftolozano preferida puede incluir ceftolozano en una o más formas sólidas (por ejemplo, forma sólida 1 y/o forma sólida 2), caracterizadas por un patrón de XRPD con difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8, además de los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos en alrededor de 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} .

Una nueva Forma sólida 1 de ceftolozano de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0. Además, el ceftolozano en la forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .

Una nueva Forma sólida de ceftolozano 2 de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7. Además, el ceftolozano en la forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

Los solicitantes también han descubierto que nuevas formas sólidas de sal de ceftolozano (por ejemplo, la Forma 1 y la Forma 2 de sulfato de ceftolozano) también se pueden obtener al mantener una forma sólida de sal de ceftolozano bajo condiciones físicas eficaces para convertir una sal de ceftolozano en una primera forma sólida en una sal ceftolozano en una segunda forma sólida. Por ejemplo, la realización de una isoterma de sorción de agua (por ejemplo, Figura 5) de sulfato de ceftolozano en Forma 1 mostró una transformación reversible entre sulfato de ceftolozano en la forma sólida 1 y la forma sólida 2 como una función de la humedad relativa. La forma sólida de ceftolozano puede ser cambiada por el mantenimiento del ceftolozano en ciertas condiciones de humedad relativa (por ejemplo, como se describe en la isoterma de sorción de agua para el sulfato de ceftolozano en la Figura 5). ceftolozano en la forma sólida 2 se puede convertir en ceftolozano en la Forma 1 mediante el mantenimiento de una muestra a una humedad relativa (RH) eficaz para convertir ceftolozano en la Forma 2 en ceftolozano en la Forma 1 a una temperatura adecuada (por ejemplo, RH de aproximadamente 50% o mayor a una temperatura de alrededor de 20 a 25 grados C, preferiblemente al menos aproximadamente 70% de humedad relativa a una temperatura de alrededor de 25 grados C). Una vez formado de esta manera, ceftolozano en la forma sólida 1 se puede convertir en sulfato de ceftolozano en la Forma 2 mediante la reducción de la humedad relativa (por ejemplo, RH de aproximadamente 20 a 40%). El sulfato de ceftolozano en la Forma 2 se puede convertir en una mezcla de sulfato de ceftolozano amorfo y la Forma 2 al reducir la humedad relativa a menos de aproximadamente 20%.

Las formas sólidas de ceftolozano (Forma 1 y Forma 2) pueden obtenerse a partir de una solución que comprende isopropanol, o mediante el mantenimiento de una forma sólida de ceftolozano en condiciones eficaces para convertir una primera forma sólida en una segunda forma sólida (por ejemplo, mediante el mantenimiento de sulfato de ceftolozano en Forma 1 en condiciones físicas eficaces para formar sulfato de ceftolozano en la Forma 2, o la conversión de la forma 2 en condiciones físicas eficaces para formar sulfato de ceftolozano de la Forma 1). Un método de fabricación mejorado puede incluir las etapas de (a) combinar sulfato de ceftolozano con un exceso molar de ácido sulfúrico (por ejemplo, aproximadamente 2,5 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano) e isopropanol (por ejemplo, aproximadamente 20 a 40 volúmenes de isopropanol con respecto a la cantidad de ceftolozano activo) en condiciones eficaces para producir una forma sólida de ceftolozano (por ejemplo, forma de sulfato de

ceftolozano 1), y (b) aislar la forma sólida de ceftolozano (por ejemplo, mediante el filtrado de la forma sólida de ceftolozano a partir de una solución que comprende el isopropanol).

Los solicitantes han descubierto nuevos métodos de fabricación de formas sólidas de sulfato de ceftolozano que proporcionan una mayor estabilidad de ceftolozano durante la fabricación en comparación con los métodos de fabricación de formas sólidas de ceftolozano descritos en la patente de Estados Unidos 7.129.232 (véase el Ejemplo Comparativo 1 en el presente documento). Los métodos de fabricación mejorados se basan en parte en el descubrimiento de que las formas sólidas de sulfato de ceftolozano obtenidos por ciertos procesos que comprenden el uso de isopropanol (por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 2a) con ceftolozano proporcionan estabilidad mejorada de ceftolozano en una fase líquida durante la fabricación (en comparación con los métodos de fabricación descritos en la patente de EE.UU. 7.129.232), como se mide por una pureza de ceftolozano de aproximadamente 82% después de un ensayo de estabilidad de ceftolozano de 6-días del Ejemplo 3 (en comparación con alrededor de 68% a partir de formas sólidas de ceftolozano divulgadas en la Patente de Estados Unidos 7.129.232). Las nuevas formas sólidas de ceftolozano, incluyendo la forma sólida de sulfato de ceftolozano 1 y forma sólida de ceftolozano 2, se pueden obtener a partir de una solución acuosa con alcohol isopropílico, incluso en ausencia de etanol. Por el contrario, la patente EE.UU. No. 7.129.232 da a conocer una forma sólida de ceftolozano obtenida a partir de una solución acuosa sin alcohol isopropílico.

Los métodos de fabricación son útiles para la fabricación de composiciones antibióticas que comprenden ceftolozano en una o más formas sólidas adecuadas para el tratamiento de infecciones. Por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende ceftolozano para la administración parenteral se puede obtener a partir de sulfato de ceftolozano en la forma sólida 1 y/o la forma sólida 2 mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) formar una solución de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano en una Forma sólida 1 y/o Forma sólida 2, y (b) liofilizar la solución de ceftolozano para obtener una composición liofilizada de ceftolozano. La composición de ceftolozano liofilizado se puede combinar con tazobactam (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) para obtener una composición farmacéutica CXA-201 adecuada para la administración por vía intravenosa después de la reconstitución.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1** muestra dos patrones de difracción de rayos X de polvo de nuevas formas sólidas de sulfato de ceftolozano. El patrón superior corresponde al producto del Ejemplo 2a. El patrón inferior corresponde al producto del Ejemplo 2b.

5 La **Figura 2** representa dos espectros Raman de las nuevas formas sólidas de sulfato de ceftolozano. El patrón superior corresponde al producto del Ejemplo 2a. El patrón inferior corresponde al producto del Ejemplo 2b.

La **Figura 3** es una curva de análisis termogravimétrico (TGA) para el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada en la presente como la Forma 2.

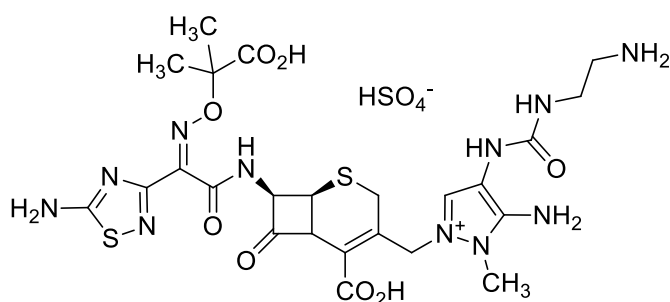
10 La **Figura 4** es un termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designado en la presente como la Forma 2.

La **Figura 5** es una isoterma de la sorción/desorción de humedad para formas sólidas de sulfato de ceftolozano.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA

ceftolozano puede prepararse como una sal farmacéuticamente aceptable en una o más formas sólidas. ceftolozano también se conoce como CXA-101; número de registro CAS 689293-68-3; (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino)-1-metil-1H-pirazol-2-io-2-il)metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino)-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato, y 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metiletoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxilato; ácido 5-Tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxílico, 3-[[4-[[[(2-aminoetil)amino]carbonil]amino]-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1H-pirazol-1-il]metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino]-8-oxo-, (6R,7R)-; y (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoetil)carbamoil]amino)-1-metil-1H-pirazol-2-io-2-il)metil]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino)-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-eno-2-carboxilato. Sulfato ceftolozano es un ejemplo de una sal

farmacéuticamente aceptable de ceftolozano. La estructura de sulfato de ceftolozano se muestra a continuación.



Sulfato de ceftolozano

5 Sulfato ceftolozano también se conoce como: Número de registro CAS 936111-69-2; 1H-
Pirazolio, 5-amino-4-[[[(2-aminoetil)amino]carbonil]amino]-2-[(6R,7R)-7-[(2Z)-2-(5-amino-
1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metil-etoxi)imino]acetil]amino]-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-
azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil]-1-metil-, sulfato (1:1); y monosulfato de 5-amino-4-[[[(2-
aminoetil)carbamoil]amino]-2-[(6R,7R)-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4 tiadiazol-3-il)-2-[(1-
10 carboxi-1-metil-etoxi)imino]acetil}amino)-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-
il]metil}-1-metil-1H-pirazolio.

El sulfato de ceftolozano puede producirse en una forma sólida amorfa o en una forma sólida cristalina o en mezclas de formas sólidas. Las formas sólidas cristalinas de ceftolozano pueden existir en una o más formas sólidas únicas, que pueden comprender adicionalmente uno o 15 más equivalentes de agua o disolvente (es decir, hidratos o solvatos, respectivamente).

Como se describe en el presente documento, el sulfato de ceftolozano cristalino precipitado o cristalizado a partir de isopropanol/agua tiene estabilidad significativamente mejorada en una solución que comprende isopropanol en comparación con la estabilidad en una solución que comprende etanol, tal como se utiliza para preparar sulfato de ceftolozano cristalino precipitado a partir de etanol/agua, como se describe anteriormente en Patente de Estados Unidos No. 7.129.232 (véase el Ejemplo 3). Por otra parte, las formas cristalinas precipitadas o cristalizadas a partir de isopropanol/agua tienen distintos picos de XRPD característicos (véanse los Ejemplos 1 y 2, y las Tablas 4 y 6) que no se observaron en las formas cristalinas previamente descritas de ceftolozano descritas en la Patente de Estados Unidos No. 7.129.232. En consecuencia, se proporcionan en la presente, nuevas formas sólidas cristalinas de sulfato de

ceftolozano, composiciones farmacéuticas de las mismas, y métodos de preparación de dichas formas sólidas cristalinas de sulfato de ceftolozano y métodos de uso de los mismos.

Las nuevas formas sólidas de ceftolozano se pueden obtener a partir de soluciones acuosas que comprenden ceftolozano y alcohol isopropílico (en la presente, también llamado IPA, o isopropanol). Como se describió en el Ejemplo 2a, el sulfato de ceftolozano en la forma sólida 1 se puede obtener mediante la formación de una solución de ceftolozano que comprende una sal de ceftolozano, un ácido fuerte e IPA y el mantenimiento de la solución bajo condiciones eficaces para formar una torta húmeda de ceftolozano que contiene la Forma 1 de la sal de ceftolozano. Preferiblemente, la solución de ceftolozano es una solución acuosa que comprende ceftolozano y el ácido fuerte (por ejemplo, ácido sulfúrico) en una cantidad que proporciona al menos 1 equivalente molar del ácido fuerte a la cantidad molar de ceftolozano en la solución. En ciertos ejemplos, la Forma 1 de ceftolozano se obtiene a partir de una solución de ceftolozano que es filtrada por refinamiento y la temperatura se ajusta y se mantiene durante todo el proceso de formación y aislamiento de sales. Una solución de ácido sulfúrico acuoso (H_2SO_4) puede cargarse al lote. Opcionalmente, esto puede ser seguido por la siembra con cristales de sulfato de ceftolozano. El lote es añejado, seguido por la adición de IPA durante un período de tiempo. Después de la adición de IPA, el lote se agita durante un período adicional, y después se filtra. La torta húmeda de sulfato de ceftolozano se lava con una solución de IPA y agua

La solución de ceftolozano se mantiene preferiblemente a una temperatura eficaz para proporcionar una pureza deseada y rendimiento del ceftolozano en la forma sólida 1, tal como 8-12 grados C. Además de la temperatura (ej., 8-12 grados C, preferiblemente 10 grados C aproximadamente), y la cantidad de ácido fuerte (ej., ácido sulfúrico en una cantidad que proporciona 1-3 equivalentes molares, y preferiblemente 2.45-2.55 equivalentes molares, con relación a la cantidad molar de ceftolozano), la concentración de ceftolozano antes de la formación de sales (ej., 75-85 g/L), la cantidad de semillas (ej., 0.1 a 1 w/w%) y tiempo de añejamiento después de la siembra (ej., 2-4 horas) también son parámetros que se pueden ajustar para obtener ceftolozano en la forma sólida de la Forma 1. Los procesos particularmente preferidos para la fabricación de la forma sólida de sulfato de ceftolozano de la Forma 1 incluyen el mantenimiento de una solución acuosa de sulfato de ceftolozano, alcohol isopropílico y ácido sulfúrico a una temperatura de 8-12 grados C. La Tabla 1 proporciona el rango de ejemplo de los valores de varios parámetros del proceso para la fabricación de formas sólidas de sulfato de

ceftolozano, junto con intervalos preferidos y valores onjetivo (los más preferidos) para cada parámetro de proceso.

Tabla 1: Parámetros de Proceso para la Formación y Aislamiento de Formas Sólidas de Sulfato de ceftolozano

Parámetro de Proceso	Rango de Ejemplo	Rango Preferido	Valor Objetivo
Concentración de ceftolozano después de la nanofiltración final (g/L)	72 a 100	75 a 85	80
Ácido sulfúrico (equivalente)	1.50 a 2.95	2.45 a 2.55	2.5
Cantidad de Semilla (p/p%)	0.03 a 4.0	0.1 a 1.0	0.3
Tiempo de añejamiento, después de la siembra (h)	1 a 5	2 a 4	3
Cantidad de IPA (vol)	20 a 40	29 a 31	30
Tiempo de adición de IPA (h)	0.5 a 8	6 a 7	6.5
Tiempo de añejamiento, después de la adición de IPA (h)	0 a 8	1 a 6	2
Temperatura (°C)	5 a 15	8 a 12	10
4:1 (v/v) IPA/solución de lavado con agua (vol)	≥ 2	≥ 2	4

Las formas sólidas de ceftolozano se pueden obtener por métodos que comprenden la etapa de combinar sulfato de ceftolozano y un disolvente, tal que se forma una solución que comprende sulfato de ceftolozano, y tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita a partir de la solución. Las formas sólidas cristalinas de sulfato de ceftolozano se pueden obtener a partir de métodos que incluyen las etapas de: (1) combinar sulfato de ceftolozano y un disolvente, tal que se forma una solución de sulfato de ceftolozano; y (2) combinar un antidisolvente con la solución, en donde el antidisolvente es miscible con el disolvente y en donde el sulfato de ceftolozano es parcial o totalmente insoluble en el antidisolvente, tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o se cristaliza a partir de la solución.

Una composición de sulfato de ceftolozano puede obtenerse mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) formar una solución que comprende agua, 72-100 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano; (b) combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico agregado a la solución durante 0.5-8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y (c) aislar el sulfato de ceftolozano sólido a partir de la solución. La temperatura de la solución puede ser de aproximadamente 0-20 grados C, preferiblemente 8-12 grados C (por ejemplo, 10 grados C). Opcionalmente, el procedimiento puede incluir además la adición de semilla de cristal de sulfato de ceftolozano, preferiblemente en una cantidad de 0.03-4.0% w/w y permitir que el cristal de siembra madure en la solución durante aproximadamente 1-5 horas. Opcionalmente, el procedimiento puede incluir permitir que la solución madure durante hasta aproximadamente 8 horas después de añadir el alcohol isopropílico.

En otro aspecto, los métodos de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino puede incluir las etapas de: (1) combinar la base libre de ceftolozano (es decir, la forma no salina de ceftolozano que tiene una carga neta formal de cero) y un disolvente, tal que se forma una solución de base libre ceftolozano; (2) combinar un ácido con la solución de la base libre de ceftolozano (ej., en una cantidad que proporciona un equivalente molar o un exceso del ácido a la base libre de ceftolozano, y/o una cantidad eficaz para ajustar el pH de la solución de ceftolozano a 1.5 a 2.0 aproximadamente); y (3) permitir que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipite o cristalice a partir de la solución. Además, el método puede incluir la adición de un antidisolvente (preferiblemente alcohol isopropílico) en una cantidad eficaz para proporcionar una tasa o medida deseada de precipitación y/o cristalización de la ceftolozano en la solución. Por consiguiente, la etapa (3) puede comprender además combinar un antidisolvente con la solución, en donde el antidisolvente es miscible con el disolvente y en donde el sulfato de ceftolozano es parcial o totalmente insoluble en el antidisolvente, tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o se cristaliza a partir de la solución. En algunas modalidades, la temperatura de la solución se ajusta a 0-20° C. En otras modalidades, la etapa (3) comprende la etapa de sembrar la solución con uno o más cristales de sulfato de ceftolozano. En algunas modalidades, el volumen de antidisolvente que se añade a la solución es de 20-40 volúmenes relativos al ceftolozano. En algunas modalidades, la temperatura de la solución formada en la etapa (1) se ajusta a 0-20 °C antes de proceder a la etapa (2). En una modalidad, el método de

fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino también puede incluir la etapa de: (4) secar el sulfato de ceftolozano cristalino precipitado o cristalizado. El secado puede comprender técnicas incluyendo, pero no limitado a, secado al aire, exposición al vacío, exposición a un flujo de gas neutro (por ejemplo, nitrógeno) y calor.

- 5 En una modalidad alternativa, el ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) primero se puede combinar con el disolvente, y luego la mezcla resultante se combina con ceftolozano. Alternativamente, ceftolozano y el ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) primero se pueden combinar, y luego la mezcla resultante se combina con el disolvente. En una modalidad, se añade el anti-disolvente a la solución de sulfato de ceftolozano o base libre. En otra modalidad, la
- 10 solución de sulfato de ceftolozano o base libre se añadió al antidisolvente. En ciertas modalidades, el disolvente se selecciona del grupo que consiste de agua y ácido sulfúrico. En ciertas modalidades, el antidisolvente se selecciona del grupo que consiste en alcoholes, éteres, ésteres, cetonas, nitrilos, amidas, nitroalcanos, nitroarenos, disolventes aromáticos sustituidos o no sustituidos, disolventes alifáticos sustituidos o no sustituidos y mezclas de los mismos. En
- 15 ciertas modalidades, el antidisolvente se selecciona de entre el grupo constituido por acetona, acetonitrilo, 1-butanol, ciclohexano, diclorometano, éter diisopropílico, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, 1,4-dioxano, etanol, acetato de etilo, heptanos, metanol, acetato de isopropilo, metil etil cetona, metil isobutil cetona, N-metil-2-pirrolidinona, nitrometano, isopropanol, éter
- 20 terc-butilmetílico, tetrahidrofurano, tolueno y mezclas de los mismos. En una modalidad preferida, el disolvente es agua. En otra modalidad preferida, el anti-disolvente es isopropanol.

- También se proporciona en este documento un método de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino, que comprende uno o más pasos seleccionados del grupo que consiste en: (1) combinar base libre de ceftolozano, ácido sulfúrico y agua, de manera que se forma una solución acuosa de sulfato de ceftolozano; y (2) combinar isopropanol con la solución acuosa, tal
- 25 que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o cristaliza a partir de la solución. En otro aspecto, se proporciona en la presente un método de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino, que comprende: (1) combinar la base libre de ceftolozano, ácido sulfúrico y una mezcla de disolvente/antidisolvente, tal que se forma una solución de sulfato de ceftolozano; y (2) combinar un antidisolvente con la solución, en donde el antidisolvente es miscible con el
- 30 disolvente y en donde el sulfato de ceftolozano es parcial o totalmente insoluble en el antidisolvente, tal que el sulfato de ceftolozano cristalino se precipita o se cristaliza a partir de la

solución. En otro aspecto, se proporciona en la presente un método de fabricación de sulfato de ceftolozano cristalino que comprende las etapas de: a) disolver sulfato de ceftolozano en agua para obtener una primera solución de sulfato de ceftolozano; b) combinar la primera solución de sulfato de ceftolozano con isopropanol para proporcionar una segunda solución de sulfato de ceftolozano; c) cristalizar el sulfato de ceftolozano de la segunda solución para obtener sulfato de ceftolozano cristalino. En otro aspecto, se proporciona en la presente, sulfato de ceftolozano cristalino producido de acuerdo con una cualquiera de los métodos anteriores. En otro aspecto, se proporciona en la presente, sulfato de ceftolozano cristalino obtenible por uno cualquiera de los métodos anteriores. Los procesos y métodos descritos en este documento también pueden comprender además la adición de uno o más cristales de siembra de sulfato de ceftolozano cristalino.

Tal como se utiliza en la presente, el término "precipitado" se refiere a la formación de una sustancia sólida a partir de una solución que contiene la misma sustancia. Una sustancia que se precipita a partir de la solución puede ser amorfa o cristalina. La precipitación puede producirse bajo una variedad de condiciones conocidas por los expertos en la técnica, incluyendo el tratamiento de una solución de un soluto (por ejemplo, soluto A en disolvente B) con un antidisolvente (es decir, un disolvente que es miscible con el disolvente B, pero no disuelve el soluto A). Ejemplos no limitantes de pares disolventes/antidisolventes incluyen agua/isopropanol.

Las formas sólidas de ceftolozano pueden ser identificadas por diversas técnicas analíticas, tales como la difracción de rayos X de polvo (XRPD). Las formas sólidas de sulfato de ceftolozano en forma sólida 1 y una nueva forma sólida de ceftolozano 2 de sulfato de ceftolozano pueden ambas ser identificadas mediante XRPD, teniendo ambas una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0,2$) de 24.2 y 37.8. Además, ceftolozano en ambas la Forma sólida 1 y la Forma sólida 2 pueden ambas producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} . Una composición de ceftolozano preferida puede incluir ceftolozano en una o más formas sólidas (por ejemplo, forma sólida 1 y/o forma sólida 2), caracterizadas por un patrón de XRPD con difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8, además de los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , y 1329 cm^{-1} . Además, las composiciones que comprenden sulfato de ceftolozano

en la forma sólida 1 y/o la forma sólida 2 pueden ser identificadas por los patrones XRPD con difracciones en los valores 2-theta ($2\theta \pm 0,2$) indicados en la Tabla 4 (para la Forma 1) y/o la Tabla 6 (para la Forma 2), respectivamente.

Una nueva Forma sólida de ceftolozano 1 de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0. Además, el ceftolozano en la forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} . En una modalidad, se proporciona en la presente la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino caracterizado por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos en sustancialmente los mismos ángulos que el espectro superior de la Figura 1. En otra modalidad, la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene uno o más picos sustancialmente en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) como se muestra en la Tabla 4.

Una nueva Forma sólida de ceftolozano 2 de sulfato de ceftolozano se puede identificar por medio de difracción de rayos X de polvo (XRPD), que tiene una o más difracciones características en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7. Además, el ceftolozano en la Forma sólida 1 puede producir los espectros Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , y 2953 cm^{-1} . En una modalidad, la Forma 2 de sulfato de ceftolozano cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene picos característicos a sustancialmente los mismos ángulos que el espectro inferior en la Figura 1. En otra modalidad, la Forma 2 de sulfato de ceftolozano cristalino se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene uno o más picos en sustancialmente los mismos ángulos ($2\theta \pm 0.2$) como se muestra en la Tabla 6.

Las formas cristalinas de sulfato de ceftolozano también pueden caracterizarse por su contenido de agua. En una modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende 11-27%, 12-26%, 13-25%, 14-24%, 15-23%, 16-22%, o 17-21% de agua en peso. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende 18 a 20% de agua por peso. En otra modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende aproximadamente 26.3% por peso de

agua. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino es decahidrato de sulfato de ceftolozano.

Las formas cristalinas de sulfato de ceftolozano también se pueden definir por su contenido de agua. En una modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende 4-10%, 5-9%, o 6-8% de agua por peso. La Forma 1 de sulfato de ceftolozano puede incluir aproximadamente 18-20% de agua. La Forma 2 de sulfato de ceftolozano puede incluir menos de aproximadamente 11% de agua, y preferiblemente aproximadamente 5- 11% de agua, y más preferiblemente aproximadamente 7-8% de agua.

En otra modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende alrededor de 7% de agua por peso. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino es trihidrato de sulfato de ceftolozano.

En algunas modalidades, el sulfato de ceftolozano cristalino se puede caracterizar mediante espectroscopia Raman. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 1 tiene un espectro Raman sustancialmente de acuerdo con el espectro superior mostrado en la Figura 2. En otra modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 1 tiene un espectro Raman con uno o más picos en sustancialmente las mismas posiciones ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) como se muestra en la Tabla 5. La Forma sólida 1 de ceftolozano puede producir picos de desplazamiento Raman que comprenden uno o más de los determinados picos no observados en la Forma 1, en alrededor de ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .

En otras modalidades, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 2 tiene un espectro Raman sustancialmente de acuerdo con el espectro inferior mostrado en la Figura 2. En otra modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino en la Forma 2 tiene un espectro Raman con uno o más picos en sustancialmente las mismas posiciones ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) como se muestra en la Tabla 7. La Forma sólida 2 de ceftolozano puede producir picos de desplazamiento Raman que comprenden uno o más de los picos a aproximadamente ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1.174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

ceftolozano en la Forma sólida 1 y la Forma sólida 2 se caracterizan ambas por picos de desplazamiento Raman intensos ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) a aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} . Además, la forma sólida 1 y la Forma sólida 2 de ceftolozano pueden producir picos de

desplazamiento Raman que comprenden uno o más de los siguientes picos como se indica en las Tablas 5 y 7 ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$).

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición que comprende formas sólidas amorfas y cristalinas de sulfato de ceftolozano. En una modalidad, la composición comprende sulfato de ceftolozano cristalino y sulfato de ceftolozano amorfo, en donde el sulfato de ceftolozano amorfo está presente en una cantidad seleccionada a partir de los siguientes rangos: 90-99%, 80-89%, 70-79%, 60-69%, 50-59%, 40-49%, 30-39%, 20-29%, 10-19%, 1-9% y 0-0,99%.

En algunas modalidades, el sulfato de ceftolozano cristalino es un hidrato. En una modalidad, el sulfato de ceftolozano cristalino es decahidrato de sulfato de ceftolozano. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino comprende monosulfato de 5-amino-4 - {[(2-aminoetil) carbamoil] amino} -2 - {[(6 R, 7 R) -7 - ((2 Z) -2 - (5-amino-1,2,4 tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil} amino)-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil}-1-metil-1 *H* -pirazolio y agua en una proporción molar 1:10.

En otra modalidad particular, el sulfato de ceftolozano cristalino es trihidrato de sulfato de ceftolozano. En una modalidad particular, el sulfato de ceftolozano comprende monosulfato de 5-amino-4 - {[(2-aminoetil) carbamoil] amino} -2 - {[(6 R, 7 R) -7 - ((2 Z) -2 - (5-amino-1,2,4 tiadiazol-3-il)-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil} amino)-2-carboxi-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-il]metil}-1-metil-1 *H* -pirazolio y agua en una proporción molar 1:3.

En comparación con las formas cristalinas anteriores de sulfato de ceftolozano, ciertas nuevas formas cristalinas de sulfato de ceftolozano tienen propiedades ventajosas. Por ejemplo, se encontró que estas formas cristalinas fueron químicamente más estables, lo cual puede ser beneficioso para la preparación de diversas formulaciones de fármacos.

Una composición farmacéutica puede comprender, y/o puede obtenerse a partir de la forma sólida de sulfato de ceftolozano designada como la Forma 2 de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2 \theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9 y 17.7. El sulfato de ceftolozano puede producir picos de desplazamiento Raman en aproximadamente 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

Una composición farmacéutica puede contener o ser obtenida a partir de una forma sólida de ceftolozano caracterizada por uno o más de los siguientes: (a) la forma sólida de sulfato de ceftolozano produce un patrón XRPD que comprende además difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$): 4.4, 8.8, 11.0, 14.9 y 17.7; (b) la forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 1 que produce un patrón XRPD que comprende además una o más difracciones adicionales en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) enumerados en la Tabla 6; (c) la forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman a aproximadamente ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} ; (d) la forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 1 que produce uno o más picos de desplazamiento Raman en valores listados en la Tabla 7; y cualquier combinación de una o más de las características (a) - (d).

Una composición farmacéutica puede contener o ser obtenida a partir de una composición de ceftolozano liofilizada obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de: (a) combinar sulfato de ceftolozano en la forma sólida designada aquí como sulfato de ceftolozano en la forma sólida 2, con agua, cloruro de sodio y L-arginina para formar una solución acuosa; y (b) liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada que comprende sulfato de ceftolozano. La composición farmacéutica obtenida por un método de este tipo puede incluir la realización de un ciclo de liofilización que se caracteriza por una o más de las siguientes características: (a) concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano/g de solución a granel, (b) no más de 3 cm de profundidad de relleno, (c) congelar a al menos $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante el ciclo de liofilización, (d) secar a no más de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, y (e) secado de una o de varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de secado primario a no más de 400 μbar .

Una composición de sulfato de ceftolozano puede obtenerse mediante un proceso que comprende las etapas de: (a) formar una solución que comprende agua, 72-100 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano; (b) combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico agregado a la solución durante 0.5-8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y (c) aislar la composición de sulfato de ceftolozano sólido a partir de la solución.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano y tazobactam se pueden obtener mediante la mezcla de una primera composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de ceftolozano con una segunda composición que comprende una

cantidad terapéuticamente eficaz de tazobactam para formar una composición farmacéutica mezclada. La composición farmacéutica puede comprender ceftolozano o una sal terapéuticamente eficaz del mismo y tazobactam o una sal farmacéuticamente eficaz del mismo en una cantidad que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo. La composición antibiótica farmacéutica incluye preferiblemente ceftolozano y tazobactam en una proporción de peso 2: 1 de ceftolozano activo a tazobactam activo ("CXA-201"), que muestra actividad antibacteriana, incluyendo la actividad antibiótica contra infecciones causadas por muchos patógenos Gram-negativos tales como *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). En particular, CXA-201 es una composición farmacéutica útil para la administración intravenosa para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas y/o infecciones del tracto urinario complicadas, y se está evaluando para el tratamiento de la neumonía.

Los métodos de tratamiento de una infección seleccionada del grupo que consiste en: infección intra-abdominal complicada (cIAI), infección del tracto urinario complicada (cUTI), o neumonía bacteriana asociada a ventilador o adquirida en hospital (HABP/VABP) también se proporcionan en el presente documento. Estos métodos pueden incluir administrar a un paciente una composición farmacéutica inyectable que comprende ceftolozano en una preparación inyectable preparada a partir de una composición liofilizada obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de: (a) combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y (b) liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano.

Las composiciones farmacéuticas se pueden obtener mediante la combinación de tazobactam (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) en una o más formas sólidas con una composición de ceftolozano que comprende ceftolozano en una o más sales y/o formas sólidas. El ceftolozano en la composición farmacéutica puede ser sulfato de ceftolozano en una o más formas sólidas descritas en este documento, incluyendo amorfo, Forma 1, Forma 2 y/o combinaciones de los mismos. El ceftolozano en la composición farmacéutica se puede obtener por un proceso que comprende liofilizar una solución de sulfato de ceftolozano en la Forma sólida 1, Forma sólida 2 y/o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, el ceftolozano en la

composición farmacéutica se puede preparar en ausencia de tazobactam mediante la formación de una solución acuosa que comprende sulfato de ceftolozano en la Forma sólida 1, Forma sólida 2 y/o combinaciones de los mismos y otros componentes, incluyendo excipientes, estabilizadores, aditivos de ajuste del pH (por ejemplo, buffers) y similares. Ejemplos no limitantes de estos aditivos incluyen cloruro de sodio, ácido cítrico y L-arginina. Por ejemplo, el uso de cloruro de sodio resulta en una mayor estabilidad; L-arginina se utiliza para ajustar la solución acuosa a un pH de 5-7 (por ejemplo, a un pH de 6-7) y para aumentar la solubilidad de ceftolozano; y el ácido cítrico se usa para prevenir la decoloración del producto, debido a su capacidad de quelar iones metálicos. En una modalidad, el pH de la primera solución acuosa es adecuado para la fabricación de un producto inyectable (ej., un rango de pH de 5-7, incluyendo 6-7). Preferiblemente, la primera solución acuosa comprende alrededor de 125 mg - 500 mg de un agente de estabilización de ceftolozano (tales como cloruro de sodio) por 1.000 mg de ceftolozano activo. El ceftolozano puede ser incluido como una cantidad de sulfato de ceftolozano de la fórmula (I) que contiene al menos aproximadamente 1.000 mg de ceftolozano activo. Luego la solución acuosa que comprende ceftolozano (ej., sulfato de ceftolozano en la Forma 2, y/o otras formas sólidas descritas en este documento) se liofiliza para formar una primera composición liofilizada de ceftolozano, que se combina con tazobactam, por ejemplo, el tazobactam liofilizado (ej., Tazobactam sódico liofilizado) o tazobactam cristalino.

La composición farmacéutica se puede obtener mediante la combinación de la composición de ceftolozano con una (segunda) composición tazobactam (ej., preferiblemente, pero no necesariamente, preparada en ausencia de ceftolozano) mediante la formación de una segunda solución que comprende tazobactam. El tazobactam se puede incluir en una cantidad que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo (es decir, una relación de peso 1:2 de tazobactam activo a ceftolozano activo).

Tazobactam es un inhibidor de beta-lactamasa en su forma de ácido libre. A menos que se indique lo contrario, el tazobactam puede ser un ácido libre, una sal de sodio, una sal de arginina, o un hidrato o solvato del mismo. En una modalidad, el tazobactam en la composición de tazobactam (segunda) es ácido de tazobactam y la segunda composición comprende además bicarbonato de sodio o hidróxido de sodio. La liofilización de tazobactam en la presencia de bicarbonato de sodio o hidróxido de sodio forma un sodio de tazobactam liofilizado, que puede ser mezclado adicionalmente con la (primera) composición de ceftolozano liofilizada.

Las composiciones farmacéuticas pueden obtenerse por liofilización (por ejemplo, liofilizar una solución acuosa de ceftolozano obtenida al disolver ceftolozano en la Forma 2 y/o la Forma 1 con otros componentes tales como un agente estabilizante, un agente quelante y/o un agente alcalinizante). Métodos específicos de liofilización se describen en Remington

- 5 Pharmaceutical Sciences, Capítulo 84, página 1565, Decimoctava Edición, A.R. Gennaro, (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990).

Las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano y tazobactam se pueden formular para tratar infecciones por administración parenteral (incluyendo administración subcutánea, intramuscular, e intravenosa). Las composiciones farmacéuticas pueden comprender
10 adicionalmente excipientes, estabilizadores, aditivos reguladores del pH (por ejemplo, buffers) y similares. Ejemplos no limitantes de estos aditivos incluyen cloruro de sodio, ácido cítrico y L-arginina. Por ejemplo, el uso de cloruro de sodio resulta en una mayor estabilidad; L-arginina se utiliza para ajustar el pH y aumentar la solubilidad de ceftolozano; y el ácido cítrico se usa para prevenir la decoloración del producto, debido a su capacidad de quelar iones metálicos. En una
15 modalidad particular, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se formulan para administración por inyección intravenosa o infusión.

Las composiciones antibióticas farmacéuticas se pueden proporcionar en un recipiente de forma de dosificación unitaria (por ejemplo, en un vial o bolsa, o similares). La forma de dosificación unitaria se puede disolver con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y luego se
20 administra por vía intravenosa. La forma de dosificación unitaria comprende 1.000 mg de ceftolozano activo y 500 mg de tazobactam, típicamente 1,000 mg de ceftolozano activo como sulfato de ceftolozano y 500 mg de tazobactam activo como tazobactam sódico, argininato o ácido libre. Las formas de dosificación unitaria se almacenan comúnmente en viales.

En un aspecto, se proporciona en la presente un recipiente de forma de dosificación
25 unitaria (ej., una bolsa, vial o similares) que contiene una forma de dosificación unitaria de una composición farmacéutica formulada para la administración parenteral para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas, la composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfato de ceftolozano y tazobactam en una proporción de 1,000 mg de ceftolozano activo por 500 mg de tazobactam activo, la composición farmacéutica
30 obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

a. liofilización de una primera solución acuosa en ausencia de tazobactam, la primera solución acuosa que comprende sulfato de ceftolozano, 125 mg a 500 mg de cloruro de sodio por 1.000 mg de ceftolozano activo, L-arginina y / o ácido cítrico en una cantidad eficaz para ajustar el pH de la primera solución acuosa para 5-7 (por ejemplo, 6-7) antes de la liofilización para

5 obtener una primera composición ceftolozano liofilizada,

b. liofilizar una segunda solución en ausencia de ceftolozano, la segunda solución que comprende tazobactam que se liofiliza para formar una segunda composición liofilizada de tazobactam; y

c. mezclar la primera composición liofilizada de ceftolozano y la segunda
10 composición liofilizada de tazobactam para obtener una composición farmacéutica mezclada en la forma de dosificación unitaria.

En una modalidad del contenedor de la forma de dosificación unitaria, el tazobactam en la segunda solución es el ácido de tazobactam, y en donde el ácido de tazobactam en la segunda solución se liofiliza en presencia de bicarbonato de sodio o hidróxido de sodio, formando así
15 tazobactam sódico liofilizado en la segunda composición liofilizada de tazobactam.

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento que comprenden sulfato de ceftolozano y tazobactam en una proporción de 1,000 mg de ceftolozano activo por 500 mg de tazobactam activo, se pueden obtener mediante un procedimiento que comprende las etapas de:

20 a. liofilizar una primera solución acuosa en ausencia de tazobactam, la primera solución acuosa que comprende sulfato de ceftolozano a un pH de 5-7 (ej., 6-7) antes de la liofilización para obtener una primera composición liofilizada de ceftolozano,

b. mezclar la primera composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam para obtener una composición antibacteriana.

25 Según se proporciona en la presente, ceftolozano puede ser estabilizado en una composición farmacéutica que comprende ceftolozano y una cantidad estabilizante eficaz de un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en: cloruro de sodio, dextrano 40, lactosa, maltosa, trehalosa y sacarosa. Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento se basan en parte en el sorprendente descubrimiento de que las composiciones

farmacéuticas de ceftolozano que comprenden estos agentes estabilizantes demuestran mejores proporciones residuales de ceftolozano (ej., % de ceftolozano restante después de 3 días a 70 grados C, medido por HPLC) y/o la estabilidad química (ej., menor reducción en la pureza de ceftolozano medida por HPLC después de 7 días a 60 grados C en un ensayo de estabilidad) en comparación con las muestras de control que comprenden ceftolozano sin un agente de estabilización.

De acuerdo con ello, las composiciones farmacéuticas antibióticas preferidas pueden incluir sulfato de ceftolozano y un agente estabilizante (ej., 300 a 500 mg de un agente estabilizante por 1000 mg de ceftolozano activo) en una forma de dosificación unitaria liofilizada (ej., polvo en un recipiente). La forma de dosificación unitaria puede ser disuelta con un vehículo farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, solución salina acuosa de cloruro de sodio al 0.9% y/o agua para inyección), y después se administra por vía intravenosa. En ciertas composiciones de ceftolozano, el agente estabilizante puede seleccionarse del grupo que consiste en: cloruro de sodio, lactosa, maltosa y dextrano 40, y/o puede seleccionarse del grupo que consiste en: cloruro de sodio, trehalosa y sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas de ceftolozano que comprenden 125-500 mg (por ejemplo, 480 a 500 mg) de cloruro de sodio por 1000 mg de ceftolozano activo demuestran pureza de ceftolozano y estabilidad química mejoradas en comparación con composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano con cloruro de sodio comparativamente menor. Las composiciones farmacéuticas de ceftolozano divulgadas comprenden una cantidad estabilizante de cloruro de sodio (por ejemplo, 125 a 500 mg de cloruro de sodio [más específicamente, 480-500 mg] por 1000 mg de ceftolozano activo). Ciertas composiciones preferidas demuestran pureza y estabilidad química mejoradas del ceftolozano en comparación con las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano con comparativamente menos cloruro de sodio. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas descritas comprenden típicamente menos de 4% de impureza total aproximadamente después de ser almacenadas durante siete días a 60 grados C, como se determina por HPLC. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas descritas comprenden menos de aproximadamente 2% de la impureza representada por el pico 1 después de haber sido almacenadas durante siete días a 60° C, como se determinó por HPLC (consultar el método HPLC descrito en la Tabla 10), donde el pico 1 tiene un tiempo de retención relativo a ceftolozano de aproximadamente 0.15.

Otra modalidad de la invención es un recipiente que contiene una forma de dosificación unitaria de una composición farmacéutica formulada para administración parenteral para el tratamiento de infecciones intra-abdominales complicadas o infecciones complicadas del tracto urinario. El recipiente puede ser obtenido por un procedimiento que comprende las etapas de: a) 5 liofilizar una solución acuosa que comprende 189 mg de sodio a partir de cloruro de sodio por 1.000 mg de ceftolozano activo en la forma de sulfato de ceftolozano y que comprende además ácido cítrico, y L-arginina para obtener una composición liofilizada de ceftolozano; y b) llenar una cantidad suficiente de la composición liofilizada en un recipiente para obtener una forma de dosificación unitaria que comprende un ceftolozano que estabiliza una cantidad estabilizante 10 efectiva de sodio a partir de cloruro de sodio (por ejemplo, 125-500 mg de cloruro de sodio por 1g de ceftolozano activo) y 1000 mg de ceftolozano activo en la forma de sulfato de ceftolozano. En un aspecto, el pH de la solución acuosa es 6.0 a 7.0. En otro aspecto, la composición farmacéutica se formula para administración parenteral mediante la reconstitución de la composición farmacéutica en el recipiente (por ejemplo, con 10 ml de diluyente tal como agua 15 para inyección o solución salina isotónica) seguido de la adición de la composición farmacéutica reconstituida a un vehículo para inyección (por ejemplo, aproximadamente 100 ml de solución salina isotónica u otro vehículo farmacéuticamente aceptable para la administración intravenosa). Opcionalmente, el recipiente también se llena con tazobactam (por ejemplo, un tazobactam liofilizado como tazobactam sódico). En aún otro aspecto, la composición farmacéutica es una 20 composición líquida que comprende 487 mg de cloruro de sodio por 1.000 mg de ceftolozano activo y tazobactam en una cantidad que proporciona aproximadamente 500 mg de ácido de tazobactam equivalente por 1.000 mg de ceftolozano activo, formulada para administración parenteral y el pH de la solución acuosa es de 5.0 a 7.0 y preferiblemente de aproximadamente 6.0 a 7.0.

25 La composición farmacéutica en el recipiente también puede ser un ceftolozano/tazobactam para Fármaco de Inyección, 1,000 mg/500 mg. Se presenta como una combinación de dos polvos estériles activos en un único recipiente destinado a la reconstitución e infusión intravenosa. En una modalidad, el fármaco se prepara mediante la conversión de sulfato de ceftolozano a una composición estéril como un polvo con excipientes ácido cítrico, cloruro de 30 sodio y L-arginina. Esto se puede hacer por liofilización, como se describe en el presente documento. El fármaco Tazobactam sódico se puede presentar como un polvo estéril sin

excipientes. El fármaco tazobactam sódico se puede liofilizar, secar por pulverización o proporcionar como un material cristalino. Luego el fármaco se prepara al llenar de manera aséptica los dos polvos (ej., los dos polvos de fármaco liofilizados por separado) secuencialmente en un solo recipiente.

- 5 En una modalidad, el recipiente de ceftolozano/tazobactam para inyección contiene aproximadamente 2255 mg de polvo de composición estéril de ceftolozano que contiene 1147 mg de sulfato de ceftolozano, que es equivalente a 1 000 mg de la base libre de ceftolozano, así como aproximadamente 537 mg de fármaco estéril de tazobactam sódico, equivalente a 500 mg de ácido libre de tazobactam. En el momento de la administración, el recipiente se reconstituye
 10 con 10 mL de vehículo, inyección de dextrosa USP estéril al 5%, Agua para Inyección o Inyección de Cloruro de Sodio USP al 0.9%, luego el contenido del recipiente se diluyó adicionalmente en una bolsa de infusión de Inyección de Cloruro de Sodio USP al 0.9% o Inyección de Dextrosa USP al 5% para la administración.

- Las composiciones farmacéuticas que contienen ceftolozano también pueden incluir una
 15 cantidad de tazobactam en una forma farmacéuticamente aceptable que proporciona 500 mg de ácido de tazobactam por 1.000 mg de ceftolozano activo como una composición formulada para inyección, o para la reconstitución antes de la administración parenteral. En una presentación del producto, el ceftolozano/tazobactam se puede proporcionar en un único recipiente que comprende sulfato de ceftolozano y tazobactam sódico, administrada mediante la reconstitución
 20 de la forma de dosificación unitaria de ceftolozano/tazobactam del contenedor para formar una formulación inyectable reconstituida. En una presentación (por ejemplo, para el tratamiento de ciertas infecciones del tracto urinario y/o ciertas infecciones intra-abdominales), cada recipiente de forma de dosificación unitaria de CXA-201 puede contener 1.000 mg de ceftolozano activo (peso equivalente de base libre, por ejemplo, proporcionado como una sal farmacéuticamente
 25 aceptable, tal como sulfato de ceftolozano) y tazobactam sódico estéril a una cantidad equivalente de 500 mg de ácido libre de tazobactam, en una forma sólida. En otra presentación (por ejemplo, para el tratamiento de neumonía bacteriana asociada a ventilador o adquirida en hospital (HABP/VABP) (HABP/VABP)), un producto de ceftolozano/tazobactam puede incluir un recipiente de forma de dosificación unitaria que proporciona 2,000 mg de ceftolozano activo
 30 (ej., como una cantidad equivalente de sulfato de ceftolozano) y 1,000 mg de ácido de tazobactam (ej., como una cantidad equivalente de tazobactam sódico). Las composiciones de

ceftolozano/tazobactam muestran una potente actividad antibacteriana contra diversas infecciones gram-negativas, tales como, por ejemplo, infección intra-abdominal complicada (cIAI), infección complicada del tracto urinario (CUTI), o neumonía bacteriana asociada a ventilador o adquirida en hospital (HABP/VABP).

5 El ceftolozano/tazobactam se puede utilizar para el tratamiento de una infección seleccionada del grupo que consiste en: infecciones del tracto urinario e infecciones intra-abdominales. Los métodos de tratamiento pueden incluir administrar por vía intravenosa a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende sulfato de ceftolozano y una cantidad de tazobactam que
10 proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo, el sulfato de ceftolozano en la composición farmacéutica obtenida a partir de una forma sólida de sulfato de ceftolozano obtenida por un proceso que comprende las etapas de: (a) combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida, designada como forma de sulfato ceftolozano 2, con agua, cloruro de sodio y L-arginina para formar una solución acuosa; (b) liofilizar la solución
15 acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano; (c) combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam para obtener la composición farmacéutica; (d) reconstituir la composición farmacéutica en un diluyente farmacéuticamente aceptable; y (e) administrar por vía intravenosa, la composición farmacéutica reconstituida al paciente.

20 En algunas modalidades de las formas sólidas de sulfato de ceftolozano y composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento, la forma sólida, composición o composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a:

Tabla 1a. Análisis de difracción de rayos X de polvo (por el sistema de difracción de rayos X
25 Rigaku MultiFlex)

2θ
8.0
12.7
13.8
16.1

18.9
20.4
21.5
22.4
23.3
24.0
25.5
26.7
27.9
28.5
31.3
Rayos-X: Cu/40 kV/30 mA

En un aspecto, se proporciona en este documento una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1 y 28.0, en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7, en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento es una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a aproximadamente 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} , en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en

alrededor de 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} y 802 cm^{-1} , en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición que comprende una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce:

5 a. un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8 y

 b. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} ;

 en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la
10 combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada en la presente
15 como Forma 1 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y

 b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

 en donde la composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1 a.

20 En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de
25 24.2 y 37.8 y los picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} , con agua para formar una solución acuosa; y

 b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

 en donde la composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que
30 tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición farmacéutica que comprende la forma sólida de sulfato de ceftolozano designado como Forma 2 de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7, en donde la

5 composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 10 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada como Forma 2 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y
- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que

15 comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada como Forma 2 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y
- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano
- 20 que comprende sulfato de ceftolozano;

en donde la composición farmacéutica no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en la presente una composición de sulfato de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 25 a. formar una solución que comprende agua, 72-90 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano;
- b. combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 0.5 -8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y
- c. aislar la composición de sulfato de ceftolozano sólido desde la solución;
- 30 en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

En otro aspecto, se proporciona en este documento una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

5 a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y

b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

10 en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a.

EJEMPLOS

Instrumentación y Métodos

15 Con excepción del Ejemplo Comparativo 1, y a menos que se indique lo contrario, la siguiente instrumentación y métodos fueron utilizados en los Ejemplos elaborados descritos en la presente. El Ejemplo Comparativo 1 se informa en la patente EE.UU. 7.232.129.

Difracción de rayos-x de Polvos (XRPD):

20 Se realizaron experimentos de difracción de rayos X de polvo de alta resolución (Bruker, AXS D8 Avance) en un difractómetro Bruker D8 usando radiación Cu K α (40 kV, 40 mA), goniómetro $\theta - 2\theta$, y las primaria y secundaria rejillas soller (2.5°), un Monocromador Ge y un detector Lynxeye (ángulo de apertura de 2.948°). Se utilizó un patrón de corindón certificado (NIST 1976) para comprobar el desempeño del instrumento. La recolección de datos se realizó
25 mediante el software Diffrac.Suite Measurement Center v2.2.47.1 y los datos se analizaron y presentaron utilizando Diffrac.EVA v2.0 o v3.0.

Las muestras se ensayaron en condiciones ambientales. Aproximadamente 500 mg de cada muestra se trituraron durante 3 minutos en un mortero con mano. La mezcla fue preparada al empacar de nuevo el material triturado en un soporte de muestra y sosteniéndola con un
30 soporte libre redondo de silicio en el fondo. Una vez empacada de forma ajustada, se formó una

superficie plana. Cuando la muestra se volcó cuidadosamente sobre, la apariencia de la API en el soporte de la muestra era muy similar a la apariencia de la muestra de corindón para NIST utilizada para verificar el rendimiento del instrumento. El tipo de barrido de TwoTheta/Theta acoplado se utilizó para la recolección de datos. El rango angular era de 2 a $50^\circ 2\theta$, y el tamaño de paso era de $0.001^\circ 2\theta$. El tiempo de recolección fue de 1 s para el cada paso. El radio del geniómetro se definió a 280 mm. La velocidad de rotación de la muestra fue de 15 rpm, y el tamaño de la hendidura fue 0.1 mm.

10

Análisis Térmico

Se realizaron experimentos de Análisis Termo Gravimétrico (TGA) en instrumentos TA Discovery de la serie TGA. La calibración de la temperatura se llevó a cabo usando indio certificado. Típicamente, 3 - 15 mg de la muestra se aplanan en bandejas selladas de aluminio.

Los datos fueron adquiridos para las muestras con y sin un agujero. Para muestras con un agujero, una vez eran engarzadas y selladas, el muestreador automático golpeó la tapa de la muestra con su punzón interno justo antes del análisis de la muestra. Las muestras se calentaron a $20^\circ\text{C}/\text{min}$ de 30°C a 400°C . Se purgó nitrógeno seco en el sistema durante el experimento a una tasa de 50 ml/min. El software utilizado para controlar el instrumento fue TRIOS Explorer Software v5.3.0.75. El software TRIOS v2.40.1838 o v2.04.04563 se utilizó para el análisis de datos.

Los experimentos de la Calorimetría diferencial de barrido (DSC) se llevaron a cabo en instrumentos TA Q2000 y fueron usados para recoger los datos de la DSC. La calibración de la capacidad térmica se llevó a cabo usando zafiro y la calibración para energía y temperatura se llevó a cabo usando indio certificado. Típicamente, 3 - 10 mg de la muestra se aplanan en bandejas selladas de aluminio y se registra el peso de manera precisa. Los datos fueron adquiridos para las muestras con un agujero en la tapa. Las muestras se calentaron a $10^\circ\text{C}/\text{min}$ de 25°C a 350°C . El nitrógeno seco se purgó en el sistema durante el experimento a una tasa de 50 ml/min. El software utilizado para controlar el instrumento es el Advantage Q Series v2.9.0.396 y el Thermal Advantage V5.4.0. Los datos fueron analizados utilizando el software Universal Analysis v4.5A.

Gravimetría dinámica de sorción de vapor

Los datos la gravimetría dinámica de sorción de vapor (Figura 5) se obtuvieron utilizando un analizador intrínseco de sorción de humedad SMS DVS, controlado por software de control intrínseco de DVS v1.0.0.30. La temperatura de la muestra se mantuvo a 25° C mediante los controles de instrumentos. La humedad se controló mezclando corrientes de nitrógeno seco y húmedo. La humedad relativa se midió mediante una sonda Rotronica calibrada, situada cerca de la muestra. El cambio de peso de la muestra como una función del porcentaje de humedad relativa se monitoreó constantemente mediante el microbalance (precisión ± 0.005 mg). Se colocaron aproximadamente 40 mg de muestra en una cesta de malla de acero tarada en condiciones ambientales. El peso de referencia se estableció al inicio de un experimento. Los parámetros de las isothermas de sorción de humedad se describen a continuación:

Tabla 2

Parámetros	Valores
Barrido 1 Adsorción	40-90%
Barrido 2 Desorción/Adsorción	90%-0%/0%-40%
Intervalo (Aumentos graduales de humedad relativa)	10%
Número de Barridos	4(doble ciclo)
Tasa de Flujo para N₂ seco y húmedo	200 ml/min
Temperatura	25° C
Estabilidad de Temperatura	0.2° C/min
Tiempo fuera	6 horas

El análisis de datos se realizó en Microsoft Excel utilizando DVS Analysis Suite v6.0. La muestra se recuperó después de la finalización del experimento de isoterma para la caracterización de estado sólido.

Medición de Espectroscopia

Los espectros de Raman fueron adquiridos en un espectrómetro de transformada de Fourier Raman 960 (Thermo Nicolet) equipado con un detector de germanio (Ge). La verificación de longitud de onda se realizó usando azufre y ciclohexano. Cada muestra se envasó en un pellet y se colocó en un soporte de pellet para el análisis. Aproximadamente 0.505 W de polvo láser Nd:YVO₄ (1.064 nm de longitud de onda de excitación) se utilizó para irradiar cada muestra. Las listas de picos se generaron utilizando el software OMNIC v7.2a.

Ejemplo (Comparativo) 1: Forma sólida divulgada en 7.129.232

Una solución de 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metiletoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxilato (36 g) en agua se purificó mediante HPLC preparativa utilizando una columna de ODS. El eluato que contiene un producto deseado se concentró a aproximadamente 1.5 L al vacío. El concentrado se ajustó a aproximadamente pH 1 con ácido clorhídrico concentrado y se cromatografió en Diaion® HP-20 (6 L) eluyendo con 2-propanol acuoso al 20%. El eluato se concentró a aproximadamente 800 ml a vacío, y se añadió ácido sulfúrico 2M (17 ml). La solución resultante se liofilizó para proporcionar una sal de ácido sulfúrico como un polvo amorfo (23.6 g).

El polvo se disolvió en agua (71 ml) y etanol (57 ml). Después de la adición de cristales de siembra (310 mg), que resultaron en la precipitación de un sólido blanco, la mezcla se agitó durante 1 hora. Se añadió una mezcla de etanol (47 ml) y agua (37 ml) durante 30 minutos, y se añadió etanol (33 ml) durante 20 minutos. A continuación, la suspensión se agitó durante 1.5 horas adicionales. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con etanol/agua (60 ml/20 ml) y etanol (60 ml) y se secó para proporcionar hidrógeno sulfato del ácido 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-tiadiazol-3-il)-2-(1-carboxi-1-metilethoxiimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoetil)ureido]-2-metil-1-pirazolio}metil-3-cefem-4-carboxílico en forma de cristales (17.3 g).

IR(KBr) 3353, 3183, 1778, 1652, 1558, 1403, 1321, 1143, 1118, 997, 619 cm⁻¹

¹H-NMR(D₂O) δ 1.61 (6H, s), 3.10–3.55 (6H, m), 3.71 (3H, s), 5.02 y 5.23 (2H, ABq, J=16.7 Hz), 5.25 (1H, d, J=4.9 Hz), 5.87 (1H, d, J=4.9 Hz), 7.91 (1H, s)

ESI-MS: m/z=667(M+H⁺)

Tabla 3. Analisis de difracción de rayos X de polvo (por el sistema de difracción de rayos X Rigaku MultiFlex)

2 θ	intensidad
8.0	1286
12.7	586
13.8	423
16.1	618
18.9	520
20.4	748
21.5	667
22.4	1058
23.3	944
24.0	618
25.5	813
26.7	472
27.9	537
28.5	455
31.3	390
Rayos-X: Cu/40 kV/30 mA	

5 Ejemplo 2a Forma sólida novedosa de sulfato de ceftolozano

Para obtener sulfato de ceftolozano en la Forma 1: ceftolozano (1 equivalente molar) se disolvió en agua para proporcionar una solución a una concentración de 80 g/L. Se añadió una solución acuosa de ácido sulfúrico (20-98%, 2.5 equivalentes molares) a 0-20 °C. La solución resultante se sembró con sulfato de ceftolozano (0.01 a 0.05% por peso con respecto a

10 ceftolozano activo) y se dejó agitar durante 1-3 horas a 0-20 °C. Se observó una precipitación. Se añadió isopropanol (20-40 volúmenes relativos a ceftolozano activo) para dar lugar a una suspensión a 0-20 °C. Después de la filtración, se obtuvo sulfato de ceftolozano cristalino. El patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino se representa en la Figura 1 (patrón de difracción superior), y los datos correspondientes se resumen

en la Tabla 4. El espectro Raman de la Forma 1 de sulfato de ceftolozano cristalino se representa en la Figura 2 (espectro superior), y los datos correspondientes se resumen en la Tabla 5.

Tabla 4: Patrones de Difracción de Rayos X de polvo para la Forma 1 de Sulfato de ceftolozano

5 1 (Ejemplo 2a)

Forma 1 de Sulfato de ceftolozano	
Ángulo [$^{\circ}2\theta$]	Intensidad (cts)
4.061	629
8.126	3275
9.748	511
10.865	521
12.435	399
12.954	1225
14.016	867
14.284	613
16.177	937
16.413	1048
18.796	847
19.094	1024
20.200	484
20.596	1393
21.732	1260
22.278	1098
22.603	1816
23.490	1554
23.777	720
24.268	913
25.059	590
25.678	1261
25.929	1107
26.746	701
27.102	619
28.017	854
28.668	792
29.265	390
29.972	428
31.513	612
32.917	423

Forma 1 de Sulfato de ceftolozano	
Ángulo [$^{\circ}2\theta$]	Intensidad (cts)
33.526	512
34.773	431
35.191	408
36.111	361
37.504	366
37.723	373
38.778	312
40.860	299
41.631	350
44.084	281
45.997	235

Table 5. Lista de picos Raman para la Forma 1 de sulfato de ceftolozano (Ejemplo 2a)

Forma 1 de Sulfato de Ceftolozano	
Posición (cm^{-1})	Intensidad (Recuentos)
170.5	5.402
276.5	3.852
336.1	2.78
381.2	3.172
424	3.787
530.9	2.974
596.7	2.607
680.9	3.385
716.2	3.408
742.8	2.64
798.8	4.282
818.7	12.666
951.9	3.307
980.9	5.46
1055.3	1.794
1135.1	3.121
1242	2.471
1285	2.835
1328.5	3.402

Forma 1 de Sulfato de Cefotolozano	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad (Recuentos)
1418.7	7.494
1464.1	15.996
1607.7	10.642
1642.3	8.252
1786	3.322
2893.8	5.886
2940.8	7.789
2976.1	8.658
3265.8	1.5

Ejemplo 2b: Forma sólida novedosa de sulfato de ceftolozano

Obtener el Sulfato de ceftolozano en la Forma 2: El sulfato de ceftolozano obtenido como la Forma 1 en el Ejemplo 2a se secó al vacío y el nitrógeno se purgó a 20-25 °C durante 24-48 horas para proporcionar sulfato de ceftolozano cristalino (secado al vacío). El patrón de difracción de rayos X de polvo de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano cristalino se representa en la Figura 1 (patrón de difracción inferior), y los datos correspondientes se resumen en la Tabla 6.

10

Tabla 6: *Patrón de Difracción de Rayos X de Polvo de la Forma 2 de Sulfato de ceftolozano (Ejemplo 2b)*

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Ángulo [°2θ]	Intensidad (cts)
4.400	348
7.900	950
8.827	700
9.381	466
11.000	536
12.861	981

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Ángulo [$^{\circ}2\theta$]	Intensidad (cts)
13.980	534
14.913	479
15.753	610
17.673	711
18.749	923
20.488	858
21.692	924
22.178	1020
24.235	1000
25.678	842
27.180	708
28.593	587
31.482	546
33.277	508
34.397	438
35.789	428
37.767	403

El espectro Raman de la Forma 2 de sulfato de cefotolozano cristalino se representa en la Figura 2 (espectro inferior), y los datos correspondientes se resumen en la Tabla 7. La Tabla 7 enumera los picos de desplazamiento Raman para el sulfato de cefotolozano en Forma sólida 2.

5

Tabla 7. Lista de picos Raman para la forma 2 de sulfato de cefotolozano (Ejemplo 2b)

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Posición (cm^{-1})	Intensidad (Recuentos)
151	11.618
282	6.341
418.1	6.139
530.2	4.005
596.8	5.656
683.7	7.226
716.2	6.968
802.3	7.45
976.9	7.505
1174.2	3.974

Forma 2 de Sulfato de Cefotolozano	
Posición (cm⁻¹)	Intensidad (Recuentos)
1237	4.582
1282.1	6.944
1328.1	6.577
1414.3	12.424
1458.5	25.508
1602.2	20.204
1637.5	15.561
1782	5.388
2952.8	7.588

La propiedad de sorción/desorción de la humedad de la Forma 2 de cefotolozano cristalino se representa en la Figura 5. Se observó una histéresis reversible asociada con alrededor de 23% por peso de agua entre 0% y 90% de humedad relativa (RH). La isoterma DVS en la Figura 5 es consistente con la presencia de dos formas cristalinas que se pueden interconvertir como función de la humedad relativa. La presencia de la Forma sólida 1 de sulfato de cefotolozano y la Forma sólida 2 de sulfato de cefotolozano en la muestra ensayada para obtener la isoterma DVS en la Figura 5 se confirmó por una medición de XRPD de humedad variable (VH-XRPD), con base en los ángulos de difracción XRPD descritos para la Forma 1 y la Forma 2 de sulfato de cefotolozano (como se describe en la presente). Haciendo referencia a la gráfica de isoterma de DVS en la Figura 5, la curva inferior corresponde a sulfato de cefotolozano en Forma sólida 2, y la curva superior corresponde con sulfato de cefotolozano en Forma sólida 1. El eje Y de la gráfica DVS es el cambio en masa. El eje X de la gráfica DVS se refiere al porcentaje de humedad relativa (RH) de la muestra. El punto de referencia 10 en la Figura 5 es el punto de partida de la Forma 2 en el experimento DVS. La porción inferior de la curva en la Figura 5 se obtuvo midiendo el cambio en masa de una muestra de sulfato de cefotolozano en la Forma sólida 2 mientras que el aumento de humedad relativa (RH) en la muestra, comenzando en el punto de referencia 10 de la curva inferior desde el punto de referencia 10 (Forma 2) y moviéndose hacia el punto de referencia 20 (Forma 1). Con base en los datos recolectados, el sulfato de cefotolozano en la muestra convertida de la Forma 2 a la Forma 1 cuando la muestra se expone a condiciones entre el 50% HR (punto de referencia 12) y 70% de humedad relativa (punto de referencia 15). Haciendo referencia de nuevo a la curva inferior en la Figura 5, el sulfato de cefotolozano en

Forma 1 está presente en la muestra de 70% de humedad relativa al punto de referencia 20, donde la muestra es sulfato de ceftolozano en la Forma cristalina 1. Con referencia a la curva superior en la Figura 5, desde el punto de referencia 20 al punto de referencia 30, el sulfato de ceftolozano en el material de la muestra sigue como la Forma sólida 1. Desde el punto de referencia 30 a alrededor de 20% RH (punto de referencia 35 en la curva superior), la forma cristalina de sulfato de ceftolozano en el material se transforma de la Forma 1 a la Forma 2. Como la humedad relativa de la muestra cayó por debajo de aproximadamente 20% en la curva superior entre el punto de referencia 30 y el punto de referencia 40 (HR al 0%), el sulfato de ceftolozano se hizo más amorfo, con alguna forma residual 2 restante en el punto de referencia 40. En resumen, el sulfato de ceftolozano en la muestra estuvo presente como la Forma 2 en el punto de referencia 10 (humedad relativa del 40%), convertido de la Forma 2 a la Forma 1 entre el punto de referencia 12 y el punto de referencia 15 en la curva inferior, se mantuvo como la Forma sólida 1 entre el punto de referencia 20 y el punto de referencia 30 en la curva superior, convertida de la Forma 1 a la Forma 2 entre el punto de referencia 30 y el punto de referencia 35 en la curva superior, y se mantuvo como la Forma sólida 2 desde el punto de referencia 35 al punto de referencia 40 (con la formación de forma sólida amorfa en la muestra). Desde el punto de referencia 40 al punto de referencia 10 (curva inferior), aumentar la humedad relativa del material de la Forma 2 parcialmente cristalina resultó en el material que conserva algo de sulfato de ceftolozano en la Forma 2 (parcialmente cristalina).

Ejemplo 2d: Ejemplo representativo del proceso para la fabricación de formas sólidas novedosas de sulfato de ceftolozano

Usando el proceso de los pasos 1-9 (a continuación), se obtuvo la Forma 2 de sulfato de ceftolozano activo como un sólido blanco, con un ensayo de peso de 76.2% (determinado mediante el método HPLC descrito con respecto a los parámetros en la Tabla 9 en la presente) y la pureza de 98.7 % AUC usando HPLC (determinado usando el método HPLC descrito con respecto a la Tabla 10 en la presente). La forma sólida de sulfato de ceftolozano 1 fue producida por los pasos 1-8 del procedimiento siguiente, y se secó adicionalmente (paso 9) para obtener la Forma 2 de sulfato de ceftolozano. Los materiales utilizados en el proceso a continuación se resumen en la Tabla 8a.

Tabla 8a

Paso	Material	MW (g/mol)	Activo (kg)	Cantidad (L)	Volumen (L/kg)	Equivalente Molar
1	Solución de ceftolozano	666.7	55	650	N/A	1
2	Ácido sulfúrico al 50% por peso	98.1	41	29	N/A	2.5
3	Semilla de sulfato de ceftolozano	666.7	0.20	N/A	N/A	N/A
5	Alcohol isopropílico (IPA)	60.1	N/A	1653	30	N/A
8	IPA/Agua (4:1)	N/A	N/A	221	4	N/A

1. Filtro de refinamiento (1 micra) la solución de Ceftolozano (85 g/L, 650 L) en un reactor revestido de vidrio y ajuste de la temperatura a 8-12 grados C, con una temperatura objetivo de aproximadamente 10 grados C. Esta temperatura se mantiene a través de paso 6.
2. Carga de ácido sulfúrico al 50% (por peso) (41 kg, 29 L, 2,5 equiv) a la solución en el reactor de la etapa 1 durante 10-30 minutos.
3. (Opcional, pero etapa preferida) Cargar las semillas de sulfato de ceftolozano (200 g, 0.3% por peso) al reactor y agitar la solución. (Nota: se observó nucleación tras la siembra)
4. Añejamiento del lote en el reactor durante 3 horas.
5. Carga de isopropanol (IPA) (1,650 L, 30 volúmenes) al reactor a una tasa uniforme de 4-5 vol/hr. (6-7 horas de tiempo de adición, blanco de 6.5 horas) (Nota: si la tasa de la adición de IPA no es uniforme, los niveles de pureza del producto pueden verse afectados negativamente).
6. Agitación del lote en el reactor durante 1-6 horas, blanco de 2 horas.
7. Filtro de la suspensión de sulfato de ceftolozano resultante desde el reactor.
8. Lavado de la torta de suspensión de ceftolozano del paso 7 con una solución de 4: 1 de IPA/agua. (221 L, 4 volumes)

9. Secado del sólido de la etapa 8 al vacío utilizando una purga de nitrógeno seco, con una temperatura de nitrógeno de 15-35 grados C, temperatura objetivo de aproximadamente 25 grados C. El proceso de secado debe ser controlado por la medición de agua residual y los niveles IPA en la torta. El proceso de secado se puede completar cuando el contenido de agua residual es inferior a aproximadamente 8.5% y los niveles de IPA son menores de aproximadamente 5.000 ppm. Típicamente, el secado se completa dentro de las 48 horas.

Ejemplo 3: Prueba Comparativa de Estabilidad del Solvente de Ceftolozano

- 10 Este estudio de estabilidad fue para evaluar la estabilidad y pureza del sulfato de ceftolozano en diferentes sistemas de disolventes.

- La muestra 1 fue un sistema de disolvente utilizado para preparar sulfato de ceftolozano cristalino a partir de una mezcla de isopropanol y agua, como se describe en el Ejemplo 2b (en ausencia de etanol). La muestra 2 fue el sistema disolvente usado para obtener sulfato de ceftolozano cristalino preparado según el procedimiento de la Patente EE.UU. No. 7.129.232, en donde los cristales se precipitan a partir de una mezcla de etanol y agua.

La muestra 1 y la muestra 2 se mantuvieron durante 6 días (como se describe en el Ejemplo 2a, con agitación continua). La pureza de ceftolozano en las muestras en cada sistema de disolventes se midió por HPLC en día 0, día 3, y día 6.

- 20 Sorprendentemente, la pureza del sulfato de ceftolozano en la muestra 1 fue significativamente mayor que la pureza del sulfato de ceftolozano en la muestra 2 (véase la Tabla 8b).

Tabla 8b. *La pureza de ceftolozano en sulfato de ceftolozano en diferentes sistemas de disolventes utilizados para obtener diferentes formas sólidas*

Muestra	0	3 días	6 días
1	96.74 %	87.39 %	81.94 %
2	96,84 %	87.97 %	67.74 %

Ejemplo 4: Determinación del Contenido de Agua para Ceftolozano Cristalino

El contenido de agua de sulfato de ceftolozano cristalino (preparado de acuerdo con el Ejemplo 2a como la Forma 1) se determinó utilizando un valorador volumétrico Karl Fischer V30 Mettler Toledo que estaba conectado a un cambiador de muestras en horno Mettler Toledo Stromboli. AquaStar CombiTitrant 5 (EMD; Cat. No.1.88005.1045; Lote No. 51096) se utilizó como el agente valorante y AquaStar Combi-metanol (EMD; Cat. No 1.88009.1045; Lote No 53046) se utilizó como el disolvente. Para el procesamiento de los datos, se empleó la versión del software LabX 3.1.1.0.

El patrón de agua hidranal para el horno KF (Fluka; Cat. No. 34693; Lot No. SZBB010AV) que se espera que contenga 5% de agua fue precisamente pesado por duplicado en un valor estrechamente cercano a 200 mg. El sulfato de ceftolozano cristalino (15-18 mg) se pesó exactamente por triplicado en viales de muestras Stromboli separados de 20 mL. Los viales se sellaron con sellos de aluminio y tapones de goma. Un vial de blanco fue preparado al sellar un vial vacío de 20 ml de Stromboli con el sello de aluminio y la tapa de goma. El vial de blanco se utilizó para determinar la humedad de fondo en el aire dentro del vial. Todos los viales fueron cargados en el cambiador de muestras con horno Stromboli. Se introdujeron los pesos del patrón de agua y las muestras de la torta húmeda de sulfato ceftolozano en gramos en la secuencia del programa valorador. El estándar de agua y el vial de blanco se equilibraron a 150° C. Las muestras de sulfato de ceftolozano cristalino se equilibraron a 130° C. El flujo de nitrógeno a 40-50 ml/min fue utilizado para el transporte de la humedad a través del tubo de transferencia en el recipiente del valorador. Se utilizó el tiempo de mezclado de 180 s, y se programó la adquisición de datos con una desviación de inicio máximo de 15 µg/min. Al final de las corridas, el software valorador proporcionó el contenido de agua en porcentaje por peso. El valorador KF pasó la prueba de precisión a medida que la media de las lecturas duplicadas para el estándar de agua estaba entre el rango de aceptación de 4.80-5.20%. Los resultados del contenido de agua de sulfato de ceftolozano cristalino derivado de las pesadas por triplicado se registraron y la media se reportó. La determinación del contenido de agua sigue la ecuación como se describe a continuación. El software descrito anteriormente proporciona el resultado directamente después de tener el contenido de humedad de fondo sin necesidad de cálculo manual.

Se encontró que una muestra de sulfato de ceftolozano cristalino preparado según el Ejemplo 1 contenía aproximadamente 26.3% por peso de agua.

Ejemplo 5: Determinación de la Concentración de Ceftolozano

Los patrones y muestras se preparan en monohidrato de perclorato de sodio 50 mM, pH 4.00. Un estándar de cuantificación (Solución estándar 1) y estándar de comprobación (Solución Estándar 2) se prepararon ambos a la concentración de trabajo objetivo de 0.3 mg/mL, teniendo en cuenta la potencia, tal como es de la norma. Las muestras se preparan en la concentración activa objetivo de 0.3 mg/ ml mediante la preparación de una muestra a 0.04% (peso/volumen).

Tabla 9. Condiciones HPLC para la Determinación de la Concentración

Columna	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 250 mm x 4,6 mm, o		
Columnas de custodia	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 10 mm x 4,0 mm, o		
Temperatura de columna	40°C ± 2°C		
Modo	Gradiente:		
Fase móvil A:	Perclorato monohidrato de sodio 50 mM, pH 2.50		
Fase móvil B	Acetonitrilo en agua al 90%		
Condiciones de bombeo	Tiempo (min):	% A	% B
	0.0	89.5 ^a	10.5 ^a
	10.0	89.5 ^a	10.5 ^a
	15.0	20	80
	20.0	20	80
	20.1	89.5 ^a	10.5 ^a
	25.0	89.5 ^a	10.5 ^a
Tasa de flujo:	1.0 mL/minute		
Deteccion	UV a 254 nm		
Temperatura de auto-	4°C ± 2°C		
Volumen de inyección	10 µL		
Tiempo de Ejecución	25 minutos.		

^a La relación de fase móvil A a la fase móvil B se puede ajustar para lograr el tiempo de retención deseado, sin embargo, la proporción isocrática de %A a %B debe ser idéntica para ambos intervalos isocráticos.

La solución estándar 1 se inyecta 6 veces al comienzo del análisis para establecer la idoneidad y la precisión del sistema.

La idoneidad del sistema se determina usando la primera inyección de Solución Estándar 1. El factor de asimetría para el pico ceftolozano debería ser 0.8 a 1.5 y el tiempo de retención para el pico de ceftolozano debería ser 10.0 ± 1.5 minutos. El ajuste de la bomba binaria en porciones isocráticas de la corrida (0.0 a 10.0 minutos y 20.1 a 25.0 minutos) se puede ajustar para lograr el tiempo de retención del pico de ceftolozano.

La idoneidad adicional de la corrida se determinada por:

- % RSD de 6 inyecciones de la Solución Estándar 1 debe ser inferior a 1.0%. La recuperación de la Solución Estándar 2 debe ser $100.0 \pm 1.0\%$.
- El tiempo de retención de la Solución Estándar 2 debe ser $\pm 5\%$ del RT de la primera inyección de la Solución Estándar 1.
- El factor de asimetría de ceftolozano en la Solución Estándar 2 debe ser de 0.8 a 1.5.

Cada muestra se prepara por duplicado y se inyecta por separado. La relación del factor de respuesta para las dos preparaciones debe estar dentro de $100.0 \pm 1.0\%$.

La potencia media del ceftolozano, como es, se reporta en $\mu\text{g}/\text{mg}$ y se calcula utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Potency, as - is } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{A_c \times C_{std} \times 1000 \times V_c}{A_{std} \times W_c} ;$$

donde:

A_c = Área del pico de ceftolozano en el cromatograma de muestra;

C_{std} = Concentración del Estándar de ceftolozano 1, mg/mL ;

A_{std} = Área del pico promedio en 6 inyecciones del estándar 1;

W_c = Peso de la muestra, mg ;

V_c = Volumen de la muestra, mL ;

1000 = Conversión de mg a μg ; y

$$\text{Mean Potency, as - is } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{(\text{Preparation 1} + \text{Preparation 2})}{2} .$$

El ensayo de ceftolozano medio, anhidro y ácido sulfúrico libre, se reporta en % y se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Mean Assay } (\%) = \text{Potency} \times 10 / (100 - \text{Water Content} - \text{Sulfuric Acid}) ;$$

donde:

Potencia = Potencia Media, $\mu\text{g}/\text{mg}$;

Contenido de Agua = Contenido medio de agua, %; y

Ácido sulfúrico = Contenido medio de ácido sulfúrico, %.

5

Ejemplo 6: Determinación del contenido de agua de ceftolozano

La prueba del contenido de agua se lleva a cabo usando un horno Stromboli y valorador volumétrico por triplicado utilizando un pesaje separado de 180 mg de sulfato de ceftolozano.

La muestra de prueba se extrae a 130° C, la humedad se transfiere al recipiente de valoración y se titula hasta el punto potenciométrico final. El porcentaje de humedad se calcula con base en el peso de la muestra, y se informa el promedio de los tres valores.

Ejemplo 7: Determinación de la Pureza del Sulfato de Ceftolozano.

Las muestras de sulfato de ceftolozano se preparan a una concentración de 1 mg/mL en diluyente (perclorato monohidrato de sodio 50 mM, pH 4.00). El estándar de idoneidad del sistema (SST) se prepara a una concentración de 1 mg/mL de sulfato de ceftolozano que contiene impurezas especificadas en diluyente (monohidrato perclorato de sodio 50 mM, pH 4.00). Las muestras de ceftolozano y SST se almacenan en una bandeja del automuestreador refrigerado a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ y las muestras solamente son estables durante 5 horas a esta condición. Las condiciones de HPLC se enumeran en la **Tabla 10**.

20

Tabla 10. Condiciones de HPLC para HPLC-RT, Sustancias Relacionadas, y Método de Pureza

Columna	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 250 mm x 4,6 mm, o equivalente		
Columnas de Custodia	Develosil ODS-UG-5, 5 micras, 10 mm x 4,0 mm, o equivalente		
Temperatura de columna:	45°C $\pm$ 2°C		
Modo	Gradiente:		
Fase móvil A:	Monohidrato Perclorato de sodio 50 mM, pH 2.50		
Fase móvil B	Monohidrato Perclorato de sodio 63 mM, pH 2.50; ACN 80:20		
Condiciones de bombeo	Tiempo (min):	% A	% B
	0.0	97.5	2.5
	3.0	73.0 ^a	27.0 ^a

	33.0	68.0 ^a	32.0 ^a
	63.0	0.0	100
	88.0	0.0	100
	88.1	97.5	2.5
	105.0	97.5	2.5
Tasa de flujo:	1.0 mL/minuto		
Detección	UV a 254 nm		
Temperatura de auto-	4°C ± 2°C		
Volumen de inyección	10 µL		
Tiempo de Ejecución	105 minutos.		

^a La relación de fase móvil A a fase móvil B de 3 a 33 minutos se puede ajustar para lograr los tiempos de retención deseados.

Al comienzo de cada corrida, el diluyente en blanco y el SST se inyectan por separado.

La idoneidad del sistema se determina mediante el SST. El factor de asimetría para el pico

- 5 ceftolozano debería ser entre 0.8 y 1.5 y el tiempo de retención para el pico de ceftolozano debería ser 24.0 ± 1.0 minutos. El ajuste de la bomba binaria entre 3.0 y 33.0 minutos se puede ajustar para conseguir el tiempo de retención del pico de ceftolozano.

Cada muestra se prepara por separado y se inyecta dos veces. Solamente impurezas >LOD (0.008% Area) se integran. El porcentaje de área de pico para cada impureza > LOD se
 10 toma directamente a partir del cromatograma. Se calcula el porcentaje de área media y la diferencia absoluta de cualquier pico en las dos repeticiones no puede ser > 0.030%. La pureza y sustancias relacionadas se determinan con base en el porcentaje del área relativa de cada pico con respecto al área total del pico de la muestra. Las impurezas totales son la suma de las impurezas individuales > LOD. Los cálculos son como sigue:

15 ;

$$\% \text{ de impureza (\% de Área)} = \frac{\text{Área}_{\text{impureza}}}{\text{Área}_{\text{total}}} \times 100\%;$$

donde:

Área-Impureza = área del Pico de Impureza Individual; y

20 Área Total = Área Total de todos los picos > LOD incluyendo ceftolozano.

$$\text{Pureza (\% de \u00c1rea)} = \frac{\text{\u00c1rea}_{\text{ceftolozano}}}{\text{\u00c1rea}_{\text{total}}} \times 100\%;$$

5 donde:

$\text{\u00c1rea}_{\text{ceftolozano}}$ = \u00c1rea del pico de ceftolozano; y

$\text{\u00c1rea}_{\text{Total}}$ = \u00c1rea Total de todos los picos $\geq$ LOD incluyendo ceftolozano.

$\text{Impurezas Totales (\% de \u00c1rea)} = 100 - \text{Pureza (\% de \u00c1rea)}.$

10 Se reportan impurezas individuales especificadas iguales o mayores al l\u00edmite de cuantificaci\u00f3n (LOQ) (\u00c1rea del 0.027%). Tambi\u00e9n se reportan impurezas individuales no especificadas iguales o superiores a 0.03%.

Ejemplo 8: Liofilizaci\u00f3n de formas s\u00f3lidas de Ceftolozano

Composiciones est\u00e9riles de ceftolozano adecuadas para la combinaci\u00f3n con tazobactam para formar una composici\u00f3n farmac\u00e9utica se preparan como un polvo liofilizado a partir del sulfato de ceftolozano que comprende la forma s\u00f3lida 2 mezclando el f\u00e1rmaco con excipientes en una soluci\u00f3n acuosa, al filtrar de manera as\u00e9ptica la soluci\u00f3n, liofilizando la soluci\u00f3n, luego moliendo, tamizado y empacando el polvo liofilizado est\u00e9ril. La estabilidad f\u00edsica de la soluci\u00f3n a granel a concentraciones variables se examin\u00f3 y las concentraciones de hasta 150 mg de base libre de ceftolozano /g de soluci\u00f3n se encontraron adecuadas. Todos los lotes de registro se prepararon utilizando concentraci\u00f3n de 150 mg/g de ceftolozano en la soluci\u00f3n de composici\u00f3n y esta concentraci\u00f3n se propone para la fabricaci\u00f3n comercial. La solubilidad de la composici\u00f3n de ceftolozano resultante se evalu\u00f3 en un rango de concentraci\u00f3n propuesto para la fabricaci\u00f3n, en la presencia de excipientes para uso en la formulaci\u00f3n de ceftolozano para su uso en la composici\u00f3n farmac\u00e9utica. Para cada muestra, se conserv\u00f3 la proporci\u00f3n de ingredientes activos a inactivos. Las muestras se ajustaron a pH 6.9, se mantuvieron a 2-8 \u00b0C, y se evaluaron visualmente para detectar cualquier precipitaci\u00f3n. Los resultados se reportan en la Tabla 11.

Tabla 11: Tiempo de Precipitación de ceftolozano como Función de la Concentración de Solución, 2-8° C

Concentración de Sulfato de ceftolozano, mg/g	Concentración de Base Libre de ceftolozano, mg/g	Tiempo para Precipitar
200	174	2 horas.
189	165	<18 horas.
178	156	>24 hours ¹⁾
172	150	<48 horas.
149	130	>24 horas ^a

¹⁾ La ultima observación se realizó a las 24 horas; no se observó ninguna señal de precipitación

Con base en estas observaciones, la solución a granel de ceftolozano con hasta 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución se puede mantener entre 2 y 8° C por hasta 48 horas sin que afecte su solubilidad. La idoneidad de la formación de compuestos a 150 mg de la base libre de ceftolozano a $10 \pm 2.5^\circ \text{C}$ se confirmó durante la fabricación de lotes a escala de laboratorio, piloto e ingeniería. Consultar la Tabla 12 para datos de estabilidad de la solución. Los datos de la pureza en la Tabla 12 se generó usando una versión modificada del método de HPLC que se describe en la Tabla 10. Como parte de la modificación, la composición de la fase móvil inicial comprendía 75% de fase móvil A y 25% de fase móvil B. Esta composición se elevó a 70% de la fase móvil A y 30% de fase móvil B en 30 minutos seguido de una elevación a 100% de la fase móvil B durante otros 30 minutos. La fase móvil B al 100% luego se mantuvo constante durante 25 minutos, después de lo cual la composición de fase móvil fue revertida de nuevo en 0.1 minutos a condiciones iniciales de fase móvil A al 75% y 25% de la fase móvil B. El equilibrio de columna se realizó en la composición de fase móvil inicial durante hasta 110 minutos, lo que da un tiempo total de corrida HPLC de 110 minutos. El límite de cuantificación determinado para el método con las condiciones descritas anteriormente fue 0.015% y, por tanto se reportaron todas las impurezas individuales especificadas iguales o superiores a 0.015%.

Una temperatura de mezcla de $10 \pm 2.5^\circ \text{C}$ fue dirigida a mantener la pureza de ceftolozano. Para confirmar la estabilidad de la solución de mezcla, se realizó un estudio en el que el ceftolozano se preparó de acuerdo con el proceso comercial propuesto y se mantuvo a $10 \pm 2.5^\circ \text{C}$ durante un máximo de 2 días. La solución se muestreó y se ensayó para la potencia y

pureza/impurezas de ceftolozano. Los resultados se proporcionan en la Tabla 12. Los datos indicaron que el perfil de impurezas de ceftolozano fue esencialmente el inicial y ninguna de las sustancias relacionadas individuales aumentó más de 0.10%. Por lo tanto, se propone un tiempo de espera máximo de 24 horas para el proceso comercial.

5

Tabla 12: Efecto del tiempo de Espera sobre el perfil de purezas/impurezas de solución a granel de ceftolozano

Tiempo de Formación del Compuesto	t₀	4h	18h	2h	Día 2:
Pureza total, %	98.7	98.8	98.6	98.6	98.7
Impurezas totales, %	1.3	1.2	1.4	1.4	1.3

La solución a granel de ceftolozano se hace aséptica a través de la filtración esterilizante.

10 Para la fabricación comercial de rutina, la solución de compuesto se filtró primero a través de un filtro de reducción de carga biológica, 0.45 µm, a continuación, se esterilizó por filtración a través de dos filtros de 0.22 micras en secuencia y la integridad del filtro de los filtros de 0.22 micras será evaluada durante la fabricación.

15 A través de una serie de estudios sobre el equipo de liofilización tanto a escala piloto como comercial, el proceso de liofilización fue desarrollado y mostrado como adecuado: a través de una gama de concentraciones de la solución, en una variedad de profundidades de llenado de la bandeja del liofilizador, siguiendo una serie de parámetros del ciclo de liofilización, en una serie de liofilizadores, tanto a escala de laboratorio como comercial, y en dos cuartos diferentes de liofilización comerciales.

20 En particular, seis liofilizadores diferentes (un liofilizador piloto y cinco liofilizadores comerciales de dos cuartos comerciales separadas) se han utilizado para hacer el material de ceftolozano aceptable utilizando concentraciones tan altas como 150 mg de base libre de ceftolozano/g de solución, profundidades de llenado de 1 a 3 cm, y los diferentes parámetros del ciclo, incluyendo temperaturas de secado primarias y/o secundarias tan altas como 40° C. Sobre
25 la base de estos estudios, la congelación del producto a por lo menos -40 a -45°C se considera un objetivo apropiado. Las temperaturas de secado primario típicamente también se establecen en función de la temperatura de transición vítrea de la solución a granel congelada para minimizar

el colapso. Sin embargo, en ocasiones, el colapso se puede prevenir mediante el uso de temperaturas de secado primario que se dictan por la temperatura de fusión completa, vs. la temperatura de transición vítrea. Por lo tanto, se realizaron estudios para examinar estas dos temperaturas de más de cerca, para determinar que se controla para evitar el colapso. Una

5 variedad de condiciones de liofilización e instrumentación han demostrado ser robustas en una variedad de condiciones de liofilización. Por lo tanto, los ciclos de liofilización preferidos para producir composiciones liofilizadas de ceftolozano a partir de una solución que comprende la Forma 2 sólida de sulfato de ceftolozano tienen una o más de las siguientes características: (1) no

10 más de 150 mg de concentración de base libre de ceftolozano/g de solución a granel, (2) no más de 3 cm de profundidad de relleno, (3) parámetros de ciclo incluyendo congelación a al menos -40 a -45 °C, (4) secar a no más de 40 °C, y (4) secado de una o de varias etapas y establecimiento de la presión de cámara durante el inicio de secado primario a no más de 400 µbar.

15 *Ejemplo 9: Composición farmacéutica Preferida que Comprende Ceftolozano y Tazobactam ("Producto Representativo de ceftolozano/Tazobactam")*

Las composiciones farmacéuticas que comprenden ceftolozano y tazobactam se pueden obtener como se describe en el presente documento. Un producto representativo de ceftolozano/Tazobactam se describe en la Tabla 14 a continuación (ceftolozano y tazobactam para inyección) como un producto de combinación antibacteriana inyectable que consta de

20 sulfato de ceftolozano antibacteriano de cefalosporina y el inhibidor de beta-lactamasa, tazobactam sódico para administración intravenosa.

Tabla 13: Excipientes utilizados en la Composición de ceftolozano

Componente	Función	Cantidad, mg/vial	Concentración en la Solución de Infusión, %	Criterios de Inclusión	Rango de Base de Datos de Ingredientes Inactivos (IID)
Ácido cítrico	Agente quelante	21	0.02	Se utiliza para prevenir decoloración y degradación	0.0025 a 50%
Cloruro de sodio	Agente estabilizador	487	0.49	Se utiliza como un agente estabilizante para el sulfato de ceftolozano	0.187 a 45%
L-arginina	Agente alcalinizante	600 ¹⁾ Q.S. para el ajuste del pH	0.60	Se utiliza para ajustar el pH de la solución de ceftolozano	0.29 a 88%

¹⁾ Se añade L-arginina como sea necesario para alcanzar pH 6.5 ± 0.5 ; 600 mg por vial se considera una cantidad total representativa.

5 **Tabla 14:** Composiciones unitarias de ceftolozano/Tazobactam para Inyección, 1.000 mg/500 mg

Componente		Función	Composición nominal mg por vial
Composición de ceftolozano ¹⁾	Sulfato de ceftolozano (Forma Sólida 2)	Sustancia Activa	1147
	Ácido cítrico, anhidro	Agente quelante	21

Componente		Función	Composición nominal mg por vial
	Cloruro de sodio	Agente Estabilizante	487
	L-Arginina	Agente alcalinizante	600 ²⁾ Q.S. para ajuste del pH
Tazobactam sódico ³⁾		Sustancia Activa	537
Nitrógeno		Ayuda de Procesamiento ⁱⁱ⁾	Q.S.
Peso Total			2792
1) La cantidad real de la composición de ceftolozano variará en función de la potencia medida. El sulfato de ceftolozano, 1147 mg, corresponde a 1000 mg de base libre de ceftolozano. 2) Se añade L-arginina como sea necesario para alcanzar pH 6.5 ± 0.5; 600 mg por vial se considera una cantidad total representativa. 3) El peso real del tazobactam sódico puede variar en función de la potencia medida. 537 mg de tazobactam sódico corresponde a 500 mg de ácido libre de tazobactam. 4) Se aplica una capa de nitrógeno después de dispensar los polvos al vial y antes de la inserción de tapón.			

Una primera solución acuosa que comprende la Forma 2 de sulfato de ceftolozano y los ingredientes en la composición de ceftolozano en la Tabla 13 se liofiliza en ausencia de tazobactam para proporcionar la composición liofilizada de ceftolozano. La primera solución

5 acuosa comprende sulfato de ceftolozano y los excipientes específicos en las composiciones preferidas, en una cantidad por forma de dosificación unitaria proporcionada por las cantidades y funciones conforme a lo dispuesto en la Tabla 14. Todos los excipientes son compendio y típicos de formas de dosificación farmacéuticas estériles, que no requieren un tratamiento adicional antes de su uso en la formulación. Los excipientes se usan en niveles dentro del rango

10 establecido en otros productos aprobados por la FDA como se describe en la Base de Datos de Ingredientes Inactivos (IID). Una segunda solución que comprende ácido de tazobactam y bicarbonato de sodio se liofiliza en ausencia de ceftolozano para obtener la composición de

tazobactam sódico en la Tabla 14. Posteriormente, la composición liofilizada de tazobactam sódico se mezcla en seco con la composición liofilizada de ceftolozano que comprende tazobactam sódico y sulfato de ceftolozano en una relación de peso que proporciona 500 mg de equivalente de ácido de tazobactam por 1.000 mg de equivalente activo de ceftolozano.

5

Ejemplo 10: Reconstitución de Preparación de Ceftolozano/Tazobactam antes de la Administración a un Sujeto

La composición de ceftolozano/tazobactam del Ejemplo 9 se reconstituyó antes de la administración intravenosa (iv). De acuerdo con una modalidad del método de tratamiento, inmediatamente antes de la inyección a un paciente, un único vial, que contiene 1,500 mg de ceftolozano y tazobactam, se reconstituyó con 20 ml de NaCl al 0.9% (solución salina normal) y se diluyó en una bolsa de 80 ml de agua estéril para inyección para un volumen total de 100 mL.

La composición de ceftolozano y tazobactam se reconstituyó en conformidad con el procedimiento de la siguiente manera:

Obtener 1 vial de forma de dosificación unitaria de ceftolozano/ tazobactam, 1500 mg/vial. Registrar el sitio y número de sujeto y la hora y fecha de elaboración en los espacios indicados en la etiqueta del vial. El ceftolozano/tazobactam del Ejemplo 9 no contiene un conservante bacteriostático. La técnica aséptica debe ser seguida en la preparación de la solución de infusión.

Reconstituir asépticamente un vial liofilizado de la forma de dosificación unitaria de ceftolozano/tazobactam, 1500 mg con 10 ml de agua para inyección o 0.9% de cloruro de sodio para inyección, USP (solución salina normal) y agitar suavemente para disolver. El volumen final es de aproximadamente 11.4 ml. La concentración resultante es de aproximadamente 132 mg/mL.

Utilizando una técnica aséptica, retirar el contenido completo (aproximadamente 11.4 ml) del vial reconstituido utilizando una jeringa y añadirlo a una bolsa de infusión que contiene 100 mL de de cloruro de sodio al 0.9% para inyección, USP (solución salina normal) o Inyección de Dextrosa al 5%, USP. Asegúrese de que se añadió todo el volumen del vial reconstituido a la bolsa de infusión.

Hacer girar suavemente el contenido de la bolsa iv para asegurar una mezcla y disolución completa del fármaco. El volumen final de la forma de dosificación unitaria diluida de ceftolozano/ tazobactam del Ejemplo 9 para infusión será ~111 ml. Todo el contenido de la bolsa de infusión de ceftolozano/tazobactam se administra a cada sujeto. Esto significa que la línea de
5 infusión se lava con solución salina estéril para administrar completamente la dosis apropiada).

Inspeccionar la bolsa de infusión para exceso de aire, contaminación visible y fugas. La solución diluida debe ser clara.

Tras la reconstitución con agua estéril para inyección o inyección de cloruro de sodio al 0,9% (solución salina normal), la solución de ceftolozano/tazobactam en el vial se puede
10 conservar durante 1 hora antes de transferirla y diluirla en la bolsa de infusión.

Después de la dilución de la solución con solución salina normal o dextrosa al 5%, la solución de ceftolozano/tazobactam obtenida a partir de la composición de ceftolozano/tazobactam del Ejemplo 9 es estable durante 24 horas cuando se almacena a temperatura ambiente o 10 días cuando se almacena en condiciones de refrigeración de 2 a 8° C
15 (36 a 46° F).

Ejemplo 11: Punto de Fusión de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano

El experimento del punto de fusión se realizó para la forma 2 de sulfato de ceftolozano usando el aparato de punto de fusión SRS Optimelt. Vainillina y fenacetina certificadas por SRS
20 se utilizan para verificar el rendimiento del sistema. El barrido de temperatura de 100° C a 400° C se llevó a cabo para el sulfato de ceftolozano. El material se descompuso antes de la fusión. La descomposición, como lo indica el cambio notable en su color, pareció comenzar a alrededor de 170° C.

Ejemplo 12: TGA y DSC de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano

El análisis termogravimétrico (TGA) y termogramas de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se muestran en la Figura 3 y la Figura 4, respectivamente. Una pérdida de peso inicial de 6.8% observada en el termograma TGA desde la temperatura inicial a 181° C es consistente con el contenido de agua y el isopropanol residual presente en sulfato de ceftolozano,

lote 440637 0004 2. El análisis del termograma más allá de 181° C indicó que el sulfato de ceftolozano probablemente sufre degradación más allá de esta temperatura. El termograma DSC mostró una amplia endoterma con los mínimos en alrededor de 105.49° C. La exoterma posterior en el termograma es indicativa de descomposición que es coherente con la observación en el experimento de punto de fusión.

10 Ejemplo 13: Higroscopicidad de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano

La higroscopicidad de la Forma 2 de sulfato de ceftolozano se evaluó mediante el analizador de sorción de humedad intrínseca SMS DVS equipado con una sonda Rotronic calibrado. La temperatura se mantuvo a 25° C y el material se expuso a una humedad relativa de 0 a 90%. El sulfato de ceftolozano mostró adsorción continua de agua a través del ciclo con la absorción total de 23% a 90% de humedad relativa indicando que el sulfato de ceftolozano es higroscópico.

REIVINDICACIONES

1. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0.
2. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .
3. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce:
 - a. un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8 y
 - b. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} .
4. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 3 que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones adicionales en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, y 28.0.
5. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 4 que produce picos de desplazamiento Raman adicionales ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .
6. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 3 que produce picos de desplazamiento Raman adicionales ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en aproximadamente 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} y 2976 cm^{-1} .
7. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 5
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada en la presente como Forma 1 de sulfato de ceftolozano con agua para formar una solución acuosa; y
 - b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7, en donde el ciclo de liofilización se caracteriza por una o más de las siguientes características:
- 10
- a. Concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución a granel,
 - b. no más de 3 cm de profundidad de llenado,
 - c. congelar a por lo menos -40 °C durante el ciclo de liofilización,
 - d. secar a no más de 40° C, y
 - e. secar en una o varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de
- 15
- secado primario en no más de 400 μ bar.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, que comprende además tazobactam.
- 20
10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, que se obtiene por un proceso que comprende además combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam en una combinación de dosis fija que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo en la composición farmacéutica.
- 25
11. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 24.2 y 37.8 y los picos de desplazamiento Raman ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) en
- 30
- aproximadamente 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} y 1329 cm^{-1} , con agua para formar una solución acuosa; y

- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
12. Una composición de sulfato de ceftolozano obtenida por un procedimiento que
5 comprende las etapas de:
- a. formar una solución que comprende agua, 72-80 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano;
- b. combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico
10 añadido a la solución durante 0.5 - 8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y
- c. aislar la composición de sulfato de ceftolozano sólido desde la solución;
13. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución
15 comprende 75-85 g/L de ceftolozano activo como una sal de ceftolozano farmacéuticamente aceptable.
14. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución
comprende de 2.45-2.55 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano activo.
- 20 15. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución de la etapa (a) se combina con 29-31 volúmenes de alcohol isopropílico.
16. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, en donde la solución
25 de la etapa (a) se combina con alcohol isopropílico añadido a la solución durante 6-7 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido.
17. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, obtenida por un
procedimiento en donde:
- a. la solución comprende agua, alrededor de 75-85 g/L de ceftolozano activo y
30 aproximadamente 2.45-2.55 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano a una temperatura de alrededor de 5-15 grados C; y

- b. la solución de la etapa (a) se combina con aproximadamente 29-31 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 6-7 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido.
- 5 18. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 12, obtenida por un procedimiento que comprende además las etapas de:
- a. combinar los aislados de sulfato de ceftolozano sólido con el agua forman una segunda solución acuosa; y
- 10 b. liofilizar la segunda solución acuosa para formar una composición farmacéutica liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano.
19. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 18, obtenida por un proceso en donde la segunda solución acuosa comprende además cloruro de sodio y L-arginina.
- 15 20. La composición de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 18, obtenida por un proceso que comprende además la etapa de combinar la composición farmacéutica liofilizada de ceftolozano con tazobactam.
- 20 21. El uso de un ceftolozano en una preparación inyectable para el tratamiento de una infección, la preparación inyectable que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida mediante un procedimiento que comprende las etapas de:
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y
- 25 b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
22. Un método de fabricación de una composición de sulfato de ceftolozano, el método que
- 30 comprende las etapas de:

- 5 a. formar una solución que comprende agua, 72-90 g/L de ceftolozano activo y 1.5-2.95 equivalentes molares de ácido sulfúrico a ceftolozano;
- b. combinar la solución de la etapa (a) con 20-40 volúmenes de alcohol isopropílico añadido a la solución durante 0.5 - 8 horas para obtener sulfato de ceftolozano sólido; y
- c. aislar una composición sólida de sulfato de ceftolozano desde la solución;
- 10 23. Una forma sólida de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, y 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7.
24. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de la reivindicación 23 que produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en alrededor de 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} y 802 cm^{-1} .
- 15 25. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de cualquiera de las reivindicaciones 23-24 caracterizada por una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C.
26. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de cualquiera de las reivindicaciones 23-25, caracterizada por un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de
- 20 alrededor de 6.8% entre 25-181 grados C.
27. La forma sólida de sulfato de ceftolozano de cualquiera de las reivindicaciones 23-26, caracterizada por
- 25 a. una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C;
- b. un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de 6.8% entre 25-181 grados C; y
- c. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .
- 30

28. Una composición farmacéutica que comprende la forma sólida de sulfato de ceftolozano designado como Forma 2 de sulfato de ceftolozano que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en los ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7.

5

29. La composición farmacéutica de la reivindicación 28, en donde el sulfato de ceftolozano produce picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) a aproximadamente 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1.174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

10 30. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 28-29, que comprende además sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos ($2\theta \pm 0.2$) de 12.4, 16.4, 22.6, 251 y 28.0.

15 31. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 23-30, que comprende además tazobactam.

20 32. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 28-31, en donde el sulfato de ceftolozano se caracteriza por uno o más de los siguientes:

- a. una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C;
- b. un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de
- 25 6.8% entre 25-181 grados C; y
- c. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

30 33. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:

- 5
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida designada como Forma 2 de sulfato de ceftolozano con agua, cloruro de sodio y L-arginina para formar una solución acuosa; y
 - b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;
- 10
34. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en donde el ciclo de liofilización se caracteriza por una o más de las siguientes características:
- a. Concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución a granel,
 - b. no más de 3 cm de profundidad de llenado,
 - c. congelar a por lo menos -40 °C durante el ciclo de liofilización,
 - d. secar a no más de 40° C, y
 - e. secar en una o varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de
- 15
- secado primario en no más de 400 µbar.
35. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 33-34, que comprende además tazobactam.
- 20
36. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 33-35, obtenida por un proceso que comprende además combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam en una combinación de dosis fija que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo en la composición farmacéutica.
- 25
37. Una composición farmacéutica que comprende una composición liofilizada de ceftolozano obtenida por un procedimiento que comprende las etapas de:
- a. combinar el sulfato de ceftolozano en una forma sólida que produce un patrón de difracción de rayos X de polvo (XRPD) que tiene difracciones en ángulos (2 theta
- 30
- ± 0.2) de 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, y 17.7 con agua para formar una solución acuosa; y

- b. liofilizar la solución acuosa para formar la composición liofilizada de ceftolozano que comprende sulfato de ceftolozano;

- 5 38. La composición farmacéutica de la reivindicación 37, en donde la solución acuosa en la etapa (b) comprende además tazobactam.
39. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 37-38, en donde la composición farmacéutica comprende tazobactam sódico.
- 10 40. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 37-39, en donde la solución acuosa en la etapa (b) se liofiliza en ausencia de tazobactam.
41. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 37-40, en donde la composición farmacéutica que comprende el sulfato de ceftolozano en una cantidad
- 15 que proporciona aproximadamente 1000 mg de ceftolozano activo.
42. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 37-41, en donde la composición farmacéutica comprende además unos 500 mg de tazobactam activo.
- 20
43. La composición farmacéutica de la reivindicación 42, que se obtiene por un proceso que comprende además combinar la composición liofilizada de ceftolozano con tazobactam
- 25 en una combinación de dosis fija que proporciona aproximadamente 500 mg de tazobactam activo por 1.000 mg de ceftolozano activo en la composición farmacéutica.
44. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica comprende tazobactam sódico.
- 30

45. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la composición farmacéutica comprende tazobactam cristalino.

46. La composición farmacéutica de la reivindicación 43, en donde la solución acuosa se liofiliza en la etapa (b) con un ciclo de liofilización que se caracteriza por una o más de las siguientes características:

- a. Concentración no mayor a 150 mg de base libre de ceftolozano /g de solución a granel,
- b. no más de 3 cm de profundidad de llenado,
- c. congelar a por lo menos -40°C durante el ciclo de liofilización,
- d. secar a no más de 40°C , y
- e. secar en una o varias etapas y establecer la presión de cámara durante el inicio de secado primario en no más de 400 μbar .

47. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 37-46, caracterizada por una o más de las siguientes:

- a. una endoterma de calorimetría diferencial de barrido (DSC) que tiene una mínima en alrededor de 105 grados C;
- b. un análisis termogravimétrico (TGA) con una pérdida de peso de alrededor de 6.8% entre 25-181 grados C; y
- c. Picos de desplazamiento Raman ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) en 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} y 2953 cm^{-1} .

48. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20 o 23-47, en donde la composición no comprende un material de ceftolozano que tiene la combinación de los picos XRPD descritos en la Tabla 1a:

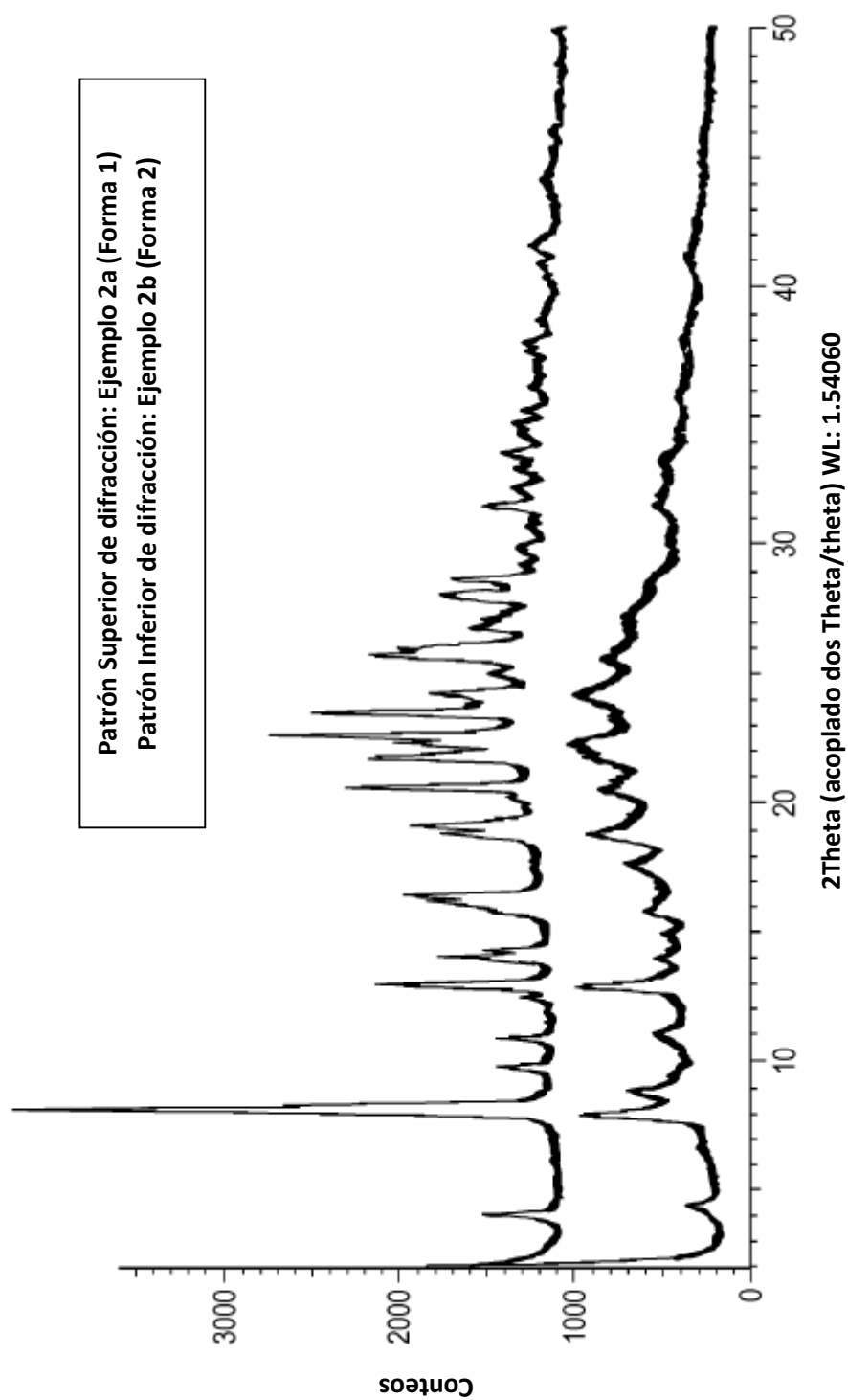
Tabla 1a. Análisis de difracción de rayos X de polvo (por el sistema de difracción de rayos X Rigaku MultiFlex)

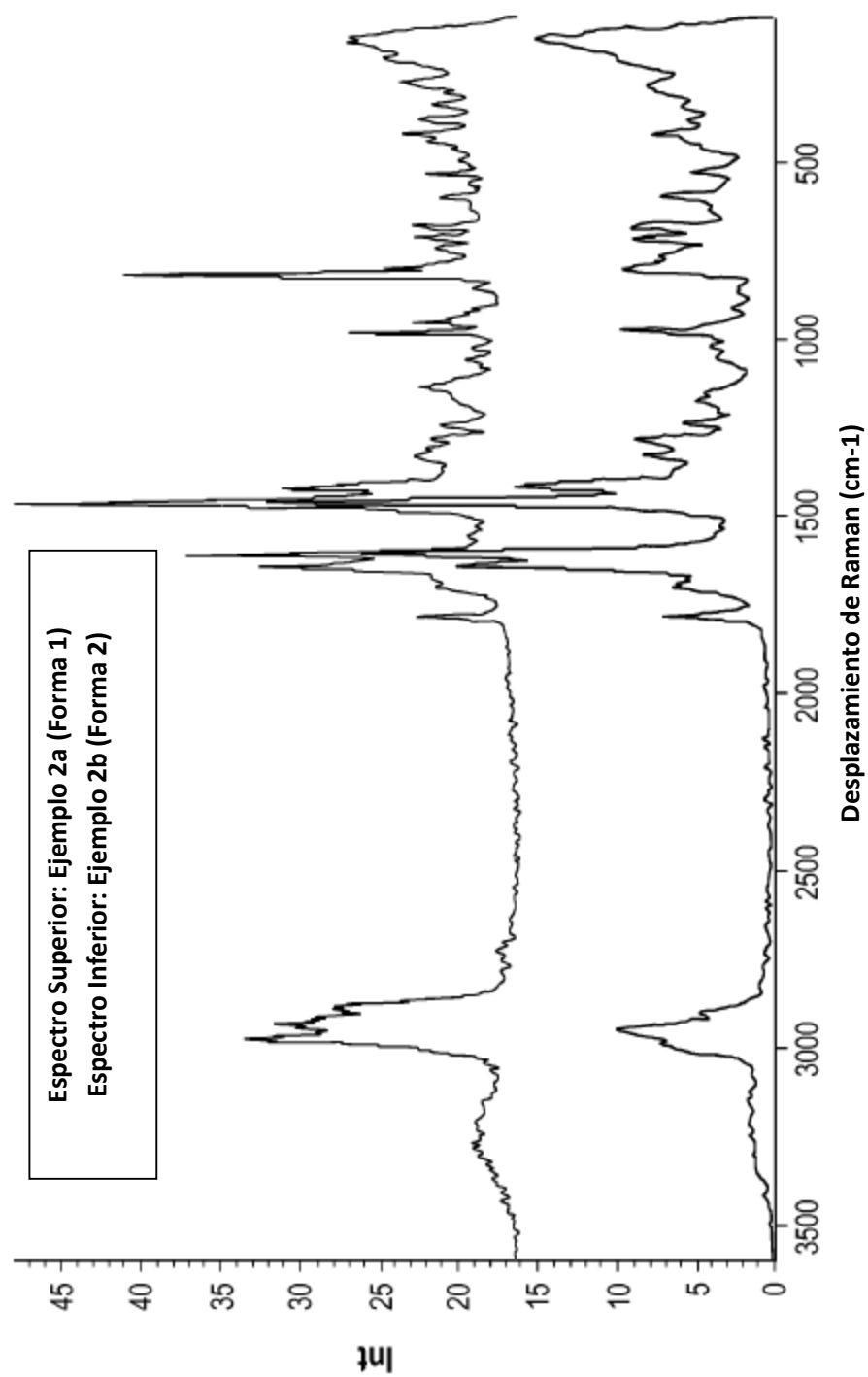
2 θ
8.0
12.7
13.8

16.1
18.9
20.4
21.5
22.4
23.3
24.0
25.5
26.7
27.9
28.5
31.3
Rayos-X: Cu/40 kV/30 mA

RESUMEN

El sulfato de ceftolozano es un agente antibacteriano de cefalosporina. Mediante liofilización, se han aislado nuevas formas sólidas estables de la sal farmacéuticamente aceptable de sulfato de ceftolozano. Se describe la caracterización e identificación de estas formas sólidas por XRPD y espectroscopia de Raman, así como los métodos para su preparación y uso en composiciones farmacéuticas.

**Fig. 1**

**Fig. 2**

Termograma TGA de la forma de sulfato de Cefotolozano

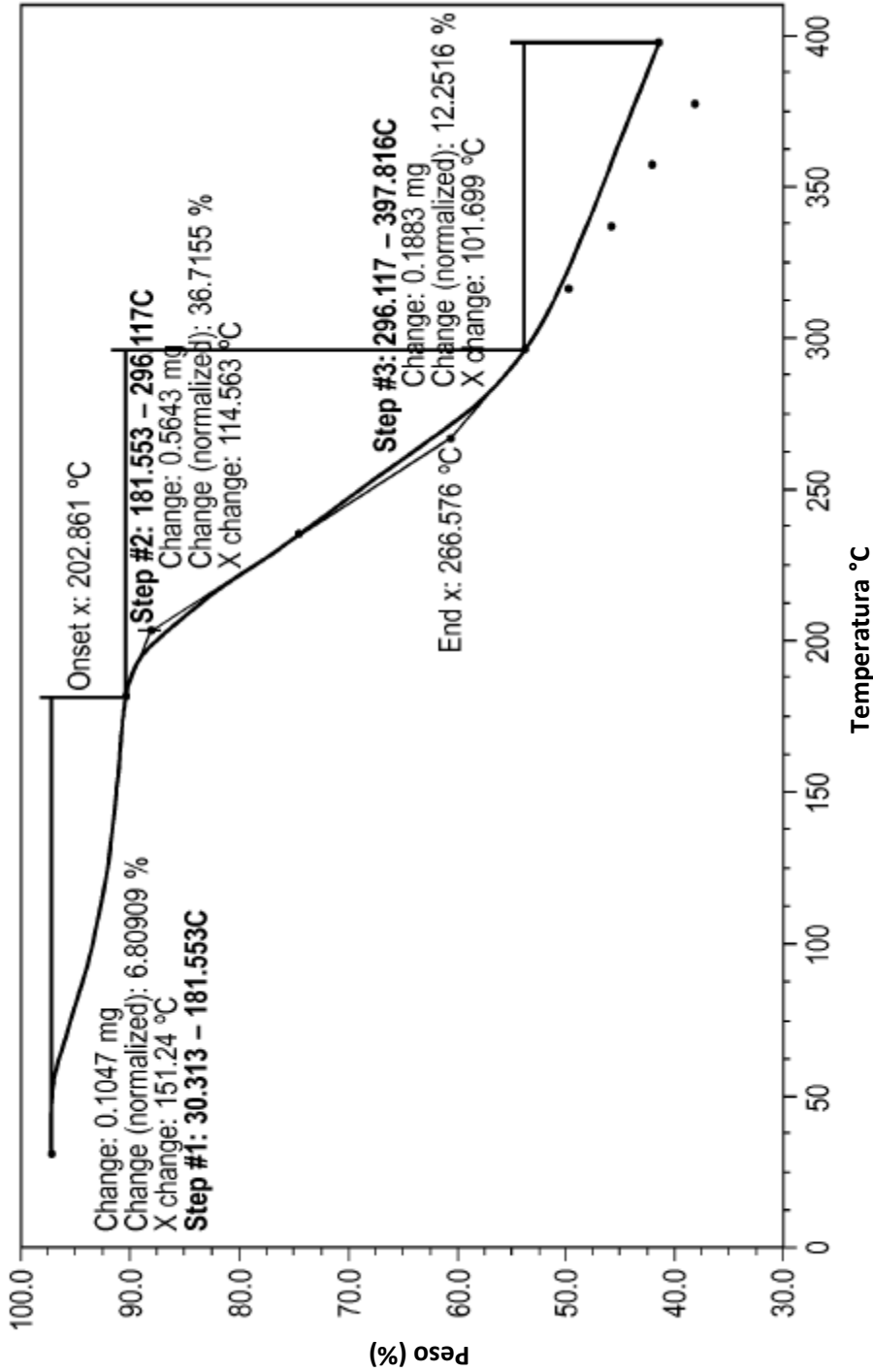


Fig. 3

Termograma DSC de la forma 2 de sulfato de Ceftolozano

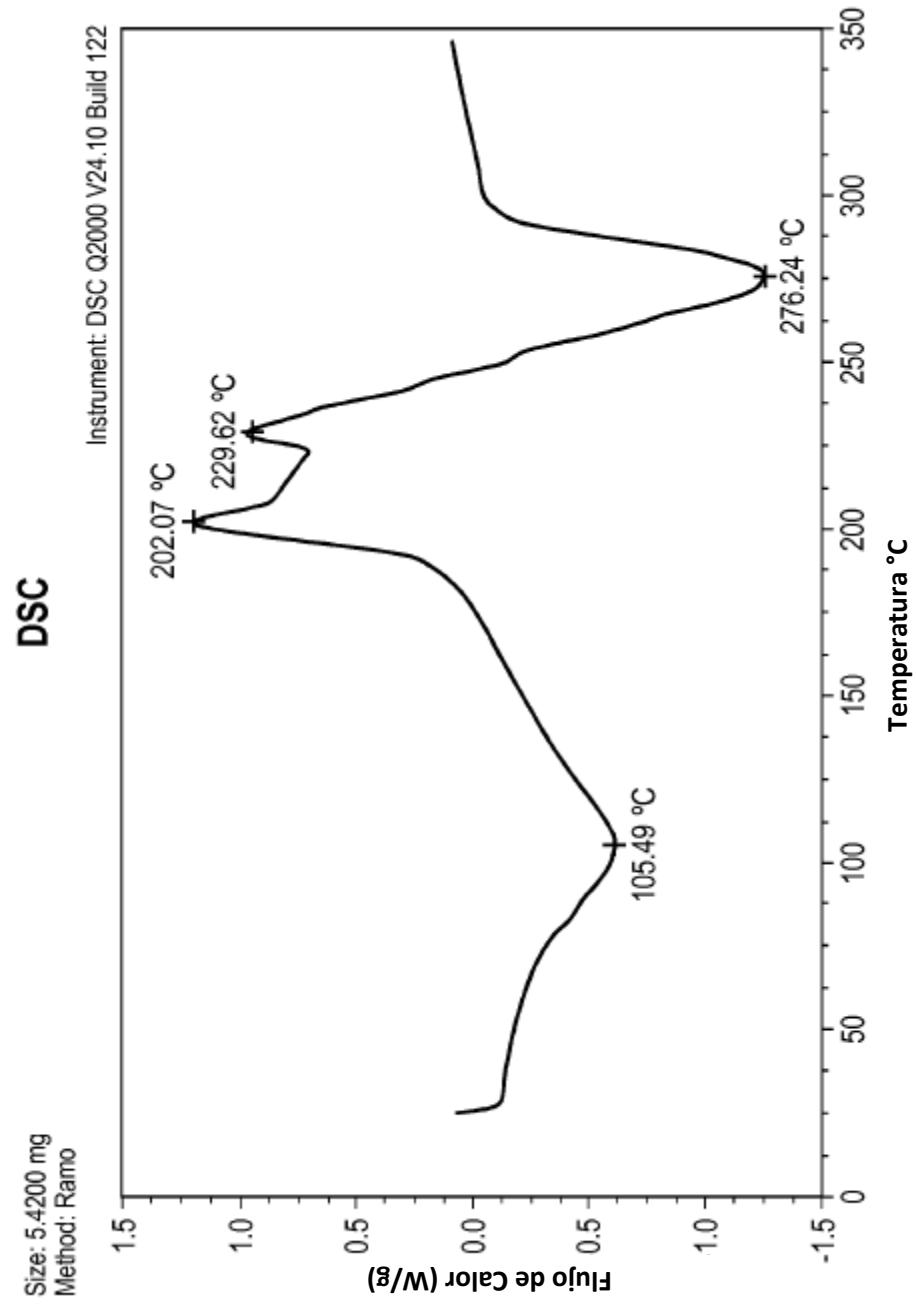


Fig. 4

Termograma de sorción /desorción del sulfato de ceftolozano
(interconversión de formas sólidas, Forma 1 y Forma 2)

Gráfica de la isoterma DVS

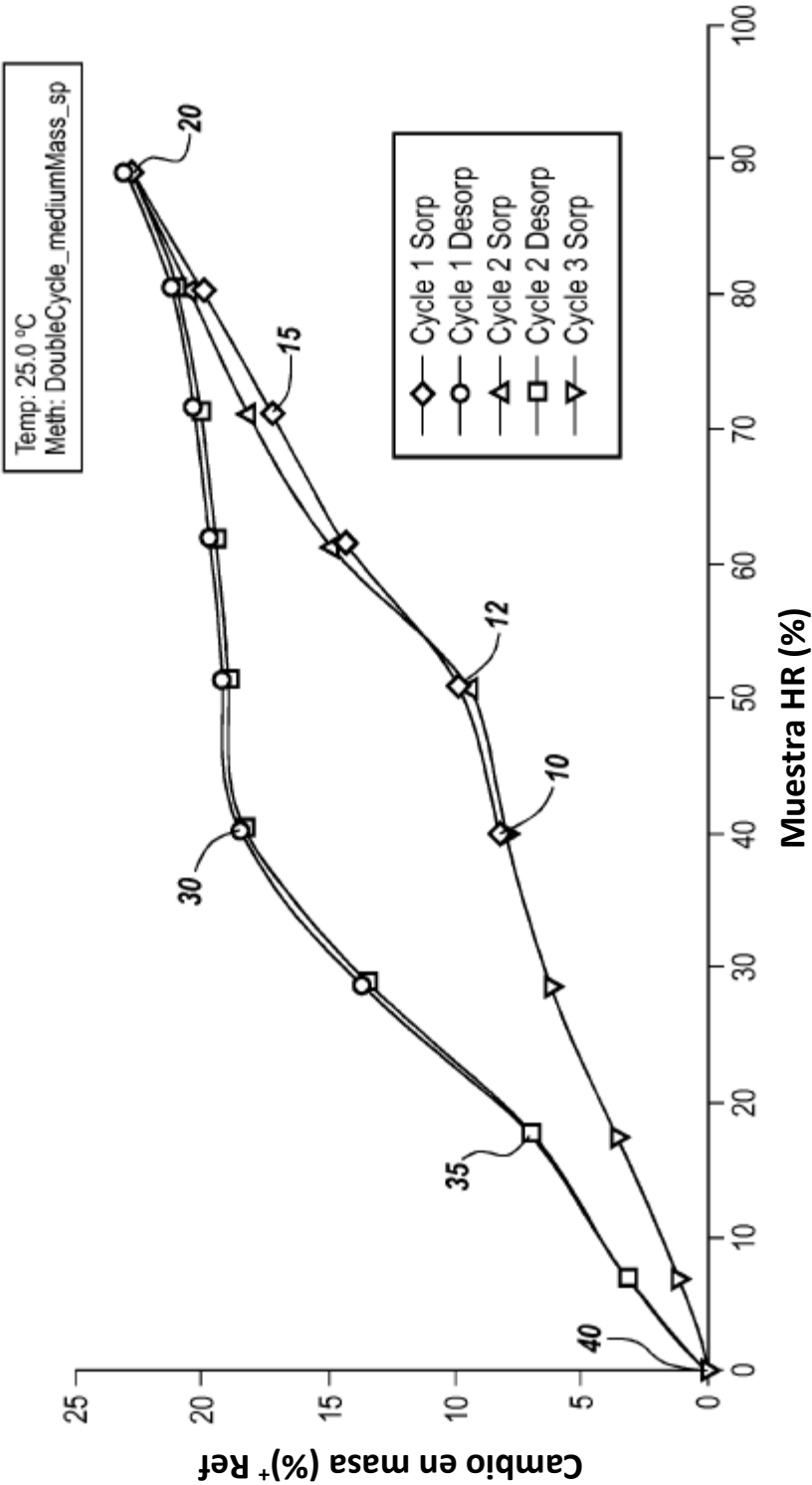


Fig. 5



(51) International Patent Classification:

A61K 31/431 (2006.01) A61K 47/18 (2006.01)
A61K 31/546 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2014/057343

(22) International Filing Date:

25 September 2014 (25.09.2014)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/883,530 27 September 2013 (27.09.2013) US
14/289,251 28 May 2014 (28.05.2014) US
14/289,224 28 May 2014 (28.05.2014) US

(71) Applicant: CALIXA THERAPEUTICS, INC. [US/US];
65 Hayden Avenue, Lexington, MA 02421 (US).

(72) Inventors: HWANG, You Seok; 42 Mitchell Pond Road,
Windham, NH 03087 (US). DAMOUR, Nicole, Miller; 81
Pine Street, Belmont, MA 02478 (US). DUONG, Lisa;
670 Boston Street, Lynn, MA 01905 (US). JURKAUSKAS,
Valdas; 226 Brattle Street, Cambridge, MA 02138 (US).
MOSHOS, Kristos, Adrian; 44 Bartlett Avenue, Belmont,
MA 02478 (US). MUDUR, Sanjay; 51 Cedar Street, Apt 4114,
Woburn, MA 01801 (US). OVAT, Asli; 2 Oscar's Way,
Maynard, MA 01754 (US). TERRACCIANO, Joseph; 280 Deacon
Haynes Road, Con-

cord, MA 01742 (US). WOERTINK, Jason; 5401 Wall-
bridge Lane, Midland, MI 48640 (US).

(74) Agents: TRINQUE, Brian, C. et al.; Lathrop & Gage
LLP, 28 State Street, Boston, MA 02109 (US).

(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, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, 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, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,
TJ, TM), European (AL, 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, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: SOLID FORMS OF CEFTOLOZANE

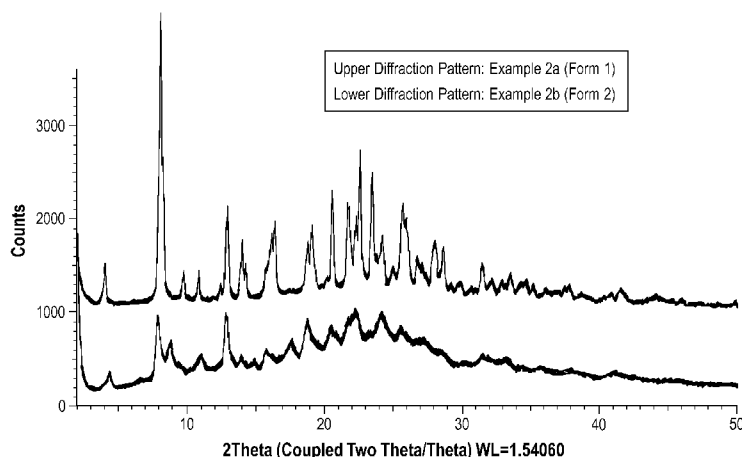


Fig. 1

(57) Abstract: Ceftolozane Sulfate is a cephalosporin antibacterial agent. Novel, stable, solid forms of the pharmaceutically acceptable sulfate salt of ceftolozane have been isolated via lyophilization. Characterization and identification of these solid forms by XRPD and Raman IR, as well as methods for their preparation and use in pharmaceutical compositions, are described.

SOLID FORMS OF CEFTOLOZANE

RELATED APPLICATIONS

This application claims priority to U.S. Provisional Patent Application No. 61/883,530, filed September 27, 2013, U.S. Patent Application No. 14/289,224, filed May 28, 2014, and U.S. Patent Application No. 14/289,251, filed May 28, 2014, each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

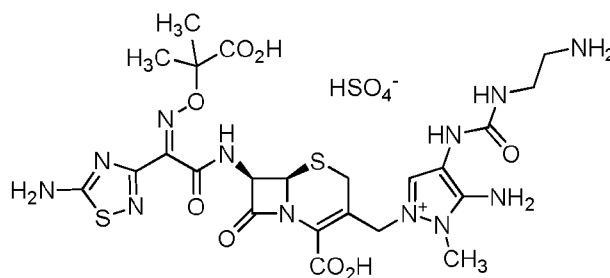
TECHNICAL FIELD

This disclosure relates to solid forms of ceftolozane.

BACKGROUND

The crystal state of a compound may be important when the compound is used for pharmaceutical purposes. Compared with an amorphous solid, the solid physical properties of a crystalline compound may change from one solid form to another, which may affect its suitability for pharmaceutical use. In addition, different solid forms of a crystalline compound can incorporate different types and/or different amounts of impurities. Different solid forms of a compound can also have different chemical stability upon exposure to heat and/or water over a period of time.

Ceftolozane is a cephalosporin antibacterial agent, also referred to as CXA-101, FR264205, or by chemical names such as (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino)-1-methyl-1H-pyrazol-2-ium-2-yl)methyl]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate, and 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(1-carboxy-1-methylethoxyimino)acetamido]-3-[3-amino-4-[3-(2-aminoethyl)ureido]-2-methyl-1-pyrazolio]methyl-3-cephem-4-carboxylate. Ceftolozane sulfate is a pharmaceutically acceptable ceftolozane salt of formula (I) that can be formulated for intravenous administration or infusion.



(I)

U.S. Patent No. 7,129,232 discloses ceftolozane hydrogen sulfate salt among other salts “with a base or an acid addition salt such as a salt with an inorganic base, for example, an alkali metal salt [e.g., sodium salt, potassium salt, etc.], an alkaline earth metal salt [e.g., calcium salt, magnesium salt, etc.], an ammonium salt; a salt with an organic base, for example, an organic amine salt [e.g., trimethylamine salt, triethylamine salt, pyridine salt, picoline salt, ethanolamine salt, triethanolamine salt, dicyclohexylamine salt, N,N'-dibenzylethylenediamine salt, etc.]; an inorganic acid addition salt [e.g., hydrochloride, hydrobromide, sulfate, hydrogen sulfate, phosphate, etc.]; an organic carboxylic or sulfonic acid addition salt [e.g., formate, acetate, trifluoroacetate, maleate, tartrate, citrate, fumarate, methanesulfonate, benzenesulfonate, toluenesulfonate, etc.]; and a salt with a basic or acidic amino acid [e.g., arginine, aspartic acid, glutamic acid, etc.].” In addition, U.S. Patent No. 7,129,232 discloses a crystal solid form of ceftolozane sulfate obtained by dissolving ceftolozane sulfate in a solution of water and ethanol and adding seed crystals to obtain the crystal form described herein as (Comparative) Example 1. A synthesis of ceftolozane is also described in U.S. Patent No. 7,129,232.

As reported herein, there remains a need for solid forms of ceftolozane having improved ceftolozane stability. For example, the purity of ceftolozane in an aqueous ethanol solution during precipitation according to the methods of U.S. Patent 7,129,232 decreased from about 97% to about 68% during a 6-day stability test (See Example 3), as measured by high performance liquid chromatography (HPLC). Accordingly, there remains a need for solid forms of ceftolozane having greater ceftolozane stability for use in drug substance and drug product development.

SUMMARY

Novel solid forms of ceftolozane (e.g., crystalline ceftolozane sulfate) disclosed herein include ceftolozane sulfate in Form 1 and Form 2, as well as compositions comprising

a solid form of ceftolozane comprising at least one or more of ceftolozane sulfate Form 1 and ceftolozane sulfate Form 2. Novel compositions also include ceftolozane sulfate solid Form 1, ceftolozane sulfate solid Form 2 and/or crystalline and amorphous solid forms of ceftolozane. A novel ceftolozane solid Form 1 and a novel ceftolozane solid Form 2 of ceftolozane sulfate can both be identified by X-ray Powder Diffraction (XRPD), both having one or more characteristic diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8. In addition, ceftolozane diffractions in both solid Form 1 and solid Form 2 can produce the Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , and 1329 cm^{-1} . A preferred ceftolozane composition can include ceftolozane in one or more solid forms (e.g., solid Form 1 and/or solid Form 2) characterized by an XRPD pattern with diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8, in addition to Raman spectra comprising one or more of the following peaks at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , and 1329 cm^{-1} .

A novel ceftolozane solid Form 1 of ceftolozane sulfate can be identified by X-ray Powder Diffraction (XRPD), having one or more characteristic diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, and 28.0. In addition, ceftolozane in solid Form 1 can produce the Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} , and 2976 cm^{-1} .

A novel ceftolozane solid Form 2 of ceftolozane sulfate can be identified by X-ray Powder Diffraction (XRPD), having one or more characteristic diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7. In addition, ceftolozane in solid Form 1 can produce the Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} .

The applicants have also discovered that novel ceftolozane salt solid forms (e.g., Form 1 and Form 2 of ceftolozane sulfate) can also be obtained by maintaining a ceftolozane salt solid form under physical conditions effective to convert a ceftolozane salt in a first solid form into a ceftolozane salt in a second solid form. For example, performing a water sorption isotherm (e.g., Figure 5) of ceftolozane sulfate in Form 1 showed a reversible transformation between ceftolozane sulfate in solid Form 1 and solid Form 2 as a function of relative humidity. The solid form of ceftolozane can be changed by maintaining the ceftolozane at certain relative humidity conditions (e.g., as described in the water sorption isotherm for ceftolozane sulfate in Figure 5). Ceftolozane in solid Form 2 can be converted to ceftolozane in Form 1 by maintaining a sample at a relative humidity (RH) effective to convert ceftolozane in Form 2 to ceftolozane into Form 1 at a suitable temperature (e.g., RH of about

50% or higher at a temperature of about 20-25 degrees C, preferably at least about 70% RH at a temperature of about 25 degrees C). Once formed in this manner, ceftolozane in solid Form 1 can be converted to ceftolozane sulfate in Form 2 by reducing the RH (e.g., RH of about 20-40%). The ceftolozane sulfate in Form 2 can be converted to a mixture of amorphous ceftolozane sulfate and Form 2 by reducing the RH to less than about 20%.

The ceftolozane solid forms (Form 1 and Form 2) can be obtained from a solution comprising isopropanol, or by maintaining a ceftolozane solid form under conditions effective to convert a first solid form into a second solid form (e.g., by maintaining ceftolozane sulfate in Form 1 under physical conditions effective to form ceftolozane sulfate in Form 2, or converting Form 2 under physical conditions effective to form ceftolozane sulfate of Form 1). An improved manufacturing method can include the steps of (a) combining ceftolozane sulfate with a molar excess of sulfuric acid (e.g., about 2.5 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane) and isopropanol (e.g., about 20-40 volumes of isopropanol relative to the amount of ceftolozane active) under conditions effective to produce a ceftolozane solid form (e.g., ceftolozane sulfate Form 1), and (b) isolating the ceftolozane solid form (e.g., by filtering the ceftolozane solid form from a solution comprising the isopropanol).

The applicants have discovered novel methods of manufacturing ceftolozane sulfate solid forms that provide improved ceftolozane stability during manufacturing compared to the methods of manufacturing ceftolozane solid forms disclosed in U.S. Patent 7,129,232 (see Comparative Example 1 herein). The improved manufacturing methods are based in part on the discovery that solid forms of ceftolozane sulfate obtained by certain processes comprising the use of isopropanol (e.g., as described in Example 2a) with ceftolozane provide improved ceftolozane stability in a liquid phase during manufacturing (compared to the manufacturing methods described in U.S. Patent 7,129,232), as measured by a ceftolozane purity of about 82% after a 6-day ceftolozane stability test of Example 3 (compared to about 68% from ceftolozane solid forms disclosed in U.S. Patent 7,129,232). The novel ceftolozane solid forms, including ceftolozane sulfate solid Form 1 and ceftolozane solid Form 2, can be obtained from an aqueous solution with isopropyl alcohol, even in the absence of ethanol. In contrast, U.S. Patent 7,129,232 discloses a ceftolozane solid form obtained from an aqueous solution without isopropyl alcohol.

The manufacturing methods are useful for the manufacture of antibiotic compositions comprising ceftolozane in one or more solid forms suitable for treatment of infections. For

example, a pharmaceutical composition comprising ceftolozane for parenteral administration can be obtained from ceftolozane sulfate in solid Form 1 and/or solid Form 2 by a process comprising the steps of: (a) forming a ceftolozane solution comprising ceftolozane sulfate in a solid Form 1 and/or solid Form 2, and (b) lyophilizing the ceftolozane solution to obtain a lyophilized ceftolozane composition. The lyophilized ceftolozane composition can be combined with tazobactam (or a pharmaceutically acceptable salt thereof) to obtain a CXA-201 pharmaceutical composition suitable for intravenous administration upon reconstitution.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figure 1 depicts two X-ray powder diffraction patterns of novel solid forms ceftolozane sulfate. The upper pattern corresponds to the product of Example 2a. The lower pattern corresponds to the product of Example 2b.

Figure 2 depicts two Raman spectra of novel solid forms of ceftolozane sulfate. The upper pattern corresponds to the product of Example 2a. The lower pattern corresponds to the product of Example 2b.

Figure 3 is a thermogravimetric analysis (TGA) curve for ceftolozane sulfate in a solid form designated herein as Form 2.

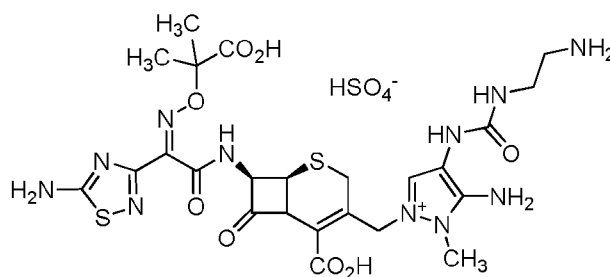
Figure 4 is a differential scanning calorimetry (DSC) thermogram for ceftolozane sulfate in a solid form designated herein as Form 2.

Figure 5 is a moisture sorption/desorption isotherm for ceftolozane sulfate solid forms.

DETAILED DESCRIPTION

Ceftolozane can be prepared as a pharmaceutically acceptable salt in one or more solid forms. Ceftolozane is also known as CXA-101; CAS registry number 689293-68-3; (6R,7R)-3-[(5-amino-4-[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino)-1-methyl-1H-pyrazol-2-ium-2-yl)methyl]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate, and 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(1-carboxy-1-methylethoxyimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoethyl)ureido]-2-methyl-1-pyrazolio}methyl-3-cephem-4-carboxylate; 5-Thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic

acid, 3-[[4-[[[(2-aminoethyl)amino]carbonyl]amino]-2,3-dihydro-3-imino-2-methyl-1H-pyrazol-1-yl)methyl]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino]-8-oxo-, (6R,7R)-; and (6R,7R)-3-[(5-amino-4-{[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino}-1-methyl-1H-pyrazol-2-ium-2-yl)methyl]-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylate. Ceftolozane sulfate is an example of a pharmaceutically acceptable salt of ceftolozane. The structure of ceftolozane sulfate is shown below.



Ceftolozane sulfate

Ceftolozane sulfate is also referred to as: CAS registry number 936111-69-2; 1H-Pyrazolium, 5-amino-4-[[[(2-aminoethyl)amino]carbonyl]amino]-2-[[[(6R,7R)-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl)methyl]-1-methyl-, sulfate (1:1); and 5-amino-4-{[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino}-2-{[(6R,7R)-7-[(2Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino)-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl)methyl]-1-methyl-1H-pyrazolium monosulfate.

Ceftolozane sulfate can occur in an amorphous solid form or in a crystalline solid form or in mixtures of solid forms. Crystalline solid forms of ceftolozane can exist in one or more unique solid forms, which can additionally comprise one or more equivalents of water or solvent (i.e., hydrates or solvates, respectively).

As disclosed herein, crystalline ceftolozane sulfate precipitated or crystallized from isopropanol/water has significantly better stability in a solution comprising isopropanol compared to the stability in a solution comprising ethanol, as used to prepare crystalline ceftolozane sulfate precipitated from ethanol/water, as previously described in U.S. Patent No. 7,129,232 (see Example 3). Moreover, the crystalline forms precipitated or crystallized from isopropanol/water have distinct characteristic XRPD peaks (see Examples 1 and 2, and

Tables 4 and 6) that are not observed in previously disclosed crystal forms of ceftolozane described in U.S. Patent No. 7,129,232. Accordingly, provided herein are novel crystalline ceftolozane sulfate solid forms, pharmaceutical compositions thereof, and methods of preparing those crystalline ceftolozane sulfate solid forms and methods of use thereof.

Novel ceftolozane solid forms can be obtained from aqueous solutions comprising ceftolozane and isopropyl alcohol (herein, also called IPA, or isopropanol). As described in Example 2a, ceftolozane sulfate in solid Form 1 can be obtained by forming a ceftolozane solution comprising a ceftolozane salt, a strong acid and IPA and maintaining the solution under conditions effective to form a ceftolozane wet cake containing Form 1 of the ceftolozane salt. Preferably, the ceftolozane solution is an aqueous solution comprising ceftolozane and the strong acid (e.g., sulfuric acid) in an amount providing least 1 molar equivalent of the strong acid to the molar quantity of ceftolozane in the solution. In certain examples, the Form 1 of ceftolozane is obtained from a ceftolozane solution that is polish filtered and the temperature is adjusted and maintained throughout the entire salt formation and isolation process. An aqueous sulfuric acid (H_2SO_4) solution can be charged to the batch. Optionally, this can be followed by seeding with ceftolozane sulfate crystal. The batch is aged, followed by the addition of IPA over a period of time. After the IPA addition, the batch is agitated for an additional period, and then filtered. The wet cake of ceftolozane sulfate is washed with a solution of IPA and water

The ceftolozane solution is preferably maintained at a temperature effective to provide a desired purity and yield of the ceftolozane in solid Form 1, such as 8-12 degrees C. In addition to the temperature (e.g., 8-12 degrees C, preferably about 10 degrees C), and amount of strong acid (e.g., sulfuric acid in an amount providing 1-3 molar equivalents, and preferably 2.45-2.55 molar equivalents, relative to the molar amount of ceftolozane), the concentration of ceftolozane before salt formation (e.g., 75-85 g/L), seed amount (e.g., 0.1-1 w/w%) and aging time after seeding (e.g., 2-4 hours) are also parameters that can be adjusted to obtain ceftolozane in Form 1 solid form. Particularly preferred processes for making Form 1 ceftolozane sulfate solid form include maintaining an aqueous solution of ceftolozane sulfate, isopropyl alcohol and sulfuric acid at a temperature of 8-12 degrees C. Table 1 provides the exemplary range of values for various process parameters for the manufacturing of solid forms of ceftolozane sulfate, along with preferred ranges and target (most preferred) values for each process parameter.

Table 1: Process Parameters for the Formation and Isolation of Cefotolozane Sulfate Solid Forms

Process Parameter	Exemplary Range	Preferred Range	Target Value
Cefotolozane concentration after final nanofiltration (g/L)	72 to 100	75 to 85	80
Sulfuric acid (equiv)	1.50 to 2.95	2.45 to 2.55	2.5
Seed amount (w/w%)	0.03 to 4.0	0.1 to 1.0	0.3
Aging time, after seeding (h)	1 to 5	2 to 4	3
IPA amount (vol)	20 to 40	29 to 31	30
IPA addition time (h)	0.5 to 8	6 to 7	6.5
Aging time, after IPA addition (h)	0 to 8	1 to 6	2
Temperature (°C)	5 to 15	8 to 12	10
4:1 (v/v) IPA/water wash solution (vol)	≥ 2	≥ 2	4

Solid forms of cefotolozane can be obtained by methods comprising the step of combining cefotolozane sulfate and a solvent, such that a solution comprising cefotolozane sulfate is formed, and such that crystalline cefotolozane sulfate precipitates from the solution. Crystalline cefotolozane sulfate solid forms can be obtained from methods that include the steps of: (1) combining cefotolozane sulfate and a solvent, such that a solution of cefotolozane sulfate is formed; and (2) combining an antisolvent with the solution, wherein the antisolvent is miscible with the solvent and wherein cefotolozane sulfate is partially or completely insoluble in the antisolvent, such that crystalline cefotolozane sulfate precipitates or crystallizes from the solution.

A cefotolozane sulfate composition can be obtained by a process comprising the steps of: (a) forming a solution comprising water, 72-100 g/L cefotolozane active and 1.5 – 2.95 molar equivalents of sulfuric acid to cefotolozane; (b) combining the solution from step (a) with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added to the solution over 0.5 – 8 hours to obtain solid cefotolozane sulfate; and (c) isolating the solid cefotolozane sulfate from the solution. The temperature of the solution can be about 0-20 degrees C, preferably 8-12 degrees C (e.g. 10 degrees C). Optionally, the process can further include adding a cefotolozane sulfate seed crystal, preferably in an amount of 0.03-4.0% w/w and allowing the seed crystal to age in the solution for about 1-5 hours. Optionally, the process can include allowing the solution to age for up to about 8 hours after adding the isopropyl alcohol.

In another aspect, methods of making crystalline cefotolozane sulfate can include the steps of: (1) combining cefotolozane freebase (i.e., the non-salt form of cefotolozane having a

net formal charge of zero) and a solvent, such that a solution of ceftolozane freebase is formed; (2) combining an acid with the solution of ceftolozane free base (e.g., in an amount providing a molar equivalent or excess of the acid to the ceftolozane free base, and/or an amount effective to adjust the pH of the ceftolozane solution to about 1.5-2.0); and (3) allowing the crystalline ceftolozane sulfate to precipitate or crystallize from solution. In addition, the method can include adding an antisolvent (preferably isopropyl alcohol) in an amount effective to provide a desired rate or extent of precipitation and/or crystallization of the ceftolozane in the solution. Accordingly, step (3) may further comprise combining an antisolvent with the solution, wherein the antisolvent is miscible with the solvent and wherein ceftolozane sulfate is partially or completely insoluble in the antisolvent, such that crystalline ceftolozane sulfate precipitates or crystallizes from the solution. In some embodiments, the temperature of the solution is adjusted to 0-20 °C. In other embodiments, step (3) comprises the step of seeding the solution with one or more crystals of ceftolozane sulfate. In some embodiments, the volume of antisolvent that is added to the solution is 20-40 volumes relative to the ceftolozane. In some embodiments, the temperature of the solution formed in step (1) is adjusted to 0-20 °C before proceeding to step (2). In one embodiment, the method of making crystalline ceftolozane sulfate can also include the step of: (4) drying the precipitated or crystallized crystalline ceftolozane sulfate. Drying may comprise techniques including, but not limited to, air-drying, exposure to vacuum, exposure to a neutral gas (e.g., nitrogen) flow and heating.

In an alternative embodiment, the acid (e.g., sulfuric acid) may first be combined with the solvent, and the resulting mixture then combined with ceftolozane. Alternatively, ceftolozane and the acid (e.g., sulfuric acid) may first be combined, and the resulting mixture then combined with the solvent. In one embodiment, the antisolvent is added to the solution of ceftolozane sulfate or freebase. In another embodiment, the solution of ceftolozane sulfate or freebase is added to the antisolvent. In certain embodiments, the solvent is selected from the group consisting of water and sulfuric acid. In certain embodiments, the antisolvent is selected from the group consisting of alcohols, ethers, esters, ketones, nitriles, amides, nitroalkanes, nitroarenes, substituted or unsubstituted aromatic solvents, substituted or unsubstituted aliphatic solvents and mixtures thereof. In certain embodiments, the antisolvent is selected from the group consisting of acetone, acetonitrile, 1-butanol, cyclohexane, dichloromethane, diisopropyl ether, dimethylformamide, dimethylsulfoxide, 1,4-dioxane, ethanol, ethyl acetate, heptanes, methanol, isopropyl acetate, methyl ethyl

ketone, methyl isobutyl ketone, N-methyl-2-pyrrolidinone, nitromethane, isopropanol, tert-butylmethyl ether, tetrahydrofuran, toluene and mixtures thereof. In a preferred embodiment, the solvent is water. In another preferred embodiment, the antisolvent is isopropanol.

Also provided herein is a method of making crystalline ceftolozane sulfate, comprising one or more steps selected from the group consisting of: (1) combining ceftolozane freebase, sulfuric acid and water, such that an aqueous solution of ceftolozane sulfate is formed; and (2) combining isopropanol with the aqueous solution, such that crystalline ceftolozane sulfate precipitates or crystallizes from the solution. In another aspect, provided herein is a method of making crystalline ceftolozane sulfate, comprising: (1) combining ceftolozane freebase, sulfuric acid, and a solvent/antisolvent mixture, such that a solution of ceftolozane sulfate is formed; and (2) combining an antisolvent with the solution, wherein the antisolvent is miscible with the solvent and wherein ceftolozane sulfate is partially or completely insoluble in the antisolvent, such that crystalline ceftolozane sulfate precipitates or crystallizes from the solution. In another aspect, provided herein is a method of making crystalline ceftolozane sulfate comprising the steps of: a) dissolving ceftolozane sulfate in water to obtain a first solution of ceftolozane sulfate; b) combining the first solution of ceftolozane sulfate with isopropanol to afford a second solution of ceftolozane sulfate; c) crystallizing ceftolozane sulfate from the second solution to obtain crystalline ceftolozane sulfate. In another aspect, provided herein is crystalline ceftolozane sulfate produced according to any one of the preceding methods. In another aspect, provided herein is crystalline ceftolozane sulfate obtainable by any one of the preceding methods. The processes and methods described herein may also further comprise adding one or more seed crystals of crystalline ceftolozane sulfate.

As used herein, the term "precipitate" refers to the formation of a solid substance from a solution containing the same substance. A substance which precipitates from solution may be amorphous or crystalline. Precipitation may occur under a variety of conditions known to those of skill in the art, including the treatment of a solution of a solute (e.g., solute A in solvent B) with an antisolvent (i.e., a solvent that is miscible with solvent B, but does not dissolve solute A). Non-limiting examples of solvent/antisolvent pairs include water/isopropanol.

The solid forms of ceftolozane can be identified by various analytical techniques, such as X-ray powder diffraction (XRPD). Solid forms of ceftolozane sulfate in solid Form 1 and a novel ceftolozane solid Form 2 of ceftolozane sulfate can both be identified by XRPD

both having one or more shared characteristic diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8. In addition, ceftolozane in both solid Form 1 and solid Form 2 can both produce the Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , and 1329 cm^{-1} . A preferred ceftolozane composition can include ceftolozane in one or more solid forms (e.g., solid Form 1 and/or solid Form 2) characterized by an XRPD pattern with diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8, in addition to Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , and 1329 cm^{-1} . In addition, compositions comprising ceftolozane sulfate in solid Form 1 and/or solid Form 2 can be identified by XRPD patterns with diffractions at 2θ values ($2\theta \pm 0.2$) indicated in Table 4 (for Form 1) and/or Table 6 (for Form 2), respectively.

A novel ceftolozane solid Form 1 of ceftolozane sulfate can be identified by X-ray Powder Diffraction (XRPD), having one or more characteristic diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, and 28.0. In addition, ceftolozane in solid Form 1 can produce the Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} , and 2976 cm^{-1} . In one embodiment, provided herein is crystalline ceftolozane sulfate Form 1 characterized by an X-ray powder diffraction pattern having peaks at substantially the same angles as the upper spectrum in Figure 1. In another embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate Form 1 is characterized by an X-ray powder diffraction pattern having one or more peaks at substantially the angles ($2\theta \pm 0.2$) as Table 4.

A novel ceftolozane solid Form 2 of ceftolozane sulfate can be identified by X-ray Powder Diffraction (XRPD), having one or more characteristic diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7. In addition, ceftolozane in solid Form 1 can produce the Raman spectra comprising one or more of the following peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} . In one embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate Form 2 is characterized by an X-ray powder diffraction pattern having characteristic peaks at substantially the same angles as the lower spectrum in Figure 1. In another embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate Form 2 is characterized by an X-ray powder diffraction pattern having one or more peaks at substantially the same angles ($2\theta \pm 0.2$) as Table 6.

Crystalline forms of ceftolozane sulfate can also be characterized by their water content. In one embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate comprises 11-27 %, 12-26 %, 13-25 %, 14-24 %, 15-23 %, 16-22 %, or 17-21 % of water by weight. In a particular

embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate comprises 18-20 % of water by weight. In another embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate comprises about 26.3 % by weight of water. In a particular embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate is ceftolozane sulfate decahydrate.

Crystalline forms of ceftolozane sulfate can also be defined by their water content. In one embodiment, crystalline ceftolozane sulfate comprises 4-10 %, 5-9 %, or 6-8 % of water by weight. Form 1 of ceftolozane sulfate can include about 18-20% water. Form 2 of ceftolozane sulfate can include less than about 11% water, and preferably about 5-11% water, and most preferably about 7-8% water.

In another embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate comprises about 7 % of water by weight. In a particular embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate is ceftolozane sulfate trihydrate.

In some embodiments, crystalline ceftolozane sulfate can be characterized by Raman spectroscopy. In a particular embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate in Form 1 has a Raman spectrum substantially in accordance with the upper spectrum shown in Figure 2. In another particular embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate in Form 1 has a Raman spectrum with one or more peaks at substantially the same positions ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) as shown in Table 5. Ceftolozane solid Form 1 can produce Raman shift peaks comprising one or more of the certain peaks not observed in Form 1, at about ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} , and 2976 cm^{-1} .

In other embodiments, the crystalline ceftolozane sulfate in Form 2 has a Raman spectrum substantially in accordance with the lower spectrum shown in Figure 2. In another particular embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate in Form 2 has a Raman spectrum with one or more peaks at substantially the same positions ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) as shown in Table 7. Ceftolozane solid Form 2 can produce Raman shift peaks comprising one or more of the peaks at about ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} .

Ceftolozane in solid Form 1 and solid Form 2 are both characterized by intense Raman shift peaks ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} , and 1329 cm^{-1} . In addition, ceftolozane solid Form 1 and Form 2 can produce Raman shift peaks comprising one or more of the following peaks at indicated in both Table 5 and 7 ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$).

In another aspect, provided herein is a composition comprising amorphous and crystalline solid forms of ceftolozane sulfate. In one embodiment, the composition comprises

crystalline ceftolozane sulfate and amorphous ceftolozane sulfate, wherein the amorphous ceftolozane sulfate is present in an amount selected from the following ranges: 90-99%, 80-89%, 70-79%, 60-69%, 50-59%, 40-49%, 30-39%, 20-29%, 10-19%, 1-9% and 0-0.99%.

In some embodiments, the crystalline ceftolozane sulfate is a hydrate. In one embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate is ceftolozane sulfate decahydrate. In a particular embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate comprises 5-amino-4-[[[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino]-2-[[[(6*R*,7*R*)-7-[(2*Z*)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]methyl]-1-methyl-1*H*-pyrazolium monosulfate and water in a 1:10 molar ratio.

In another embodiment, the crystalline ceftolozane sulfate is ceftolozane sulfate trihydrate. In a particular embodiment, the ceftolozane sulfate comprises 5-amino-4-[[[(2-aminoethyl)carbamoyl]amino]-2-[[[(6*R*,7*R*)-7-[(2*Z*)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]methyl]-1-methyl-1*H*-pyrazolium monosulfate and water in a 1:3 molar ratio.

Compared with previous crystalline forms of ceftolozane sulfate, certain novel crystalline forms of ceftolozane sulfate have advantageous properties. For example, these crystalline forms were found to be more chemically stable, which can be beneficial to the preparation of various drug formulations.

A pharmaceutical composition can comprise, and/or be obtained from, the solid form of ceftolozane sulfate designated as ceftolozane sulfate Form 2 that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9 and 17.7. The ceftolozane sulfate can produce Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} and 2953 cm^{-1} .

A pharmaceutical composition can contain or be obtained from a solid form of ceftolozane characterized by one or more of the following: (a) the solid form of ceftolozane sulfate produces an XRPD pattern further comprising diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$): 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7; (b) the solid form of ceftolozane sulfate of claim 1 that produces an XRPD pattern further comprising one or more additional diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) listed in Table 6; (c) the solid form of ceftolozane sulfate that produces Raman shift peaks at about ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} ; (d)

the solid form of ceftolozane sulfate of claim 1 that produces one or more additional Raman shift peaks at values listed in Table 7; and any combination of one or more of characteristics (a) – (d).

A pharmaceutical composition can contain or be obtained from a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of: (a) combining ceftolozane sulfate in the solid form designated herein as ceftolozane sulfate in solid Form 2, with water, sodium chloride and L-arginine to form an aqueous solution; and (b) lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized composition comprising ceftolozane sulfate. The pharmaceutical composition obtained by such a method can include performing a lyophilization cycle characterized by one or more of the following characteristics: (a) not more than 150 mg ceftolozane free base/g bulk solution concentration, (b) no more than 3 cm fill depth, (c) freezing to at least -40 °C during the lyophilization cycle, (d) drying at no more than 40 °C, and (e) single- or multi-step drying and setting chamber pressure during the start of primary drying at not more than 400 μbar.

A ceftolozane sulfate composition can be obtained by a process comprising the steps of: (a) forming a solution comprising water, 72-100 g/L ceftolozane active and 1.5 – 2.95 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane; (b) combining the solution from step (a) with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added to the solution over 0.5 – 8 hours to obtain solid ceftolozane sulfate; and (c) isolating the solid ceftolozane sulfate composition from the solution.

Pharmaceutical compositions comprising ceftolozane and tazobactam can be obtained by blending a first composition comprising a therapeutically effective amount of ceftolozane with a second composition comprising a therapeutically effective amount of tazobactam to form a blended pharmaceutical composition. The pharmaceutical composition can comprise ceftolozane or a therapeutically effective salt thereof and tazobactam or a pharmaceutically effective salt thereof in an amount providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000 mg of ceftolozane active. The pharmaceutical antibiotic composition preferably includes ceftolozane and tazobactam in a 2:1 weight ratio of ceftolozane active to tazobactam active (“CXA-201”), which displays antibacterial activity, including antibiotic activity against infections caused by many Gram-negative pathogens such as *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). In particular, CXA-201 is a pharmaceutical composition useful for intravenous administration for the treatment of complicated intra-abdominal infections and/or complicated urinary tract infections, and is being evaluated for treatment of pneumonia.

Methods of treating an infection selected from the group consisting of: complicated intra-abdominal infection (cIAI), complicated urinary tract infection (cUTI), or hospital acquired/ventilator-associated bacterial pneumonia (HABP/VABP) are also provided herein. These methods can include administering to a patient an injectable pharmaceutical composition comprising ceftolozane in an injectable preparation prepared from a lyophilized composition obtained by a process comprising the steps of: (a) combining the ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7 with water to form an aqueous solution; and (b) lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.

Pharmaceutical compositions can be obtained by combining tazobactam (or a pharmaceutically acceptable salt thereof) in one or more solid forms with a ceftolozane composition comprising ceftolozane in one or more salts and/or solid forms. The ceftolozane in the pharmaceutical composition can be ceftolozane sulfate in one or more solid forms disclosed herein, including amorphous, Form 1, Form 2 and/or combinations thereof. The ceftolozane in the pharmaceutical composition can be obtained by a process comprising lyophilizing a solution of ceftolozane sulfate in solid Form 1, solid Form 2 and/or combinations thereof. For example, the ceftolozane in the pharmaceutical composition can be prepared in the absence of tazobactam by forming an aqueous solution comprising ceftolozane sulfate in solid Form 1, solid Form 2 and/or combinations thereof and other components including excipients, stabilizers, pH adjusting additives (e.g., buffers) and the like. Non-limiting examples of these additives include sodium chloride, citric acid and L-arginine. For example, the use of sodium chloride results in greater stability; L-arginine is used to adjust the aqueous solution to a pH of 5 – 7 (e.g., to pH 6-7) and to increase the solubility of ceftolozane; and citric acid is used to prevent discoloration of the product, due to its ability to chelate metal ions. In one embodiment, the pH of the first aqueous solution is suitable for making an injectable product (e.g., a pH range of 5 – 7, including 6 – 7). Preferably, the first aqueous solution comprises about 125 mg – 500 mg of a ceftolozane stabilizing agent (such as sodium chloride) per 1,000 mg of ceftolozane active. The ceftolozane can be included as an amount of ceftolozane sulfate of formula (I) containing at least about 1,000 mg ceftolozane active. The aqueous solution comprising ceftolozane (e.g., ceftolozane sulfate in Form 2, and/or other solid forms disclosed herein) is then lyophilized to

form a first lyophilized ceftolozane composition, which is combined with tazobactam, e.g., the lyophilized tazobactam (e.g., lyophilized tazobactam sodium) or crystalline tazobactam

The pharmaceutical composition can be obtained by combining the ceftolozane composition with a (second) tazobactam composition (e.g., preferably, but not necessarily, prepared in the absence of ceftolozane) by forming a second solution comprising tazobactam. The tazobactam can be included in an amount providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000 mg ceftolozane active (i.e., a 1:2 weight ratio of tazobactam active to ceftolozane active). Tazobactam is a beta-lactamase inhibitor in its free acid form. Unless otherwise indicated, tazobactam can be a free acid, a sodium salt, an arginine salt, or a hydrate or solvate thereof. In one embodiment, the tazobactam in the (second) tazobactam composition is tazobactam acid and the second composition further comprises sodium bicarbonate or sodium hydroxide. Lyophilizing tazobactam in the presence of sodium bicarbonate or sodium hydroxide forms a lyophilized tazobactam sodium, which can then be further blended with the (first) lyophilized ceftolozane composition.

Pharmaceutical compositions can be obtained by lyophilization (e.g., lyophilizing an aqueous ceftolozane solution obtained by dissolving ceftolozane in Form 2 and/or Form 1 with other components such as a stabilizing agent, a chelating agent and/or an alkalizing agent). Specific methods of lyophilization are described in Remington's Pharmaceutical Sciences, Chapter 84, page 1565, Eighteenth Edition, A. R. Gennaro, (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990).

Pharmaceutical compositions comprising ceftolozane and tazobactam can be formulated to treat infections by parenteral administration (including subcutaneous, intramuscular, and intravenous) administration. Pharmaceutical compositions may additionally comprise excipients, stabilizers, pH adjusting additives (e.g., buffers) and the like. Non-limiting examples of these additives include sodium chloride, citric acid and L-arginine. For example, the use of sodium chloride results in greater stability; L-arginine is used to adjust pH and to increase the solubility of ceftolozane; and citric acid is used to prevent discoloration of the product, due to its ability to chelate metal ions. In one particular embodiment, the pharmaceutical compositions described herein are formulated for administration by intravenous injection or infusion.

The pharmaceutical antibiotic compositions can be provided in a unit dosage form container (e.g., in a vial or bag, or the like). The unit dosage form can be dissolved with a

pharmaceutically acceptable carrier, and then intravenously administered. The unit dosage form comprises 1000 mg of ceftolozane active and 500 mg tazobactam, typically 1000 mg ceftolozane active as ceftolozane sulfate and 500 mg of tazobactam active as tazobactam sodium, arginate or free acid. The unit dosage forms are commonly stored in vials.

In one aspect, provided herein is a unit dosage form container (e.g., a bag, vial or the like) containing a unit dosage form of a pharmaceutical composition formulated for parenteral administration for the treatment of complicated intra-abdominal infections, the pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of ceftolozane sulfate and tazobactam in a ratio of 1,000 mg ceftolozane active per 500 mg of tazobactam active, the pharmaceutical composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. lyophilizing a first aqueous solution in the absence of tazobactam, the first aqueous solution comprising ceftolozane sulfate, 125 mg to 500 mg of sodium chloride per 1,000 mg of ceftolozane active, L-arginine and/or citric acid in an amount effective to adjust the pH of the first aqueous solution to 5 – 7 (e.g., 6 – 7) prior to lyophilization to obtain a first lyophilized ceftolozane composition,
- b. lyophilizing a second solution in the absence of ceftolozane, the second solution comprising tazobactam being lyophilized to form a second lyophilized tazobactam composition; and
- c. blending the first lyophilized ceftolozane composition and the second lyophilized tazobactam composition to obtain a blended pharmaceutical composition in the unit dosage form.

In one embodiment of the unit dosage form container, the tazobactam in the second solution is tazobactam acid, and wherein the tazobactam acid in the second solution is lyophilized in the presence of sodium bicarbonate or sodium hydroxide, thereby forming lyophilized tazobactam sodium in the second lyophilized tazobactam composition.

The pharmaceutical compositions provided herein comprising ceftolozane sulfate and tazobactam in a ratio of 1,000 mg ceftolozane active per 500 mg of tazobactam active, can be obtained by a process comprising the steps of:

- a. lyophilizing a first aqueous solution in the absence of tazobactam, the first aqueous solution comprising ceftolozane sulfate at a pH of 5 – 7 (e.g., 6 – 7) prior to lyophilization to obtain a first lyophilized ceftolozane composition,

b. blending the first lyophilized ceftolozane composition with tazobactam to obtain an antibacterial composition.

As provided herein, ceftolozane can be stabilized in a pharmaceutical composition comprising ceftolozane and a stabilizing effective amount of a stabilizing agent selected from the group consisting of: sodium chloride, dextran 40, lactose, maltose, trehalose and sucrose. The pharmaceutical compositions provided herein are based in part on the surprising discovery that ceftolozane pharmaceutical compositions comprising these stabilizing agents demonstrate improved ceftolozane residual rates (e.g., % ceftolozane remaining after 3 days at 70 degrees C as measured by HPLC) and/or chemical stability (e.g., lower reduction in ceftolozane purity measured by HPLC after 7 days at 60 degrees C in a stability test) compared control samples comprising ceftolozane without a stabilizing agent.

Accordingly, preferred pharmaceutical antibiotic compositions can include ceftolozane sulfate and a stabilizing agent (e.g., 300 to 500 mg of a stabilizing agent per 1,000 mg ceftolozane active) in a lyophilized unit dosage form (e.g., powder in a container). The unit dosage form can be dissolved with a pharmaceutically acceptable carrier (e.g., 0.9% sodium chloride aqueous isotonic saline and/or water for injection), and then intravenously administered. In certain ceftolozane compositions, the stabilizing agent can be selected from the group consisting of: sodium chloride, lactose, maltose and dextran 40, and/or selected from the group consisting of: sodium chloride, trehalose and sucrose.

Ceftolozane pharmaceutical compositions comprising 125 to 500 mg (e.g., 480 to 500 mg) of sodium chloride per 1000 mg of ceftolozane active demonstrate improved ceftolozane purity and chemical stability compared to pharmaceutical compositions comprising ceftolozane with comparatively less sodium chloride. The disclosed ceftolozane pharmaceutical compositions comprise a stabilizing amount of sodium chloride (e.g., 125 to 500 mg of sodium chloride [more specifically, 480 to 500 mg] per 1000 mg of ceftolozane active). Certain preferred compositions demonstrate improved ceftolozane purity and chemical stability compared with pharmaceutical compositions comprising ceftolozane with comparatively less sodium chloride. For example, the disclosed pharmaceutical compositions typically comprise less than about 4% total impurity after being stored for seven days at 60 degrees C, as determined by HPLC. Alternatively, the disclosed pharmaceutical compositions comprise less than about 2% of the impurity represented by Peak 1 after being stored for seven days at 60 °C, as determined by HPLC (refer to the HPLC method described in Table 10), where Peak 1 has a retention time relative to ceftolozane of approximately 0.15.

Another embodiment of the invention is a container containing a unit dosage form of a pharmaceutical composition formulated for parenteral administration for the treatment of complicated intra-abdominal infections or complicated urinary tract infections. The container can be obtained by a process comprising the steps of: a) lyophilizing an aqueous solution comprising 189 mg sodium from sodium chloride per 1000 mg ceftolozane active in the form of ceftolozane sulfate and further comprising citric acid, and L-arginine to obtain a lyophilized ceftolozane composition; and b) filling a sufficient quantity of the lyophilized composition into a container to obtain a unit dosage form comprising a ceftolozane stabilizing effective amount of sodium from sodium chloride (e.g., 125-500 mg sodium chloride per 1g ceftolozane active) and 1,000 mg of ceftolozane active in the form of ceftolozane sulfate. In one aspect, the pH of the aqueous solution is 6.0 to 7.0. In another aspect, the pharmaceutical composition is formulated for parenteral administration by reconstituting the pharmaceutical composition in the container (e.g., with 10 mL of diluent such as water for injection or isotonic saline) followed by addition of the reconstituted pharmaceutical composition to a carrier for injection (e.g., about 100 mL of isotonic saline or other pharmaceutically acceptable carrier for intravenous administration). Optionally, the container is also filled with tazobactam (e.g., a lyophilized tazobactam such as tazobactam sodium). In yet another aspect, the pharmaceutical composition is a liquid composition comprising 487 mg sodium chloride per 1,000 mg of ceftolozane active and tazobactam in an amount providing about 500 mg tazobactam acid equivalent per 1,000 mg of ceftolozane active, formulated for parenteral administration and the pH of the aqueous solution is 5.0 to 7.0 and preferably about 6.0 to 7.0.

The pharmaceutical composition in the container can also be a Ceftolozane/Tazobactam for Injection Drug Product, 1000 mg/500 mg. It is presented as a combination of two sterile active powders in a single container intended for reconstitution and intravenous infusion. In one embodiment, the drug product is prepared by converting ceftolozane sulfate to a sterile composition as a powder with excipients citric acid, sodium chloride and L-arginine. This can be done by lyophilization, as described herein. Tazobactam sodium drug substance can be presented as a sterile powder without any excipients. The tazobactam sodium drug substance can be lyophilized, spray dried or provided as a crystalline material. The drug product is then prepared by aseptically filling the two powders (e.g., the two separately lyophilized drug powders) sequentially into a single container.

In an embodiment, the container of ceftolozane/tazobactam for injection contains approximately 2255 mg ceftolozane sterile composition powder that contains 1147 mg ceftolozane sulfate, which is equivalent to 1000 mg ceftolozane free base, as well as approximately 537 mg tazobactam sodium sterile drug substance, equivalent to 500 mg tazobactam free acid. At the time of administration, the container is reconstituted with 10 mL vehicle, sterile 5% Dextrose Injection USP, Water for Injection or 0.9% Sodium Chloride Injection USP, then the container contents further diluted in an infusion bag of 0.9% Sodium Chloride Injection USP or 5% Dextrose Injection USP, for administration.

Ceftolozane-containing pharmaceutical compositions can also include an amount of tazobactam in a pharmaceutically acceptable form providing 500 mg of tazobactam acid per 1,000 mg of ceftolozane active as a composition formulated for injection, or for reconstitution prior to parenteral administration. In one product presentation, ceftolozane/tazobactam can be provided in a single container comprising ceftolozane sulfate and tazobactam sodium, administered by reconstituting a container-unit dosage form container of solid ceftolozane/tazobactam to form a reconstituted injectable formulation. In one presentation (e.g., for treatment of certain urinary tract infections and/or certain intra-abdominal infections), each unit dosage form container of CXA-201 can contain 1000 mg of ceftolozane active (free base equivalent weight, e.g., provided as a pharmaceutically acceptable salt such as ceftolozane sulfate) and sterile tazobactam sodium at a quantity equivalent of 500 mg of tazobactam free acid, in a solid form. In another presentation (e.g., for treatment of hospital acquired/ventilator-associated bacterial pneumonia (HABP/VABP)), a ceftolozane/tazobactam product can include a unit dosage form container providing 2,000 mg of ceftolozane active (e.g., as an equivalent amount of ceftolozane sulfate) and 1,000 mg of tazobactam acid (e.g., as an equivalent amount of tazobactam sodium). Ceftolozane/tazobactam compositions display potent antibacterial activity against various gram-negative infections such as, for example, complicated intra-abdominal infection (cIAI), complicated urinary tract infection (cUTI), or hospital acquired/ventilator-associated bacterial pneumonia (HABP/VABP).

Ceftolozane/tazobactam can be used for treating an infection selected from the group consisting of: urinary tract infections, and intra-abdominal infections. The methods of treatment can include intravenously administering to a patient in need thereof a therapeutically effective amount of a pharmaceutical composition comprising ceftolozane sulfate and an amount of tazobactam providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000

mg of ceftolozane active, the ceftolozane sulfate in the pharmaceutical composition obtained from a ceftolozane sulfate solid form obtained by a process comprising the steps of: (a) combining the ceftolozane sulfate in a solid form, designated as ceftolozane sulfate Form 2, with water, sodium chloride and L-arginine to form an aqueous solution; (b) lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate; (c) combining the lyophilized ceftolozane composition with tazobactam to obtain the pharmaceutical composition; (d) reconstituting the pharmaceutical composition in a pharmaceutically acceptable diluent; and (e) intravenously administering the reconstituted pharmaceutical composition to the patient.

In some embodiments of the ceftolozane sulfate solid forms, compositions and pharmaceutical compositions described herein, the solid form, composition or pharmaceutical composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a:

Table 1a. X-ray powder diffraction analysis (by Rigaku X-ray Diffraction system MultiFlex)

2 θ
8.0
12.7
13.8
16.1
18.9
20.4
21.5
22.4
23.3
24.0
25.5
26.7
27.9
28.5
31.3
X-ray: Cu/40 kV/30 mA

In one aspect, provided herein is composition comprising a solid form of ceftolozane sulfate that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles (2 theta $\pm$ 0.2) of 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, and 28.0, wherein the composition does not

comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is composition comprising a solid form of ceftolozane sulfate that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7, wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a composition comprising a solid form of ceftolozane sulfate that produces Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} and 2976 cm^{-1} , wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a composition comprising a solid form of ceftolozane sulfate that produces Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , and 802 cm^{-1} , wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a composition comprising a solid form of ceftolozane sulfate that produces:

- a. an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8 and
- b. Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} and 1329 cm^{-1} ;

wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. combining the ceftolozane sulfate in a solid form designated herein as ceftolozane sulfate Form 1 with water to form an aqueous solution; and
- b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate;

wherein the pharmaceutical composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. combining ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8 and Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} and 1329 cm^{-1} , with water to form an aqueous solution; and
- b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate;

wherein the pharmaceutical composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a pharmaceutical composition comprising the solid form of ceftolozane sulfate designated as ceftolozane sulfate Form 2 that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7, wherein the pharmaceutical composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. combining the ceftolozane sulfate in a solid form designated as ceftolozane sulfate Form 2 with water to form an aqueous solution; and
- b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.

In another aspect, provided herein is a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. combining the ceftolozane sulfate in a solid form designated as ceftolozane sulfate Form 2 with water to form an aqueous solution; and
- b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate;

wherein the pharmaceutical composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a ceftolozane sulfate composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. forming a solution comprising water, 72-100 g/L ceftolozane active and 1.5 – 2.95 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane;

- b. combining the solution from step (a) with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added to the solution over 0.5 – 8 hours to obtain solid ceftolozane sulfate; and
- c. isolating the solid ceftolozane sulfate composition from the solution;

wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

In another aspect, provided herein is a pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:

- a. combining the ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7 with water to form an aqueous solution; and
- b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate;

wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a.

EXAMPLES

Instrumentation and Methods

Other than Comparative Example 1, and unless otherwise indicated, the following instrumentation and methods were used in the working Examples described herein. Comparative Example 1 is reported in U.S. Patent 7,232,129.

X-ray Powder Diffraction (XRPD)

High Resolution X-ray Powder Diffraction experiments (Bruker, AXS D8 Advance) were performed on a Bruker D8 diffractometer using Cu K α radiation (40 kV, 40mA), θ - 2θ goniometer, and primary & secondary soller slits (2.5°), a Ge monochromator and Lynxeye detector (opening angle of 2.948°). Certified Corundum standard (NIST 1976) was used to check the performance of the instrument. Data collection was performed by the Diffrac.Suite Measurement Center v2.2.47.1 and the data was analyzed and presented using Diffrac.EVA v2.0 or v3.0.

Samples were tested under ambient conditions. Approximately 500 mg of each sample was grinded for 3 minutes in a mortar and pestle. The sample was prepared by back-loading the triturated material into the sample holder and supporting it with a zero

background silicon wafer. Once tightly packed, a flat surface was formed. When the sample was carefully flipped over, the appearance of the API in the sample holder appeared very similar to the appearance of the Corundum sample for NIST used to verify the performance of the instrument. The scan type of coupled TwoTheta/Theta was used for the data collection. The angular range was 2 to 50 °2 θ , and the step size was 0.001 °2 θ . Collection Time was 1 s for the each step. The goniometer radius was set at 280 mm. Sample rotation speed was 15 rpm, and the slit size was 0.1 mm.

Thermal Analysis

Thermo Gravimetric Analysis (TGA) experiments were performed on a TA Instruments Discovery Series TGA. The calibration for temperature was carried out using certified indium. Typically, 3–15 mg of a sample was flattened into sealed aluminum pans. Data was acquired for samples with and without a pinhole. For samples with a pinhole, once crimped and sealed, the auto-sampler punched the lid of the sample with its internal puncher right before analysis of the sample. Samples were heated at 20 °C/min from 30 °C to 400 °C. Dry nitrogen was purged into the system during the experiment at a rate of 50 ml/min. The software used to control the instrument was TRIOS Explorer Software v5.3.0.75. TRIOS software v2.40.1838 or v2.04.04563 was used for data analysis.

Differential Scanning Calorimetry (DSC) experiments were performed on a TA Instruments Q2000 was used for collecting DSC data. The calibration for thermal capacity was carried out using sapphire and the calibration for energy and temperature was carried out using certified indium. Typically, 3–10 mg of a sample is flattened into sealed aluminum hermetic pans and the weight accurately recorded. Data was acquired for samples with a pinhole in the lid. Samples were heated at 10 °C/min from 25 °C to 350 °C. Dry nitrogen was purged into the system during the experiment at a rate of 50 ml/min. The software used to control the instrument is the Advantage for Q Series v2.9.0.396 and the Thermal Advantage v5.4.0. Data was analyzed using the Universal Analysis v4.5A software.

Gravimetric dynamic vapour sorption

Gravimetric dynamic vapor sorption data (Figure 5) was obtained using a SMS DVS Intrinsic moisture sorption analyser, controlled by DVS Intrinsic Control software v1.0.0.30. The sample temperature was maintained at 25 °C by the instrument controls. The humidity was controlled by mixing streams of dry and wet nitrogen. The relative humidity was

C227-02/01 WO

561389; CPT-227PC

measured by a calibrated Rotronic probe, located near the sample. The weight change of the sample as a function of %RH was constantly monitored by the microbalance (accuracy ± 0.005 mg). Approximately 40 mg of sample was placed in a tared mesh stainless basket under ambient conditions. Weight reference was established at the start of an experiment. Moisture sorption isotherm parameters were described as below:

Table 2

Parameters	Values
Scan 1 Adsorption	40%–90%
Scan 2 Desorption / Adsorption	90%–0% / 0%–40%
Interval (RH step increments)	10%
Number of Scans	4 (double cycle)
Flow rate for dry and wet N ₂	200 ml/min
Temperature	25°C
Temperature Stability	0.2°C/min
Time out	6hrs

Data analysis was undertaken in Microsoft Excel using DVS Analysis Suite v6.0. The sample was recovered after completion of the isotherm experiment for solid state characterization.

Spectroscopy Measurement

Raman spectra were acquired on a Fourier transform Raman 960 spectrometer (Thermo Nicolet) equipped with a germanium (Ge) detector. Wavelength verification was performed using sulfur and cyclohexane. Each sample was packed into a pellet and placed into a pellet holder accessory for analysis. Approximately 0.505 W of Nd:YVO₄ laser power (1064 nm excitation wavelength) was used to irradiate each sample. Peak lists were generated using OMNIC software v7.2a.

(Comparative) Example 1: Solid form disclosed in 7,129,232

A solution of 7 β -[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(1-carboxy-1-methylethoxyimino)acetamido]-3-[3-amino-4-[3-(2-aminoethyl)ureido]-2-methyl-1-pyrazolio]methyl-3-cephem-4-carboxylate (36 g) in water was purified by preparative HPLC utilizing ODS column. The eluate containing a desired product was concentrated to about 1.5 L in vacuo. The concentrate was adjusted to about pH 1 with concentrated hydrochloric acid and chromatographed on Diaion® HP-20 (6 L) eluting with 20% aqueous 2-propanol. The

eluate was concentrated to about 800 ml in vacuo, and 2M sulfuric acid (17 ml) was added. The resulting solution was lyophilized to give a sulfuric acid salt as an amorphous powder (23.6 g).

The powder was dissolved in water (71 ml) and ethanol (57 ml). After addition of seed crystals (310 mg), which resulted in the precipitation of white solid, the mixture was stirred for 1 hour. A mixture of ethanol (47 ml) and water (37 ml) was added over 30 minutes, and ethanol (33 ml) was added over 20 minutes. Then the slurry was stirred for an additional 1.5 hour. The precipitate was collected by filtration, washed with ethanol/water (60 ml/20 ml) and ethanol (60 ml) and dried to give 7β-[(Z)-2-(5-amino-1,2,4-thiadiazol-3-yl)-2-(1-carboxy-1-methylethoxyimino)acetamido]-3-{3-amino-4-[3-(2-aminoethyl)ureido]-2-methyl-1-pyrazolo}methyl-3-cephem-4-carboxylic acid hydrogen sulfate as crystals (17.3 g).

IR(KBr) 3353, 3183, 1778, 1652, 1558, 1403, 1321, 1143, 1118, 997, 619 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O})$ δ 1.61 (6H, s), 3.10–3.55 (6H, m), 3.71 (3H, s), 5.02 and 5.23 (2H, ABq, $J=16.7$ Hz), 5.25 (1H, d, $J=4.9$ Hz), 5.87 (1H, d, $J=4.9$ Hz), 7.91 (1H, s)

ESI-MS: $m/z=667(\text{M}+\text{H}^+)$

Table 3. X-ray powder diffraction analysis (by Rigaku X-ray Diffraction system MultiFlex)

2 θ	intensity
8.0	1286
12.7	586
13.8	423
16.1	618
18.9	520
20.4	748
21.5	667
22.4	1058
23.3	944
24.0	618
25.5	813
26.7	472
27.9	537
28.5	455
31.3	390
X-ray: Cu/40 kV/30 mA	

Example 2a: Novel solid form of ceftolozane sulfate

To obtain ceftolozane sulfate in Form 1: ceftolozane (1 molar equivalent) was dissolved in water to afford a solution at a concentration of 80 g/L. An aqueous solution of sulfuric acid (20-98%, 2.5 molar equivalents) was added at 0-20 °C. The resulting solution was seeded with ceftolozane sulfate (0.01 to 0.05% by weight relative to active ceftolozane) and allowed to stir for 1-3 hours at 0-20 °C. A precipitation was observed. Isopropanol (20-40 volumes relative to active ceftolozane) was added to result in a slurry at 0-20 °C. After filtration, crystalline ceftolozane sulfate was obtained. The X-ray powder diffraction pattern of the crystalline ceftolozane sulfate Form 1 is depicted in Figure 1 (upper diffraction pattern), and the corresponding data is summarized in Table 4. The Raman spectrum of the crystalline ceftolozane sulfate Form 1 is depicted in Figure 2 (upper spectrum), and the corresponding data is summarized in Table 5.

Table 4: X-ray Powder Diffraction Patterns for Ceftolozane Sulfate Form 1 (Example 2a)

Ceftolozane Sulfate Form 1	
Angle [°2 θ]	Intensity [cts]
4.061	629
8.126	3275
9.748	511
10.865	521
12.435	399
12.954	1225
14.016	867
14.284	613
16.177	937
16.413	1048
18.796	847
19.094	1024
20.200	484
20.596	1393
21.732	1260
22.278	1098
22.603	1816
23.490	1554
23.777	720
24.268	913
25.059	590
25.678	1261
25.929	1107

Ceftolozane Sulfate Form 1	
Angle [$^{\circ}2\theta$]	Intensity [cts]
26.746	701
27.102	619
28.017	854
28.668	792
29.265	390
29.972	428
31.513	612
32.917	423
33.526	512
34.773	431
35.191	408
36.111	361
37.504	366
37.723	373
38.778	312
40.860	299
41.631	350
44.084	281
45.997	235

Table 5. Raman peak list for ceftolozane sulfate Form 1 (Example 2a)

Ceftolozane Sulfate Form 1	
Position (cm^{-1})	Intensity (Counts)
170.5	5.402
276.5	3.852
336.1	2.78
381.2	3.172
424	3.787
530.9	2.974
596.7	2.607
680.9	3.385
716.2	3.408
742.8	2.64
798.8	4.282
818.7	12.666
951.9	3.307
980.9	5.46
1055.3	1.794

Ceftolozane Sulfate Form 1	
Position (cm ⁻¹)	Intensity (Counts)
1135.1	3.121
1242	2.471
1285	2.835
1328.5	3.402
1418.7	7.494
1464.1	15.996
1607.7	10.642
1642.3	8.252
1786	3.322
2893.8	5.886
2940.8	7.789
2976.1	8.658
3265.8	1.5

Example 2b: Novel solid form of ceftolozane sulfate

To obtain ceftolozane sulfate in Form 2: The ceftolozane sulfate obtained as Form 1 in Example 2a was dried under vacuum and nitrogen bleed at 20-25 °C for 24-48 hours to afford crystalline ceftolozane sulfate (vacuum-dried). The X-ray powder diffraction pattern of the crystalline ceftolozane sulfate Form 2 is depicted in Figure 1 (lower diffraction pattern), and the corresponding data is summarized in the Table 6.

Table 6: X-Ray Powder Diffraction Pattern of Ceftolozane Sulfate Form 2 (Example 2b)

Ceftolozane Sulfate Form 2	
Angle [°2θ]	Intensity [cts]
4.400	348
7.900	950
8.827	700
9.381	466
11.000	536
12.861	981
13.980	534
14.913	479
15.753	610
17.673	711
18.749	923

Ceftolozane Sulfate Form 2	
Angle [°2θ]	Intensity [cts]
20.488	858
21.692	924
22.178	1020
24.235	1000
25.678	842
27.180	708
28.593	587
31.482	546
33.277	508
34.397	438
35.789	428
37.767	403

The Raman spectrum of the crystalline ceftolozane sulfate Form 2 is depicted in Figure 2 (lower spectrum), and the corresponding data is summarized in Table 7. Table 7 lists the Raman shift peaks for ceftolozane sulfate in solid Form 2.

Table 7. Raman peak list for ceftolozane sulfate form 2 (Example 2b)

Ceftolozane Sulfate Form 2	
Position (cm⁻¹)	Intensity (Counts)
151	11.618
282	6.341
418.1	6.139
530.2	4.005
596.8	5.656
683.7	7.226
716.2	6.968
802.3	7.45
976.9	7.505
1174.2	3.974
1237	4.582
1282.1	6.944
1328.1	6.577
1414.3	12.424
1458.5	25.508
1602.2	20.204
1637.5	15.561
1782	5.388

Ceftolozane Sulfate Form 2	
Position (cm⁻¹)	Intensity (Counts)
2952.8	7.588

The moisture sorption/desorption property of crystalline ceftolozane sulfate Form 2 is depicted in Figure 5. A reversible hysteresis associated with around 23% w/w water between 0% and 90% relative humidity (RH) was observed. The DVS isotherm in Figure 5 is consistent with the presence of two crystalline forms that can be interconverted as function of relative humidity. The presence of ceftolozane sulfate solid Form 1 and ceftolozane sulfate solid Form 2 in the sample tested to obtain the DVS isotherm in Figure 5 was confirmed by a variable humidity XRPD (VH-XRPD) measurement, based on the XRPD diffraction angles disclosed for Form 1 and Form 2 of ceftolozane sulfate (as disclosed herein). Referring to the DVS isotherm plot in Figure 5, the lower curve corresponds to ceftolozane sulfate in solid Form 2, and the upper curve corresponds to ceftolozane sulfate in solid Form 1. The Y-axis of the DVS plot is change in mass. The X-axis of DVS plot refers to the percent relative humidity (RH) of the sample. Reference point 10 in Figure 5 is the starting point of Form 2 in DVS experiment. The lower portion of the curve in Figure 5 was obtained by measuring the change in mass of a ceftolozane sulfate sample in solid Form 2 while increasing relative humidity (RH) in the sample, starting at reference point 10 of the lower curve from reference point 10 (Form 2) and moving toward reference point 20 (Form 1). Based on the data collected, the ceftolozane sulfate in the sample converted from Form 2 to Form 1 when the sample was exposed to conditions between 50% RH (reference point 12) and 70% RH (reference point 15). Referring again to the lower curve in Figure 5, ceftolozane sulfate in Form 1 is present in the sample from 70% RH to reference point 20, where the sample is ceftolozane sulfate is in crystalline Form 1. Referring to the upper curve in Figure 5, from reference point 20 to reference point 30, the ceftolozane sulfate in the sample material remains as solid Form 1. From reference point 30 to around 20% RH (reference point 35 on the upper curve), the crystalline form of ceftolozane sulfate in the material transforms from Form 1 to Form 2. As the relative humidity of the sample was dropped below about 20% on the upper curve between reference point 30 and reference point 40 (0% RH), the ceftolozane sulfate became more amorphous, with some residual Form 2 remaining at reference point 40. In summary, the ceftolozane sulfate in the sample was present as Form 2 at reference point 10 (40% RH), converted from Form 2 to Form 1 between reference point 12 and reference point 15 on the lower curve, remained as solid Form 1 between reference point 20 and reference

point 30 on the upper curve, converted from Form 1 to Form 2 between reference point 30 and reference point 35 on the upper curve, and remained as solid Form 2 from reference point 35 to reference point 40 (with formation of amorphous solid form in the sample). From reference point 40 to reference point 10 (lower curve), increasing the relative humidity of the partially crystalline Form 2 material resulted in material retaining some ceftolozane sulfate in Form 2 (partially crystalline).

Example 2d: Representative example of process to manufacture novel solid forms of ceftolozane sulfate

Using the process of steps 1-9 (below), active ceftolozane sulfate Form 2 was obtained as a white solid, with a weight assay of 76.2% (determined using HPLC method described with respect to parameters in Table 9 herein) and purity of 98.7% AUC using HPLC (determined using HPLC method discussed with respect to Table 10 herein). The ceftolozane sulfate solid Form 1 was produced by steps 1-8 in the procedure below, and further dried (step 9) to obtain ceftolozane sulfate Form 2. The materials used in the process below are summarized in Table 8a.

Table 8a

Step	Material	MW (g/mol)	Active (kg)	Amount (L)	Volume (L/kg)	Molar equiv.
1	Ceftolozane solution	666.7	55	650	N/A	1
2	50% (w/w) sulfuric acid	98.1	41	29	N/A	2.5
3	Ceftolozane sulfate seed	666.7	0.20	N/A	N/A	N/A
5	Isopropyl alcohol (IPA)	60.1	N/A	1653	30	N/A
8	IPA/Water (4:1)	N/A	N/A	221	4	N/A

1. Polish filter (1 micrometer) the ceftolozane solution (85 g/L, 650 L) into a glass lined reactor and adjust the temperature to 8-12 degrees C, with a target temperature of about 10 degrees C. This temperature is maintained through step 6.
2. Charge 50% (w/w) sulfuric acid (41 kg, 29 L, 2.5 equiv) to the solution in the reactor of step 1 over 10-30 minutes.

3. (optional, but preferred step) Charge ceftolozane sulfate seed (200 g, 0.3% by weight) to the reactor and stir the solution. (Note: nucleation was observed upon seeding)
4. Age the batch in the reactor for 3 hours.
5. Charge isopropanol (IPA) (1650 L, 30 volumes) to the reactor at a uniform rate of 4-5 vol/hr. (6-7 hours addition time, target of 6.5 hours) (Note: if the rate of IPA addition is not uniform, the purity levels of the product may be adversely affected)
6. Stir the batch in the reactor for 1-6 hours, target of 2 hours.
7. Filter the resulting ceftolozane sulfate slurry from the reactor.
8. Wash the ceftolozane slurry cake from step 7 with a solution of 4:1 IPA/water. (221 L, 4 volumes)
9. Dry the solid from step 8 under vacuum using a dry nitrogen purge, with a nitrogen temperature of 15-35 degrees C, target temperature of about 25 degrees C. The drying process should be monitored by measuring for residual water and IPA levels in the cake. The drying process can be completed when the residual water content is less than about 8.5% and IPA levels are less than about 5000 ppm. Typically, drying is complete within 48 hours.

Example 3: Comparative Ceftolozane Solvent Stability Test

This stability study was to evaluate stability and purity of ceftolozane sulfate in different solvent systems.

Sample 1 was a solvent system used to prepare crystalline ceftolozane sulfate from a mixture of isopropanol and water, as described in Example 2b (in the absence of ethanol). Sample 2 was solvent system used to obtain crystalline ceftolozane sulfate prepared according to the procedure of U.S. Patent No. 7,129,232, wherein the crystals were precipitated from a mixture of ethanol and water.

Sample 1 and sample 2 were maintained for 6 days (as described in Example 2a, with continuous stirring). The purity of ceftolozane in the samples in each solvent system was measured by HPLC at day 0, day 3, and day 6.

Surprisingly, the purity of ceftolozane sulfate in sample 1 was significantly higher than the purity of ceftolozane sulfate in sample 2 (see Table 8b).

Table 8b. *The purity of ceftolozane in ceftolozane sulfate in different solvent systems used to obtain different solid forms*

Sample	0	3 days	6 days
1	96.74 %	87.39 %	81.94 %
2	96.84 %	87.97 %	67.74 %

Example 4: Determination of Water Content for Crystalline Cefprozil

Water content of crystalline cefprozil sulfate (prepared according to Example 2a as Form 1) was determined using a Mettler Toledo Karl Fischer volumetric titrator V30 that was connected to a Mettler Toledo Stromboli oven sample changer. AquaStar CombiTitrant 5 (EMD; Cat. No. 1.88005.1045; Lot No. 51096) was used as the titrant and the AquaStar Combi-Methanol (EMD; Cat. No. 1.88009.1045; Lot No. 53046) was used as the solvent. For data processing, the LabX software version 3.1.1.0 was employed.

The Hydranal Water Standard for KF-Oven (Fluka; Cat. No. 34693; Lot No. SZBB010AV) that is expected to contain 5% water was weighed accurately in duplicate at or very close to 200 mg. The crystalline cefprozil sulfate (15-18 mg) was weighed accurately in triplicate in separate 20 mL Stromboli sample vials. The vials were sealed with aluminum seals and rubber caps. A blank vial was prepared by sealing an empty 20-mL Stromboli vial with the aluminum seal and the rubber cap. The blank vial was used to determine the background moisture in air inside the vial. All the vials were loaded onto the Stromboli oven sample changer. Weights of the water standard and the cefprozil sulfate wet cake samples were entered in grams into the titrator program sequence. The water standard and the blank vial were equilibrated at 150 °C. The crystalline cefprozil sulfate samples were equilibrated at 130 °C. Nitrogen flow at 40-50 mL/min was used to transport the moisture through the transfer tube into the titator vessel. Mixing time of 180 s was used and the data acquisition was programmed with a maximum start drift of 15 µg/min. At the end of the runs, the titrator software provided the water content in percent by weight. The KF titrator passed the accuracy test as the mean of the duplicate readings for the water standard was between the acceptance range of 4.80 – 5.20%. Water content results for crystalline cefprozil sulfate derived from the triplicate weighings were recorded and the mean was reported. The water content determination follows the equation as described below. The software described above provided the result directly after factoring in the background moisture content without any need for manual computation.

A sample of crystalline cefprozil sulfate prepared according to Example 1 was found to contain about 26.3 % by weight of water.

Example 5: Determining Concentration of Ceftolozane

Standards and samples are prepared in 50 mM sodium perchlorate monohydrate, pH 4.00. A quantitation standard (Standard Solution 1) and check standard (Standard Solution 2) are both prepared at the target working concentration of 0.3 mg/mL taking into consideration the potency, as-is of the standard. The samples are prepared at the target active concentration of 0.3 mg/mL by preparing a sample at 0.04% (w/v).

Table 9. HPLC Conditions for Concentration Determination

Column	Develosil ODS-UG-5, 5 μ m, 250 mm x 4.6 mm, or		
Guard columns	Develosil ODS-UG-5, 5 μ m, 10 mm x 4.0 mm, or		
Column temperature	40°C $\pm$ 2°C		
Mode	Gradient		
Mobile phase A	50mM Sodium perchlorate monohydrate, pH 2.50		
Mobile phase B	90% Acetonitrile in water		
Pump conditions	Time (min)	% A	% B
	0.0	89.5 ^a	10.5 ^a
	10.0	89.5 ^a	10.5 ^a
	15.0	20	80
	20.0	20	80
	20.1	89.5 ^a	10.5 ^a
	25.0	89.5 ^a	10.5 ^a
Flow rate	1.0 mL/minute		
Detection	UV at 254 nm		
Auto-sampler temperature	4°C $\pm$ 2°C		
Injection volume	10 μ L		
Run time	25 minutes		

^a The ratio of Mobile phase A to Mobile phase B may be adjusted to achieve the desired retention time, however the isocratic ratio of %A to %B must be identical for both isocratic intervals.

Standard Solution 1 is injected 6 times at the beginning of the analysis to establish system suitability and precision.

System suitability is determined using the first injection of Standard Solution 1. The tailing factor for the ceftolozane peak be 0.8 to 1.5 and the retention time for the ceftolozane peak should be 10.0 minutes $\pm$ 1.5 minutes. The binary pump setting at

isocratic portions of the run (0.0 to 10.0 minutes and 20.1 to 25.0 minutes) may be adjusted to achieve the ceftolozane peak retention time.

Additional suitability of the run is determined by:

- %RSD of 6 Standard Solution1 injections must be less than 1.0% The Standard Solution 2 recovery must be $100.0 \pm 1.0\%$.
- The retention time of Standard Solution 2 must be $\pm 5\%$ of the RT of the first injection of Standard solution 1.
- The tailing factor of ceftolozane in Standard Solution 2 must be 0.8 to 1.5.

Each sample is prepared in duplicate and injected in singlet. The ratio of the response factor for the two preparations must be within $100.0 \pm 1.0\%$.

The mean ceftolozane potency, as is, is reported in $\mu\text{g}/\text{mg}$ and calculated using the following equations:

$$\text{Potency, as - is } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{Ac \times Cstd \times 1000 \times Vc}{Astd \times Wc} ;$$

where:

Ac = Ceftolozane peak area in sample chromatogram;

Cstd = Ceftolozane Standard 1 concentration, mg/mL ;

Astd = Average peak area in 6 injection of standard 1 ;

Wc = Sample weight, mg ;

Vc = Sample volume, mL ;

1000 = Conversion from mg to μg ; and

$$\text{Mean Potency, as - is } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{(\text{Preparation 1} + \text{Preparation 2})}{2} .$$

The mean ceftolozane assay, anhydrous and sulfuric acid free, is reported in % and calculated using the following equation:

$$\text{Mean Assay } (\%) = \text{Potency} \times 10 / (100 - \text{Water Content} - \text{Sulfuric Acid}) ;$$

where:

Potency = Mean Potency, as- is, $\mu\text{g}/\text{mg}$;

Water Content = Mean water content, %; and

Sulfuric Acid = Mean sulfuric acid content, %.

Example 6: Determining water content of ceftolozane

Testing for water content is performed using a Stromboli oven and volumetric titrator in triplicate using separate weighing of 180 mg of ceftolozane sulfate. The test sample is extracted at 130°C, moisture is transferred to the titration vessel and titrated to the potentiometric end point. The percent moisture is calculated based on the weight of the sample, and the average of the three values is reported.

Example 7: Determination of the Purity of Ceftolozane Sulfate.

Ceftolozane sulfate samples are prepared at a concentration of 1 mg/mL in diluent (50 mM sodium perchlorate monohydrate, pH 4.00). The system suitability standard (SST) is prepared at a concentration of 1 mg/mL of ceftolozane sulfate containing specified impurities in diluent (50 mM sodium perchlorate monohydrate, pH 4.00). Ceftolozane samples and SST are stored in a refrigerated autosampler tray at 4 ± 2 °C and the samples are only stable for 5 hours at this condition. The HPLC conditions are listed in Table 10.

Table 10. HPLC Conditions for HPLC-RT, Related Substances, and Purity Method

Column	Develosil ODS-UG-5, 5 μ m, 250 mm x 4.6 mm, or equivalent		
Guard column	Develosil ODS-UG-5, 5 μ m, 10 mm x 4.0 mm, or equivalent		
Column temperature	45°C $\pm$ 2°C		
Mode	Gradient		
Mobile phase A	50 mM Sodium perchlorate monohydrate, pH 2.50		
Mobile phase B	63 mM Sodium perchlorate monohydrate, pH 2.50:ACN 80:20		
Pump conditions	Time (min)	% A	% B
	0.0	97.5	2.5
	3.0	73.0 ^a	27.0 ^a
	33.0	68.0 ^a	32.0 ^a
	63.0	0.0	100
	88.0	0.0	100
	88.1	97.5	2.5
	105.0	97.5	2.5
Flow rate	1.0 mL/minute		
Detection	UV at 254 nm		
Auto-sampler temperature	4°C $\pm$ 2°C		
Injection volume	10 μ L		

Run time	105 minutes
----------	-------------

^a The ratio of mobile phase A to mobile phase B from 3 to 33 minutes may be adjusted to achieve the desired retention times.

At the beginning of each run, the diluent blank and SST are each injected in singlet. The system suitability is determined using the SST. The tailing factor for the ceftolozane peak should be between 0.8 and 1.5, and the retention time for the ceftolozane peak should be 24.0 minutes $\pm$ 1.0 minutes. The binary pump setting between 3.0 and 33.0 minutes may be adjusted to achieve the ceftolozane peak retention time.

Each sample is prepared in singlet and injected twice. Only impurities >LOD (0.008% Area) are integrated. The peak area percentage for each impurity >LOD is taken directly from the chromatogram. The mean % area of each peak is calculated and the absolute difference of any peak in the two replicates cannot be >0.030%. The purity and related substances are determined based on relative area % of each peak with respect to the total peak area of the sample. The total impurities are the sum of the individual impurities >LOD. The calculations are as follows:

$$\% \text{ Impurity (\% Area)} = \frac{\text{Area}_{\text{Impurity}}}{\text{Area}_{\text{Total}}} \times 100\% ;$$

where:

Area_{Impurity} = Area of the Individual Impurity Peak; and

Area_{Total} = Total Area of all peaks >LOD including Ceftolozane.

$$\text{Purity (\% Area)} = \frac{\text{Area}_{\text{Ceftolozane}}}{\text{Area}_{\text{Total}}} \times 100\% ;$$

where:

Area_{Ceftolozane} = Area of the Ceftolozane Peak; and

Area_{Total} = Total Area of all peaks $\geq$ LOD including Ceftolozane.

$$\text{Total Impurities (\% Area)} = 100 - \text{Purity (\% Area)} .$$

Individual specified impurities equal to or above the limit of quantitation (LOQ) (0.027% Area) are reported. Individual unspecified impurities equal to or above 0.03% are also reported.

Example 8: Lyophilization of ceftolozane solid forms

Sterile ceftolozane compositions suitable for combination with tazobactam to form a pharmaceutical composition are prepared as a lyophilized powder from the ceftolozane sulfate comprising solid Form 2 by compounding the drug substance with excipients into an aqueous solution, aseptically filtering the solution, lyophilizing the solution, then grinding, sieving and packaging the sterile lyophilized powder. The physical stability of the bulk solution at varying concentrations was examined and concentrations up to 150 mg ceftolozane free base/g solution were found suitable. All the registration batches were prepared using 150 mg/g ceftolozane concentration in the compounding solution and this concentration is proposed for commercial manufacturing. The resulting ceftolozane composition solubility was assessed in a concentration range proposed for manufacturing, in the presence of excipients intended for use in the ceftolozane formulation for use in the pharmaceutical composition. For each sample, the ratio of active to inactive ingredients was conserved. Samples were adjusted to pH 6.9, held at 2 to 8 °C, and visually assessed for any precipitation. The results are reported in Table 11.

Table 11: Ceftolozane Precipitation Time as Function of Solution Concentration, 2 to 8 °C

Ceftolozane Sulfate Concentration, mg/g	Ceftolozane Free Base Concentration, mg/g	Time to Precipitate
200	174	2 hours
189	165	<18 hours
178	156	>24 hours ⁱ⁾
172	150	>48 hours
149	130	>24 hours ^a

ⁱ⁾ Last observation was made at 24 hour; no sign of precipitation was noticed

Based on these observations, ceftolozane bulk solution with up to 150 mg ceftolozane free base/g solution can be held at 2 to 8 °C for up to 48 hours without affecting its solubility. The suitability of compounding to 150 mg ceftolozane free base/g solution at 10 ±2.5 °C was confirmed during the manufacturing of batches on the laboratory, pilot and engineering scale.

Refer to Table 12 for solution stability data. The purity data in Table 12 was generated using a modified version of the HPLC method that is described in Table 10. As part of the modification, the initial mobile phase composition comprised 75% mobile phase A and 25% mobile phase B. This composition was ramped to 70% mobile phase A and 30% mobile phase B in 30 minutes followed by a ramp to 100% mobile phase B over another 30 minutes. The 100% mobile phase B was then held constant for 25 minutes, after which the mobile phase composition was reverted back in 0.1 minutes to initial conditions of 75% mobile phase A and 25% mobile phase B. Column equilibration was performed at the initial mobile phase composition for up to 110 minutes, thereby giving a total HPLC run time of 110 minutes. The limit of quantification determined for the method with the conditions described above was 0.015% and therefore all individual specified impurities equal to or above 0.015% were reported.

A compounding temperature of 10 ± 2.5 °C was targeted to maintain ceftolozane purity. To confirm the compounding solution stability, a study was conducted in which ceftolozane was prepared according to the proposed commercial process and held at 10 ± 2.5 °C for up to 2 days. The solution was sampled and tested for ceftolozane potency and purity/impurities. The results are provided in Table 12. The data indicated ceftolozane impurity profile was essentially unchanged from initial and none of the individual related substances increases more than 0.10%. Therefore, a 24 hour maximum hold time is proposed for the commercial process.

Table 12: Effect of Hold Time on Purity/Impurity Profile of Ceftolozane Bulk Solution

Time from Compounding	t ₀	4h	18h	24h	Day 2
Total Purity, %	98.7	98.8	98.6	98.6	98.7
Total Impurities, %	1.3	1.2	1.4	1.4	1.3

The ceftolozane bulk solution is rendered aseptic via sterilizing filtration. For routine commercial manufacturing, the compounded solution will be first filtered through a bioburden reduction filter, 0.45 µm, then sterile filtered through two 0.22 µm filters in sequence and the filter integrity of the 0.22 µm filters will be assessed during manufacturing.

Through a series of studies on both the pilot and commercial scale lyophilization equipment, the lyophilization process was developed and shown to be suitable: across a range

of solution concentrations, at a variety of lyophilizer tray fill depths, following an array of lyophilization cycle parameters, in a number of lyophilizers, of both laboratory and commercial scale, and in two different commercial lyophilization suites.

In particular, six different lyophilizers (one pilot lyophilizer and five commercial lyophilizers from two separate commercial suites) have been used to make acceptable ceftolozane material using concentrations as high as 150 mg ceftolozane free base/g solution, fill depths from 1 to 3 cm, and different cycle parameters, including primary and/or secondary drying temperatures as high as 40 °C. Based on these studies, freezing the product to at least -40 to -45 °C was considered an appropriate target. Primary drying temperatures are also typically set based on the glass transition temperature of the frozen bulk solution to minimize collapse. However, on occasion, the collapse may be prevented by using primary drying temperatures that are dictated by the full melt temperature, vs. the glass transition temperature. Therefore, studies were performed to examine these two temperatures more closely, to determine which would be controlling to prevent collapse. A variety of lyophilization conditions and instrumentation have been shown to be robust across a range of lyophilization conditions. Therefore, the preferred lyophilization cycles for producing lyophilized ceftolozane compositions from a solution comprising ceftolozane sulfate solid Form 2 have one or more of the following characteristics: (1) not more than 150 mg ceftolozane free base/g bulk solution concentration, (2) no more than 3 cm fill depth, (3) cycle parameters including: freezing to at least -40 to -45 °C, (4) drying at no more than 40 °C, (4) single- or multi-step drying and setting chamber pressure during the start of primary drying at not more than 400 µbar.

Example 9: Preferred Pharmaceutical Composition Comprising Ceftolozane and Tazobactam (“Representative Ceftolozane/Tazobactam Product”)

Pharmaceutical compositions comprising ceftolozane and tazobactam can be obtained as described herein. A Representative Ceftolozane/Tazobactam Product is described in Table 14 below (ceftolozane and tazobactam for injection) as an injectable antibacterial combination product consisting of the cephalosporin antibacterial ceftolozane sulfate and the beta-lactamase inhibitor tazobactam sodium for intravenous administration.

Table 13: Excipients Used in Cefotolozane composition

Component	Function	Amount, mg/Vial	Concentration in Infusion Solution, %	Rationale for Inclusion	Inactive Ingredients Database (IID) Range
Citric acid	Chelating agent	21	0.02	Used to prevent discoloration and degradation	0.0025 to 50%
Sodium Chloride	Stabilizing agent	487	0.49	Used as a stabilizing agent for cefotolozane sulfate	0.187 to 45%
L-arginine	Alkalizing agent	600 ⁱ⁾ Q.S. for pH adjustment	0.60	Used to adjust cefotolozane solution pH	0.29 to 88%

ⁱ⁾ L-arginine is added as needed to achieve pH 6.5 ± 0.5 ; 600 mg per vial is considered a representative total amount.

Table 14: Unit Compositions of Cefotolozane/Tazobactam for Injection, 1000 mg/ 500 mg

Component		Function	Nominal Composition mg per Vial
Cefotolozane composition ¹⁾	Cefotolozane Sulfate (Solid Form 2)	Active	1147
	Citric Acid, Anhydrous	Chelating Agent	21
	Sodium Chloride	Stabilizing Agent	487
	L-Arginine	Alkalizing Agent	600 ²⁾ Q.S. for pH adjustment
Tazobactam Sodium ³⁾		Active	537
Nitrogen		Processing Aid ⁱⁱ⁾	Q.S.
Total Weight			2792

Component	Function	Nominal Composition mg per Vial
1) Actual amount of ceftolozane composition will vary based on the measured potency. Ceftolozane sulfate, 1147 mg, corresponds to 1000 mg ceftolozane free base. 2) L-arginine is added as needed to achieve pH 6.5 ± 0.5; 600 mg per vial is considered a representative total amount. 3) Actual weight of tazobactam sodium will vary based on the measured potency. Tazobactam sodium 537 mg, corresponds to 500 mg tazobactam free acid 4) Nitrogen blanket is applied after powders are dispensed to the vial and prior to insertion of stopper.		

A first aqueous solution comprising ceftolozane sulfate Form 2 and the ingredients in the ceftolozane composition in Table 13 is lyophilized in the absence of tazobactam to provide the lyophilized ceftolozane composition. The first aqueous solution comprises ceftolozane sulfate and the specific excipients in the preferred compositions, in an amount per unit dosage form provided by the quantities and functions as provided in Table 14. All excipients are compendial and typical for sterile pharmaceutical dosage forms, requiring no additional treatment prior to use in the formulation. The excipients are used in levels within the range established in other FDA approved products as described in the Inactive Ingredients Database (IID). A second solution comprising tazobactam acid and sodium bicarbonate is lyophilized in the absence of ceftolozane to obtain the Tazobactam Sodium Composition in Table 14. Subsequently, the lyophilized Tazobactam Sodium Composition is dry blended with the lyophilized Ceftolozane composition comprising tazobactam sodium and ceftolozane sulfate in a weight ratio providing 500 mg of tazobactam acid equivalent per 1,000 mg of ceftolozane active equivalent.

Example 10: Reconstitution of Ceftolozane/Tazobactam Preparation Prior To Administration to a Subject

The ceftolozane/tazobactam composition of Example 9 was reconstituted prior to intravenous (IV) administration. In accordance with one embodiment of the method of treatment, immediately prior to injection into a patient, a single vial, containing 1500 mg

ceftolozane and tazobactam, was reconstituted with 20mL 0.9% NaCl (normal saline) and diluted into a 80mL bag of sterile water for injection for a total volume of 100mL.

The ceftolozane and tazobactam composition was reconstituted in accordance with the procedure as follows:

Obtain 1 vial of ceftolozane/tazobactam unit dosage form, 1500 mg/vial. Record the site and subject number and time and date of preparation in the spaces provided on the vial label. Ceftolozane/tazobactam of Example 9 does not contain a bacteriostatic preservative. Aseptic technique must be followed in preparing the infusion solution.

Aseptically reconstitute a lyophilized vial of ceftolozane/tazobactam unit dosage form, 1500 mg with 10 ml water for injection or 0.9% Sodium Chloride for injection, USP (normal saline) and gently shake to dissolve. The final volume is approximately 11.4 mL. The resultant concentration is approximately 132 mg/mL.

Using aseptic technique, withdraw the entire contents (approximately 11.4 mL) of the reconstituted vial using a syringe and add it to an infusion bag containing 100 mL of 0.9% Sodium Chloride for Injection, USP (normal saline) or 5% Dextrose Injection, USP. Ensure the entire volume of the reconstituted vial is added to the infusion bag.

Gently swirl the contents of the IV bag to ensure complete mixing and dissolution of the drug. The final volume of diluted ceftolozane/tazobactam unit dosage form of Example 9 for infusion will be ~111 ml. The entire contents of the infusion bag of ceftolozane/tazobactam is administered to each subject. This means that the infusion line is flushed with sterile saline to completely administer the proper dose).

Inspect the infusion bag for excess air, visible contamination and leaks. The diluted solution should be clear.

Upon constitution with sterile water for injection or 0.9% sodium chloride (normal saline) injection, the ceftolozane/tazobactam solution in the vial may be held for 1-hour prior to transfer and dilution in the infusion bag.

Following dilution of the solution with normal saline or 5% dextrose, the ceftolozane/tazobactam solution obtained from the ceftolozane/tazobactam composition of Example 9 is stable for 24 hours when stored at room temperature or 10 days when stored under refrigeration at 2 to 8° C (36 to 46° F).

Example 11: Melting Point of ceftolozane sulfate Form 2

Melting point experiment was performed for ceftolozane sulfate form 2 using the SRS Optimelt melting point apparatus. SRS-certified vanillin and phenacetin were used to verify the system performance. The temperature scan from 100 °C to 400 °C was performed for ceftolozane sulfate. The material decomposed prior to melting. The decomposition, as indicated by the distinct change in color, appeared to commence at about 170 °C.

Example 12: TGA and DSC of ceftolozane sulfate Form 2

Thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC) thermograms are shown in Figure 3 and Figure 4, respectively. An initial weight loss of 6.8% observed in the TGA thermogram from initial temperature to 181 °C is consistent with the content of water and residual isopropanol present in ceftolozane sulfate, lot 440637 0004 2. Analysis of the thermogram beyond 181 °C indicated that ceftolozane sulfate likely undergoes degradation beyond this temperature. The DSC thermogram exhibited a broad endotherm with the minima at about 105.49 °C. The subsequent exotherm in the thermogram is indicative of decomposition that is consistent with the observation in the melting point experiment.

Example 13: Hygroscopicity of ceftolozane sulfate Form 2

Hygroscopicity of ceftolozane sulfate, Form 2 was assessed using the SMS DVS Intrinsic moisture sorption analyzer equipped with a calibrated Rotronic probe. The temperature was maintained at 25 °C and the material was exposed to relative humidity from 0 to 90%. Ceftolozane sulfate showed continuous adsorption of water through the cycle with total uptake of 23% at 90% relative humidity indicating that ceftolozane sulfate is hygroscopic.

CLAIMS

What is claimed:

1. A solid form of ceftolozane sulfate that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, and 28.0.
2. A solid form of ceftolozane sulfate that produces Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} and 2976 cm^{-1} .
3. A solid form of ceftolozane sulfate that produces:
 - a. an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8 and
 - b. Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} and 1329 cm^{-1} .
4. The solid form of ceftolozane sulfate of claim 3 that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having additional diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 12.4, 16.4, 22.6, 25.1, and 28.0.
5. The solid form of ceftolozane sulfate of claim 4 that produces additional Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} and 2976 cm^{-1} .
6. The solid form of ceftolozane sulfate of claim 3 that produces additional Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 171 cm^{-1} , 743 cm^{-1} , 819 cm^{-1} , 1055 cm^{-1} , 2894 cm^{-1} and 2976 cm^{-1} .
7. A pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:
 - a. combining the ceftolozane sulfate in a solid form designated herein as ceftolozane sulfate Form 1 with water to form an aqueous solution; and
 - b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.

8. The pharmaceutical composition of claim 7, wherein the lyophilization cycle is characterized by one or more of the following characteristics:
 - a. not more than 150 mg ceftolozane free base/g bulk solution concentration,
 - b. no more than 3 cm fill depth,
 - c. freezing to at least -40 °C during the lyophilization cycle,
 - d. drying at no more than 40 °C, and
 - e. single- or multi-step drying and setting chamber pressure during the start of primary drying at not more than 400 μ bar.
9. The pharmaceutical composition of claim 8, further comprising tazobactam.
10. The pharmaceutical composition of claim 9, obtained by a process further comprising combining the lyophilized ceftolozane composition with tazobactam in a fixed dose combination providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000 mg of ceftolozane active in the pharmaceutical composition.
11. A pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:
 - a. combining ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 24.2 and 37.8 and Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 597 cm^{-1} , 716 cm^{-1} and 1329 cm^{-1} , with water to form an aqueous solution; and
 - b. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.
12. A ceftolozane sulfate composition obtained by a process comprising the steps of:
 - a. forming a solution comprising water, 72-100 g/L ceftolozane active and 1.5 – 2.95 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane;
 - b. combining the solution from step (a) with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added to the solution over 0.5 – 8 hours to obtain solid ceftolozane sulfate; and
 - c. isolating the solid ceftolozane sulfate composition from the solution.

13. The ceftolozane sulfate composition of claim 12, wherein the solution comprises 75-85 g/L of ceftolozane active as a pharmaceutically acceptable ceftolozane salt.
14. The ceftolozane sulfate composition of claim 12, wherein the solution comprises 2.45 – 2.55 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane active.
15. The ceftolozane sulfate composition of claim 12, wherein the solution from step (a) is combined with 29-31 volumes of isopropyl alcohol.
16. The ceftolozane sulfate composition of claim 12, wherein the solution from step (a) is combined with isopropyl alcohol added to the solution over 6-7 hours to obtain solid ceftolozane sulfate.
17. The ceftolozane sulfate composition of claim 12, obtained by a process wherein:
 - a. the solution comprises water, about 75-85 g/L ceftolozane active and about 2.45-2.55 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane at a temperature of about 5-15 degrees C; and
 - b. the solution from step (a) is combined with about 29-31 volumes of isopropyl alcohol added to the solution over about 6-7 hours to obtain solid ceftolozane sulfate.
18. The ceftolozane sulfate composition of claim 12, obtained by a process further comprising the steps of:
 - a. combining the isolates solid ceftolozane sulfate with water form a second aqueous solution; and
 - b. lyophilizing the second aqueous solution to form a lyophilized ceftolozane pharmaceutical composition comprising ceftolozane sulfate.
19. The ceftolozane sulfate composition of claim 18, obtained by a process wherein the second aqueous solution further comprises sodium chloride and L-arginine.
20. The ceftolozane sulfate composition of claim 18, obtained by a process further comprising the step of combining the lyophilized ceftolozane pharmaceutical composition with tazobactam.

21. Use of a ceftolozane in an injectable preparation for treatment of an infection, the injectable preparation comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:
- combining the ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7 with water to form an aqueous solution; and
 - lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.
22. A method of manufacturing a ceftolozane sulfate composition, the method comprising the steps of:
- forming a solution comprising water, 72-100 g/L ceftolozane active and 1.5 – 2.95 molar equivalents of sulfuric acid to ceftolozane;
 - combining the solution from step (a) with 20-40 volumes of isopropyl alcohol added to the solution over 0.5 – 8 hours to obtain solid ceftolozane sulfate; and
 - isolating a solid ceftolozane sulfate composition from the solution.
23. A solid form of ceftolozane sulfate that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7.
24. The solid form of ceftolozane sulfate of claim 23 that produces Raman shift peaks ($\pm 5\text{ cm}^{-1}$) at about 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , and 802 cm^{-1} .
25. The solid form of ceftolozane sulfate of any one of claims 23-24 characterized by a differential scanning calorimetry (DSC) endotherm having a minima at about 105 degrees C.
26. The solid form of ceftolozane sulfate of any one of claims 23-25, characterized by a thermogravimetric analysis (TGA) with a weight loss of about 6.8% between 25-181 degrees C.
27. The solid form of ceftolozane sulfate of any one of claims 23-26, characterized by

- a. a differential scanning calorimetry (DSC) endotherm having a minima at about 105 degrees C;
 - b. a thermogravimetric analysis (TGA) with a weight loss of about 6.8% between 25-181 degrees C; and
 - c. Raman shift peaks ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) at 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} .
28. A pharmaceutical composition comprising the solid form of ceftolozane sulfate designated as ceftolozane sulfate Form 2 that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2 \theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7.
29. The pharmaceutical composition of claim 28, wherein the ceftolozane sulfate produces Raman shift peaks ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) at about 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} .
30. The pharmaceutical composition of any one of claims 28-29, further comprising ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2 \theta \pm 0.2$) of 12.4, 16.4, 22.6, 25.1 and 28.0.
31. The pharmaceutical composition of any one of claims 23-30, further comprising tazobactam.
32. The pharmaceutical composition of any one of claims 28-31, wherein the ceftolozane sulfate is characterized by one or more of the following:
- a. a differential scanning calorimetry (DSC) endotherm having a minima at about 105 degrees C;
 - b. a thermogravimetric analysis (TGA) with a weight loss of about 6.8% between 25-181 degrees C; and
 - c. Raman shift peaks ($\pm 5 \text{ cm}^{-1}$) at 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} .

33. A pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:
- c. combining the ceftolozane sulfate in a solid form designated as ceftolozane sulfate Form 2 with water, sodium chloride and L-arginine to form an aqueous solution; and
 - d. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.
34. The pharmaceutical composition of claim 33, wherein the lyophilization cycle is characterized by one or more of the following characteristics:
- a. not more than 150 mg ceftolozane free base/g bulk solution concentration,
 - b. no more than 3 cm fill depth,
 - c. freezing to at least -40 °C during the lyophilization cycle,
 - d. drying at no more than 40 °C, and
 - e. single- or multi-step drying and setting chamber pressure during the start of primary drying at not more than 400 μ bar.
35. The pharmaceutical composition of any one of claims 33-34, further comprising tazobactam.
36. The pharmaceutical composition of any one of claims 33-35, obtained by a process further comprising combining the lyophilized ceftolozane composition with tazobactam in a fixed dose combination providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000 mg of ceftolozane active in the pharmaceutical composition.
37. A pharmaceutical composition comprising a lyophilized ceftolozane composition obtained by a process comprising the steps of:
- c. combining the ceftolozane sulfate in a solid form that produces an X-ray powder diffraction (XRPD) pattern having diffractions at angles ($2\theta \pm 0.2$) of 4.4, 8.8, 11.0, 14.9, and 17.7 with water to form an aqueous solution; and
 - d. lyophilizing the aqueous solution to form the lyophilized ceftolozane composition comprising ceftolozane sulfate.

38. The pharmaceutical composition of claim 37, wherein the aqueous solution in step (b) further comprises tazobactam.
39. The pharmaceutical composition of any one of claims 37-38, wherein the pharmaceutical composition comprises tazobactam sodium.
40. The pharmaceutical composition of any one of claims 37-39, wherein the aqueous solution in step (b) is lyophilized in the absence of tazobactam.
41. The pharmaceutical composition of any one of claims 37-40, wherein the pharmaceutical composition comprises the ceftolozane sulfate in an amount providing about 1,000 mg of ceftolozane active.
42. The pharmaceutical composition of any one of claims 37-41, wherein the pharmaceutical composition further comprises about 500 mg of tazobactam active.
43. The pharmaceutical composition of claim 42, obtained by a process further comprising combining the lyophilized ceftolozane composition with tazobactam in a fixed dose combination providing about 500 mg of tazobactam active per 1,000 mg of ceftolozane active in the pharmaceutical composition.
44. The pharmaceutical composition of claim 43, wherein the pharmaceutical composition comprises tazobactam sodium.
45. The pharmaceutical composition of claim 43, wherein the pharmaceutical composition comprises crystalline tazobactam.
46. The pharmaceutical composition of claim 43, wherein the aqueous solution is lyophilized in step (b) with a lyophilization cycle characterized by one or more of the following characteristics:
- a. not more than 150 mg ceftolozane free base/g bulk solution concentration,
 - b. no more than 3 cm fill depth,
 - c. freezing to at least -40 °C during the lyophilization cycle,

- d. drying at no more than 40 °C, and
- e. single- or multi-step drying and setting chamber pressure during the start of primary drying at not more than 400 μ bar.

47. The pharmaceutical composition of any one of claims 37-46, characterized by one or more of the following:

- a. a differential scanning calorimetry (DSC) endotherm having a minima at about 105 degrees C;
- b. a thermogravimetric analysis (TGA) with a weight loss of about 6.8% between 25-181 degrees C; and
- c. Raman shift peaks (± 5 cm^{-1}) at 151 cm^{-1} , 684 cm^{-1} , 802 cm^{-1} , 1174 cm^{-1} , and 2953 cm^{-1} .

48. The composition of any one of claims 1-20 or 23-47, wherein the composition does not comprise a ceftolozane material having the combination of XRPD peaks described in Table 1a:

Table 1a. X-ray powder diffraction analysis (by Rigaku X-ray Diffraction system MultiFlex)

2 θ
8.0
12.7
13.8
16.1
18.9
20.4
21.5
22.4
23.3
24.0
25.5
26.7
27.9
28.5
31.3
X-ray: Cu/40 kV/30 mA

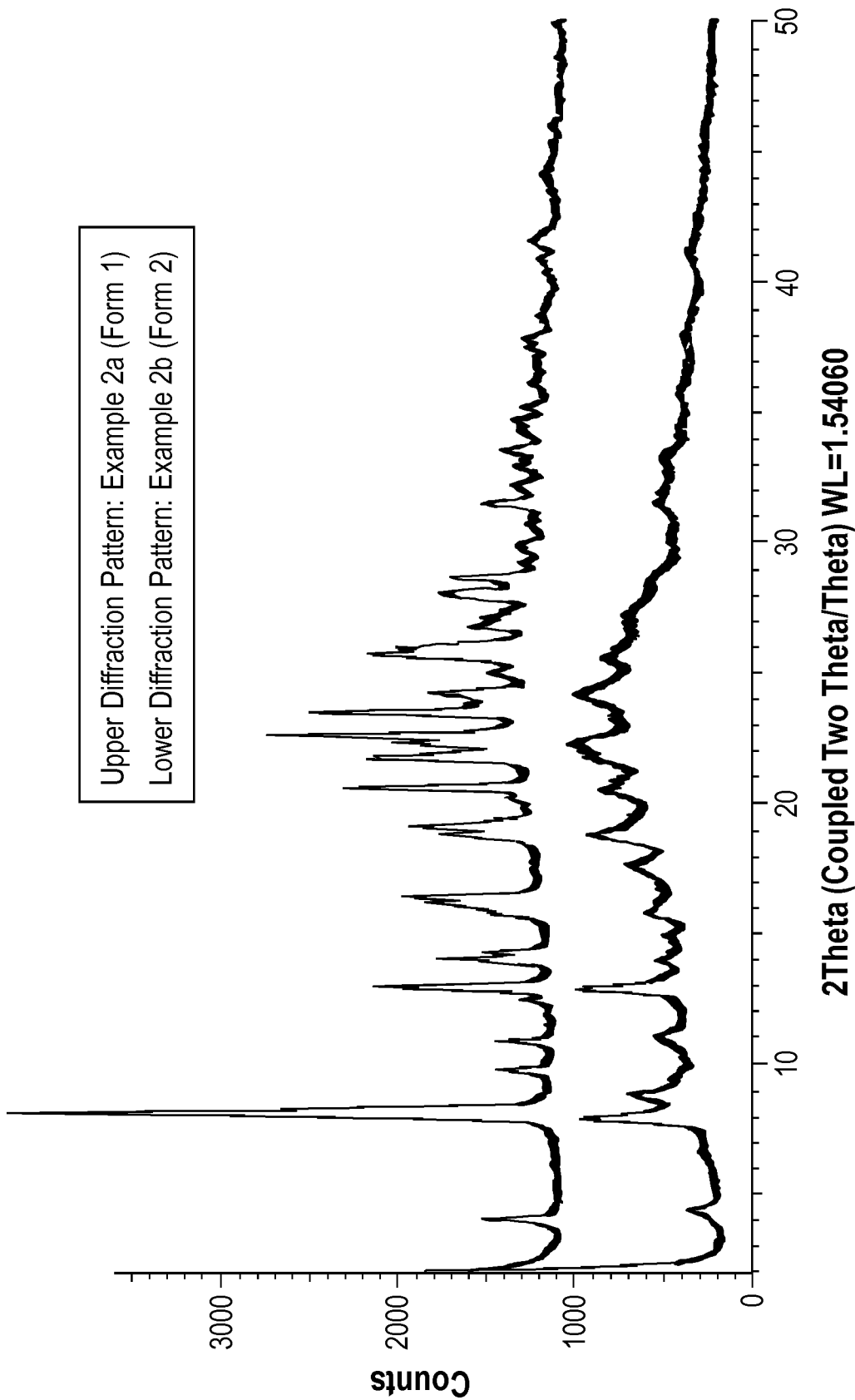


Fig. 1

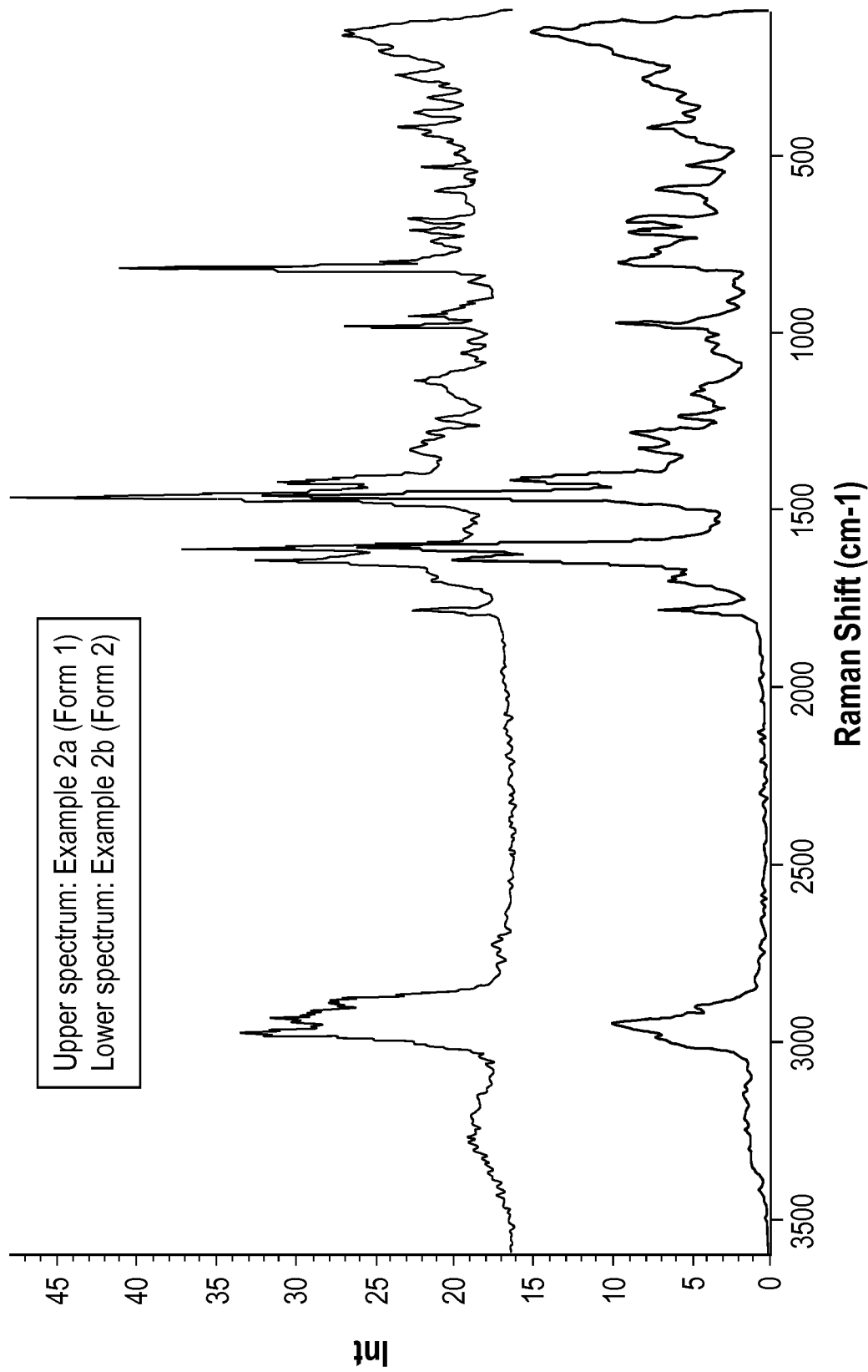


Fig. 2

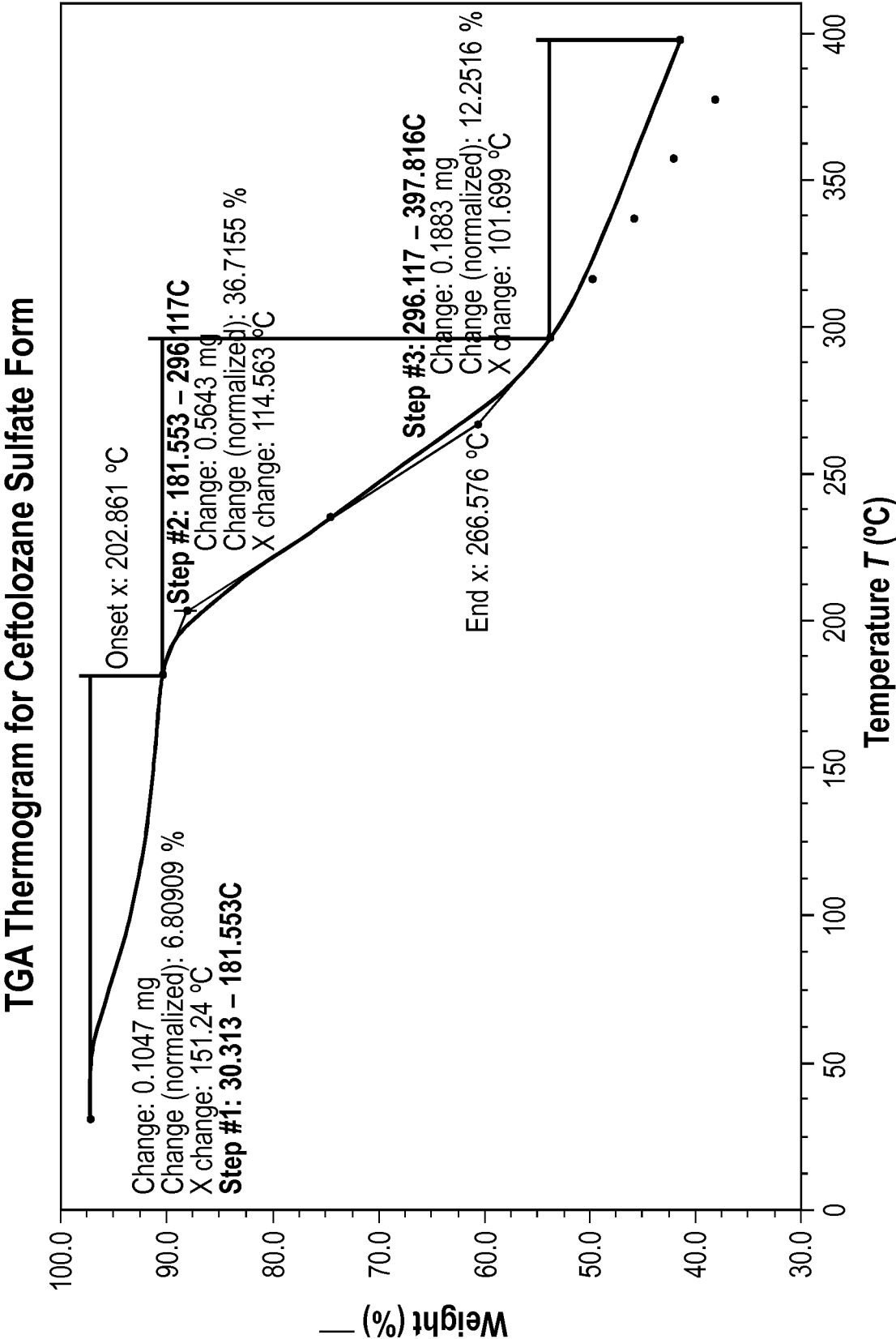


Fig. 3

DSC Thermogram for Ceftolozane Sulfate Form 2

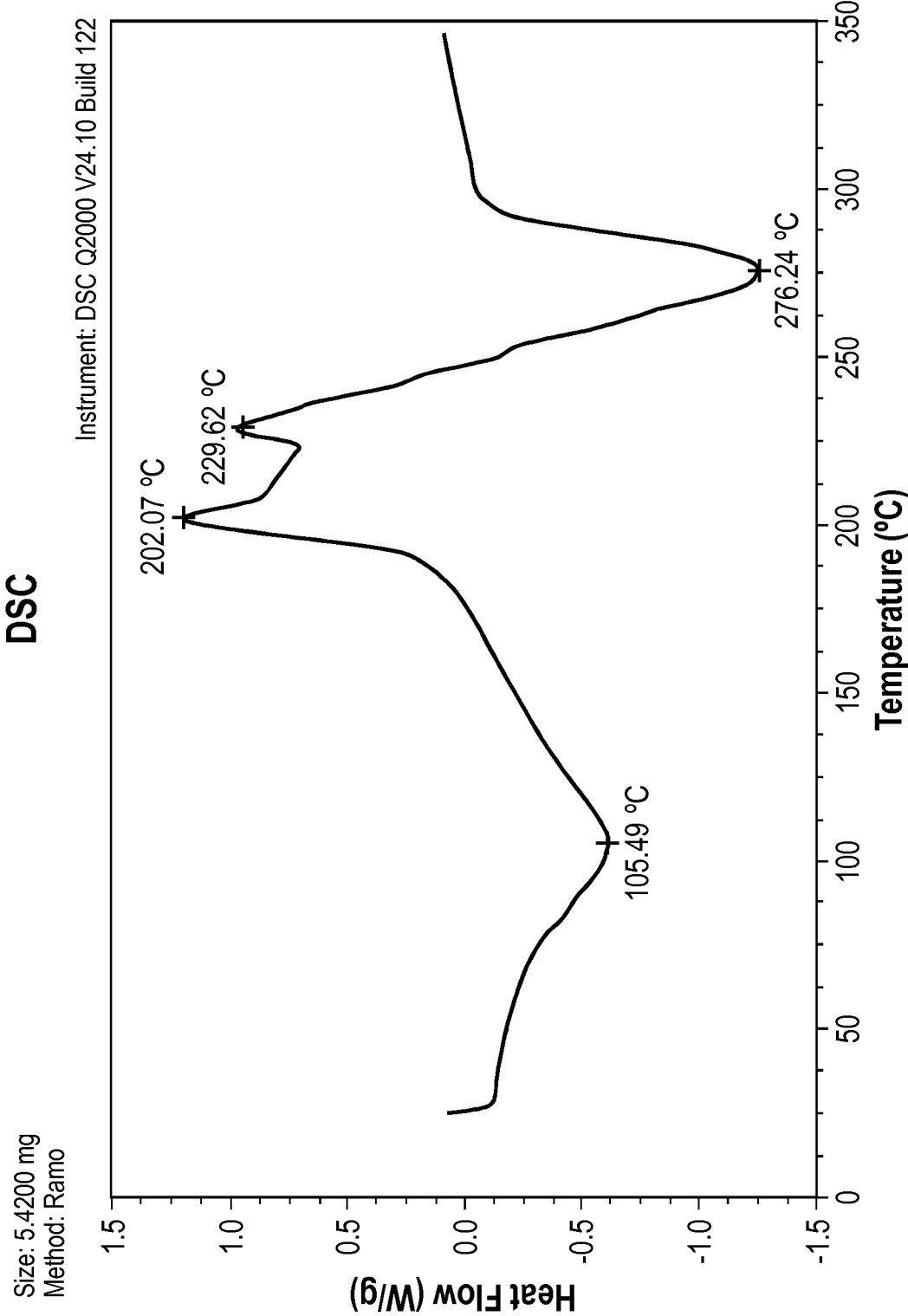


Fig. 4

Moisture Sorption/Desorption Isotherm for Ceftolozane Sulfate
(inter-conversion of solid forms, Form 1 and Form 2)

DVS Isotherm Plot

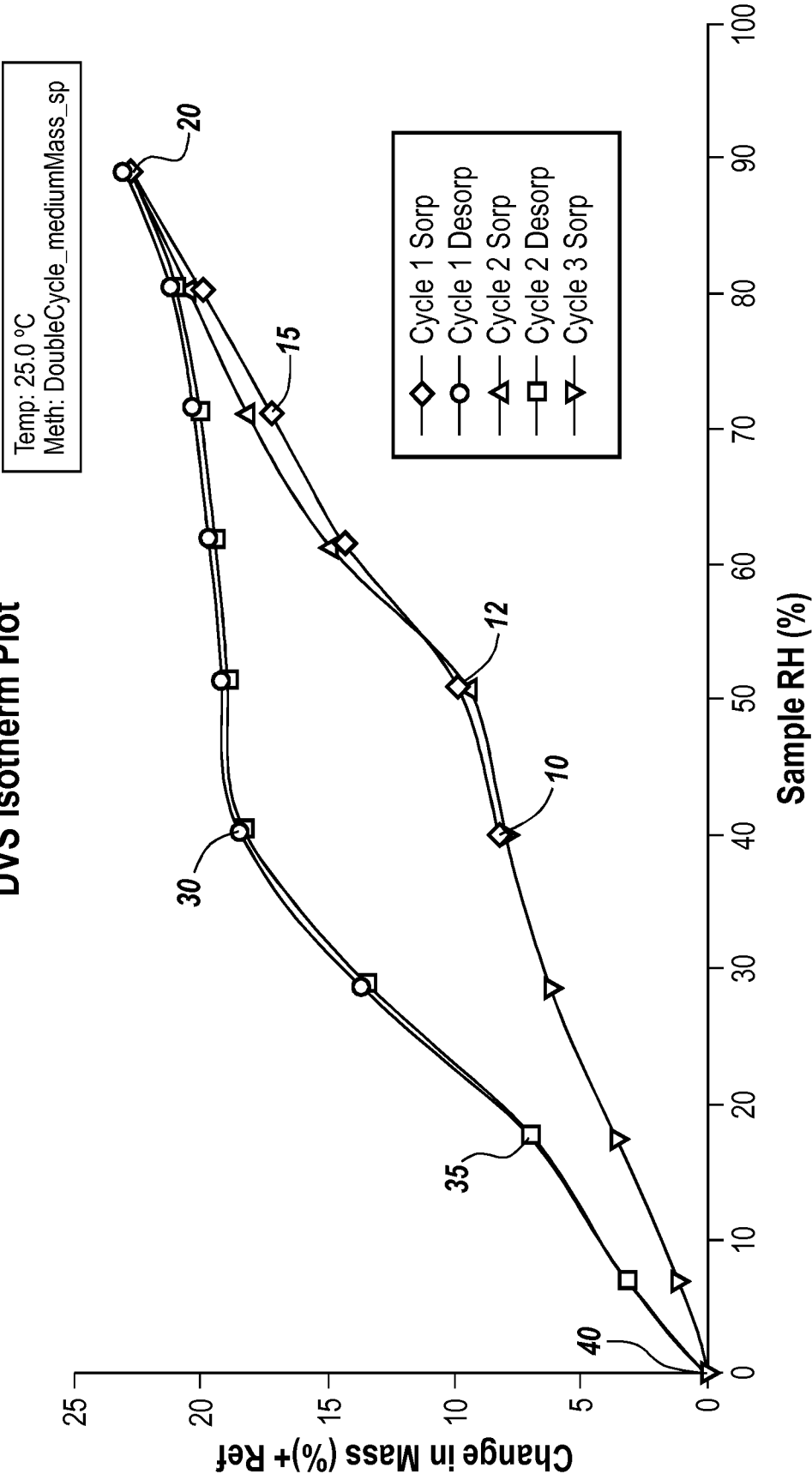


Fig. 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 14/57343

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 31/431; A61K 31/546; A61K 47/18 (2014.01) CPC - A61K 31/431; A61K 31/546; A61K 47/183; A61K 47/12; A61K 47/02; A61K 9/19; A61K 31/43 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) IPC(8): A61K 31/431; A61K 31/546; A61K 47/18 (2014.01) CPC: A61K31/431; A61K31/546; A61K47/183; A61K47/12; A61K47/02; A61K9/19; A61K31/43 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC: 514/192; 514/207 (See Search Words Below) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PATBASE : Full-text = AU BE BR CA CH CN DE DK EP ES FI FR GB IN JP KR SE TH TW US WO Google: Scholar/Patents: ceftriaxone sulfate X-ray powder diffraction Raman spectrum lyophilized composition tazobactam sodium Infrared IR CXA-201 aqueous water sodium chloride L-arginine sulfuric acid water isopropyl alcohol solid beta-lactam lyophilization		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	US 2007/0037786 A1 (OHKI et al.) 15 February 2007 (15.02.2007) para [0001];[0005];[0289]-[0291];[0224];[0294]	1-6;12-17;22-24;28-30 ----- 7-11;18-21;25;33-35; 37-39
Y	US 2010/0286031 A1 (CHARAN et al.) 11 November 2010 (11.11.2010) para [0118]-[0119];[0125];[0129]	7-11;18-21;33-35; 37-39
Y	WO 2013/063275 A1 (WEEKS et al.) 02 May 2013 (01.05.2013) para [0350], Table 6; [0520]; [0523];[0524];[0525]	25;39
Y	US 2013/0065874 A1 (CHANDORKAR et al.) 14 March 2013 (14.03.2013) para [0003];[0016];[0059];[0061];[0062]; Scheme 1	9;10;20;35;38
Y	US 5,254,545 A (ISHIBASHI et al.) 19 October 1993 (19.10.1993) Col 1 In 60 to Col 2, In 32; Col 3, In 24-36	19;33-35
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* 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 application or patent 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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 November 2014 (19.11.2014)		Date of mailing of the international search report 17 DEC 2014
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 14/57343

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 26-27, 31-32, 36 and 40-48
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2014/057343

You Seok HWANG

42 Mitchell Pond Road
Windham,
NH 03087
Estados Unidos

Nicole Miller DAMOUR

81 Pine Street
Belmont,
MA 02478
Estados Unidos

Lisa DUONG

670 Boston Street
Lynn,
MA 01905
Estados Unidos

Valdas JURKAUSKAS

226 Brattle Street
Cambridge,
MA 02138
Estados Unidos

Kristos Adrian MOSHOS

44 Bartlett Avenue
Belmont,
MA 02478
Estados Unidos

Sanjay MUDUR

51 Cedar Street,
Apt 4114 Woburn,
MA 01801
Estados Unidos

Asli OVAT

2 Oscar's Way
Maynard,
MA 01754
Estados Unidos

Joseph TERRACCIANO

280 Deacon Haynes Road
Concord,
MA 01742
Estados Unidos

Jason WOERTINK

5401 Wallbridge Lane
Midland,
MI 48640
Estados Unidos



Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2016/000040

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: MERCK SHARP & DOHME CORP

Dirección: 126 East Lincoln Avenue, Rahway,
New Jersey 07065-0907 (US)

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos

Lugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No 34-03 Bogotá D.C.

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: patents@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 79782747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2014/057343

Fecha Septiembre 25, 2014

Publicación Internacional No. WO2015/048217

Fecha Abril 02, 2015

6

Título (54) FORMAS SÓLIDAS DE CEFTOLOZANO.

Clasificación Internacional (51) A61K 31/431, A61K 31/546, A61K 47/18.

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

US

US

(32) Fecha

Septiembre 27, 2013

Mayo 28, 2014

Mayo 28, 2014

(31) Número de
Solicitud

61/883,530

14/289,224

14/289,251

9

Comprobante de pago No. 14-

Fecha



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional 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 12 x 12.



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.



De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional



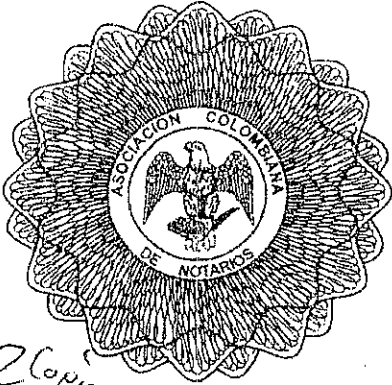
FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE FIRMA: _____
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

WK 11657662



2 (copia)

18 ENE 2010

.. ESCRITURA PUBLICA NUMERO: (0 0 2 6)

CERO CERO VEINTISEIS. /-----

En la ciudad de Bogotá, Distrito

Capital, República de Colombia, a los

Quince ----- (15) días del mes de

Enero ----- del año dos mil diez -----

(2010), ante mi MARIA EUGENIA ROJAS DE URUETA

-----NOTARIA(O) CUARENTA Y
SEIS (46) DEL CIRCULO DE BOGOTA, se otorgó la escritura
pública que se consigna en los siguientes términos:-----

CLASE(S) DE ACTO: PROTOCOLIZACION POR CARLOS
REINALDO OLARTE GARCIA, JAMES IAN RAISBECK
LLINAS, JUAN GUILLERMO MOURE PEREZ, Y NATALIA
CASTRO VELEZ -----

C.C. Nos. 79.782.747, 79.376.996, 80.412.281 Y 52.008.577.-----

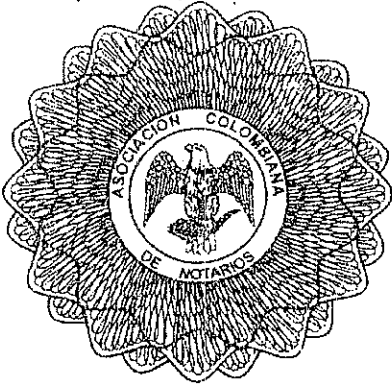
Compareció CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA, mayor de
edad, vecino de Bogotá, identificado con la cédula de
ciudadanía número 79.782.747, de estado civil casado con
sociedad conyugal vigente, JAMES IAN RAISBECK LLINAS
mayor de edad, vecino de ésta ciudad, identificado con la
cédula de ciudadanía número 79.376.996, de estado civil casado
con sociedad conyugal vigente, JUAN GUILLERMO MOURE
PEREZ, mayor de edad, vecino de Bogotá, identificado con la
cédula de ciudadanía número 80.412.281, de estado civil casado
con sociedad conyugal vigente y NATALIA CASTRO VELEZ,
mayor de edad, vecina de Bogotá, identificada con la cédula de
ciudadanía número 52.008.577, de estado civil casada con
sociedad conyugal vigente, obrando en sus propios nombres y
dijeron:-----

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

PRIMERO.- Que presentan para su protocolización y custodia en los archivos de ésta notaría, bajo el número y lugar que a ésta escritura corresponda, en cuatro (4) folios autenticados, un poder, y sus traducciones el cual es del siguiente tenor: --

PODER GENERAL.-----

El suscrito, MERCK SHARP & DOHME, CORP domiciliado en 126 East Lincoln, Avenue Rahway, NJ 07065-0907 United States of America nombramos por el presente a Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro, nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en materia de patentes, los cuales quedan a su vez facultados para representarnos ante las autoridades de cualquier jerarquía de la República de Colombia, la república de Bolivia, La República del Ecuador, la Republica del Perú y la Republica Bolivariana de Venezuela ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y recon convenciones, formular descripciones, enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al



otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que expresa la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin todas las

medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses- -----

Firma X (ilegible) Mark R. Daniel, Managing Counsel, Patents.-

Fecha November 19 2009 -----

Ciudad País: Rahway, NJ, USA.-----

Certificación Notarial- -----

En esta fecha, November 19 -----

El notario Público suscrito Certifica:-----

1. Que Mark R. Daniel mayor de edad y domiciliado 126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065, USA suscribió el documento que antecede -----

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de Managing Counsel, Patents of MERCK SHARP & DOHME CORP, -----

3. Que MERCK SHARP & DOHME con sede principal en 126 East Lincoln Avenue Rahway, NJ 07065-0907, United States of America esta legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden el objeto social. --

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.-----

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2,3 y 4 fue la exhibición de los siguientes documentos auténticos. (Sigue texto sin traducir)-----

Traducción oficial de un documento cuyo original está en

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

inglés.-----

APOSTILLA

(Convención de la Haya du 5 octobre 1961)

1. País: Distrito de Columbia Estados Unidos de América-----

El presente documento público-----

2. ha sido firmado Por: Violet Burgess-----

3. Actuando en calidad de: Notario Público de New Jersey. ---

4. Lleva el sello/ estampilla de: Violet Burgess, Notario.- ----

Certificado

5 En: ----- Trenton, New Jersey

6. El: ----- 25 de noviembre de 2009

7. Por: ----- R. David Rousseau, Tesorero de New Jersey

8. Bajo el No.: ----- A380889

9. Sello/ estampilla: "El Gran Sello del Estado de New Jersey"

10. Firma: ----- (Firmado)

Certificación: -----

Certifico que la presente es una traducción auténtica y completa del inglés al español del documento adjunto, la cual he elaborado según mi leal saber y entender.-----

Documento: "Apostilla"-----

Fecha: 11 de Diciembre de 2009.-----

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes (Sello y firma digital debidamente registrados ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia).-----

Licencia # 376 de 1993, expedida por el Ministerio de Justicia.

Dirección Carrera 15 # 99-13 Of. 411, Bogotá D.C.-----

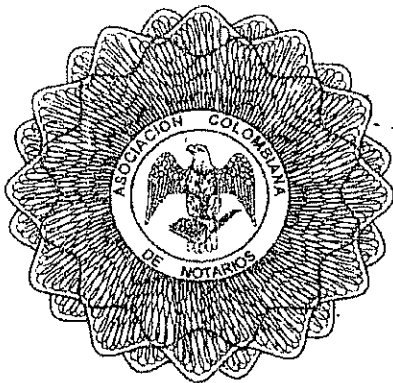
Teléfonos (571) 218 23 08 (571) 623 29 25.- -----

E-mail: treser1@yahoo.com-----

Traducción # 14-278.- -----

SEGUNDO.- Que solicita a la señora Notaria la incorporación de dichos documentos al protocolo de ésta notaría para que de

WK 11657664



su tenor se expidan las copias que más adelante se soliciten -----

La notaría advierte a los interesados que la protocolización de documentos no da mayor fuerza o autenticidad de la que tienen dichos documentos.-----

Esta escritura pública fue firmada fuera del Despacho Notarial, de conformidad con el artículo 12 del Decreto 2.148 de 1.983. -

Se advirtió a los otorgantes de esta escritura de la obligación que tienen de leer la totalidad de su texto, a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados, con el fin de aclarar, modificar o corregir lo pertinente antes de firmarla, la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto, en consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por errores o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma de (el, los) otorgante(s) y de la notaría, en tal caso, este (os) debe(n) ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por todos los que intervinieron en la inicial y sufragada por los mismos (artículo 35, decreto ley 960 de 1970).- -----

ADVERTENCIA, OTORGAMIENTO Y AUTORIZACION.- Leído el presente instrumento por el (los) compareciente (s) y advertido (s) sobre las formalidades legales, lo aprueban y firman conmigo y ante mí la(el) Notaria(o) quién lo autoriza. A los otorgantes se les advirtió finalmente que una vez firmado el presente instrumento, La(el) Notaria(o) no aceptará correcciones o modificaciones sino en la forma y casos

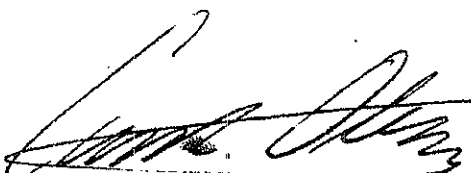
ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

previstos por la Ley. ---Se utilizaron las hojas de papel
Notarial Nos .WK 11657662, WK 11657663, WK 11657664 Y WK 11657665. /-

DERECHOS LEGALES: \$ 42.860.00. - / - - - - -

RESOLUCIONES 9306 Y 9500 DE 2008 - - - - -

IVA \$ 11.682.00. - / - - - - -



CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA

C.C.No. 79.782.747 Btd

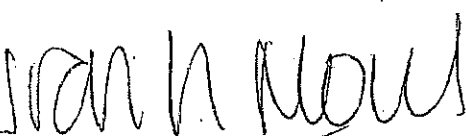
TEL: 6017700



JAMES IAN RAISBECK LLINAS

C.C.No. 79.376.996 Btd

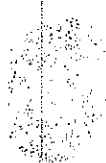
TEL: 6017700



JUAN GUILLERMO MOURE PEREZ

C.C.No. 80412281

TEL: 6017700



NATALIA CASTRO VELEZ,

C.C.No. 52008577

TEL: 6017700

Apostilla:

APOSTILLA:

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. País: Estados Unidos de América
El presente documento público
2. Ha sido firmado por: Violet Burgess
3. Actuando en calidad de: Notario Público de New Jersey
4. Lleva el sello/estampilla de: Violet Burgess, Notario

Certificado

5. En: Trenton, New Jersey
6. El: 25 de noviembre de 2009
7. Por: R. David Rousseau, Tesorero de New Jersey
8. Bajo el No.: A380889
9. Sello / estampilla: "El Gran Sello del Estado de New Jersey"
10. Firma: (Firmado)

Certificado No. 115832008

Verifique este certificado por internet en:

[https://www1.state.nj.us/TYTR-](https://www1.state.nj.us/TYTR-StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp)

[StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp](https://www1.state.nj.us/TYTR-StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp)

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción auténtica y completa del inglés al español del documento adjunto, la cual he elaborado según mi leal saber y entender.

Documento: "Apostilla"

Fecha: 11 de diciembre de 2009.

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes (Sello y firma digital debidamente registrados ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia)

Licencia # 376 de 1993, expedida por el Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 # 99-13 Of. 411, Bogotá, D.C.

Teléfonos: (571) 218 2308, (571) 623 2925.

E-mail: jeseser1@yahoo.com

Traducción # 14-278

Traductor

JORGE E. SIERRA REYES

Licencia 376 - 1993 Minjusticia

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2009 DIC 19 A 12:07

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

003841

Jorge Sierra
UNA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

The undersigned, **General Power**

El suscrito, **Poder General**

MERCK SHARP & DOHME CORP.

domiciled in

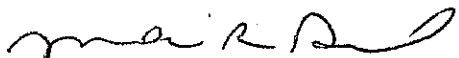
domiciliado en

126 East Lincoln, Avenue Rahway, NJ 07065-0907

United States of America

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro**, legal representatives with faculties to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents in patent matters, who at the same time have the faculty to represent us before the administrative, judicial or police authorities of any hierarchy of the Republic of Colombia, the Republic of Bolivia, the Republic of Ecuador, the Republic of Peru, and the Bolivarian Republic of Venezuela, to initiate before said authorities all the necessary actions to accomplish said purposes and to intervene in all instances, grades and procedural levels; to file and prosecute applications, declarations, complaints, to claim, counterclaim, answer claims and counterclaims; to draw up specifications; to make amendments; oppositions and all types of objections and writings of any nature; cancellations and administrative injunction proceedings; to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive documents and monies; act as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to request preliminary injunctions of any nature, settle, make arrangements, to submit to arbitrators, to desist from claims or procedures, to accept claims, to collect, to ratify legal proceedings subscribed before the appointment and/or presentation of this Power, substitute or delegate the legal representation and other acts prescribed by law, in short, with all such further powers as may be required; to comply with all other requirements and, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests.

nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro**, nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en materia de patentes, los cuales quedan a su vez facultados para representarnos ante las autoridades de cualquier jerarquía de la República de Colombia, la República de Bolivia, la República del Ecuador, la República del Perú y la República Bolivariana de Venezuela, ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconveniones; formular descripciones, enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses.



Signature/Firma: X

Mark R. Daniel, Managing Counsel, Patents

Date/Fecha: November 17,

2009

City/Country/Ciudad,País: Rahway, NJ, USA

Diagonal 34 N° 5 - 28, Bogotá D.C., Colombia

Tel + 57 1 601-7700, Fax + 57 1 601-7799, office@olarteraisbeck.com, www.olarteraisbeck.com

NOTARIA CUARENTA Y SEIS
HELENA ALFONSO LOZANO

MODEL OF NOTARIAL CERTIFICATION

Notarial Certification

On this date, November 17

2009

The undersigned Notary Public certifies:

1. That

of legal age and domiciled in

126 East Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065, USA.

signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Managing Counsel, Patents of MERCK SHARP & DOHME CORP.

3. That MERCK SHARP & DOHME CORP,

having its principal place of business located in 126 East Lincoln, Avenue Rahway, NJ 07065-0907, United States of America

is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the General Power is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the General Power and that his/her representation is legal.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):

Corporate Resolution No. 5 - Patent Matters adopted November 3, 2009

C. St. Ruyter
NOTARY PUBLIC (Signature):

VIOLET BURGESS
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
My Commission Expires May 30, 2012

Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que

Mark R. Daniel

mayor de edad y domiciliado

suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

4. Que

con sede principal ubicada en

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

1. COUNTRY: UNITED STATES OF AMERICA
2. THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY:
VIOLET BURGESS
3. ACTING IN THE CAPACITY OF:
NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
4. BEARS THE SEAL/STAMP OF:
VIOLET BURGESS, NOTARY

CERTIFIED

5. AT TRENTON, NEW JERSEY
6. THE 25TH DAY OF NOVEMBER 2009
7. BY: R. David Rousseau, NEW JERSEY TREASURER
8. NO: A380889
9. SEAL/STAMP:
10. SIGNATURE



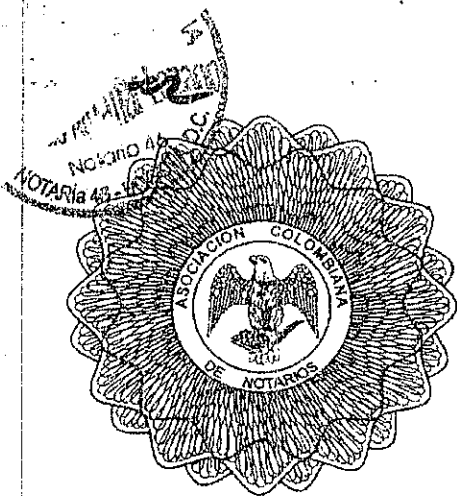
NOTARIA CUARENTA Y SEIS
Hella Luz Altamir Lozano

Certificate Number: 115832008

Verify this certificate at
https://www1.state.nj.us/TYTR_StandingCert/JSP/Verify_Cert.jsp



WK 11657665



ESTA HOJA HACE PARTE DE LA
 ESCRITURA PUBLICA NUMERO : (0 0 2 6)
 DE FECHA: 15 DE ENERO DE 2.010. - - - -
 NOTARIA CUARENTA Y SEIS (46) DE BOGOTA
 REFERENTE A LA
 PROTOCOLIZACION DE CARLOS
 REINALDO OLARTE GARCIA,

JAMES IAN RAISBECK LLINAS, JUAN GUILLERMO MOURE
 PEREZ, Y NATALIA CASTRO VELEZ. - - - - -

Maria Eugenia Rojas de Urqueta
 MARIA EUGENIA ROJAS DE URUETA

NOTARIA(O) CUARENTA Y SEIS (46) D

redb.



liber y Tercera 3^{ra};
 fotocopia de la Escritura Pública No. 26
 de fecha 15 de Enero de 2010
 Tomada de su original que expido en
Siete (7) hojas útiles de papel
 común autorizado (Decreto 1343 de 1970) con destino a

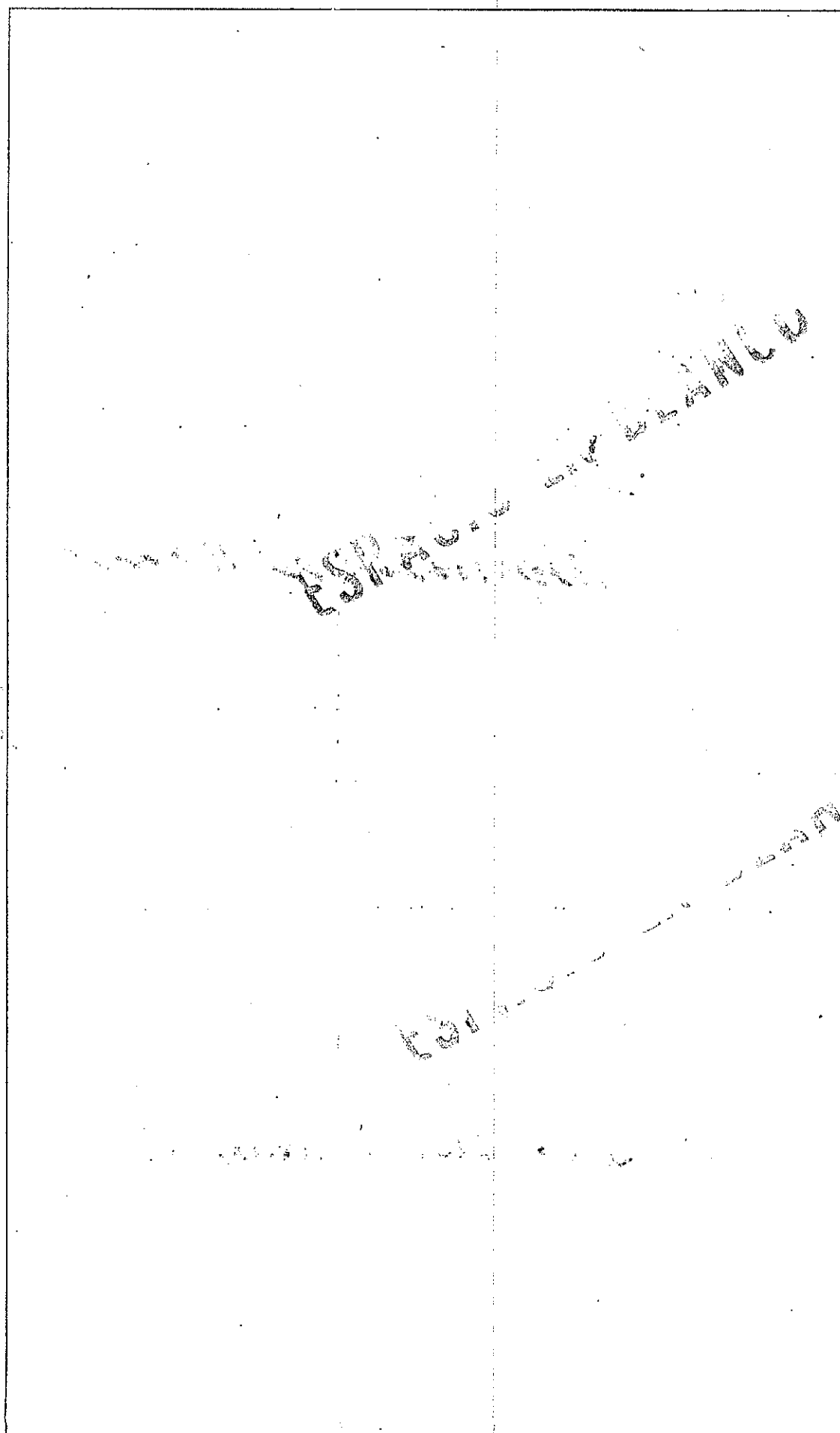
Interesado

Oído en Bogotá, D.C., a 10 MAR. 2010
 La Notaria Cuarenta y Seis de Bogotá, D.C.

Felicia Luz Altamira

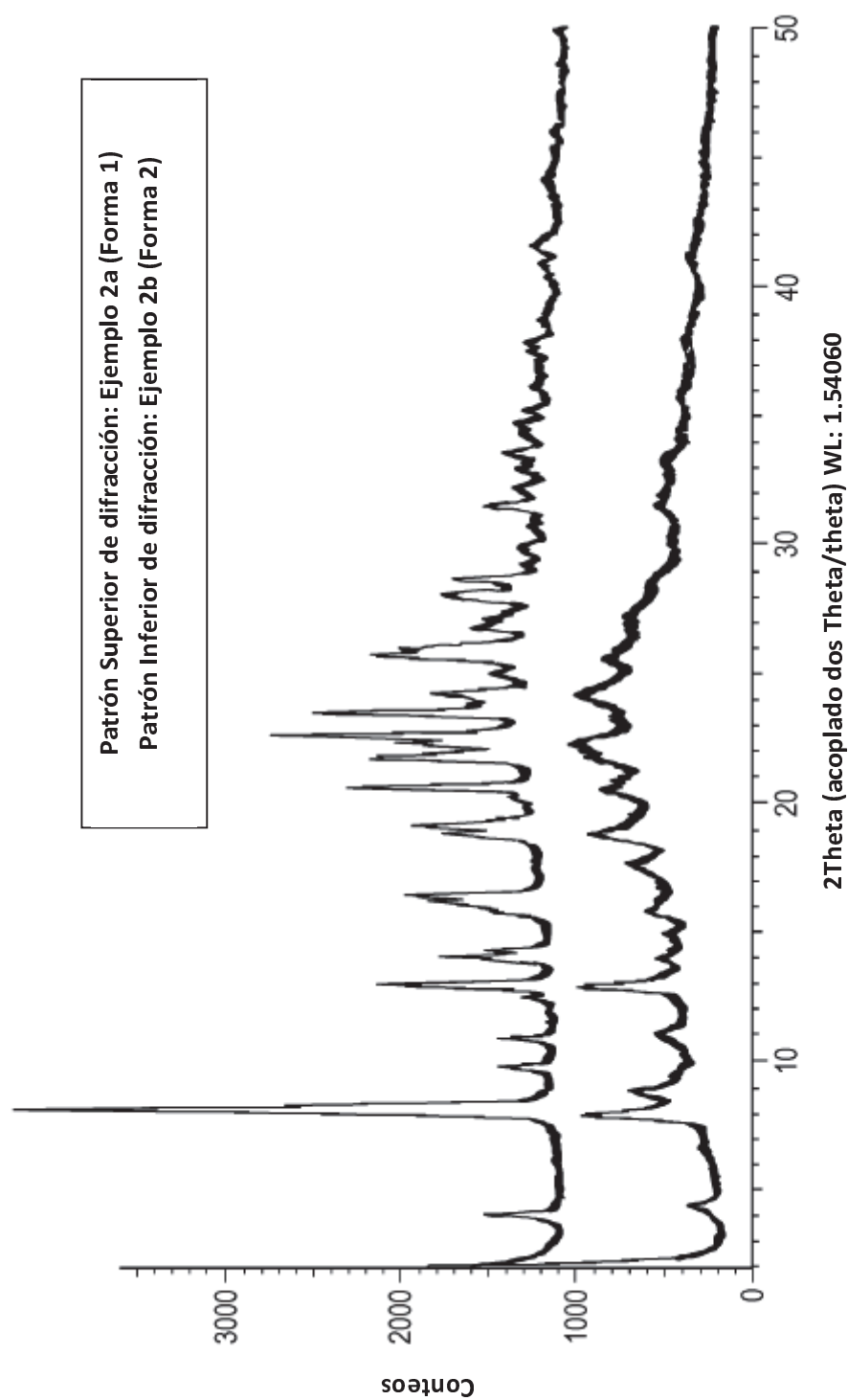


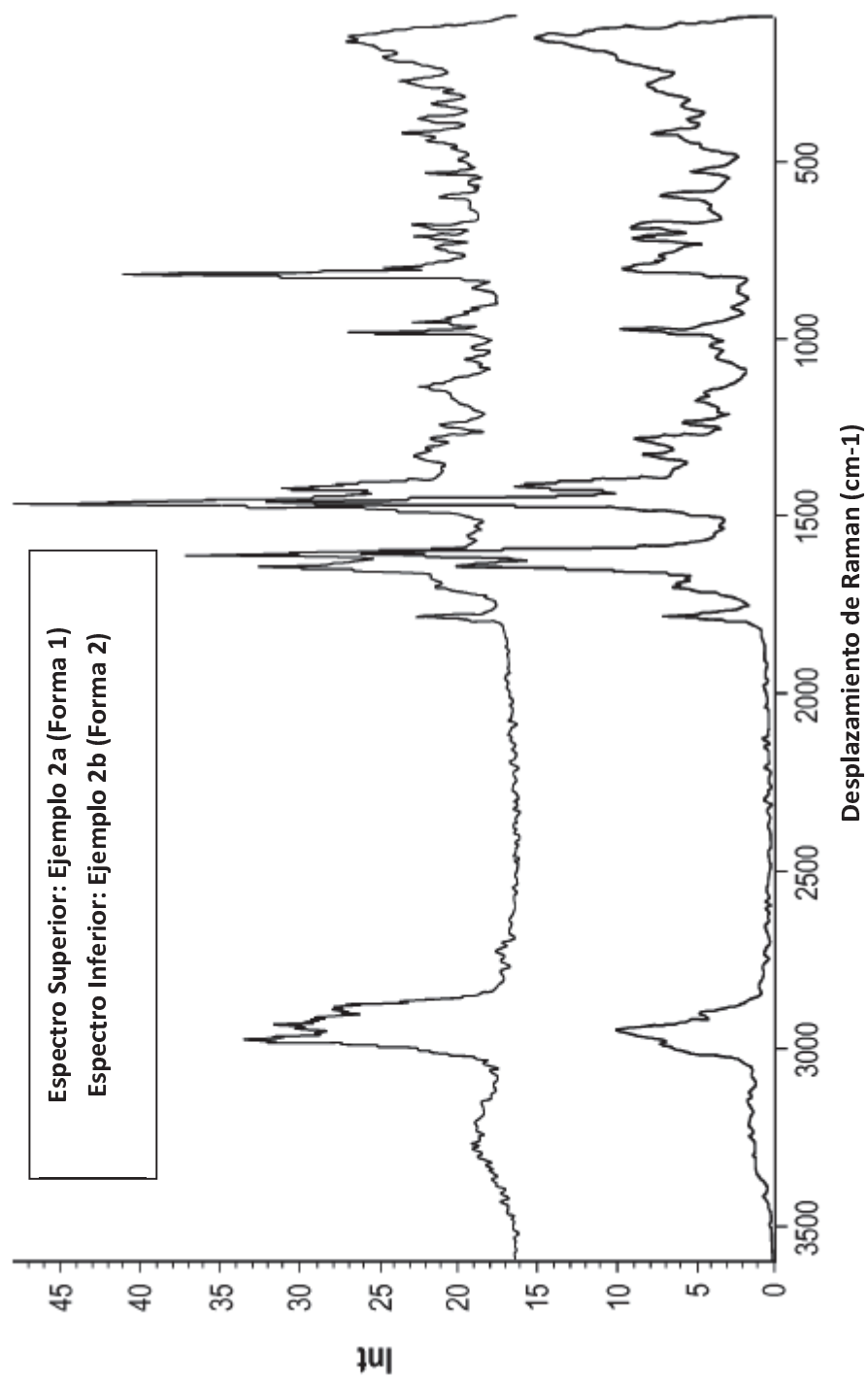
ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO



RESUMEN

El sulfato de ceftolozano es un agente antibacteriano de cefalosporina. Mediante liofilización, se han aislado nuevas formas sólidas estables de la sal farmacéuticamente aceptable de sulfato de ceftolozano. Se describe la caracterización e identificación de estas formas sólidas por XRPD y espectroscopia de Raman, así como los métodos para su preparación y uso en composiciones farmacéuticas.

**Fig. 1**

**Fig. 2**

Termograma TGA de la forma de sulfato de Cefotolozano

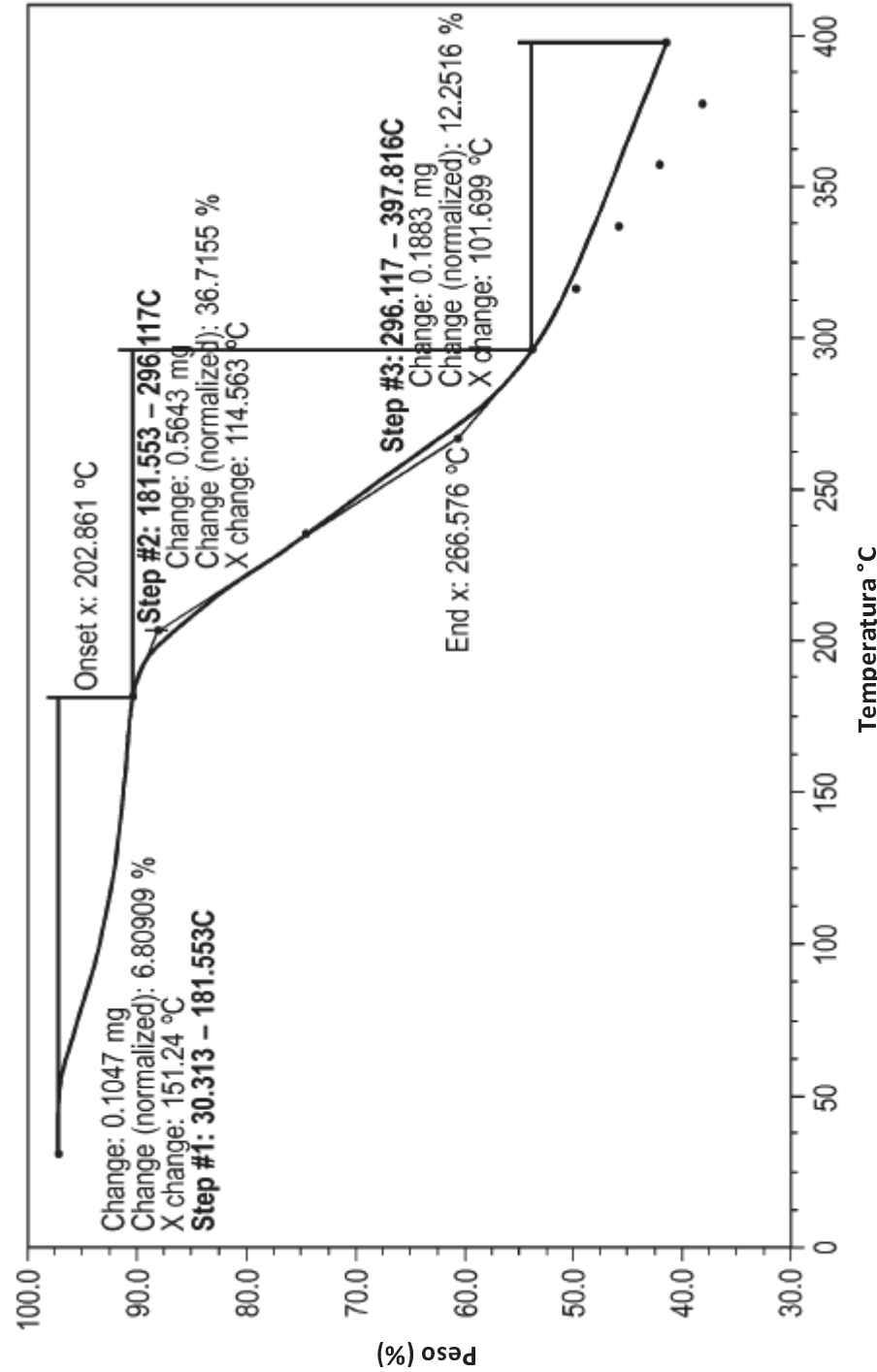


Fig. 3

Termograma DSC de la forma 2 de sulfato de Cefotiozono

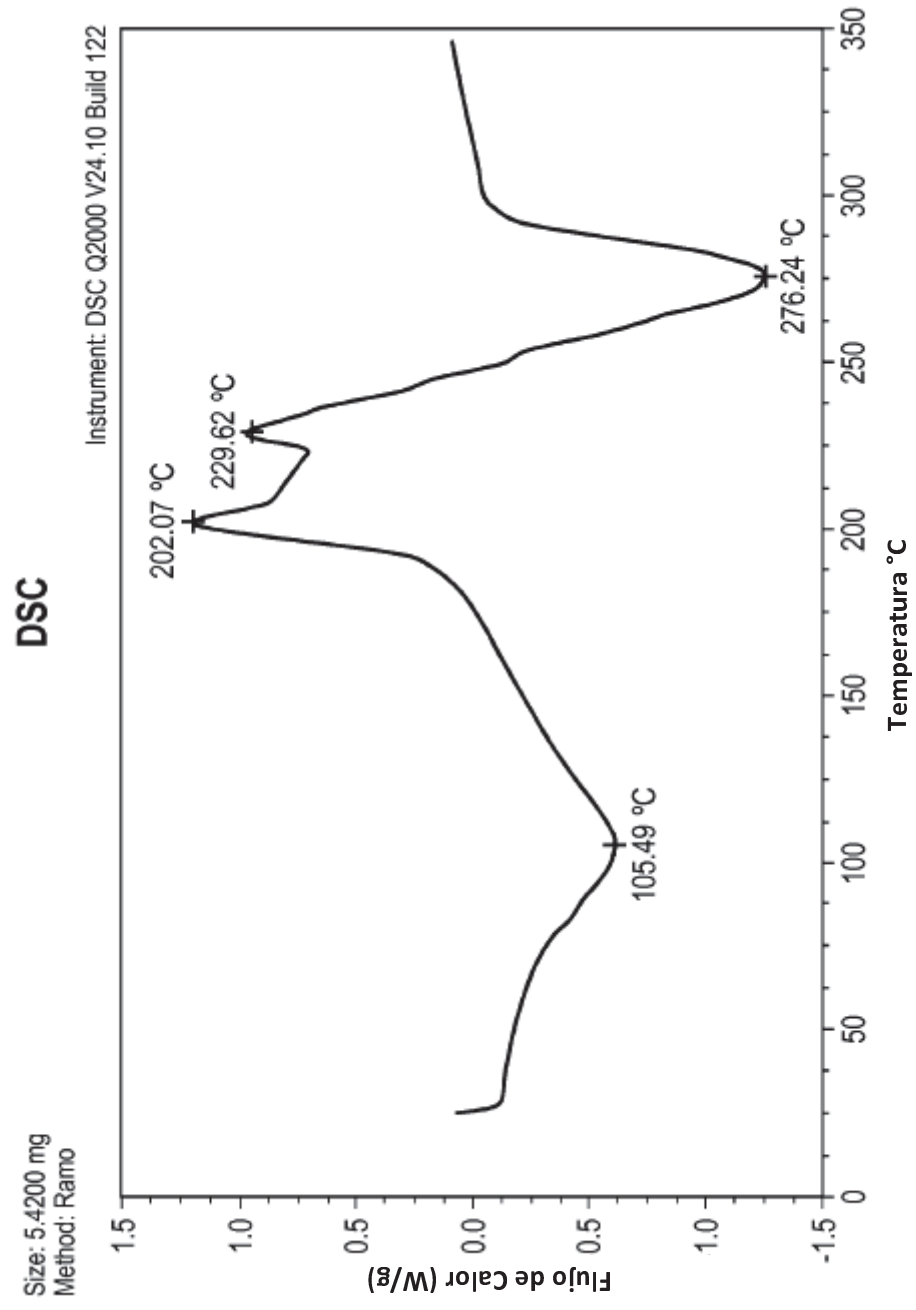


Fig. 4

Termograma de sorción /desorción del sulfato de ceftolozano
(interconversión de formas sólidas, Forma 1 y Forma 2)

Gráfica de la isoterma DVS

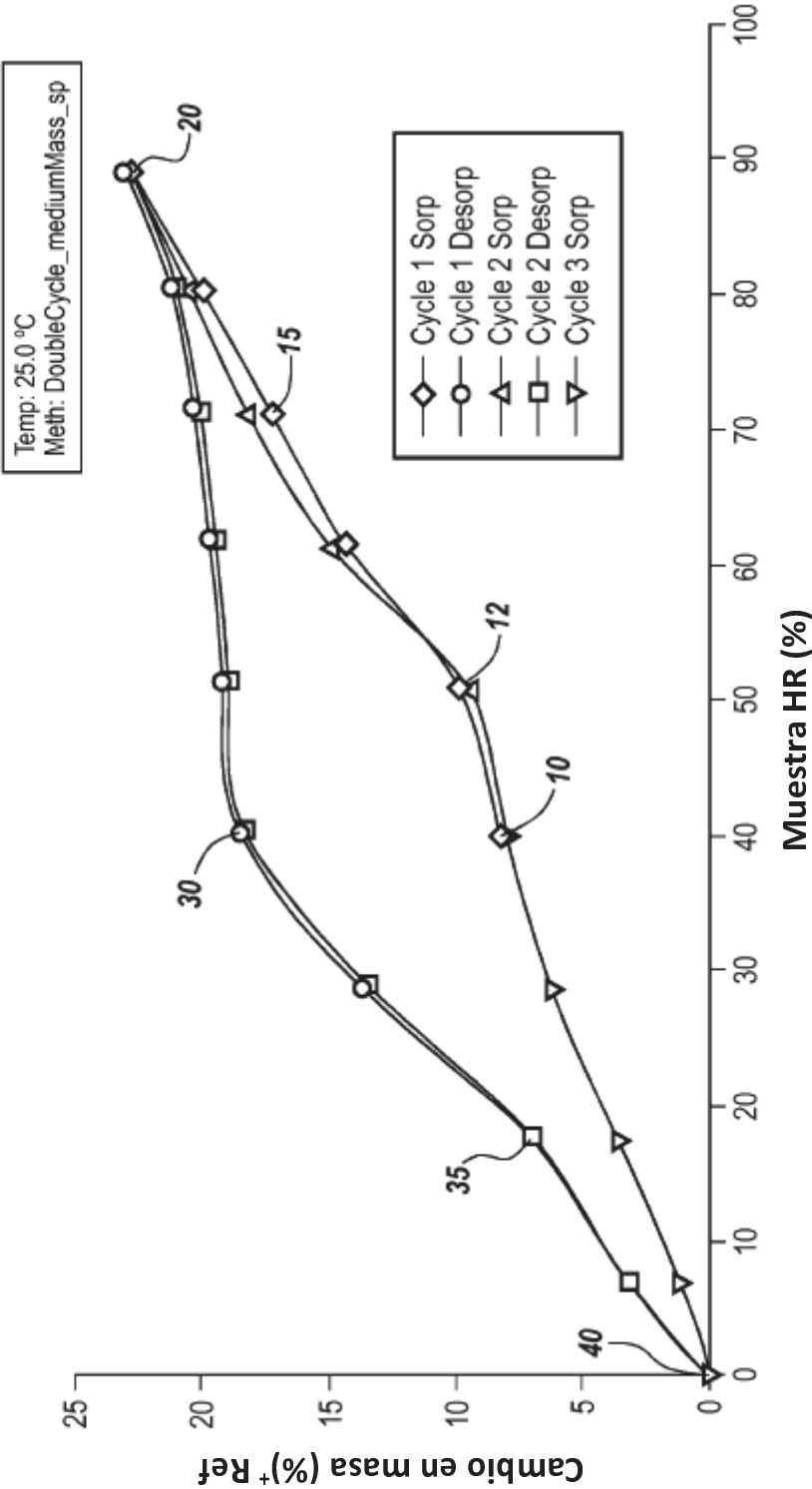


Fig. 5

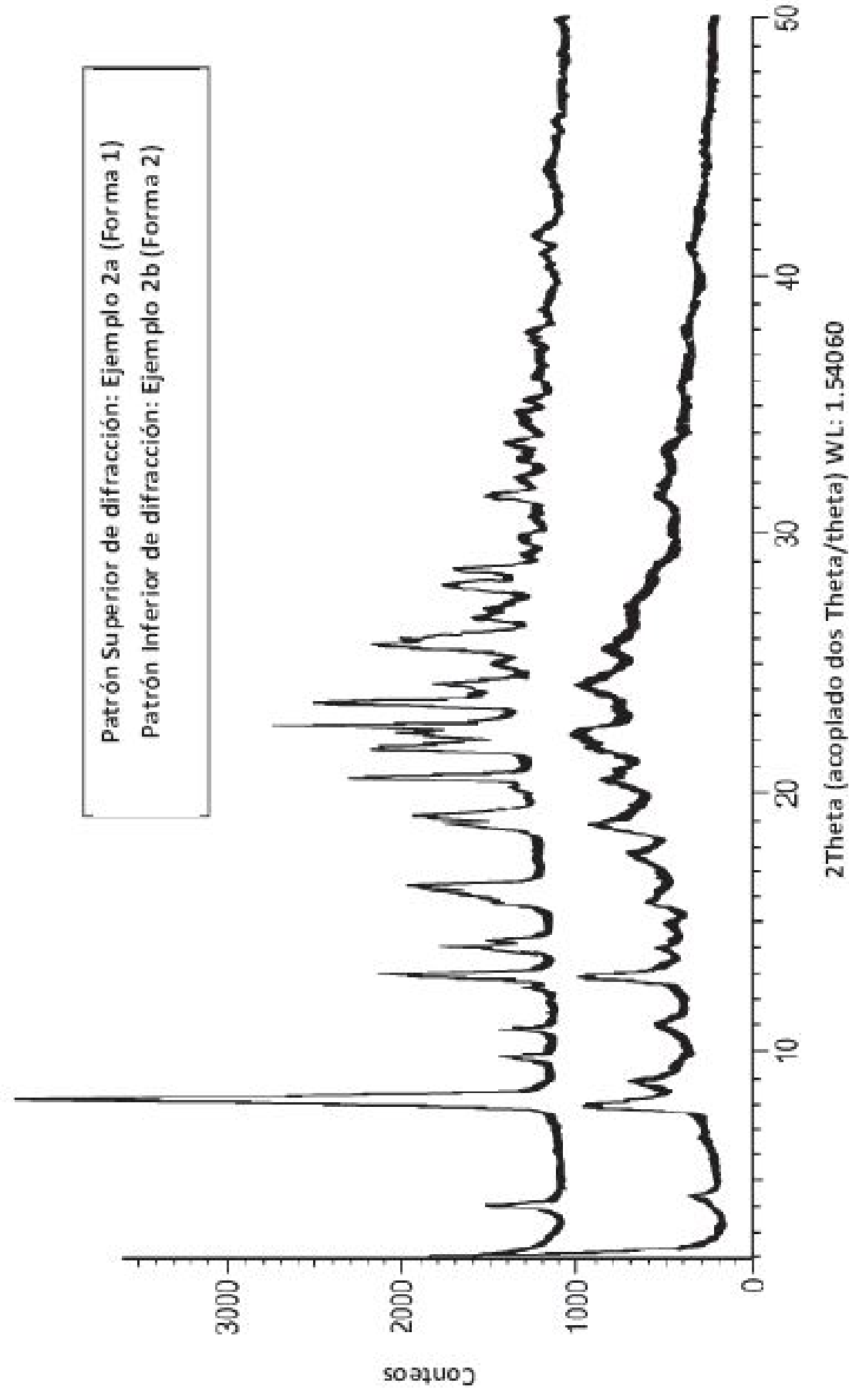


Fig. 1