

DOSIFICACIÓN Y ADMINISTRACIÓN DE L-ASPARAGINASA RECOMBINANTE

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica la prioridad a la solicitud provisional estadounidense N.º 63/168.224, presentada el 30 de marzo de 2021, que se incorpora en la presente en su totalidad.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0002] La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se presentó electrónicamente en formato ASCII y se incorpora en la presente por referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 30 de marzo de 2022, se titula 48929-4009_SL.txt y tiene un tamaño de 6.543 bytes.

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

[0003] La presente invención proporciona regímenes de dosis de una L-asparaginasa.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0004] Las proteínas con actividad de L-asparagina aminohidrolasa, comúnmente conocidas como L-asparinasas, se han utilizado con éxito para el tratamiento de diversas enfermedades potencialmente mortales, que incluyen leucemia linfoblástica aguda (ALL) y linfoma linfoblástico (LBL), para los cuales los niños constituyen una gran proporción de los pacientes afectados por estas enfermedades.

[0005] Las L-asparinasas de origen bacteriano tienen un alto potencial inmunógeno y antigénico. Actualmente disponibles en el mercado, como tratamiento de primera línea, se encuentran la L-asparaginasa y la pegaspargasa derivadas de *E. coli*. Estos productos pueden provocar reacciones adversas de hipersensibilidad, que incluyen reacciones alérgicas, inactivación silenciosa y choque anafiláctico en los pacientes. Los pacientes que padecen reacciones de hipersensibilidad a estos productos a menudo tienen que suspender el tratamiento, lo que da lugar a un peor pronóstico y tasas de supervivencia. Estos pacientes han recurrido a Erwinaze® después de padecer reacciones de hipersensibilidad. Erwinaze® ha tenido problemas de suministro por años; supuestamente, su preparación puede tardar 9 meses (ver <https://www.statnews.com/2016/10/31/cancer-drug-shortage/> y <https://www.drugs.com/drug-shortages/asparaginasa-erwinia-chrysanthemi-482>). Incluso en la actualidad los problemas persisten y la escasez de Erwinase® es común.

(Ver

[https://www.accessdata.fda.gov/scripts/drugshortages/dsp_ActiveIngredientDetails.cfm?AI=Asparaginase%20Erwinia%20Chrysanthemi%20\(Erwinaze\)&st=c](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/drugshortages/dsp_ActiveIngredientDetails.cfm?AI=Asparaginase%20Erwinia%20Chrysanthemi%20(Erwinaze)&st=c)). La FDA ha emitido cartas de advertencia al fabricante afirmando que “los cambios en el material de inicio o en la línea celular tienen un potencial sustancial para afectar de manera adversa la identidad, concentración, calidad, pureza o potencia de Erwinase®”.

[0006] Se necesitan regímenes de dosis nuevos y mejorados para la L-asparaginasa (como la L-asparaginasa recombinante producida de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*) sin reactividad cruzada inmunológica con la asparaginasa derivada de *E. coli*. Los regímenes de dosis podrían usarse como un tratamiento de primera línea o como un sustituto de la L-asparaginasa derivada de *E. coli* y/o las L-asparaginasas derivadas de *E. coli* de acción prolongada nativas cuando un sujeto humano experimenta hipersensibilidad. Los regímenes de dosis novedosos para la L-asparaginasa recombinante abordarían una necesidad médica significativa (como componente de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes) para pacientes con ALL/linfoma linfoblástico (LBL). Los regímenes de dosis novedosos para la L-asparaginasa también abordarían una necesidad médica significativa (incluso, entre otros, regímenes de dosis que son un componente de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes) para pacientes con cáncer colorrectal (CRC), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL) y leucemia mieloide aguda (AML), particularmente CRC y R/R AML Wnt negativos.

SÍNTESIS

[0007] En consecuencia, la presente divulgación proporciona una L-asparaginasa recombinante sin reactividad cruzada inmunológica con la asparaginasa derivada de *E. coli*.

[0008] En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método de tratamiento contra el cáncer en un sujeto humano que lo necesite, en donde dicho método comprende: administrar al sujeto humano una L-asparaginasa distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli* como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; en donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al

sujeto humano es de tres días cuando la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de dos días cuando la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por tres días cuando la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por dos días cuando la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m², en donde la dosis a alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular, y en donde la dosis a alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y en donde el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de dos días. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un viernes y la segunda dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un viernes, la segunda dosis se administra un lunes y la tercera dosis se administra un miércoles. En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de tres días. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis antes de la primera dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m² y la tercera dosis se administra al sujeto humano dos días antes de la primera dosis. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes.

En algunas formas de realización, el método comprende además una tercera dosis, en

donde la primera dosis se administra un lunes, la segunda dosis se administra un miércoles y la tercera dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis es de 25 mg/m², la segunda dosis es de 25 mg/m² y la tercera dosis es de 50 mg/m². En algunas formas de realización, el método comprende además administrar al sujeto humano una pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa, en donde cada administración respectiva del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto tras completarse una administración anterior del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo en la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cien. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y quince. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* es nativa. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* es de acción prolongada. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 95 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 6 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 1 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa y del tratamiento con esta. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de

múltiples agentes.

[0009] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento contra el cáncer de un sujeto humano, en donde el sujeto humano lo necesita, y en donde dicho método comprende: administrar al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, en donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de dos días, y

[0010] el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de tres días, en donde la dosis a alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular, en donde la dosis a alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, cada dosis respectiva de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada en una pluralidad de dosis de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada se sustituye por separado por una administración de la serie de seis dosis de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 95 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano terminó el tratamiento con asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 6 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 1 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA)

según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa y del tratamiento con esta. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es cáncer colorrectal (CRC). En algunas formas de realización, el CRC es CRC Wnt negativo CRC o CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es leucemia mieloide aguda (AML). En algunas formas de realización, la AML es AML R/R. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es DLBCL.

[0011] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para sustituir el tratamiento contra el cáncer de un sujeto humano, en donde el sujeto humano lo necesita, y en donde dicho método comprende: administrar por vía intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis respectiva de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, en donde cada dosis en la serie está en una cantidad de alrededor de 25 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es de dos días. En algunas formas de realización, cada dosis respectiva de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada en una pluralidad de dosis de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada se sustituye por separado por una administración de la serie de siete dosis de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 95 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se

administra en una composición que demuestra una agregación menor de 3 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

[0012] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento contra el cáncer de un sujeto humano, en donde el sujeto humano lo necesita, y en donde dicho método comprende: administrar por vía intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, en donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de dos días, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de tres días, en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, cada dosis respectiva de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada en una pluralidad de dosis de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada se sustituye por separado por una administración de la serie de seis dosis de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 95 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de

realización, el sujeto humano terminó el tratamiento con asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 6 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 1 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa y del tratamiento con esta. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

[0013] En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de tratamiento contra el cáncer en un sujeto humano que lo necesite, en donde dicho método comprende: administrar por vía intravascular al sujeto humano una L-asparaginasa distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli* como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; en donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de tres días cuando la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de dos días cuando la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por tres días cuando la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por dos días cuando la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m². En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y en donde el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de dos días. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un viernes y la

segunda dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un viernes, la segunda dosis se administra un lunes y la tercera dosis se administra un miércoles. En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de tres días. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis antes de la primera dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m² y la tercera dosis se administra al sujeto humano dos días antes de la primera dosis. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, el método comprende además una tercera dosis, en donde la primera dosis se administra un lunes, la segunda dosis se administra un miércoles y la tercera dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis es de 25 mg/m², la segunda dosis es de 25 mg/m² y la tercera dosis es de 50 mg/m². En algunas formas de realización, el método comprende además administrar por vía intravascular al sujeto humano una pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa, en donde cada administración respectiva del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto tras completarse una administración anterior del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo en la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cien. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y quince. En algunas formas de realización, la

asparaginasa derivada de *E. coli* es nativa. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* es de acción prolongada. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 95 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 6 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa demuestra una agregación menor de 1 %. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa y del tratamiento con esta. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es cáncer colorrectal (CRC). En algunas formas de realización, el CRC es CRC Wnt negativo CRC o CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es leucemia mieloide aguda (AML). En algunas formas de realización, la AML es AML R/R. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es DLBCL.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0014] La invención puede entenderse mejor a partir de la siguiente descripción detallada cuando se la lee en conjunto con los dibujos adjuntos. Se incluyen en los dibujos las siguientes figuras:

[0015] La Figura 1 muestra los resultados del estudio de seguridad en el Ejemplo 2.

[0016] La Figura 2 muestra las purezas de la L-asparaginasa recombinante (R-CRIS), la crisantaspasa recombinante derivada de *E. coli* (RC de *E. coli*) y Erwinase®,

evaluadas con el método de SEC-HPLC descrito en el Ejemplo 5.

[0017] La Figura 3 muestra las purzas de la L-asparaginasa recombinante (R-CRIS), la crisantaspasa recombinante derivada de *E. coli* (RC de *E. coli*) y Erwinase®, evaluadas con el método de SEC-MALLS descrito en el Ejemplo 5.

[0018] La Figura 4 muestra los resultados obtenidos del análisis de los datos de AUC de la velocidad de sedimentación indicados en el Ejemplo 5.

[0019] La Figura 5 muestra que se evaluó el perfil de tamaño de la L-asparaginasa recombinante mediante SE-UHPLC de acuerdo con el método de liberación como se indica en el Ejemplo 6.

[0020] La Figura 6 muestra que se midieron las especies de alto peso molecular presentes en la L-asparaginasa recombinante mediante SEC-MALLS como se indica en el Ejemplo 6.

[0021] La Figura 7 muestra la distribución normalizada del coeficiente de sedimentación de L-asparaginasa recombinante (escala comercial) como se indica en el Ejemplo 6.

[0022] La Figura 8 muestra la distribución normalizada del coeficiente de sedimentación de Erwinase® (escala comercial) como se indica en el Ejemplo 6.

[0023] La Figura 9 muestra la proporción de voluntarios sanos con niveles de SAA 48 y 72 horas después de la dosis de acuerdo con el Ejemplo 7. Abreviaturas: ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica.

[0024] La Figura 10 muestra un resumen de PK basado en la SAA en el estudio descrito en el Ejemplo 7. Abreviaturas: AUC_{0-inf} , área bajo la curva desde el momento 0 extrapolada al infinito; AUC_{0-t} , área bajo la curva desde el momento 0 hasta el momento de la última SAA cuantificable; C_{48h} , SAA a las 48 horas; C_{72h} , SAA a las 72 horas; CL, depuración; $C_{máx}$, SAA máxima; CV, coeficiente de variación; ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; PK, farmacocinética; SAA, actividad de asparaginasa sérica; $t_{máx}$, momento en el que se observa la $C_{máx}$; $t_{1/2}$, semivida; V, volumen de distribución. ^aPara tratamiento IM, $CL = CL/F$ (depuración aparente) y $V = Vz/F$ (volumen de distribución aparente). Para tratamientos IV, $CL = CL$ y $V = Vss$ (estimación del volumen de distribución en estado estacionario). ^b $n = 5$ para $t_{1/2}$, AUC_{0-inf} , CL y V. N es la cantidad de voluntarios sanos expuestos. Se presenta la media (% de CV) de todos los parámetros, excepto los valores de $t_{máx}$, que se informan como mediana y rango.

[0025] La Figura 11 muestra TEAE después del tratamiento como se describe en el Ejemplo 7. Abreviaturas: ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; TEAE, evento adverso emergente del tratamiento.

^aSegún término preferido del diccionario MedDRA, versión 22.0; los TEAE relacionados con el tratamiento se muestran en orden de frecuencia decreciente.

[0026] La Figura 12 muestra perfiles de SAA-tiempo individuales. Abreviaturas: ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica. Se puede encontrar una descripción adicional en el Ejemplo 7.

[0027] La Figura 13 muestra perfiles de media (95 % de CI) de SAA-tiempo, como se describe adicionalmente en el Ejemplo 7. Abreviaturas: CI, intervalo de confianza; IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica.

[0028] La Figura 14 muestra A) perfiles de media de SAA-tiempo para JZP-458 IM. JZP-458 es una asparaginasa de *Erwinia* recombinante producida con una novedosa plataforma de expresión de *Pseudomonas fluorescens* que proporciona una enzima sin reactividad cruzada inmunológica con asparaginasas derivadas de *E. coli*. Abreviaturas: ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; SAC, concentración de asparaginasa sérica. Nota: Límite inferior de cuantificación (LLOQ) = 1,00 ng/ml. Los valores por debajo del LLOQ se establecieron en cero, B) perfiles de media de SAA-tiempo para JZP-458 IV. ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IV, intravenoso; SAC, concentración de asparaginasa sérica. Nota: Límite inferior de cuantificación (LLOQ) = 1,00 ng/ml. Los valores por debajo del LLOQ se establecieron en cero, C) perfiles individuales de concentración de asparaginasa-tiempo. ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAC, concentración de asparaginasa sérica, y D) correlación entre SAC y SAA para la administración IM e IV de JZP-458. Abreviaturas: IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica; SAC, concentración de asparaginasa sérica. Nota: Ecuación de la línea de regresión: $SAC = 1407,9 \times SAA$; coeficiente de correlación de Pearson = 0,9779. Se puede encontrar una descripción adicional en el Ejemplo 7.

[0029] La Figura 15 muestra perfiles de media de SAA-tiempo y la media correspondiente de los niveles de L-asparagina plasmática descritos adicionalmente en el estudio del Ejemplo 7. Abreviaturas: IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica. Nota: Límite inferior de cuantificación (LLOQ):

actividad de asparaginasa = 0,0250 IU/ml; L-asparagina = 0,0250 ug/ml. Los valores por debajo del LLOQ se establecieron en cero.

[0030] La Figura 16 muestra la demografía inicial para el estudio del Ejemplo 7. Abreviaturas: ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; SD, desviación estándar. ^aLa etnicidad fue autoinformada; los voluntarios sanos podían identificarse con más de una etnicidad.

[0031] La Figura 17 muestra la evaluación de la proporcionalidad a la dosis para JZP-458 en función de SAA como se describe adicionalmente en el estudio del Ejemplo 7. Abreviaturas: AUC_{0-inf} , área bajo la curva desde el momento 0 extrapolada al infinito; AUC_{0-t} , área bajo la curva desde el momento 0 hasta el momento de la última SAA cuantificable; CI, intervalo de confianza; C_{max} , SAA máxima; IM, intramuscular; IV, intravenoso; PK, farmacocinética; SAA, actividad de asparaginasa sérica. Los resultados se basan en el modelo de potencia: $\ln(\text{parámetro}) = \text{intercepción} + \text{pendiente} \times \ln(\text{dosis})$.

[0032] La Figura 18 muestra un resumen de PK basado en SAC como se describe adicionalmente en el Ejemplo 7. Abreviaturas: AUC_{0-inf} , área bajo la curva desde el momento 0 extrapolada al infinito; AUC_{0-t} , área bajo la curva desde el momento 0 hasta el momento de la última SAA cuantificable; CL, depuración; C_{max} , SAA máxima; CV, coeficiente de variación; ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; PK, farmacocinética; $t_{1/2}$, semivida; SAA, actividad de asparaginasa sérica; SAC, concentración de asparaginasa sérica; t_{max} , momento en el que se observa la C_{max} ; V, volumen de distribución. ^aPara tratamiento IM, $CL = CL/F$ (depuración aparente) y $V = Vz/F$ (volumen de distribución aparente). Para tratamientos IV, $CL = CL$ y $V = Vss$ (estimación del volumen de distribución en estado estacionario). ^b $n = 3$ para AUC_{0-inf} , CL y V; $n = 5$ para $t_{1/2}$. N es la cantidad de voluntarios sanos expuestos. Se presenta la media (% de CV) de todos los parámetros, excepto los valores de t_{max} , que se informan como mediana y rango.

[0033] La Figura 19 muestra la evaluación de la proporcionalidad a la dosis para JZP-458 en función de SAC. Abreviaturas: AUC_{0-inf} , área bajo la curva desde el momento 0 extrapolada al infinito; AUC_{0-t} , área bajo la curva desde el momento 0 hasta el momento de la última SAA cuantificable; CI, intervalo de confianza; C_{max} , SAA máxima; IM, intramuscular; IV, intravenoso; PK, farmacocinética; SAA, actividad de asparaginasa sérica; SAC, concentración de asparaginasa sérica. Los resultados se basan en el modelo de potencia: $\ln(\text{parámetro}) = \text{intercepción} + \text{pendiente} \times \ln(\text{dosis})$.

[0034] La Figura 20 muestra el diseño del estudio del Ejemplo 7. Abreviaturas: ERW, asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*; IM, intramuscular; IV, intravenoso; PK, farmacocinética.

[0035] La Figura 21 muestra perfiles de media de SAA-tiempo para todos los tratamientos y la media correspondiente de los niveles de L-glutamina plasmática como se describen adicionalmente en el estudio del Ejemplo 7. Abreviaturas: IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica. Nota: Límite inferior de cuantificación (LLOQ): actividad de asparaginasa = 0,0250 IU/ml; L-glutamina = 0,250 ug/ml. Los valores por debajo del LLOQ se establecieron en cero. Abreviaturas: IM, intramuscular; IV, intravenoso; SAA, actividad de asparaginasa sérica. Nota: Límite inferior de cuantificación (LLOQ): actividad de asparaginasa = 0,0250 IU/ml; L-glutamina = 0,250 ug/ml. Los valores por debajo del LLOQ se establecieron en cero.

[0036] La Figura 22 muestra la parte A de las cohortes de dosis IM de JZP-458 (Ejemplo 8). El SDRC evaluará las cuestiones de seguridad y tolerabilidad para los participantes en la Cohorte 1 con el fin de determinar si se necesitan participantes adicionales a diferentes niveles de dosis o si se determinó el uso del nivel adecuado de dosis IM de JZP-458 en la Cohorte de expansión (Cohorte 2). El SDRC revisará los datos de NSAA y seguridad/tolerabilidad cuando 6 y 13 participantes evaluables en cada subcohorte hayan completado el Tratamiento 1; la inscripción no se detendrá en los puntos temporales especificados para la revisión del SDRC.

Abreviaturas: IM = intramuscular; IU = unidades internacionales; NSAA = nadir de actividad de asparaginasa sérica; SDRC = comité de revisión de datos del estudio.

[0037] La Figura 23 muestra la parte B de las cohortes de dosis de JZP-458 (Ejemplo 8). El SDRC evaluará las cuestiones de seguridad y tolerabilidad para los participantes en la Cohorte 1 con el fin de determinar si se necesitan participantes adicionales a un nivel de dosis diferente. El SDRC revisará los datos de NSAA y seguridad/tolerabilidad cuando 6 participantes evaluables en cada subcohorte hayan completado el Tratamiento 1.

Abreviaturas: IU = unidades internacionales; IV = intravenoso; NSAA = nadir de actividad de asparaginasa sérica; SDRC = comité de revisión de datos del estudio.

[0038] La Figura 24 muestra un resumen de los resultados de SAA (IU/ml) con JZP-458 en el Tratamiento 1 (participantes evaluables) (Ejemplo 8).

[0039] La Figura 25 muestra la proporción de pacientes con niveles de NSAA $\geq 0,1$ y

≥0,4 IU/ml en las últimas 48 y 72 horas en el Tratamiento 1 (participantes evaluables) (Ejemplo 8).

[0040] La Figura 26 muestra perfiles simulados de mediana de SAA de JZP-458 con intervalos de predicción de 95 % – escala semilogarítmica (cronograma de dosificación de FMW) (modelo de simulación IM del Ejemplo 8). Abreviaturas: IM = intramuscular; FMW = viernes, lunes, miércoles; SAA = actividad de asparaginasa sérica. Las líneas centrales son el valor de la mediana; las bandas (intervalo de predicción de 95 %) representan los percentiles 2,5 (inferior) y 97,5 (superior). El eje x se presenta hasta las 336 horas con un desplazamiento extra, y los datos graficados incluyen observaciones simuladas hasta 504 horas después del comienzo del tratamiento.

[0041] La Figura 27 muestra la proporción de pacientes tratados con JZP-458 que se espera que alcancen los niveles diana mínimos de SAA (cronograma de dosificación de FMW) (modelo de simulación IM del Ejemplo 8).

[0042] La Figura 28 muestra una descripción general de los eventos adversos emergentes del tratamiento (conjunto de análisis de seguridad) (Ejemplo 8).

[0043] La Figura 29 muestra eventos adversos emergentes del tratamiento de grado 3 o 4 (Cohorte 1a del conjunto de análisis de seguridad) (Ejemplo 8).

[0044] La Figura 30 muestra eventos adversos emergentes del tratamiento de grado 3 o 4 (Cohorte 1a del conjunto de análisis de seguridad) (Ejemplo 8). Los porcentajes se calcularon con la cantidad de participantes en el conjunto de análisis de seguridad como denominador. Los eventos adversos se codificaron a SOC y PT con MedDRA 22.1. La gravedad de los AE se registró con CTCAE 5.0. Un TEAE se definió como cualquier evento con una fecha de inicio al momento de la primera dosis del tratamiento del estudio o después de esta hasta el final del estudio o cualquier evento en curso cuya gravedad empeora después de la fecha de la primera dosis del tratamiento del estudio hasta el final del estudio. Abreviaturas: AE = evento adverso; CTCAE = criterios de terminología común para eventos adversos; IM = inyección intramuscular; PT = término preferido; SOC = clasificación del sistema orgánico; TEAE = evento adverso emergente del tratamiento.

[0045] La Figura 31 muestra el Estudio JZP458-201 - Resumen de eventos adversos emergentes del tratamiento (fecha de corte de datos: 14 de octubre 2021) como se describe en el Ejemplo 9. Abreviaturas: CTCAE = criterios de terminología común para eventos adversos; IM = intramuscular; MedDRA = diccionario médico para actividades regulatorias; MWF = lunes, miércoles, viernes; PT = término preferido;

SOC = clasificación del sistema orgánico; TEAE = evento adverso emergente del tratamiento. (a) Las dosis se administraron con un cronograma de lunes, miércoles, viernes. (b) Ningún participante había fallecido a la fecha de corte para el análisis inicial (14 de octubre de 2020). Se informaron tres casos fatales entre el 15 de octubre de 2020 y el 11 de enero de 2021. Los porcentajes se calcularon con la cantidad de participantes en el conjunto de análisis de seguridad como denominador. Los eventos adversos se codificaron a SOC y PT con MedDRA 22.1. La gravedad de los AE se registró con CTCAE 5.0. Un TEAE se definió como cualquier evento con una fecha de inicio al momento de la primera dosis del tratamiento del estudio o después de esta hasta el final del estudio o cualquier evento en curso cuya gravedad haya empeorado después de la fecha de la primera dosis del tratamiento del estudio hasta el final del estudio.

[0046] La Figura 32 muestra el Estudio JZP458-201 – Resumen de eventos adversos emergentes del tratamiento en la Cohorte 1c (conjunto de análisis de seguridad; fecha de corte de datos: 11 de enero de 2021) como se analiza en los Ejemplos 10 y 11. Abreviaturas: CTCAE = criterios de terminología común para eventos adversos; IM = intramuscular; MedDRA = diccionario médico para actividades regulatorias; PT = término preferido; SOC = clasificación del sistema orgánico. TEAE = evento adverso emergente del tratamiento. Los porcentajes se calcularon con la cantidad de participantes en el conjunto de análisis de seguridad como denominador. Los eventos adversos se codificaron a SOC y PT con MedDRA 22.1. La gravedad de los AE se registró con CTCAE 5.0. Un TEAE se definió como cualquier evento con una fecha de inicio al momento de la primera dosis del tratamiento del estudio o después de esta hasta el final del estudio o cualquier evento en curso cuya gravedad haya empeorado después de la fecha de la primera dosis del tratamiento del estudio hasta el final del estudio.

[0047] La Figura 33A, la Figura 33B y la Figura 33C muestran una actualización del Estudio JZP458-201 – Características demográficas y de referencia (conjunto de análisis de seguridad de fecha 19 de julio de 2021) como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: ALL = leucemia linfoblástica aguda; B ALL = leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B; B LBL = linfoma linfoblástico de linfocitos B; BSA = área de superficie corporal; IM = intramuscular; LBL = linfoma linfoblástico; T ALL = leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T; linfoma linfoblástico de linfocitos T; T LBL = linfoma linfoblástico de linfocitos T. Los porcentajes se calcularon con la cantidad de

participantes en el conjunto de análisis de seguridad como denominador. El tiempo desde el diagnóstico se calcula tomando el número entero de '[(Día 1 del estudio - Fecha de diagnóstico + 1)/365,25]*12'. Valor inicial se define como el último valor no faltante obtenido en o antes de la fecha y/o hora de inicio de la primera dosis de JZP-458 (Día 1 del estudio). El día 1 del estudio se define como la fecha de la primera dosis de JZP-458.

[0048] La Figura 34 muestra una actualización del Estudio JZP458-201 – Resumen de los resultados de la actividad de asparaginasa sérica (IU/ml) con JZP-458 (intramuscular e intravenosa) en el Tratamiento 1 (conjunto de análisis de eficacia de fecha 19 de julio de 2020) como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: CI = intervalo de confianza; IM = intramuscular; IV = intravenoso; MW= lunes, miércoles; MWF = lunes, miércoles, viernes; Q1 = primer cuartil; Q3 = tercer cuartil; NSAA = nadir de actividad de asparaginasa sérica; SAA = actividad de asparaginasa sérica. El Conjunto de análisis de eficacia incluye participantes que recibieron al menos 1 dosis de JZP-458, con al menos una evaluación de NSAA de 48 horas o 72 horas realizada dentro del período de recolección de muestras definido por protocolo ($\pm$ 2 horas) en el Tratamiento 1.

[0049] La Figura 35 muestra una actualización del Estudio JZP458-201 – Correlación entre la concentración de asparaginasa sérica y la actividad de asparaginasa sérica para JZP-458 intramuscular e intravenoso en el Tratamiento 1 (conjunto de análisis farmacocinético de fecha 19 de julio de 2021) como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: IM = intramuscular; IV = intravenoso; PK = farmacocinética; SAA = actividad de asparaginasa sérica; SAC = concentración de asparaginasa sérica.

[0050] La Figura 36A y la Figura 36B muestran una actualización del Estudio JZP458-201 – Perfiles de media de actividad de asparaginasa sérica en función del tiempo para una media de niveles correspondientes de L-asparagina plasmática con JZP-458 intramuscular e intravenoso en el Tratamiento 1 en escalas lineales y semilogarítmicas (conjunto de análisis farmacocinético de fecha 19 de julio de 2021) como se describe en el Ejemplo 12.

[0051] La Figura 37A, la Figura 37B y la Figura 37C muestran una actualización del Estudio JZP458-201 – Perfiles de media de actividad de asparaginasa sérica en función del tiempo para una media de niveles correspondientes de L-glutamina plasmática con JZP-458 intramuscular e intravenoso en el Tratamiento 1 en escalas

lineales y semilogarítmicas (conjunto de análisis farmacocinético de fecha 19 de julio de 2021). Abreviaturas: FMW = viernes, lunes, miércoles; IM = intramuscular; IV = intravenoso; MWF = lunes, miércoles, viernes; PD = farmacodinámica; SAA = actividad de asparaginasa sérica; WFM = miércoles, viernes, lunes. Límite inferior de cuantificación (LLOQ): SAA 0,0350 IU/ml, L-glutamina = 0,250 µg/ml. Los valores por debajo del LLOQ se establecieron en 0. Para el gráfico semilogarítmico, solo SAA en una escala semilogarítmica. Si la media es 0, el valor parecerá ausente en el gráfico semilogarítmico porque la escala no está definida en 0.

[0052] La Figura 38 muestra la proporcionalidad a la dosis de JZP-458 como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: AUC = área bajo la curva de concentración-tiempo; C_{máx} = SAA máxima; C_{máx,6} = SAA máxima después de la sexta dosis durante el Tratamiento 1; DP = producto farmacológico

[0053] La Figura 39 muestra la acumulación de JZP-458 como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: C_{máx} = SAA máxima; C_{máx,6} = SAA máxima después de la sexta dosis durante el Tratamiento 1.

[0054] La Figura 40 muestra la estrategia de pruebas de inmunogenicidad en niveles indicada en el Ejemplo 12. Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; NR = no reactivo.

[0055] Figura 41 Estudio JZP458-201 – Cantidad máxima de tratamientos con la colección de anticuerpos antifármaco (fecha de corte de los datos: 19 de julio de 2021) como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; IM = intramuscular; IV = intravenoso; MWF = lunes, miércoles, viernes.

[0056] La Figura 42A y la Figura 42B muestran el Estudio JZP458-201 – Resumen de los niveles de SAA en participantes ADA+ que tenían al menos 1 nivel de SAA <0,1 IU/ml en el Tratamiento 1 al 19 de julio de 2021 como se describe en el Ejemplo 12. Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; BLQ = por debajo del límite de cuantificación; FMW = viernes, lunes, miércoles; h = hora; MWF = lunes, miércoles, viernes; N/A = no aplicable; SAA = actividad de asparaginasa sérica.

[0057] La Figura 43 muestra el resumen de los resultados de inmunogenicidad descritos en el Ejemplo 12. Abreviaturas: ADA = anticuerpo antifármaco; IM = intramuscular; IV = intravenoso; NAb = anticuerpo neutralizante.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0058] Las L-asparaginases de origen bacteriano tienen un alto potencial inmunógeno y antigénico. Estos productos pueden provocar reacciones adversas de

hipersensibilidad, que incluyen reacciones alérgicas, inactivación silenciosa y choque anafiláctico en los pacientes. Las L-asparaginasa son enzimas con actividad de L-asparagina aminohidrolasa. La actividad enzimática de L-asparaginasa puede incluir no solo la desamidación de asparagina a ácido aspártico y amoníaco, sino también la desamidación de glutamina a ácido glutámico y amoníaco. Las L-asparaginasa de *E. coli* y *Erwinia chrysanthemi* se usan habitualmente para tratar diversas enfermedades tratadas mediante la disminución de asparagina, incluso ALL y LBL. Si bien las células sanas pueden producir asparagina, algunas células enfermas son incapaces de producir asparagina porque carecen de asparagina sintetasa. Cuando se administra una L-asparaginasa a un paciente enfermo, la L-asparaginasa reduce los niveles de asparagina soluble, lo cual deja a las células enfermas sin sustento pero no hace lo mismo con las células sanas, y conduce a la inactivación selectiva de las células enfermas. Los anticuerpos desarrollados después del tratamiento con L-asparaginasa de *E. coli* no reaccionan de manera cruzada con la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*. Las L-asparaginasa producidas en *Erwinia chrysanthemi* requieren largos períodos de preparación para su elaboración (por ejemplo, Erwinase®). La presente invención comprende regímenes de dosis nuevos y mejorados para L-asparaginasa que no reaccionan de manera cruzada con L-asparaginasa de *E. coli* y proporciona las mejoras con respecto a la L-asparaginasa derivada de *E. coli* y la L-asparaginasa derivada de *Erwinia chrysanthemi*. Estas mejoras se describen en la presente.

I. Definiciones

[0059] A menos que se definan expresamente de otro modo, los términos y expresiones usados en la presente se entenderán con su significado habitual en la técnica.

[0060] Como se usa en la presente, la expresión “enfermedad tratable mediante la disminución de asparagina” se refiere a una afección o trastorno en donde las células implicadas en, o responsables de, la afección o trastorno tienen menor capacidad, o ninguna en absoluto, para sintetizar L-asparagina. La disminución o la privación de L-asparagina puede ser parcial o sustancialmente completa (por ejemplo, hasta niveles que sean indetectables a través del uso de métodos y aparatos conocidos en la técnica).

[0061] Como se usa en la presente, la expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad necesaria de una proteína (por ejemplo, asparaginasa o L-

asparaginasa recombinante de esta) para producir un efecto terapéutico deseado.

[0062] La expresión “que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1” significa que la secuencia de aminoácidos de la proteína puede no limitarse estrictamente a SEQ ID NO: 1, sino que puede contener aminoácidos adicionales.

[0063] El término “sujeto” o “paciente” significa un animal, un mamífero o incluso un paciente humano.

[0064] La expresión “célula huésped o huésped no humano transformado con el vector” se refiere a una célula huésped o un huésped no humano que comprenda el vector o el ácido nucleico como se describe en la presente. Las células huésped para la expresión de polipéptidos son bien conocidas en la técnica y comprenden células procariotas y células eucariotas. En la técnica se conocen medios de cultivo y condiciones adecuados para las células huésped descritas anteriormente.

[0065] “Cultivar el huésped o la célula huésped” incluye la expresión de una proteína, incluso una proteína de fusión, como se define en la presente y/o el polipéptido como se define en la presente y/o la asparaginasa en el huésped o la célula huésped.

[0066] Como se usa en la presente, la expresión “alrededor de” que modifica, por ejemplo, las dimensiones, volúmenes, cantidad de un ingrediente en una composición, concentraciones, temperatura de proceso, tiempo de proceso, rendimientos, velocidades de flujo, presiones y valores similares, y rangos de estos, se refiere se refiere a una variación en la cantidad numérica que puede ocurrir, por ejemplo, a través de procedimientos típicos de medición y manipulación utilizados para elaborar compuestos, composiciones, concentrados o formulaciones de uso; a través de diferencias en la elaboración, fuente o pureza de los materiales de inicio o ingredientes utilizados para llevar a cabo los métodos; y consideraciones similares. La expresión “alrededor de” también abarca cantidades que difieren debido al envejecimiento de, por ejemplo, una composición, formulación o cultivo celular con una concentración o mezcla inicial particular, y cantidades que difieren debido a la mezcla o procesamiento de una composición o formulación con una concentración o mezcla inicial particular. Estén o no modificadas por la expresión “alrededor de”, las reivindicaciones adjuntas a la presente incluyen equivalentes de estas cantidades. La expresión “alrededor de” puede referirse además a un rango de valores que sean similares al valor de referencia indicado. En ciertas formas de realización, la expresión “alrededor de” se refiere a un rango de valores que se encuentran dentro de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1

por ciento o menos del valor de referencia indicado.

[0067] Las expresiones “coadministración”, “coadministrar”, “administrado en combinación con”, “administrar en combinación con”, “simultáneo” y “concurrente”, como se usan en la presente, abarcan la administración de dos o más ingredientes farmacéuticos activos a un sujeto humano de modo que ambos ingredientes farmacéuticos activos y/o sus metabolitos estén presentes en el sujeto humano al mismo tiempo. Coadministración incluye la administración simultánea en composiciones separadas, la administración en diferentes momentos en composiciones separadas o la administración en una composición en la que están presentes dos o más ingredientes farmacéuticos activos. Los métodos de la invención también abarcan la administración simultánea en composiciones separadas y la administración en una composición en la que están presentes ambos agentes.

[0068] Como se usa en la presente, la expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad necesaria de una proteína (por ejemplo, L-asparaginasa recombinante o un conjugado de esta) para producir un efecto terapéutico deseado.

[0069] Las expresiones “L-asparaginasa derivada de *E. coli*”, “L-asparaginasa de *E. coli*”, “asparaginasa de *E. coli*” y “L-asparaginasa de *E. coli*” se usan indistintamente para referirse a una asparaginasa producida nativamente en *E. coli*.

[0070] Las expresiones “L-asparaginasa derivada de *Erwinia*”, “asparaginasa de *Erwinia*”, “L-asparaginasa de *Erwinia*”, “asparaginasa de *Erwinia*”, “L-asparaginasa de *Erwinia*” y “asparaginasa de *Erwinia*” se usan indistintamente en la presente para referirse a una asparaginasa producida nativamente en *Erwinia*.

[0071] Las expresiones “L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*”, “*Erwinia chrysanthemi* L-asparaginasa” y “L-asparaginasa derivada de *Erwinia chrysanthemi*” se usan indistintamente para referirse a una asparaginasa producida de manera nativa en *Erwinia chrysanthemi*. *Erwinia chrysanthemi* (también denominado *Pectobacterium chrysanthemi*) recibió una nueva denominación, *Dickeya chrysanthemi*. Por lo tanto, las expresiones *Erwinia chrysanthemi*, *Pectobacterium chrysanthemi* y *Dickeya chrysanthemi* se usan indistintamente en la presente.

[0072] Erwinaze® (solicitud de licencia biológica 125359) es un producto de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* tipo II aprobado comercialmente en los Estados Unidos para el tratamiento de ALL en los pacientes. Su ingrediente activo es la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* tipo II (ver el prospecto de Erwinaze®, incorporado en la presente por referencia).

[0073] El término “homología” y la expresión “identidad de secuencia” se usan indistintamente en la presente. Porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos, con respecto a una secuencia de proteínas, se define como el porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia específica (parental), luego de alinear las secuencias e introducir espacios, de ser necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia, sin tener en cuenta sustitución conservadora alguna como parte de la identidad de secuencia. La alineación para determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos se puede lograr de diversas maneras conocidas por las personas del oficio de nivel medio, por ejemplo, mediante el uso de un *software* informático disponible públicamente tal como el *software* BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Las personas del oficio de nivel medio pueden determinar los parámetros adecuados para medir la alineación, que incluyen cualesquier algoritmos necesarios para lograr la alineación máxima en la longitud total de las secuencias que se comparan. Un programa particular es el programa ALIGN-2 descrito en los párrafos [0279] a [0280] de la publicación estadounidense N.º 20160244525, incorporada en la presente por referencia. El grado de identidad entre una secuencia de aminoácidos de la presente invención (“secuencia de la invención”) y la secuencia de aminoácidos parental se calcula como la cantidad de coincidencias exactas en una alineación de las dos secuencias, dividida por la longitud de la “secuencia de la invención” o la longitud de la secuencia parental, la que sea más corta. El resultado se expresa en porcentaje de identidad. En algunas formas de realización, dos o más secuencias de aminoácidos son al menos 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o 90 % idénticas. En algunas formas de realización, dos o más secuencias de aminoácidos son al menos 95 %, 97 %, 98 %, 99 % o incluso 100 % idénticas.

[0074] La expresión “dos días”, como se usa en el contexto de dosificación, se refiere a una cantidad de tiempo entre una primera dosis y una segunda dosis, donde la segunda dosis se administra después de la primera dosis. Por ejemplo, si la primera dosis se administra el lunes de una semana dada, una segunda dosis administrada dos días después de la primera dosis se administraría el miércoles de la semana dada. La expresión “dos días” abarca situaciones en las que la primera dosis se administra a la misma hora del día que la segunda dosis, así como situaciones en las que la primera dosis se administra a una hora diferente del día que la segunda dosis. Entonces, en el ejemplo anterior, donde la primera dosis se administra el lunes y la

segunda dosis se administra el miércoles de una semana dada, la primera dosis podría administrarse temprano en la mañana del lunes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la tarde o noche del miércoles de la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “dos días”. Por el contrario, la primera dosis podría administrarse a la tarde o noche del lunes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la mañana del miércoles de la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “dos días”.

[0075] La expresión “tres días”, como se usa en el contexto de dosificación, se refiere a una cantidad de tiempo entre una primera dosis y una segunda dosis, donde la segunda dosis se administra después de la primera dosis. Por ejemplo, si la primera dosis se administra el viernes de una semana dada, una segunda dosis administrada tres días después de la primera dosis se administraría el lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada. La expresión “tres días” abarca situaciones en las que la primera dosis se administra a la misma hora del día que la segunda dosis, así como situaciones en las que la primera dosis se administra a una hora diferente del día que la segunda dosis. Entonces, en el ejemplo anterior, donde la primera dosis se administra el viernes de la semana dada y la segunda dosis se administra el lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, la primera dosis podría administrarse temprano en la mañana del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la tarde o noche del lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “tres días”. Por el contrario, la primera dosis podría administrarse a la tarde o noche del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la mañana del lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “tres días”.

[0076] La expresión “siete días”, como se usa en el contexto de dosificación, se refiere a una cantidad de tiempo entre una primera dosis y una segunda dosis, donde la segunda dosis se administra después de la primera dosis. Por ejemplo, si la primera dosis se administra el viernes de una semana dada, una segunda dosis administrada siete días después de la primera dosis se administraría el viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada. La expresión “siete días” abarca situaciones en las que la primera dosis se administra a la misma hora del día que la segunda dosis, así como situaciones en las que la primera dosis se administra a una hora diferente del día que la segunda dosis. Entonces, en el ejemplo anterior, donde la

primera dosis se administra el viernes de una semana dada y la segunda dosis se administra el viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, la primera dosis podría administrarse temprano en la mañana del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la tarde o noche del viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “siete días”. Por el contrario, la primera dosis podría administrarse a la tarde o noche del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la mañana del viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “siete días”.

[0077] La expresión “alrededor de 48 horas”, como se usa en el contexto de dosificación, se refiere a una cantidad de tiempo entre una primera dosis y una segunda dosis, donde la segunda dosis se administra después de la primera dosis. Por ejemplo, si la primera dosis se administra el lunes de una semana dada, una segunda dosis administrada alrededor de 48 horas después de la primera dosis se administraría el miércoles de la semana dada. La expresión “alrededor de 48 horas” abarca situaciones en las que la primera dosis se administra a la misma hora del día que la segunda dosis, así como situaciones en las que la primera dosis se administra a una hora diferente del día que la segunda dosis. Entonces, en el ejemplo anterior, donde la primera dosis se administra el lunes y la segunda dosis se administra el miércoles de una semana dada, la primera dosis podría administrarse temprano en la mañana del lunes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la tarde o noche del miércoles de la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “alrededor de 48 horas”. Por el contrario, la primera dosis podría administrarse a la tarde o noche del lunes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la mañana del miércoles de la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “alrededor de 48 horas”.

[0078] La expresión “alrededor de 72 horas”, como se usa en el contexto de dosificación, se refiere a una cantidad de tiempo entre una primera dosis y una segunda dosis, donde la segunda dosis se administra después de la primera dosis. Por ejemplo, si la primera dosis se administra el viernes de una semana dada, una segunda dosis administrada alrededor de 72 horas después de la primera dosis se administraría el lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada. La expresión “alrededor de 72 horas” abarca situaciones en las que la primera dosis se administra a la misma hora del día que la segunda dosis, así como situaciones en las

que la primera dosis se administra a una hora diferente del día que la segunda dosis. Entonces, en el ejemplo anterior, donde la primera dosis se administra el viernes de la semana dada y la segunda dosis se administra el lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, la primera dosis podría administrarse temprano en la mañana del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la tarde o noche del lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “alrededor de 72 horas”. Por el contrario, la primera dosis podría administrarse a la tarde o noche del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la mañana del lunes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “alrededor de 72 horas”.

[0079] La expresión “alrededor de 168 horas”, como se usa en el contexto de dosificación, se refiere a una cantidad de tiempo entre una primera dosis y una segunda dosis, donde la segunda dosis se administra después de la primera dosis. Por ejemplo, si la primera dosis se administra el viernes de una semana dada, una segunda dosis administrada alrededor de 168 horas después de la primera dosis se administraría el viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada. La expresión “alrededor de 168 horas” abarca situaciones en las que la primera dosis se administra a la misma hora del día que la segunda dosis, así como situaciones en las que la primera dosis se administra a una hora diferente del día que la segunda dosis. Entonces, en el ejemplo anterior, donde la primera dosis se administra el viernes de una semana dada y la segunda dosis se administra el viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, la primera dosis podría administrarse temprano en la mañana del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la tarde o noche del viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “alrededor de 168 horas”. Por el contrario, la primera dosis podría administrarse a la tarde o noche del viernes de la semana dada, y la segunda dosis podría administrarse a la mañana del viernes de la semana inmediatamente posterior a la semana dada, y aún estar dentro del alcance de la expresión “alrededor de 168 horas”.

II. L-asparaginasa recombinante

[0080] En un aspecto, una L-asparaginasa recombinante de acuerdo con la divulgación proporcionada en la presente es una L-asparaginasa. En un aspecto adicional, una L-asparaginasa recombinante de acuerdo con la invención descrita en la

presente es una enzima con actividad de L-asparagina aminohidrolasa. La actividad enzimática de tal L-asparaginasa recombinante puede incluir no solo la desamidación de asparagina a ácido aspártico y amoníaco, sino también la desamidación de glutamina a ácido glutámico y amoníaco.

[0081] En algunas formas de realización, una L-asparaginasa recombinante como se divulga en la presente es activa como multímero. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es una enzima activa como un tetrámero. Un tetrámero está compuesto por cuatro subunidades (también denominadas monómeros). En algunas formas de realización, una L-asparaginasa recombinante es un tetrámero que consiste en cuatro subunidades idénticas de 35 kD. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es una proteína terapéutica tetramérica sin puente de disulfuro. En una forma de realización particular, cada una de las subunidades o monómeros de una L-asparaginasa recombinante multimérica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En una forma de realización particular, cada una de las subunidades o monómeros de una L-asparaginasa recombinante tetramérica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. En otra forma de realización, la L-asparaginasa es de *Erwinia chrysanthemi* NCPPB 1066 (N.º de acceso de GenBank CAA32884, incorporado en la presente por referencia en su totalidad), con o sin péptidos señal y/o secuencias líder.

[0082] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante está compuesta por múltiples subunidades, por ejemplo, cuatro subunidades o monómeros (tetrámero). Una proteína recombinante modificada correspondiente puede entonces consistir en, por ejemplo, de 1 a 20 (o más) péptidos conjugados con cada uno de los monómeros de ese tetrámero. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante comprende un monómero y 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, y 20 (o más) péptidos conjugados con cada uno de los monómeros de L-asparaginasa. En una forma de realización específica, la L-asparaginasa es un multímero que comprende múltiples subunidades o monómeros, tales como un tetrámero, y cada uno de los monómeros en ese tetrámero está conjugado con 1 péptido, lo que da como resultado un tetrámero que comprende 4 péptidos conjugados, uno para cada monómero. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero que comprende 1-4 péptidos conjugados con cada uno de los monómeros de L. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero que comprende 4-20 péptidos conjugados

con cada uno de los monómeros de L. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero que comprende 6-18 péptidos conjugados con cada uno de los monómeros de L. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero que comprende 6-18 péptidos conjugados con cada uno de los monómeros de L. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero que comprende 10-15 péptidos conjugados con cada uno de los monómeros de L.

[0083] En un aspecto, la invención se refiere a una proteína modificada que tiene una L-asparaginasa recombinante y múltiples secuencias de péptidos unidas químicamente. En un aspecto adicional, la longitud de las secuencias de péptidos es de alrededor de 10 a alrededor de 100, de alrededor de 15 a alrededor de 60 o de alrededor de 20 a alrededor de 40.

[0084] Los fragmentos de L-asparaginasa recombinante, preferentemente fragmentos de la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1, pueden ser de utilidad en la invención descrita en la presente. La expresión “un fragmento de L-asparaginasa recombinante” (por ejemplo, un fragmento de la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1) significa que la secuencia de la L-asparaginasa recombinante puede incluir menos aminoácidos que en las L-asparaginasas recombinantes ejemplificadas en la presente (por ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1) pero todavía suficientes aminoácidos para conferir actividad de L-aminohidrolasa. Por ejemplo, un “fragmento de L-asparaginasa recombinante” es un fragmento que es/consiste en al menos alrededor de 150 o 200 aminoácidos contiguos de una de las L-asparaginasas recombinantes ejemplificadas en la presente (por ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1) (por ejemplo, alrededor de 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326 aminoácidos contiguos) y/o en donde dicho fragmento tiene hasta 50 aminoácidos eliminados del terminal N de dichas L-asparaginasas recombinantes ejemplificadas en la presente (por ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1) (por ejemplo, hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50) y/o tiene hasta 75 o 100 aminoácidos eliminados del terminal C de dichas L-asparaginasas recombinantes ejemplificadas en la presente (por ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1) (por ejemplo, hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100) y/o tiene aminoácidos eliminados tanto en el terminal N como en

el terminal C de dichas L-asparaginasas recombinantes ejemplificadas en la presente (por ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de SEQ ID NO: 1), en donde la cantidad total de aminoácidos eliminados puede ser de hasta 125 o 150 aminoácidos.

[0085] De hecho, una persona del oficio de nivel medio entenderá cómo seleccionar y diseñar proteínas homólogas que conserven sustancialmente su actividad de L-asparaginasa. En general, se utiliza un ensayo de Nessler para la determinación de la actividad de la L-asparaginasa de acuerdo con un método descrito por (Mashburn, L., y Wriston, J. (1963) "Tumor Inhibitory Effect of L-Asparaginase", Biochem Biophys Res Commun 12, 50, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad).

[0086] En la técnica se conoce que un polipéptido se puede modificar mediante la sustitución, inserción, eliminación y/o adición de uno o más aminoácidos a la vez que conserva su actividad enzimática. En este contexto, la expresión "uno o más aminoácidos" se puede referir a uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más aminoácidos. Por ejemplo, la sustitución de un aminoácido en una posición determinada por un aminoácido químicamente equivalente que no afecta las propiedades funcionales de una proteína es común. Las sustituciones se pueden definir como intercambios dentro de uno de los siguientes grupos:

Pequeños residuos alifáticos, no polares o levemente polares: Ala, Ser, Thr, Pro, Gly

Residuos polares con carga negativa y sus amidas: Asp, Asn, Glu, Gln

Residuos polares con carga positiva: His, Arg, Lys

Residuos alifáticos no polares grandes: Met, Leu, Ile, Val, Cys

Residuos aromáticos grandes: Phe, Tyr, Trp.

[0087] Por lo tanto, se puede esperar que los cambios que dan como resultado la sustitución de un residuo con carga negativa por otro (tal como ácido glutámico por ácido aspártico) o un residuo con carga positiva por otro (tal como lisina por arginina) produzcan un producto funcionalmente equivalente.

[0088] Las posiciones en las que se modifican los aminoácidos y la cantidad de aminoácidos que pueden modificarse en la secuencia de aminoácidos no están particularmente limitadas. Las personas del oficio de nivel medio son capaces de reconocer las modificaciones que se pueden introducir sin afectar la actividad de la proteína. Por ejemplo, se puede esperar que las modificaciones en la porción del terminal N o C de una proteína no alteren la actividad de una proteína en ciertas circunstancias. Con respecto a las asparaginasas, en particular, se ha realizado

mucha caracterización, particularmente con respecto a las secuencias, estructuras y residuos que forman el sitio catalítico activo. Esto proporciona orientación con respecto a los residuos que pueden modificarse sin afectar la actividad de la enzima. Todas las L-asparaginasas conocidas de origen bacteriano tienen características estructurales comunes. Todos son homotetrámeros con cuatro sitios activos entre los dominios de terminal N y C de dos monómeros adyacentes (Aghaipoor (2001) *Biochemistry* 40, 5655-5664, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad). Todos tienen un alto grado de similitud en sus estructuras terciarias y cuaternarias (Papageorgiou (2008) *FEBS J.* 275, 4306-4316, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad). Las secuencias de los sitios catalíticos de las L-asparaginasas están altamente conservadas entre L-asparaginasa II de *Erwinia chrysanthemi*, *Erwinia carotovora*, y *E. coli* (Id). El bucle flexible del sitio activo contiene los residuos de los aminoácidos 14-33 y el análisis estructural muestra que Thr15, Thr95, Ser62, Glu63, Asp96, y Ala120 entran en contacto con el ligando (Id). Aghaipoor *et al.* realizaron un análisis detallado de los cuatro sitios activos de L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* al examinar estructuras cristalinas de alta resolución de la enzima en complejo con sus sustratos (Aghaipoor (2001) *Biochemistry* 40, 5655-5664). Kotzia *et al.* proporcionan secuencias para L-asparaginasas de diversas especies y subespecies de *Erwinia* y, aunque las proteínas tienen solamente alrededor de 75-77 % de identidad entre *Erwinia chrysanthemi* y *Erwinia carotovora*, cada una de ellas todavía tiene actividad de L-asparaginasa (Kotzia (2007) *J. Biotechnol.* 127, 657-669). Moola *et al.* llevaron a cabo estudios de mapeo de epítomos de la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* 3937 y pudieron retener la actividad enzimática incluso después de mutar diversas secuencias antigénicas en un intento de reducir la inmunogenicidad de la asparaginasa (Moola (1994) *Biochem. J.* 302, 921-927). En vista de la extensa caracterización que se ha llevado a cabo en L-asparaginasas, una persona del oficio de nivel medio podría determinar cómo realizar fragmentos y/o sustituciones de secuencias y aún mantener la actividad enzimática. Más específicamente, los fragmentos de la proteína de SEQ ID NO: 1 también están comprendidos en la definición de la proteína usada en la L-asparaginasa recombinante de la invención. La expresión “un fragmento de SEQ ID NO: 1” significa que la secuencia del polipéptido puede incluir menos aminoácidos que la SEQ ID NO: 1 de longitud completa pero sin dejar de retener una cantidad suficiente de la proteína para conferir actividad de L-aminohidrolasa. En algunas formas de realización, una L-

asparaginasa recombinante tiene al menos alrededor de 80 % de homología o identidad con la proteína que comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, una L-asparaginasa recombinante comprende una identidad de secuencia de al menos alrededor de 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1. El término “homología” y la expresión “identidad de secuencia” se usan indistintamente en la presente. La expresión “que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1” (por ejemplo, si la L-asparaginasa tiene 100 % de homología o identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1) significa que la secuencia de aminoácidos de la asparaginasa puede no limitarse estrictamente a SEQ ID NO: 1, sino que puede contener uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más aminoácidos adicionales.

[0089] SEQ ID NO: 1 es de la siguiente manera:

```
ADKLPNIVILATGGTIAGSAATGTQTTGYKAGALGVDTLI
NAVPEVKKLANVKGEQFSNMASENMTGDVVLKLSQRVNEL
LARDDVDGVVITHGTDVVEESAYFLHLTVKSDKPVVFVAA
MRPATAISADGPMNLLAVRVAGDKQSRGRGVMVVLNDRI
GSARYITKTNASTLDTFKANEEGYLGVIIGNRIYYQNRID
KLHTTRSVFDVRGLTSLPKVDILYGYQDDPEYLYDAAIQH
GVKGIVYAGMGAGSVSVRGIAGMRKAMEKGVVIRSTRTG
NGIVPPDEELPGLVSDSLNPAHARILLMLALTRTSDPKVI
QEYFHTY
```

[0090] La presente divulgación también se refiere a un ácido nucleico que codifica la L-asparaginasa recombinante descrita en la presente, particularmente un ácido nucleico que codifica la SEQ ID NO: 1 como se define en la presente.

A. PEGilación

[0091] En ciertos aspectos, la L-asparaginasa recombinante de la invención como se describe en la presente también comprende y/o está conjugada con un polímero. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante como se describe en la presente está conjugada con una porción polietilenglicol (PEG). En otras formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está conjugada con una porción PEG.

[0092] Los polímeros se seleccionan del grupo de polímeros solubles en agua no tóxicos, tales como polisacáridos, por ejemplo, almidón de hidroxietilo,

poliaminoácidos, por ejemplo, polilisina, poliéster, por ejemplo, ácido poliláctico y óxidos de polialquileno, por ejemplo, polietilenglicol (PEG). El polietilenglicol (PEG) o mono-metoxi-polietilenglicol (mPEG) es bien conocido en la técnica y comprende polímeros lineales y ramificados. A continuación se proporcionan ejemplos de algunos polímeros, particularmente PEG, cada uno de los cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad: patente estadounidense N.º 5.672.662; patente estadounidense N.º 4.179.337; patente estadounidense N.º 5.252.714; publicación de solicitud de patente estadounidense N.º 2003/0114647; patente estadounidense N.º 6.113,906; patente estadounidense N.º 7.419.600; patente estadounidense N.º 9,920.311, publicación PCT WO2019/109018, y publicación PCT N.º W02004/083258.

[0093] La calidad de tales polímeros se caracteriza por el índice de polidispersidad (PDI). El PDI refleja la distribución de pesos moleculares en una muestra de polímero dada y se calcula a partir del peso molecular promedio en peso dividido por el peso molecular promedio en número. Indica la distribución de pesos moleculares individuales en un lote de polímeros. El PDI tiene un valor que siempre es mayor que 1, pero, a medida que las cadenas de polímeros se acercan a la distribución gaussiana ideal (=monodispersión), el PDI se acerca a 1.

[0094] En una forma de realización, el conjugado tiene la siguiente fórmula: Asp-[NH--CO--CH.sub.2)x-CO--NH-PEG]n, en donde Asp es la L-asparaginasa recombinante, NH es uno o más de los grupos NH de los residuos de lisina y/o el terminal N de la Asp, PEG es una porción polietilenglicol, n es un número que representa de al menos alrededor de 40 % a alrededor de 100 % de los grupos amino accesibles (por ejemplo, residuos de lisina y/o el terminal N) en la Asp, y x es un número entero de alrededor de 1 a alrededor de 8, más específicamente, de alrededor de 2 a alrededor de 5. En una forma de realización específica, el PEG es monometoxi-polietilenglicol (mPEG).

B. PASilación

[0095] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante está conjugada con un péptido que contiene prolina o alanina. En otras formas de realización, la crisantaspasa recombinante no está conjugada con un péptido que contiene prolina, alanina o serina.

[0096] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es una proteína de fusión que comprende (i) una L-asparaginasa recombinante que tiene al menos 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %

de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y (ii) uno o más polipéptidos, en donde el polipéptido consiste solamente en residuos de aminoácidos de prolina y alanina.

[0097] En tales proteínas de fusión, los residuos de prolina en el polipéptido que consiste solamente en residuos de aminoácidos de prolina y alanina pueden constituir más de alrededor de 10 % y menos de alrededor de 70 % del polipéptido. En consecuencia, en tales proteínas de fusión, se puede preferir que de 10 % a 70 % de la cantidad total de residuos de aminoácidos en el polipéptido sean residuos de prolina; con mayor preferencia, de 20 % a 50 % de la cantidad total de residuos de aminoácidos comprendidos en el polipéptido son residuos de prolina; e, incluso con mayor preferencia, de 30 % a 40 % (por ejemplo, 30 %, 35 % o 40 %) de la cantidad total de residuos de aminoácidos comprendidos en el polipéptido son residuos de prolina. El polipéptido puede comprender una pluralidad de repeticiones de aminoácidos, en donde dicha repetición consiste en residuos de prolina y alanina y en donde no más de 6 residuos de aminoácidos consecutivos son idénticos. Particularmente, el polipéptido puede comprender o consistir en la secuencia de aminoácidos AAPAAPAAPAAPAAPAAP (SEQ ID NO: 2) o versiones permutadas circulares o (a) múltiplos de las secuencias como la totalidad o partes de la secuencia. En otras formas de realización, la L-asparaginasa recombinante carece específicamente de tal polipéptido, por ejemplo, la L-asparaginasa recombinante no está conjugada con un polipéptido que contiene los porcentajes o repeticiones descritos anteriormente de residuos de prolina.

[0098] La invención también se refiere a un ácido nucleico que codifica la L-asparaginasa recombinante, particularmente una proteína de fusión como se define en la presente. En algunas formas de realización, la secuencia de nucleótidos es una secuencia que codifica cualquiera de las L-asparaginasas recombinantes que comprende la SEQ ID NO: 1 y un polipéptido, en donde el polipéptido consiste solamente en residuos de aminoácidos de prolina y alanina, preferentemente en donde la proteína es una proteína de fusión descrita en la presente, excepto que se agrega, elimina, inserta o sustituye uno o más aminoácidos, siempre que la proteína de fusión que tiene esta secuencia de aminoácidos retenga la actividad de L-asparaginasa. En otras formas de realización, la secuencia de nucleótidos es una secuencia que codifica cualquier L-asparaginasa recombinante que comprende la SEQ ID NO: 1, en donde esa secuencia no está conjugada con (o no es parte de una secuencia que codifica

una proteína de fusión que contiene) un polipéptido que consiste solamente en residuos de aminoácidos de prolina y alanina.

[0099] La L-asparaginasa recombinante de acuerdo con la presente divulgación puede prepararse con métodos conocidos en la técnica, particularmente los métodos divulgados en la patente estadounidense N.º 10.174.302 y la solicitud de PCT N.º WO2019/109018, incorporadas en la presente por referencia para formas de realización de ejemplo.

C. Composiciones que comprenden L-asparaginasa recombinante

[00100] La presente divulgación también proporciona composiciones que comprenden una L-asparaginasa recombinante. Tales composiciones pueden incluir una L-asparaginasa recombinante en combinación con otros elementos (incluso, entre otros, amortiguadores, sales y excipientes). Tales composiciones pueden incluir vehículos para administrar L-asparaginasa a un sujeto, incluso, por ejemplo, partículas, polvos y encapsulación.

[00101] En algunas formas de realización, una L-asparaginasa recombinante descrita en la presente puede estar encapsulada. En algunos casos, la encapsulación de asparaginasa en eritrocitos puede servir para mejorar el índice terapéutico (D. Schrijvers *et al.*, Clin. Pharmacokinet. 2003, 42 (9): 779-791). Se describen métodos de encapsulación en, por ejemplo, EP1773452, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad y en particular para todas las enseñanzas relacionadas con la encapsulación de L-asparaginasa.

III. Aspectos funcionales y otras características de una L-asparaginasa recombinante y composiciones de esta

[00102] Como se apreciará, el análisis en la presente de aspectos funcionales y otras características de la L-asparaginasa recombinante también puede aplicar para composiciones que comprenden la L-asparaginasa recombinante de la invención reivindicada en la presente.

[00103] En algunos aspectos, una L-asparaginasa recombinante descrita en la presente puede provocar una respuesta inmunogénica menor en el paciente en comparación con una L-asparaginasa de tipo silvestre. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante descrita en la presente puede tener un mayor valor de AUC después de una sola dosis que la L-asparaginasa nativa. Estas características de la L-asparaginasa recombinante descrita en la presente son beneficiosas para un paciente que pueda haber tenido una hipersensibilidad anterior a

una L-asparaginasa de *E. coli* o una forma PEGilada de esta. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante descrita en la presente no genera ninguna respuesta significativa de anticuerpo durante un período particular de tiempo después de la administración de una sola dosis, por ejemplo, más de alrededor de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4, semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas o más. En un ejemplo, “no genera ninguna respuesta significativa de anticuerpo” significa que el sujeto que recibe la L-asparaginasa recombinante se identifica dentro de los parámetros reconocidos en la técnica como negativo para anticuerpo. Los niveles de anticuerpo pueden determinarse con métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, ensayos ELISA o de resonancia de plasmones superficiales (Zalewska-Szewczyk (2009) Clin. Exp. Med. 9, 113-116; Avramis (2009) Anticancer Research 29, 299-302, cada una de las cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad).

[00104] Las composiciones que comprenden la L-asparaginasa recombinante de la presente invención presentan una menor agregación en comparación con las que contienen Erwinase® y L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* expresada de manera recombinante en *E. coli*. En algunas formas de realización, las composiciones que comprenden la L-asparaginasa recombinante descrita en la presente demuestran una agregación reducida en comparación con las composiciones que contienen otras formas de L-asparaginasa. Por ejemplo, los procesos para elaborar una L-asparaginasa recombinante no conjugada de la presente invención dan como resultado una menor agregación que Erwinase® y la L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi* expresada de manera recombinante en *E. coli*. Por ejemplo, el proceso para elaborar lotes de Erwinase® da como resultado un producto con una agregación de alrededor de 6 % (ver el Ejemplo 5 y el Ejemplo 6). Los lotes de una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación tienen generalmente una agregación menor de alrededor de 1 % (ver el Ejemplo 5 y el Ejemplo 6).

[00105] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la divulgación tiene mayor pureza que otras L-asparaginasas. En algunas formas de realización, la pureza se mide al demostrar la cantidad de agregación en una muestra dada de una asparaginasa. La cantidad de agregación puede demostrarse con diversos métodos descritos en la técnica, incluso, entre otros, cromatografía de exclusión por tamaño (SEC-HPLC), cromatografía de exclusión por tamaño-cromatografía de líquidos de resolución ultraalta (SE-UHPLC), cromatografía de

exclusión por tamaño-dispersión de luz de múltiples ángulos (SEC MALLS), y ultracentrifugación analítica de velocidad de sedimentación (svAUC). En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 10 %, 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,2 %, 0,1 % o 0,01 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación observada en las composiciones que contienen la L-asparaginasa recombinante es menor de 1-10 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación observada en las composiciones que contienen la L-asparaginasa recombinante es menor de 10 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 9 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 8 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 7 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 6 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 5 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 4 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 3 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 2 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 1 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 0,5 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 0,25 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 0,2 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 0,1 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es menor de 0,01 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre 0,01 % y 10 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,01 % y alrededor de 9 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,01 % y alrededor de 8 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa

recombinante es de entre alrededor de 0,01 % y alrededor de 7 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,01 % y alrededor de 6 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,1 % y alrededor de 5 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,2 % y alrededor de 4 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,25 % y alrededor de 3 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de entre alrededor de 0,5 % y alrededor de 2 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de alrededor de 1 %. En algunas formas de realización, la cantidad de agregación de la L-asparaginasa recombinante es de 1 %.

[00106] Las personas del oficio de nivel medio saben que cantidades menores de agregación dan generalmente como resultado un producto con menor inmunogenicidad. La inmunogenicidad es un factor clave en la generación de eventos adversos en la clínica y está regulada por la Administración de Medicamentos Federal (FDA) (Ver U.S. Department of Health and Human Services, Guidance for Industry: Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products, 2014, páginas 15-17 de Quaternary Structure: Product Aggregates and Measurement of Aggregates, <https://www.fda.gov/media/85017/download>; ver también Ratanji *et al*; Immunogenicity of therapeutic proteins: Influence of Aggregation. *Journal of Immunotoxicology*, 2014; 11(2): 99-109; Wang *et al*; Immunogenicity of Protein Aggregates- Concerns and Realities, *International Journal of Pharmaceutics*, 2012, 431(1-2): 1-11; y Moussa *et al*, Immunogenicity of Therapeutic Protein Aggregates, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016; 105(2): 417-430).

[00107] Además, la agregación de proteínas se correlaciona con la actividad enzimática, ya que la agregación interfiere en la capacidad de funcionar de la enzima y también puede provocar una reducción del rendimiento total de enzima activa. La agregación de proteína genera desafíos en la elaboración y el desarrollo, y extiende el tiempo necesario para que los pacientes reciban los agentes terapéuticos y aumenta los costos. La crisantaspasa recombinante de la presente divulgación demuestra una menor agregación que otras L-asparaginasas de *Erwinia chrysanthemi* expresadas de manera recombinante en *E. coli* y L-asparaginasas derivadas de *Erwinia chrysanthemi*.

Estos aspectos de la L-asparaginasa recombinante hacen que sea una mejora en la técnica.

[00108] La L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación puede tener cualquier combinación de las propiedades en las secciones anteriores o cualquier otra propiedad descrita en la presente.

IV. Métodos para elaborar una L-asparaginasa recombinante

[00109] En algunas formas de realización, la crisantaspasa recombinante divulgada en la presente se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, el *Pseudomonas fluorescens* tiene deficiencia de L-asparaginasa nativa.

[00110] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona métodos para la producción citoplasmática de una L-asparaginasa recombinante en forma soluble con altos rendimientos, en donde la proteína recombinante se produce periplasmáticamente con menores rendimientos en su huésped nativo. En su huésped nativo, *Erwinia chrysanthemi*, la L-asparaginasa es producida en el periplasma. La presente invención proporciona métodos que permiten la producción de altos niveles de L-asparaginasa recombinante soluble y/o activa en el citoplasma de la célula huésped. En formas de realización, los métodos proporcionados en la presente proporcionan altos niveles de L-asparaginasa recombinante soluble y/o activa en el citoplasma de una célula huésped de *Pseudomonadales*, *Pseudomonad*, *Pseudomonas* o *Pseudomonas fluorescens*.

[00111] Se describen métodos que pueden usarse para elaborar una L-asparaginasa recombinante en, por ejemplo, la publicación estadounidense 2019/0127742, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad para todos los fines y en particular para todas las enseñanzas relacionadas con métodos de elaboración de L-asparaginasa recombinante. Métodos adicionales para aislar y/o desarrollar L-asparaginasa para su uso en los métodos descritos en la presente incluyen WO 2011/003886A1, WO 2018/234492A1, WO 2019/109018, WO 2021/078988 y PCT/US2021/032627, presentadas el 14 de mayo de 2021, cada una de las cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad para todos los fines y en particular para todas las enseñanzas relacionadas con métodos de elaboración y desarrollo de L-asparaginasa.

V. Métodos de tratamiento y uso de la proteína asparaginasa recombinante

A. Enfermedades o trastornos

[00112] La L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede utilizar en el tratamiento de una enfermedad en un sujeto humano, donde la enfermedad se puede tratar mediante la disminución de asparagina. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede utilizar en el tratamiento del cáncer. En algunas formas de realización, el sujeto humano, antes de la administración de la L-asparaginasa recombinante, ha padecido una inactivación silenciosa de la asparaginasa derivada de *E. Coli*. En algunas formas de realización, el sujeto, antes de la administración de la L-asparaginasa, ha padecido una reacción alérgica a la asparaginasa derivada de *E. Coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano, antes de la administración de la L-asparaginasa recombinante, ha padecido anafilaxis a la asparaginasa derivada de *E. Coli*. Ejemplos no limitativos de signos objetivos de alergia o hipersensibilidad incluyen la prueba de “anticuerpo positivo” para una enzima asparaginasa.

[00113] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede utilizar en el tratamiento del cáncer. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación es útil en el tratamiento o la elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda (ALL). La incidencia de recidiva en pacientes con ALL después del tratamiento con L-asparaginasa sigue siendo alta; aproximadamente entre el 10 y el 25 % de los pacientes pediátricos con ALL tienen una recidiva temprana (por ejemplo, algunos durante la fase de mantenimiento entre 30 y 36 meses después de la inducción). Si un paciente tratado con L-asparaginasa derivada de *E. Coli* tiene una recidiva, el tratamiento posterior con preparaciones de *E. Coli* podría provocar un efecto de “vacunación”, por medio del cual la preparación de *E. Coli* tiene una mayor inmunogenicidad durante las administraciones posteriores. En una forma de realización, la L-asparaginasa recombinante de la invención se puede usar en un método para tratar pacientes con ALL recidivante que se trataron previamente con otras preparaciones de asparaginasa, en particular aquellos que se trataron previamente con asparaginasas derivadas de *E. Coli*. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con ALL recidivante se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con ALL recidivante no se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con ALL recidivante se conjuga con un péptido

que contiene prolina o alanina. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con ALL recidivante no se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina.

[00114] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación es útil en el tratamiento o la elaboración de un medicamento para usar en el tratamiento de linfoma linfoblástico (LBL). De manera similar a los pacientes con ALL, en algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con LBL recidivante se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con LBL recidivante no se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con LBL recidivante se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con LBL recidivante no se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina.

[00115] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se utiliza en el tratamiento o la elaboración de un medicamento para utilizar en el tratamiento contra el cáncer colorrectal (CRC). En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con CRC se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con CRC no se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con CRC se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con CRC no se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina. En algunas formas de realización, el CRC es CRC Wnt negativo CRC. En algunas formas de realización, el CRC es CRC con mutación de Wnt.

[00116] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación es útil en el tratamiento o la elaboración de un medicamento para su uso en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (AML). En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con AML se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con AML no se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con AML se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina. En

algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con AML no se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina. En algunas formas de realización, la AML es leucemia mieloide aguda recidivante/refractaria (AML R/R).

[00117] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación es útil en el tratamiento o la elaboración de un medicamento para usar en el tratamiento de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con DLBCL se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con DLBCL no se conjuga con una porción PEG. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con DLBCL se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante administrada al paciente con DLBCL no se conjuga con un péptido que contiene prolina o alanina.

[00118] Las enfermedades o los trastornos en los que la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación es útil en el tratamiento incluyen, entre otros, los siguientes: neoplasias o tipos de cáncer, incluidos, entre otros, neoplasias hematológicas, linfoma, linfoma no Hodgkin, linfoma NK, cáncer de páncreas, enfermedad de Hodgkin, linfoma inmunoblástico de células grandes, leucemia promielocítica aguda, leucemia mielocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia monocítica aguda, leucemia aguda de linfocitos T, leucemia mieloide aguda (AML), leucemia mielomonocítica bifenotípica de linfocitos B, leucemia linfocítica crónica, linfoma, reticulosarcoma y melanoma, y linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). Otras enfermedades o trastornos en los que la de L-asparaginasa recombinante es útil en el tratamiento son tipos de cáncer que incluyen, entre otros, carcinoma de células renales, adenocarcinoma de células renales, glioblastoma que incluye glioblastoma multiforme y astrocitoma de glioblastoma, meduloblastoma, rabdomiosarcoma, melanoma maligno, carcinoma epidermoide, carcinoma de células escamosas, carcinoma de pulmón que incluye carcinoma de pulmón de células grandes y carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de endometrio, adenocarcinoma de ovario, tetratocarcinoma de ovario, adenocarcinoma de cuello uterino, carcinoma de mama, adenocarcinoma de mama, carcinoma ductal de mama, adenocarcinoma de páncreas, carcinoma ductal de páncreas, carcinoma de colon,

adenocarcinoma de colon, adenocarcinoma colorrectal, carcinoma de células transicionales de vejiga, papiloma de vejiga, carcinoma de próstata, osteosarcoma, carcinoma epiteloide del hueso, carcinoma de próstata y cáncer de tiroides. El tipo de cáncer puede ser un tipo de cáncer sólido, por ejemplo, cáncer de pulmón o cáncer de mama. Las enfermedades hematológicas no malignas representativas que responden a la disminución de la asparagina incluyen enfermedades sanguíneas mediadas por el sistema inmunitario que incluyen, entre otras, enfermedades infecciosas tales como las causadas por la infección por VIH (es decir, SIDA). Las enfermedades no hematológicas asociadas con la dependencia de la asparagina incluyen enfermedades autoinmunitarias, por ejemplo, artritis reumatoide, enfermedades vasculares del colágeno, SIDA, osteoartritis, síndrome de Issac, psoriasis, diabetes mellitus insulino dependiente, esclerosis múltiple, panencefalitis esclerosante, lupus eritematoso sistémico (SLE), fiebre reumática, enfermedad inflamatoria intestinal (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), cirrosis biliar primaria, hepatitis crónica activa, glomerulonefritis, miastenia gravis, pénfigo vulgar y enfermedad de Graves. Las células sospechosas de causar enfermedades pueden analizarse para determinar la dependencia de asparagina en cualquier ensayo *in vitro* o *in vivo* adecuado, por ejemplo, un ensayo *in vitro* en donde el medio de crecimiento carece de asparagina.

[00119] Las enfermedades o los trastornos en los que la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación es útil en el tratamiento incluyen sarcoma, cáncer de mama, cáncer de mama metastásico, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer colorrectal y cáncer de cabeza y cuello.

B. Métodos para evaluar la dependencia de asparagina

[00120] Las células sospechosas de causar enfermedades pueden analizarse para determinar la dependencia de asparagina en cualquier ensayo *in vitro* o *in vivo* adecuado, por ejemplo, un ensayo *in vitro* en donde el medio de crecimiento carece de asparagina. Por lo tanto, en algunas formas de realización, la presente divulgación se dirige a un método para tratar una enfermedad tratable en un paciente, donde el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de una L-asparaginasa recombinante de la invención. En una forma de realización específica, la enfermedad es ALL. En una forma de realización específica, la enfermedad es LBL. En una forma de realización particular, la L-asparaginasa recombinante utilizada en el tratamiento de una enfermedad tratable mediante disminución de asparagina comprende la secuencia

de SEQ ID NO:1. En una forma de realización adicional, la L-asparaginasa recombinante no está conjugada con un polímero tal como PEG.

C. métodos para evaluar nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA)

[00121] Los ensayos para medir nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) en sujetos humanos se pueden llevar a cabo para la evaluación del sujeto humano. En algunas formas de realización, se toma una muestra de suero del sujeto humano para evaluar el NSAA. En algunas formas de realización, se toma una muestra de sangre entera del sujeto a fin de evaluar el NSAA. En algunas formas de realización, la evaluación del NSAA tiene lugar antes de que se administre al paciente la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la evaluación del NSAA tiene lugar después de que se administre al paciente la L-asparaginasa recombinante.

D. Línea de tratamiento

[00122] Un tratamiento de primera línea es el primer tratamiento administrado para una enfermedad. Un tratamiento de primera línea puede ser una monoterapia o un conjunto estándar de tratamientos.

[00123] Un tratamiento de segunda línea puede ser una monoterapia o un conjunto estándar de tratamientos. Un tratamiento de segunda línea es un tratamiento administrado después de que un primer tratamiento falla, pierde su efecto (ya sea parcial o totalmente), tiene efectos secundarios que no son tolerados, el paciente elige suspender el primer tratamiento por cualquier razón, o surge un nuevo tratamiento que puede tener un mejor resultado que el tratamiento presente. En algunas formas de realización, el tratamiento de segunda línea se puede administrar al sujeto humano además del tratamiento de primera línea para resultados adicionales o sinérgicos beneficiosos.

[00124] Las líneas adicionales de tratamiento, que incluyen tercera, cuarta, quinta y sexta línea, y cualquier línea adicional de tratamiento se definen de manera similar a los tratamientos de segunda línea, pero en este caso los tratamientos de primera y segunda líneas fallan, pierden su efecto (ya sea parcial o totalmente), tienen efectos secundarios que no son tolerados, el paciente elige suspender la primera y/o segunda líneas de tratamiento por cualquier razón, surge un nuevo tratamiento que puede tener un mejor resultado que el tratamiento de primera y segunda líneas, o cualquier combinación de estas razones. Las líneas de tratamiento adicionales pueden ser una

monoterapia o un conjunto estándar de tratamientos. En algunas formas de realización, las líneas adicionales de tratamiento se pueden administrar al sujeto humano además de la primera y/o segunda línea de tratamiento para resultados adicionales o sinérgicos beneficiosos.

[00125] En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administrará como un tratamiento de primera línea. En otras formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes, en particular, pacientes con ALL y LBL, en los que se desarrollaron signos objetivos de alergia o hipersensibilidad, que incluyen “activación silenciosa”, a otras preparaciones de asparaginasa, en particular, la L-asparaginasa nativa derivada de *Escherichia coli* o su variante PEGilada (pegaspargasa). Ejemplos no limitativos de signos objetivos de alergia o hipersensibilidad incluyen la prueba de “anticuerpo positivo” para una enzima asparaginasa. El paciente puede tener una hipersensibilidad previa a al menos una L-asparaginasa de *E. coli*, y/o puede haber tenido una hipersensibilidad previa a al menos una L-asparaginasa de *Erwinia chrysanthemi*. La hipersensibilidad se puede seleccionar del grupo que consiste en reacción alérgica, choque anafiláctico e inactivación silenciosa. En una forma de realización específica, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se utiliza en el tratamiento de segunda línea después del tratamiento con pegaspargasa. En una forma de realización más específica, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación que se utiliza en tratamiento de segunda línea comprende una L-asparaginasa producida en una célula de *Pseudomonadales fluorescens*, más específicamente, que comprende un tetrámero, en donde cada monómero o subunidad comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se utiliza en el tratamiento de segunda línea con pacientes que son hipersensibles a una L-asparaginasa derivada de *E. coli*, y/o que pueden haber tenido hipersensibilidad previa a una L-asparaginasa derivada de *Erwinia chrysanthemi*. Una L-asparaginasa derivada de *E. coli* puede estar en la forma nativa o una forma de acción prolongada de L-asparaginasa derivada de *E. coli*. La L-asparaginasa nativa derivada de *E. coli* se puede identificar mediante SEQ ID NO: 3 o cualquiera de los siguientes ejemplos que incluyen, entre otros, Crastinin (Bayer), Elspar (Merck), Kidrolasa (Rhone-Poulenc) y Leunase (Kyowa) (ver también ASPG2_ECOLI, número de acceso Uniprot P00805,

<https://www.uniprot.org/uniprot/P00805>).

[00126] SEQ ID NO: 3 es de la siguiente manera:

MEFFKKTALAALVMGFSGAALALPNITILATGGTIAGGGDSATKSNYTVGKVGVENLVN
A
VPQLKDIANVKGEQVVNIGSQDMNDNVWLTAKKINTDCDKTDG FVITHGTD TMEETA
YF
LDLTVKCDKPVVMVGAMRPSTSMSADGPFNLNAVVTAAADKASANRGVLVVMNDTV
LDGR
DVTKTNTT DVATFKSVNYGPLGYIHNGKIDYQRT PARKHTSDTPFDVSKLNELPKVGIV
Y
NYANASDLPAKALVDAGYDGIVSAGVGNGNLYKSVFDTLATAAKTGTAVVRSSRVPT
GAT
TQDAEVDDAKYGFVASGTLNPQKARVLLQLALTQTKDPQQIQQIFNQY

[00127] En algunas formas de realización, la asparaginasa recombinante se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes con CRC. En algunas formas de realización, la asparaginasa recombinante se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes con Wnt negativo CRC. En algunas formas de realización, la asparaginasa recombinante se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes con CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, la asparaginasa recombinante se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes con AML. En algunas formas de realización, la asparaginasa recombinante se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes con AML recidivante/refractaria. En algunas formas de realización, la asparaginasa recombinante se administrará como un tratamiento de segunda línea en pacientes con DLBCL.

[00128] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de segunda línea con pacientes que reciben una asparaginasa nativa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, una dosis de la L-asparaginasa recombinante se administra al paciente como un sustituto por una dosis de la asparaginasa nativa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de segunda línea con pacientes que reciben una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, seis dosis de la L-asparaginasa recombinante se administra al paciente como un sustituto por una dosis de la

asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, siete dosis de la L-asparaginasa recombinante se administra al paciente como un sustituto por una dosis de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es pegaspargasa. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es calaspargasa (ver Liu, G., Space for Calaspargase? A New Asparaginase for Acute Lymphoblastic Leukemia Clin Cancer Res 2020;26:325–7). En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de tercera línea. En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de cuarta línea. En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de quinta línea. En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de sexta línea. En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de mantenimiento. En algunas formas de realización, la administración de la L-asparaginasa recombinante a un paciente como un sustituto de asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada puede ocurrir en cualquier momento dentro del ciclo de tratamiento de la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es cualquiera de 1 a 14 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 2 y 12 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 10 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 10 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 8 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es

entre 4 y 6 dosis. En algunas formas de realización, la administración de la L-asparaginasa recombinante a un paciente como un sustituto de asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada puede ocurrir en cualquier momento dentro del ciclo de tratamiento de la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada en función de cuándo el paciente experimenta la hipersensibilidad.

[00129] En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se coadministra con un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes. En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se coadministra con uno o más agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes. En algunas formas de realización, el tratamiento de pacientes con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación además de otros agentes ayuda a garantizar la disponibilidad de una asparaginasa para pacientes que han desarrollado hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. Coli*. Los ejemplos de agentes que pueden ser parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación incluyen, entre otros: citarabina, vincristina, daunorrubicina, metotrexato, leuovorina, doxorubicina, antraciclina, corticosteroides y glucocorticoides (incluidos, entre otros, prednisona, prednisolona y/o dexametasona), ciclofosfamida, 6-mercaptopurina, venetoclax y etopósido. En algunas formas de realización, el régimen quimioterapéutico de múltiples agentes es la L-asparaginasa recombinante y un agente quimioterapéutico adicional. En algunas formas de realización, el régimen quimioterapéutico de múltiples agentes es la L-asparaginasa recombinante y dos o más agentes quimioterapéuticos adicionales.

[00130] Como ejemplo, a los pacientes con ALL se les coadministrará la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación junto con una quimioterapia de múltiples agentes durante 3 fases de quimioterapia que incluyen inducción, consolidación o intensificación y mantenimiento. En un ejemplo específico, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se coadministra con un inhibidor de la asparagina sintetasa (por ejemplo, tal como se establece en WO 2007/103290, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad). En otro ejemplo específico, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación no se coadministra con un inhibidor de asparagina sintetasa, sino que se coadministra con otros fármacos de quimioterapia. En otro ejemplo específico, la L-asparaginasa

recombinante de la presente divulgación se coadministra con un inhibidor de asparagina sintetasa y otros fármacos de quimioterapia. La L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede coadministrar antes, después o simultáneamente con otros compuestos como parte de un régimen de quimioterapia con múltiples agentes. En una forma de realización particular, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación comprende una proteína producida de forma recombinante en *Pseudomonas fluorescens* y, más específicamente, la L-asparaginasa recombinante que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1.

VI. Composiciones, formulaciones, vías de administración y dosis

A. Composiciones, formulaciones y vías de administración

[00131] La invención también incluye una composición farmacéutica que comprende una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación. La composición farmacéutica se puede administrar a un paciente mediante el uso de técnicas estándar. Por lo general, las técnicas y formulaciones se pueden encontrar en Remington's Pharmaceutical Sciences, 22.^a edición, Mack Publishing, 2015 (incorporada en la presente por referencia). Las formas de realización divulgadas en la presente además puede utilizar con o además de otros regímenes descritos, por ejemplo, en WO2021/078988, presentada el 23 de octubre de 2020, y PCT/US2021/032627, presentada el 14 de mayo de 2021, cada una incorporada en la presente por referencia para todos los fines y en particular para todas las enseñanzas relacionadas a la administración y el uso de L-asparaginasa recombinante.

[00132] Las formas de dosis adecuadas, en parte, dependen del uso o de la vía de entrada, por ejemplo, mediante inyección (parenteral). Tales formas de dosis deben permitir que el agente terapéutico alcance una célula diana o de otro modo tenga el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas inyectadas en el torrente sanguíneo son preferentemente solubles. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente divulgación se pueden formular como sales y complejos aceptables desde el punto de vista farmacéutico de estas. Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico son sales no tóxicas presentes en las cantidades y concentraciones a las que se administran. La preparación de tales sales puede facilitar el uso farmacéutico al alterar las características físicas del compuesto sin impedir que ejerza su efecto fisiológico. Las alteraciones útiles en las propiedades físicas incluyen disminuir el punto de fusión para facilitar la administración transmucosa y aumentar la solubilidad para facilitar la administración de

concentraciones más altas del fármaco. La sal aceptable desde el punto de vista farmacéutico de una proteína modificada como se describe en la presente puede estar presente como un complejo, como apreciarán las personas del oficio de nivel medio. Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen sales de adición de ácidos tales como las que contienen sulfato, clorhidrato, fumarato, maleato, fosfato, sulfamato, acetato, citrato, lactato, tartrato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, ciclohexilsulfamato y quinato. Se pueden obtener sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico a partir de ácidos, que incluyen ácido clorhídrico, ácido maleico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido sulfámico, ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido malónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido ciclohexilsulfámico, ácido fumárico y ácido quínico. Las sales aceptables desde el punto de vista farmacéutico también incluyen sales de adición básicas tales como las que contienen benzetina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina, procaína, aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, amonio, alquilamina y zinc, cuando están presentes grupos funcionales ácidos, tales como ácido carboxílico o fenol. Por ejemplo, ver Remington's Pharmaceutical Sciences, supra. Tales sales pueden prepararse mediante el uso de las bases correspondientes apropiadas. También se pueden incorporar portadores y/o excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico en una composición farmacéutica de acuerdo con la invención para facilitar la administración de la asparaginasa particular. Los ejemplos de portadores adecuados para su uso en la práctica de la invención incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares tales como lactosa, glucosa o sacarosa, o tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales, polietilenglicoles y solventes fisiológicamente compatibles. Los ejemplos de solventes fisiológicamente compatibles incluyen soluciones estériles de agua para inyección (WFI), solución salina y dextrosa. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden administrar mediante diferentes vías, que incluyen administración intravenosa (IV) e intramuscular (IM). Para inyección, las composiciones farmacéuticas se formulan en soluciones líquidas, preferentemente, en soluciones o amortiguadores fisiológicamente compatibles, tales como solución salina, solución de Hank o solución de Ringer. Además, los compuestos pueden formularse en forma sólida y disolverse nuevamente o suspenderse inmediatamente antes de su uso. Por ejemplo, se pueden producir

formas liofilizadas de la L-asparaginasa recombinante. En un aspecto específico, la L-asparaginasa recombinante se administra por vía intramuscular. En un aspecto específico preferido, la L-asparaginasa recombinante se administra por vía intravenosa.

[00133] En una forma de realización preferida, la composición farmacéutica no está liofilizada. En una forma de realización adicional, la composición farmacéutica está en solución. En algunas formas de realización, una etapa de liofilización final puede causar estrés inducido y promover la degradación del compuesto. En algunas formas de realización, la liofilización puede aumentar la agregación. En algunas formas de realización preferidas adicionales, la crisantaspasa recombinante se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización preferidas adicionales, la crisantaspasa recombinante se administra por vía intravenosa. Para cada una de estas formas de realización preferidas de formas de administración, se apreciará que se puede administrar cualquier forma de la L-asparaginasa recombinante, que incluye formas modificadas y no modificadas.

[00134] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administrará por vía intravenosa al sujeto humano en puntos temporales específicos y se administrará por vía intramuscular al mismo sujeto humano en otros puntos temporales específicos.

B. Dosis

[00135] En algunas formas de realización, una dosis es una cantidad administrada al sujeto humano durante un cierto tiempo y frecuencia. En algunas formas de realización, la dosis de L-asparaginasa recombinante se administrará a un sujeto humano con hipersensibilidad solamente cuando la hipersensibilidad disminuya.

[00136] En una forma de realización de ejemplo, una L-asparaginasa recombinante se administra a un sujeto humano es una cantidad de alrededor de 10 mg/m² a 100 mg/m².

[00137] En una forma de realización de ejemplo, una L-asparaginasa recombinante se administra a un sujeto humano es una cantidad de alrededor de 25 mg/m² a alrededor de 50 mg/m².

[00138] En una forma de realización de ejemplo, una L-asparaginasa recombinante se administra por vía intramuscular cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos, en donde la cantidad es de alrededor de 25 mg/m².

[00139] En una forma de realización de ejemplo, una L-asparaginasa recombinante se administra por vía intravenosa cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos, en donde la cantidad es de alrededor de 50 mg/m².

[00140] En formas de realización adicionales de ejemplo y de acuerdo con cualquiera de los análisis en la presente con respecto a la dosis, la L-asparaginasa recombinante administrada en dichas dosis no está conjugada con un polímero tal como una porción PEG y/o no está conjugada con un péptido que comprende únicamente alanina y/o residuos de prolina.

1. Cantidad de dosis

[00141] Las cantidades de la L-asparaginasa recombinante a administrarse de la presente divulgación dependerán de muchos factores, por ejemplo, la IC50, la EC50, la semivida biológica del compuesto, la edad, el tamaño, el peso y la condición física del paciente, y la enfermedad o trastorno a tratar. Las personas del oficio de nivel medio conocen la importancia de estos y otros factores que deben considerarse. Por lo general, la cantidad de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administrará en un rango de alrededor de 1 miligramo por metro cuadrado del área de superficie del cuerpo del paciente (mg/m²) a 1.000/m², con un rango de dosis de alrededor de 10 mg/m² a alrededor de 100 mg/m² para tratar enfermedades, incluidas, entre otras, ALL o LBL. Por supuesto, se pueden emplear otras dosis y/o regímenes de tratamiento, según lo determine el médico a cargo.

[00142] En algunas formas de realización, el método comprende administrar la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en una cantidad de alrededor de 10 mg/m² a alrededor de 100 mg/m². En algunas formas de realización, el método comprende administrar la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en una cantidad de 10 mg/m² a de 100 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de alrededor de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 95 o 95 mg/m² o una cantidad equivalente de estos (por ejemplo, en función del contenido de proteínas). En una forma de realización más específica, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad seleccionada del grupo que consiste en alrededor de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y alrededor de 100 mg/m². En otra forma de realización específica, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra a una dosis mayor de o igual a

alrededor de 1, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 95, 100, 200 o 300 mg/m². En otra forma de realización específica, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra a una dosis menor de o igual a alrededor de 300, 200 100, 95, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5, o 1 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 12 mg/m² y alrededor de 90 mg/m². En otra forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 20 mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En otra forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 37,5 mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 37,5 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 37,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 100 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 80 mg/m².

[00143] En algunas formas de realización, el método comprende administrar la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en una cantidad de alrededor de 25 mg/m² a alrededor de 50 mg/m². En algunas formas de realización, el método comprende administrar la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en una cantidad de 25 mg/m² y de 50 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de alrededor de 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,

43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 mg/m² o una cantidad equivalente de esta (por ejemplo, en función del contenido de proteínas).

[00144] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 20 mg/m² y alrededor de 30 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 22,5 mg/m² y alrededor de 28,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 23 mg/m² y alrededor de 27 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 24 mg/m² y alrededor de 26 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 24,5 mg/m² y alrededor de 25,5 mg/m².

[00145] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 42,5 mg/m² y alrededor de 58,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 43 mg/m² y alrededor de 57 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 44 mg/m² y alrededor de 56 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 46 mg/m² y alrededor de 54 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 47,5 mg/m² y alrededor de 52,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 48 mg/m² y alrededor de 52 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 49 mg/m² y alrededor de 51 mg/m². En

una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 49,5 mg/m² y alrededor de 50,5 mg/m².

[00146] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 55 mg/m².

[00147] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 55 mg/m² y alrededor de 60 mg/m².

[00148] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 47,5 mg/m² y alrededor de 50 mg/m².

[00149] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m²

y alrededor de 35 mg/m².

[00150] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 95 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 90 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 85 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 55 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 60 mg/m² y alrededor de 65 mg/m².

[00151] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 50 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 42,5 mg/m² y alrededor de 57,5 mg/m².

[00152] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización

de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 55 mg/m².

[00153] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 10 mg/m² y alrededor de 50 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 12,5 mg/m² y alrededor de 47,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 15 mg/m² y alrededor de 45 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 20 mg/m² y alrededor de 42,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 22,5 mg/m² y alrededor de 40 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 24 mg/m² y alrededor de 39 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 27 mg/m² y alrededor de 37,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 45 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de alrededor de 25 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de 25 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y

alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 37,5 mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 37,5 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 37,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 55 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de

realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 47,5 mg/m² y alrededor de 50 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 35 mg/m².

[00154] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 10 mg/m² y alrededor de 95 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 20 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 22,5 mg/m² y alrededor de 57,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 27,5 mg/m² y alrededor de 47,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 45 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 32,5 mg/m² y alrededor de 42,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 21,5 mg/m² y alrededor de 38,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se

administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 36 mg/m² y alrededor de 45 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de alrededor de 37,5 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intravenosa o por vía intramuscular en una cantidad de alrededor de 50 mg/m². En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intravenosa o por vía intramuscular en una cantidad de 50 mg/m².

[00155] En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 37,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 100 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 25mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 35 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 95 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 90 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 85 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 45

mg/m² y alrededor de 80 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 55 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 60 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 55 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 50 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 42,5 mg/m² y alrededor de 57,5 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 30 mg/m² y alrededor de 75 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 35 mg/m² y alrededor de 70 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 40 mg/m² y alrededor de 65 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 45 mg/m² y alrededor de 60 mg/m². En una forma de realización de ejemplo, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra por vía intramuscular o por vía intravenosa en una cantidad de entre alrededor de 50 mg/m² y alrededor de 55 mg/m².

[00156] En otra forma de realización, el método comprende la administración de una L-asparaginasa de la presente divulgación que provoca una respuesta inmunogénica baja en un paciente en comparación a una L-asparaginasa no recombinante.

[00157] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es en una cantidad de alrededor de 20 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es dos días.

[00158] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es en una cantidad de alrededor de 22,5 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es dos días.

[00159] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es en una cantidad de alrededor de 25 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es dos días.

[00160] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es en una cantidad de alrededor de 27,5 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es dos días.

[00161] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es en una cantidad de alrededor de 30 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es dos días.

[00162] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y una dosis

siguiente es dos días, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y una dosis siguiente es tres días, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, una dosis que es de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular, y una dosis que es de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00163] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m² es siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m² y una dosis siguiente es dos días, y el tiempo entre la administración de a dosis en la serie que es de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m² y una dosis siguiente es tres días, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, una dosis que es de alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m² se administra por vía intravascular, y una dosis que es de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00164] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m² es siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m² y una dosis siguiente es dos días, y el tiempo entre la administración de a dosis en la serie que es de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m² y una dosis siguiente es tres días, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa

derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, una dosis que es de alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m² se administra por vía intravascular, y una dosis que es de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00165] En algunas formas de realización el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano L-asparaginasa, distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli*, como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de tres días cuando la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de dos días cuando la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por tres días cuando la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por dos días cuando la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m². En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00166] En algunas formas de realización el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano L-asparaginasa, distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli*, como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m² y (ii) alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m² y (ii) alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera

dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de tres días cuando la primera dosis es de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de dos días cuando la primera dosis es de alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por tres días cuando la segunda dosis es de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por dos días cuando la segunda dosis es de alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m². En algunas formas de realización, cualquier dosis que es de alrededor de 22,5 mg/m² a alrededor de 27,5 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que es de alrededor de 47,5 mg/m² a alrededor de 52,5 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00167] En algunas formas de realización el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano L-asparaginasa, distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli*, como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m² y (ii) alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m² y (ii) alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de tres días cuando la primera dosis es de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de dos días cuando la primera dosis es de alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por tres días cuando la segunda dosis es de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por dos días cuando la segunda dosis es de alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m². En algunas formas de realización, cualquier dosis que es de alrededor de 20 mg/m² a alrededor de 30 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que es de alrededor de 45 mg/m² a alrededor de 55 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se

administran por vía intravascular.

2. Frecuencia de dosis

[00168] En una forma de realización específica, el tratamiento se administra en una dosis de alrededor de 1 mg/m² a alrededor de 1000 mg/m², normalmente de alrededor de 10 mg/m² a alrededor de 100 mg/m², en un horario de alrededor de tres veces a la semana a alrededor de una vez al mes, normalmente una vez a la semana o una vez cada dos semanas, como agente único (por ejemplo, monoterapia) o como parte de una combinación de fármacos quimioterápicos, incluidos, entre otros, glucocorticoides, corticosteroides, compuestos anticancerígenos u otros agentes, incluidos, entre otros, metotrexato, dexametasona, prednisona, prednisolona, vincristina, ciclofosfamida y antraciclina.

[00169] La L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede administrar antes, después o simultáneamente con otros compuestos como parte de un régimen de quimioterapia con múltiples agentes. En una forma de realización particular, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación comprende una proteína producida de forma recombinante en *Pseudomonas fluorescens* y, más específicamente, la L-asparaginasa recombinante comprende una secuencia de acuerdo con SEQ ID NO:1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra en una dosis que reduce la L-asparaginasa a niveles indetectables al usar métodos y aparatos conocidos en el estado de la técnica por un periodo de alrededor de tres días a alrededor de diez días (por ejemplo, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 días) para una dosis sola.

[00170] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra tres veces por semana. En una algunas formas de realización, se administra la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra los días lunes, miércoles y viernes de la misma semana durante.

[00171] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra tres veces por semana durante al menos una a tres semanas. En una algunas formas de realización, se administra la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos durante

alrededor de una a tres semanas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra los días lunes, miércoles y viernes de la semana durante alrededor de una semana a tres semanas.

[00172] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra tres veces por semana durante alrededor de dos semanas. En una algunas formas de realización, se administra la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos durante alrededor de dos semanas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra los días lunes, miércoles y viernes de la misma semana durante alrededor de dos semanas.

[00173] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra tres veces por semana durante dos semanas. En una algunas formas de realización, se administra la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos durante dos semanas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra los días lunes, miércoles y viernes de la misma semana durante dos semanas.

[00174] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra tres veces por semana, continuando hasta que el paciente deje de tener una enfermedad tratable mediante la reducción de asparagina. En una algunas formas de realización, se administra la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos, continuando hasta que el paciente deje de tener una enfermedad tratable mediante la reducción de asparagina. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra los días lunes, miércoles y viernes de la misma semana, continuando hasta que el paciente deje de tener una enfermedad tratable mediante la reducción de asparagina.

[00175] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra tres veces por semana, continuando hasta que el paciente decida finalizar o posponer el tratamiento. En una algunas formas de realización, se administra la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación

cada dos días durante un período de 5 días consecutivos seguido de un período de descanso de 2 días consecutivos, continuando hasta que el paciente decida finalizar o posponer el tratamiento. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra los días lunes, miércoles y viernes de la misma semana, continuando hasta que el paciente decida finalizar o posponer el tratamiento.

[00176] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 48 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra cada 40 a 58 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 42 a 56 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 44 a 52 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 46 a 50 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 72 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra cada 64 a 80 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 66 a 78 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 68 a 76 horas. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra alrededor de cada 70 a 74 horas.

[00177] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de segunda línea con pacientes que son hipersensibles a una L-asparaginasa derivada de *E. coli*, y/o que pueden haber tenido hipersensibilidad previa a una L-asparaginasa derivada de *Erwinia chrysanthemi*.

[00178] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto humano como un sustituto para una dosis de una asparaginasa de acción prolongada derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, se administran seis dosis de L-asparaginasa recombinante al sujeto humano como un sustituto para una dosis de la asparaginasa de acción prolongada derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, se administran siete dosis de L-asparaginasa

recombinante al sujeto humano como un sustituto para una dosis de la asparaginasa de acción prolongada derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es pegaspargasa. En una forma de realización adicional, las seis dosis separadas pueden administrarse en un periodo de alrededor de dos semanas. En otra forma de realización adicional, las siete dosis separadas pueden administrarse en un periodo de alrededor de dos semanas.

[00179] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, en donde el ciclo comprende una primera dosis, una segunda dosis y una tercera dosis, en donde el ciclo es opcionalmente repetible, y en donde la primera dosis, la segunda dosis y la tercera dosis se administran con un intervalo de 48-72 horas.

[00180] En algunas formas de realización, las cantidades de las dosis pueden variar dentro del ciclo.

[00181] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, en donde el ciclo es opcionalmente repetible, y en donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de dos días consecutivos, en donde la primera dosis del ciclo es de 25 mg/m², la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m² y la tercera dosis del ciclo es de 50 mg/m², seguidas del periodo de descanso de dos días consecutivos.

[00182] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, en donde el ciclo es opcionalmente repetible, y en donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de dos días consecutivos, en donde la primera dosis del ciclo es de 25 mg/m², la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m² y la tercera dosis del ciclo es de 37,5 mg/m², seguidas del periodo de descanso de dos días consecutivos.

[00183] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, en donde el ciclo es opcionalmente repetible, y en donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de dos días consecutivos, en donde la primera dosis del ciclo es de 37,5 mg/m², la segunda dosis del ciclo es de 37,5 mg/m² y la tercera dosis del ciclo es de 37,5 mg/m², seguidas del periodo de descanso de dos días

consecutivos.

[00184] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, en donde el ciclo es opcionalmente repetible, y en donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de dos días consecutivos, en donde la primera dosis del ciclo es de $37,5 \text{ mg/m}^2$, la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m^2 y la tercera dosis del ciclo es de $37,5 \text{ mg/m}^2$, seguidas del periodo de descanso de dos días consecutivos.

[00185] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, en donde el ciclo es opcionalmente repetible, y en donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de dos días consecutivos, en donde la primera dosis del ciclo es de $37,5 \text{ mg/m}^2$, la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m^2 y la tercera dosis del ciclo es de 25 mg/m^2 , seguidas del periodo de descanso de dos días consecutivos. En algunas formas de realización, se administra la primera dosis del ciclo un lunes, se administra la segunda dosis un miércoles y se administra la tercera dosis un viernes.

[00186] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, donde el ciclo es opcionalmente repetible, y donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de dos días consecutivos, donde la primera dosis del ciclo es de 25 mg/m^2 , la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m^2 y la tercera dosis del ciclo es de 50 mg/m^2 , seguidas del periodo de descanso de dos días consecutivos. En algunas formas de realización, se administra la primera dosis del ciclo un lunes, se administra la segunda dosis un miércoles y se administra la tercera dosis un viernes.

[00187] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para reducir la asparaginasa en un sujeto humano para tratar leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL), donde el método comprende: en los días, lunes, miércoles y viernes, administrar por vía intramuscular alrededor de 25 mg/m^2 de L-asparaginasa al sujeto humano, de tal forma que el sujeto humano reciba un total de siete dosis de L-asparaginasa durante un periodo de dos semanas.

[00188] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un

método para disminuir la asparaginasa en un sujeto humano para tratar tipos de cáncer, que incluyen, entre otros, leucemia linfoblástica aguda (ALL), linfoma linfoblástico (LBL), cáncer colorrectal (CRC), leucemia mieloide aguda (AML), donde el método comprende: (a) en los días lunes y miércoles administrar por vía intramuscular o por vía intravascular alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa al sujeto humano, y (b) en los días viernes, administrar por vía intramuscular o por vía intravascular alrededor de 50 mg/m² de L-asparaginasa al sujeto humano; de tal forma que el sujeto humano reciba un total de seis dosis de L-asparaginasa durante un periodo de dos semanas.

[00189] El régimen de dosis puede abarcar cualquier cantidad de ciclos durante cualquier cantidad de semanas o hasta cualquier criterio de valorización establecido en la presente.

3. Tiempo de dosis

[00190] En algunas formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano tiene una duración corta, por ejemplo, inmediata o de una segundo a cinco minutos cuando se administra mediante inyección intramuscular. En otras formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano es de duración más larga, por ejemplo, cuando se administra mediante inyección intravenosa. En algunas formas de realización, la dosis de L-asparaginasa recombinante dura entre alrededor de 5 minutos y alrededor de 4 horas. En una forma de realización de ejemplo, el tiempo de dosis al sujeto humano dura entre 90 minutos y alrededor de 150 minutos. En algunas formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano dura alrededor de dos horas. En algunas formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano dura dos horas. En algunas formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano dura entre alrededor de 45 minutos y alrededor de 75 minutos. En algunas formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano dura alrededor de una hora. En algunas formas de realización, el tiempo de dosis al sujeto humano dura una hora.

4. Regímenes de dosis preferidos

[00191] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar cáncer en un sujeto humano. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano con cáncer colorrectal (CRC). En algunas formas de realización, la presente

divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano con cáncer colorrectal Wnt negativo (CRC). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano con cáncer colorrectal (CRC) con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano con leucemia mieloide aguda (AML). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano con linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar un sujeto humano con AML recidivante/refractaria (R/R AML). En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de primera línea. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de segunda línea. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de tercera, cuarta o quinta línea.

[00192] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante puede sustituirse por una asparaginasa nativa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, una dosis of la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto humano como un sustituto para una dosis de la asparaginasa nativa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante puede sustituirse por una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, se administran seis dosis de la L-asparaginasa recombinante al sujeto humano como un sustituto para una dosis de la asparaginasa de acción prolongada derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, siete dosis de la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto humano como un sustituto por una dosis de la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es pegaspargasa. En algunas formas de realización, el tratamiento con una L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se administra como un tratamiento de mantenimiento. En algunas formas de realización, la administración de la L-asparaginasa recombinante a un sujeto humano como un sustituto de asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada puede ocurrir en cualquier momento dentro del ciclo de tratamiento de la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es

cualquiera de 1 a 14 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 2 y 12 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 10 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 10 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 8 dosis. En algunas formas de realización, el ciclo de tratamiento para la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada es entre 4 y 6 dosis. En algunas formas de realización, la administración de la L-asparaginasa recombinante a un sujeto humano como un sustituto de asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada puede ocurrir en cualquier momento dentro del ciclo de tratamiento de la asparaginasa derivada de *E. coli* nativa o de acción prolongada en función de cuándo el sujeto humano experimenta la hipersensibilidad. Por supuesto, se pueden emplear otros regímenes de tratamiento sustitutos según lo determine el médico a cargo. Las cantidades de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se pueden administrar en un formato de dosis híbrido, en donde la cantidad de dosis varía dentro del régimen de dosis. Por lo general, la cantidad de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en un formato de dosis híbrido se administrará en un rango de alrededor de 25 mg/m² a alrededor de 50 mg/m² para tratar enfermedades, que incluyen, entre otras, cáncer. En algunas formas de realización, las dosis de 25 mg/m² se administran por vía intravascular y las dosis de 50 mg/m² se administran por vía intramuscular. Las cantidades de of la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se pueden administrar en un formato de administración híbrido, en donde el método de administración varía dentro del régimen de dosis. En algunas formas de realización, el formato de administración híbrido incluye administración intravenosa e intramuscular. Por supuesto, se pueden emplear otras dosis y/o regímenes de tratamiento, según lo determine el médico a cargo.

[00193] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un

tratamiento de un sujeto humano para leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC) Wnt negativo. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC) con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia mieloide aguda (AML). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para AML recidivante/refractaria (R/R AML). En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de primera línea. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de segunda línea. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se puede utilizar como un tratamiento de tercera, cuarta o quinta línea.

(a) Régimen de dosis 1: 7 dosis de 25mg/m²

[00194] En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer, en donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL), en donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC), en donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC) Wnt negativo, en donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC) con mutación de Wnt, en donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para

sustituir un tratamiento de un sujeto humano para linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia mieloide aguda (AML), en donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente invención proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia mieloide aguda (AML) recidivante/refractaria (R/R), en donde el sujeto humano lo necesita.

[00195] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como un sustituto para cada dosis respectiva de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es de una cantidad de alrededor de 25 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es dos días.

[00196] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como un sustituto para cada dosis respectiva de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de siete dosis de una L-asparaginasa recombinante, donde cada dosis en la serie es de una cantidad de alrededor de 25 mg/m² de la L-asparaginasa recombinante, y el tiempo entre la administración de cada dosis en la serie es alrededor de 48 horas.

[00197] En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento, o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli* antes de la sustitución. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que

demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

(b) Régimen de dosis 2: 6 dosis de 25mg/m²/25mg/m²/50mg/m² x 2

[00198] Las cantidades de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se pueden administrar en un formato de dosis mixto, en donde la cantidad de dosis varía dentro del régimen de dosis. Por lo general, la cantidad de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en un formato de dosis mixto se administrará en un rango de alrededor de 25 mg/m² a alrededor de 50 mg/m² para tratar enfermedades, que incluyen, entre otras, cáncer. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es ALL o LBL. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC Wnt negativo. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es AML. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es AML R/R. Por supuesto, se pueden emplear otras dosis y/o regímenes de tratamiento, según lo determine el médico a cargo.

[00199] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer, donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL), donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC), donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC) Wnt negativo, donde

el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para cáncer colorrectal (CRC) con mutación de Wnt, donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia mieloide aguda (AML), donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento de un sujeto humano para leucemia mieloide aguda recidivante/refractaria (R/R AML), donde el sujeto humano lo necesita.

[00200] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como un sustituto para cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli*, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y una dosis siguiente es dos días, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y una dosis siguiente es tres días, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*.

[00201] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de siete días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de dos días, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de tres días, donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*, y en donde las dosis de 25 mg/m² se administran por vía intravascular y las dosis de 50 mg/m² se administran por vía intramuscular.

[00202] En algunas formas de realización, el método comprende la administración

por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de alrededor 168 horas, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de alrededor de 48 horas, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de alrededor de 72 horas, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*.

[00203] En algunas formas de realización, el método comprende la administración por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de alrededor 168 horas, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de alrededor de 48 horas, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de alrededor de 72 horas, en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*, y en donde las dosis de 25 mg/m² se administran por vía intravascular y las dosis de 50 mg/m² se administran por vía intramuscular.

[00204] En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas

de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

[00205] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento contra el cáncer de un sujeto humano, en donde el sujeto humano lo necesita, y en donde dicho método comprende: administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli*, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, en donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de seis a ocho días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de dos días, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de tres días, y en donde la L-asparaginasa no es una asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente

adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es leucemia linfoblástica (ALL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es linfoma linfoblástico (LBL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es cáncer colorrectal. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es cáncer colorrectal Wnt negativo. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es cáncer colorrectal. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es cáncer colorrectal con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer es leucemia mieloide aguda (AML). En algunas formas de realización, la leucemia mieloide aguda es AML recidivante/resistente.

[00206] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para sustituir un tratamiento contra el cáncer de un sujeto humano, en donde el sujeto humano lo necesita, y en donde dicho método comprende: administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano, como sustituto de cada dosis de una asparaginasa derivada de *E. coli*, una serie de seis dosis de una L-asparaginasa, en donde cuatro de las seis dosis son de alrededor de 25 mg/m², dos de las seis dosis son de alrededor de 50 mg/m², el tiempo entre la administración de las dos dosis que son de alrededor de 50 mg/m² es de seis a ocho días, el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 25 mg/m² y la siguiente dosis es de dos días, y el tiempo entre la administración de una dosis en la serie que es de alrededor de 50 mg/m² y la siguiente dosis es de tres días, donde la L-asparaginasa no

es una asparaginasa derivada de *E. coli*, y en donde los 25 mg/m² se administran por vía intravascular y los 50 mg/m² se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

(c) Régimen de dosis 3: 50/25 con tres días de por medio

[00207] Las cantidades de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede administrar en un formato de dosis híbrido, donde la cantidad de dosis y el tiempo de dosis varían dentro del régimen de dosis. Por lo general, la cantidad de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en un formato de dosis híbrido se administrará en un rango de alrededor de 25 mg/m² a alrededor de 50 mg/m² para tratar enfermedades, incluidas, entre otras, ALL o LBL, CRC, AML o DLBCL. En algunas formas de realización, el CRC es CRC Wnt negativo CRC. En

algunas formas de realización, el CRC es CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, la AML es AML R/R. Por supuesto, se pueden emplear otras dosis y/o regímenes de tratamiento, según lo determine el médico a cargo.

[00208] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL) en un sujeto humano que lo necesita.

[00209] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular al sujeto humano L-asparaginasa, distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli*, como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de tres días cuando la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de dos días cuando la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por tres días cuando la segunda dosis es de 50 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por dos días cuando la segunda dosis es de 25 mg/m².

[00210] En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de dos días. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un viernes y la segunda dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización adicionales, la primera dosis se administra un viernes, la segunda dosis se administra un lunes y la tercera dosis se administra un miércoles.

[00211] En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de tres días.

En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00212] En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis antes de la primera dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m² y la tercera dosis se administra al sujeto humano dos días antes de la primera dosis. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00213] En algunas formas de realización, el método comprende una primera dosis, una segunda dosis y una tercera dosis, en donde la primera dosis se administra un lunes, la segunda dosis se administra un miércoles y la tercera dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis es de 25 mg/m², la segunda dosis es de 25 mg/m² y la tercera dosis es de 50 mg/m².

[00214] En algunas formas de realización, el método comprende además administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano una pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa, donde cada administración respectiva del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto tras completarse una administración anterior del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo en la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el

tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cien. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y ochenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y sesenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cincuenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cuarenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y treinta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y veinte. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y quince. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y catorce. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y trece. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y doce. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y once. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y diez. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y nueve. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y ocho. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y siete. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y seis. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-

asparaginasa es de entre dos y cinco. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cuatro. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre cuatro y seis.

[00215] En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa.

[00216] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1.

[00217] En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

[00218] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, donde el ciclo es opcionalmente repetible, y donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido

de un periodo de descanso de dos días consecutivos, donde la primera dosis del ciclo es de 25 mg/m², la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m² y la tercera dosis del ciclo es de 50 mg/m², seguidas del periodo de descanso de dos días consecutivos. En algunas formas de realización, se administra la primera dosis del ciclo un lunes, se administra la segunda dosis un miércoles y se administra la tercera dosis un viernes.

(d) Régimen de dosis 3: 50/25 con alrededor de 72 horas de por medio

[00219] Las cantidades de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación se puede administrar en un formato de dosis híbrido, donde la cantidad de dosis y el tiempo de dosis varían dentro del régimen de dosis. Por lo general, la cantidad de la L-asparaginasa recombinante de la presente divulgación en un formato de dosis híbrido se administrará en un rango de alrededor de 25 mg/m² a alrededor de 50 mg/m² para tratar enfermedades, incluidas, entre otras, cáncer. Algunos tipos de cáncer tratados mediante el uso de este régimen de dosis incluyen, entre otros, ALL o LBL, CRC, AML o DLBCL. En algunas formas de realización, el CRC es CRC Wnt negativo CRC. En algunas formas de realización, el CRC es CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, la AML es AML R/R. Por supuesto, se pueden emplear otras dosis y/o regímenes de tratamiento, según lo determine el médico a cargo.

[00220] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar cáncer, donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL), donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar cáncer colorrectal (CRC), donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar cáncer colorrectal (CRC) Wnt-negativo, donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar cáncer colorrectal (CRC) con mutación de Wnt, donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar leucemia mieloide aguda (AML), donde el sujeto humano lo necesita. En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar leucemia mieloide aguda (AML R/R) recidivante/resistente, donde el sujeto humano lo necesita.

[00221] En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano L-asparaginasa, distinta de una asparaginasa derivada de *E. coli*, como un conjunto de dosis ordenadas en el tiempo; donde el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende una primera dosis seguida de una segunda dosis, en donde la primera dosis es una de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, la segunda dosis es la otra de (i) alrededor de 50 mg/m² y (ii) alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa, el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de alrededor de 72 horas cuando la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², el período de tiempo entre la administración de la primera dosis y la segunda dosis al sujeto humano es de alrededor de 48 horas cuando la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por alrededor de 72 horas cuando la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², y no se administra L-asparaginasa adicional al sujeto por alrededor de 48 horas cuando la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m². En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00222] En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 50 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 25 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de alrededor de 48 horas. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un viernes y la segunda dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización adicionales, la primera dosis se administra un viernes, la segunda dosis se administra un lunes y la tercera dosis se administra un miércoles. En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00223] En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25

mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis después de la segunda dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m², y el período de tiempo entre la administración de la segunda dosis y la tercera dosis al sujeto humano es de alrededor de 72 horas. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00224] En algunas formas de realización, la primera dosis es de alrededor de 25 mg/m², la segunda dosis es de alrededor de 50 mg/m², el conjunto de dosis ordenadas en el tiempo comprende además una tercera dosis antes de la primera dosis, la tercera dosis es de alrededor de 25 mg/m² y la tercera dosis se administra al sujeto humano alrededor de 48 horas antes de la primera dosis. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles y la segunda dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis se administra un miércoles, la segunda dosis se administra un viernes y la tercera dosis se administra un lunes. En algunas formas de realización, cualquier dosis que sea de alrededor de 25 mg/m² se administra por vía intravascular y cualquier dosis que sea de alrededor de 50 mg/m² se administra por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intramuscular. En algunas formas de realización, todas las dosis se administran por vía intravascular.

[00225] En algunas formas de realización, el método comprende una primera dosis, una segunda dosis y una tercera dosis, en donde la primera dosis se administra un lunes, la segunda dosis se administra un miércoles y la tercera dosis se administra un viernes. En algunas formas de realización, la primera dosis es de 25 mg/m², la segunda dosis es de 25 mg/m² y la tercera dosis es de 50 mg/m².

[00226] En algunas formas de realización, el método comprende además administrar por vía intramuscular o intravascular al sujeto humano una pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa,

donde cada administración respectiva del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa recombinante se administra al sujeto tras completarse una administración anterior del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo en la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cien. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y ochenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y sesenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cincuenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cuarenta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y treinta. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y veinte. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y quince. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y catorce. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y trece. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y doce. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y once. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y diez. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y nueve. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y ocho. En algunas formas de realización, la pluralidad

de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y siete. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y seis. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cinco. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre dos y cuatro. En algunas formas de realización, la pluralidad de administraciones del conjunto de dosis ordenadas en el tiempo de la L-asparaginasa es de entre cuatro y seis.

[00227] En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa.

[00228] En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1.

[00229] En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos

como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

[00230] En algunas formas de realización, un régimen de dosis para la L-asparaginasa recombinante comprende un ciclo, donde el ciclo es opcionalmente repetible, y donde el ciclo comprende la administración de la L-asparaginasa recombinante en días alternos durante un periodo de cinco días consecutivos seguido de un periodo de descanso de alrededor de 48 horas, donde la primera dosis del ciclo es de 25 mg/m², la segunda dosis del ciclo es de 25 mg/m² y la tercera dosis del ciclo es de 50 mg/m², seguidas del periodo de descanso de alrededor de 48 horas. En algunas formas de realización, se administra la primera dosis del ciclo un lunes, se administra la segunda dosis un miércoles y se administra la tercera dosis un viernes.

(e) Regímenes de dosis adicionales preferidos

[00231] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para reducir la asparaginasa en un sujeto humano para tratar cáncer, en donde dicho método comprende: en los días, lunes, miércoles y viernes, administrar por vía intravascular alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa a un sujeto humano, de tal forma que el sujeto humano reciba un total de siete dosis de L-asparaginasa durante un periodo de dos semanas. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es ALL o LBL. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC Wnt negativo. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es AML. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es AML R/R. En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización,

el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

[00232] En algunas formas de realización, la presente divulgación proporciona un método para reducir la asparaginasa en un sujeto humano para tratar cáncer, en donde dicho método comprende: a) en los días lunes y miércoles administrar por vía intravascular alrededor de 25 mg/m² de L-asparaginasa a un sujeto humano, y b) en los días viernes, administrar por vía intramuscular alrededor de 50 mg/m² de L-asparaginasa a un sujeto humano; de tal forma que el sujeto humano reciba un total de seis dosis de L-asparaginasa durante un periodo de dos semanas. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es ALL o LBL. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC Wnt negativo. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es CRC con mutación de Wnt. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es AML. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es AML R/R. En algunas formas de realización, el tipo de cáncer a tratar es linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL). En algunas formas de realización, la asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada es la pegasparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y en donde cada monómero del tetrámero comprende SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante es un tetrámero, y cada monómero del tetrámero tiene una identidad de secuencia de al menos 70 por ciento, al menos 75 por ciento, al menos 80 por ciento, al menos 85 por ciento, al menos 90 por ciento, al menos 95 por ciento, al menos 96 por ciento, al menos 97 por ciento, al menos 98 por

ciento o al menos 99 por ciento con SEQ ID NO: 1. En algunas formas de realización, el sujeto humano exhibió hipersensibilidad a la asparaginasa derivada de *E. coli*. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente adulto. En algunas formas de realización, el sujeto humano es un paciente pediátrico. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 6 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se administra en una composición que demuestra una agregación menor de 1 % de la L-asparaginasa. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante no está liofilizada. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se produce de manera recombinante en *Pseudomonas fluorescens*. En algunas formas de realización, un ensayo de nadir de actividad de asparaginasa sérica (NSAA) según lo medido en una muestra de suero del sujeto humano es mayor o igual a 0,1 IU/ml después de la administración de la L-asparaginasa recombinante. En algunas formas de realización, la L-asparaginasa recombinante se coadministra con uno o más de otros agentes quimioterapéuticos como parte de un régimen quimioterapéutico de múltiples agentes.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Estudio para evaluar la toxicidad y la toxicocinética

[00233] La toxicidad y la toxicocinética (TK) de L-asparaginasa recombinante se investigó en un estudio de infusión intravenosa diaria de dos semanas de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (GLP) en ratas. Se incluyó además una fase de recuperación de dos semanas para evaluar la reversibilidad o persistencia de los efectos, y/o la aparición de toxicidades retardadas. Teniendo en cuenta que la L-asparaginasa recombinante es un producto derivado de la biotecnología, el desarrollo de anticuerpos antifármaco (ADA) se evaluó prospectivamente en todos los animales de estudio principal para ayudar a la interpretación de los resultados del estudio.

[00234] Cuatro grupos de ratas macho y hembra Crl:CD(SD) (n=10/sexo/grupo) recibieron la administración de dosis de 0, 4,6, 15,2 y 45,6 mg/kg de L-asparaginasa recombinante, respectivamente. Los animales en recuperación se incluyeron en los grupos de control y de dosis alta (n=5/sexo/grupo). También se incluyeron animales toxicocinéticos (n=3/sexo por grupo control t n=9/sexo/grupos de dosis). Los animales recibieron L-asparaginasa recombinante a través de infusión intravenosa durante 2 ($\pm$ 10 minutos) mediante un catéter implantado en una vena femoral a una velocidad de dosis de 5 ml/kg/hora. El vehículo y el artículo de control fue fosfato de sodio 20 mM,

cloruro de sodio 50 mM y 6,4 % de trehalosa, con un pH de 7,0.

[00235] Un grupo centinela también recibió la administración de la dosis más alta antes de iniciar el estudio principal y se lo observó durante 2 días, se sometió a eutanasia el día 3, sin necropsia.

[00236] La mortalidad, las observaciones clínicas, el peso corporal, el cambio de peso corporal, el consumo de alimentos, las observaciones oftalmológicas y la patología anatómica y clínica se documentaron junto con los análisis de toxicocinética (según lo evaluado mediante la actividad de asparaginasa sérica (SAA)) y de anticuerpo antifármaco.

[00237] Los animales de toxicidad y toxicocinética en los grupos 1 (control) a 3 (15,2 mg/kg) recibieron la dosis durante 14 días y sobrevivieron a la necropsia programada. La dosis en el grupo 4 (45,6 mg/kg) se suspendió el día 6 debido a observaciones clínicas adversas, momento en el cual los animales se sometieron a necropsia o a las dos semanas de recuperación de acuerdo con su grupo asignado. Los animales en recuperación del grupo 1 recibieron la administración del vehículo una vez al día durante 14 días, seguido de 6 días de recuperación, y se sometieron a eutanasia el mismo día que los animales en el grupo 4.

[00238] La exposición, según evaluación mediante $C_{\max}$ SAA y AUC₀₋₂₄, aumentó con el incremento en el nivel de dosis de 4,6 a 45,6 mg/kg/día el día 1 y de 4,6 a 15,2 mg/kg/día el día 14. Los aumentos en los valores de $C_{\max}$ y AUC₀₋₂₄ fueron aproximadamente proporcionales a la dosis de 4,6 a 15,2 y 15,2 a 45,6 mg/kg/día el día 1 y de 4,6 a 15,2 mg/kg/día el día 14, mientras que de 4,6 a 45,6 mg/kg/día el día 1, AUC₀₋₂₄ aumentó 18 veces con un aumento de 10 veces en la dosis. No hubo diferencias significativas según sexo en los valores de $C_{\max}$ SAA y AUC₀₋₂₄. No se observó acumulación de SAA después de múltiples dosis en ratas.

[00239] En animales del grupo de dosis alta sometidos a eutanasia prematuramente, las observaciones clínicas incluyeron piloerección, pelaje áspero, piel roja de las patas secreciones orales transparentes. Se observaron cambios hematológicos significativos que indican una disminución de hematopoyesis e incluyó disminución en los recuentos de reticulocitos, plaquetas y leucocitos. Se descubrió que estos cambios eran reversibles en la recuperación de animales. El aumento de las concentraciones de glucosa y nitrógeno ureico en sangre, así como la disminución de las enzimas proteicas y hepáticas sugirieron deshidratación, azotemia prerrenal, pérdida de proteínas o desplazamiento compartimental y disminución hepática de la actividad

enzimática, respectivamente. Las observaciones macroscópicas se limitaron a la decoloración roja focal de la mucosa en el estómago glandular de una hembra que no tenía correlación microscópica. Los hallazgos microscópicos incluyeron disminución de la celularidad en la médula del fémur, necrosis y hemorragia miocárdica, edema/absceso submucoso e hiperplasia/erosión epitelial en el estómago/duodeno no glandular, disminución de la pulpa roja, hematopoyesis extramedular y linfocitos en el bazo, disminución de linfocitos corticales en el timo y disminución secretora en el páncreas. Estos cambios se consideraron adversos. Se observó un aumento en el peso del timo y el bazo en machos y hembras en la eutanasia de recuperación, pero se consideró consistente con la recuperación. No se realizó evaluación microscópica en los animales en recuperación.

[00240] Se observó una disminución relacionada con la dosis en el consumo de alimentos y el peso corporal en los animales que recibieron la administración de $\leq 15,2$ mg/kg/día y la piloerección se observó en 15,2 mg/kg/día. En la mayoría de los animales se observaron cambios hematológicos y químicos clínicos relacionados con la dosis, generalmente consistentes con los observados en el grupo de dosis alta, pero de menor magnitud. Estos cambios de patología clínica no se consideraron adversos. Los hallazgos microscópicos en los animales de los grupos de dosis baja y media consistieron en una disminución mínima o leve de los precursores eritroides y el aumento de los precursores mieloides fueron consistentes con los hallazgos hematológicos. La disminución del peso del bazo se correlacionó con la disminución de la hematopoyesis extramedular y de la pulpa roja, mientras que la disminución del peso del timo careció de un correlato microscópico.

[00241] En conclusión, las ratas macho y hembra Crl:CD(SD) recibieron un artículo de control de vehículo o 4,6, 15,2 o 45,6 mg/kg/día de L-asparaginasa recombinante mediante infusión intravenosa una vez al día durante 14 días. Las observaciones clínicas adversas que requirieron sacrificio en estado moribundo y cese de la administración en el día 6 de la fase de dosificación, y disminución de la celularidad de la médula en el fémur, necrosis miocárdica y hemorragia en el corazón, edema o absceso submucoso e hiperplasia epitelial en el estómago no glandular, y erosión/úlceras de estómago o duodeno ocurrieron en los animales que recibieron la administración de 45,6 mg/kg/día. Se observaron observaciones clínicas no adversas, cambios en la patología clínica y hallazgos microscópicos en animales que recibieron la administración de $\leq 15,2$ mg/kg/día. Por lo tanto, el nivel no observado de efecto

adverso no observado (NOAEL) es de 15,2mg/kg/día.

[00242] Los más destacado de este estudio incluye: Ratas macho y hembra Crl:CD(SD) (n=10/sexo/g) con grupos de recuperación (n=5/sexo/g) en controles y dosis alta. Se administró L-asparaginasa recombinante (0, 4,6, 15,2 o 45,6 mg/kg/día) mediante infusión intravenosa diaria por 2 h durante hasta 14 días. Las observaciones clínicas adversas requirieron eutanasia y suspensión de la dosis el día 6 en el grupo de dosis alta. Se produjo una disminución adversa de la celularidad de la médula ósea en el fémur, necrosis y hemorragia en el corazón, y erosión, edema, hiperplasia, absceso y/o úlcera en el estómago no glandular/duodeno en el grupo de dosis alta. Se observaron observaciones clínicas, cambios en la patología clínica y hallazgos microscópicos no adversos pero cualitativamente similares en los animales que recibieron la administración de $\leq 15,2$ mg/kg/día. No se observó un nivel de efectos adversos (NOAEL) de 15,2 mg/kg/día.

Ejemplo 2: Estudio para evaluar la seguridad

[00243] Los sujetos tenían de 18 a 55 años de edad y una buena salud general según lo determinado por el investigador. En la cohorte de dosis 1, los sujetos se distribuyeron aleatoriamente (1:1) para recibir una dosis única de L-asparaginasa recombinante (25 mg/m²) mediante una infusión intravenosa (IV) durante dos horas (N = 6) o una inyección intramuscular (IM) (N = 6). Tras la evaluación de la seguridad, tolerabilidad y farmacocinética de la L-asparaginasa recombinante para determinar la necesidad de otra cohorte de dosis, en la cohorte 2 los sujetos se distribuyeron aleatoriamente (1:1) para recibir una dosis única de L-asparaginasa recombinante de 37,5 mg/m² por vía IV (N = 6) o 12,5 mg/m² por vía IM (N = 6). Se administró L-asparaginasa recombinante en la unidad clínica de internación; los sujetos fueron dados de alta el día 5 con llamadas de seguimiento de seguridad los días 6 y 30. El objetivo primario fue evaluar la seguridad y tolerabilidad de la L-asparaginasa recombinante mediante la dosis por vía IV e IM para cada cohorte. Los objetivos secundarios incluyeron la caracterización de la L-asparaginasa recombinante mediante la administración por vía IV e IM en función de la actividad de asparaginasa sérica (SAA).

[00244] Entre los 24 sujetos inscriptos, las características demográficas (media $\pm$ SD) incluyen: edad (38,4 $\pm$ 8,30 años), peso (77,04 $\pm$ 10,00 kg) y área de superficie corporal (1,91 $\pm$ 0,15 m²). Además, 63 % de los sujetos eran hombres, 97 % eran hispanos/latinos, 83 % eran blancos y 17 % eran negros/afroamericanos. En este

estudio se evaluaron tanto la seguridad como la farmacocinética. En cuanto a la seguridad, 8/12 (67 %) sujetos tuvieron ≥ 1 evento adverso (IV = 4 sujetos; IM = 4 sujetos) en la cohorte de dosis 1. En la cohorte de dosis 2, 11/12 (92 %) sujetos tuvieron ≥ 1 evento adverso (IV = 6 sujetos; IM = 5 sujetos). No se informaron eventos adversos graves o eventos adversos de grado ≥ 3 para ningún sujeto en ninguna de las cohortes de dosis. El evento adverso surgido del tratamiento más común que se produjo en ≥ 2 sujetos en cada cohorte de dosis fue náuseas (Figura 1, ver la Tabla 1). Dispepsia fue el evento adverso más común en sujetos que recibieron 12,5 mg/m² por vía IM de L-asparaginasa recombinante (Figura 1, ver la Tabla 1). La evaluación de la farmacocinética demostró que cuando se administra por vía IM, los niveles de la actividad de asparaginasa sérica de la L-asparaginasa recombinante alcanzaron $\geq 0,1$ IU/ml en 6/6 (100 %) sujetos a las 48 y 72 horas después de la dosis en las cohortes de dosis de 12,5 y 25 mg/m². Tras la administración por vía IV, los niveles de la actividad de asparaginasa sérica alcanzaron $\geq 0,1$ IU/ml en 6/6 (100 %) sujetos a las 48 horas y 4/6 (67 %) sujetos a las 72 horas después de la dosis en el nivel de dosis de 25 mg/m², mientras que 6/6 (100 %) sujetos alcanzaron $\geq 0,1$ IU/ml a las 48 y 72 horas después de la dosis en el nivel de dosis de 37,5 mg/m² (Figura 1, ver la Tabla 2).

[00245] La administración de la L-asparaginasa recombinante en adultos sanos fue bien tolerada y no hubo eventos adversos imprevistos, no se informaron actividades de asparaginasa sérica ni eventos adversos de grado ≥ 3 . Se alcanzaron niveles de actividad de la asparaginasa sérica $\geq 0,1$ UI/ml, un marcador sustituto de la disminución de asparagina, en todos los sujetos humanos que recibieron L-asparaginasa recombinante por vía IM e IV a las 48 horas. Se alcanzaron también niveles de SAA $\geq 0,1$ IU/ml en todos los sujetos a las 72 horas después de la dosis de L-asparaginasa recombinante, con la excepción de 2 sujetos en el grupo de 25 mg/m² por vía IV. En función de la totalidad de los datos de farmacocinética y seguridad a partir de este estudio, la dosis inicial recomendada para la fase 2/3 es de 25 mg/m² para la vía de administración IM y de 37,5 mg/m² para la vía de administración IV en un cronograma de dosificación de lunes/miércoles/viernes.

Ejemplo 3: Desarrollo y simulación de un modelo de farmacocinética (PK) poblacional

[00246] Se desarrolló un modelo de PK poblacional para L-asparaginasa recombinante mediante el uso de los datos de actividad de asparaginasa sérica (SAA) intensiva de un estudio de dosis única de fase 1 en sujetos (sbj) adultos sanos, y se

evaluaron los efectos de las covariables intrínsecas (peso corporal, área de superficie corporal, edad, sexo y etnia) en parámetros de PK. Este modelo de PK poblacional se desarrolló para informar la dosis inicial seleccionada para el estudio crucial de L-asparaginasa recombinante de fase 2/3. Se incluyó un total de 24 sujetos en el modelo, incluso datos por vía intravenosa (IV) a 25 mg/m² [N = 6] y 37,5 mg/m² [N = 6], y patos por vía intramuscular (IM) a 12,5 mg/m² [N = 6] y 25 mg/m² [N = 6]. El modelo desarrollado se utilizó para simular perfiles de SAA adultos y pediátricos (1000 sbj/población) para explorar la probabilidad de alcanzar una diana terapéutica a través del nivel de SAA $\geq 0,1$ UI/ml en función de diferentes dosis, esquemas y vías de administración.

[00247] El modelo final, que describe las vías IV e IM, es un modelo de 1 compartimento con eliminación lineal (IV) y absorción de orden mixto (solo IM), donde el peso se incluye como covariable alométrica en la depuración de SAA. Las métricas de tamaño corporal, es decir, el peso corporal y el BSA (área de superficie corporal), se confirmaron como covariables estadísticamente significativas y representaron una variabilidad de 2,8 % y 3,4 % en la PK de L-asparaginasa recombinante. En función de los datos de fase 1 y las simulaciones y los modelos de PK poblacional, la dosis inicial recomendada para un estudio de 2/3 es de 25 mg/m² para la vía de administración IM y de 37,5 mg/m² para la vía de administración IV en un cronograma de dosificación de lunes/miércoles/viernes. Se prevé que las dosis recomendadas y el cronograma mantengan los niveles bajos de SAA $\geq 0,1$ IU/ml a las 72 horas después de la dosis.

Ejemplo 4: Estudio para evaluar la seguridad y eficacia

[00248] Esta prueba es un estudio abierto, multicéntrico, de confirmación de dosis y farmacocinético de fase 2/3 de L-asparaginasa recombinante en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (ALL) o linfoma linfoblástico (LBL) que son hipersensibles a una asparaginasa derivada de *E. coli* (reacción alérgica o inactivación silenciosa) y tienen más de una dosis de asparaginasa derivada de *E. coli* restante en su plan de tratamiento (Tabla 3). El estudio está diseñado para evaluar la tolerabilidad y eficacia de la L-asparaginasa recombinante en pacientes que desarrollan hipersensibilidad a una asparaginasa derivada de *E. coli*, medida por la actividad de la asparaginasa. Para estos pacientes, se sustituyen 6 dosis de L-asparaginasa recombinante por cada dosis de asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. La duración del tratamiento individual del paciente varía según la cantidad de dosis de asparaginasa derivadas de *E. coli* restantes en el plan de tratamiento original del paciente.

[00249] El estudio consta de 2 partes secuenciales: En la parte A se determinó la dosis de L-asparaginasa recombinante para administración por vía intramuscular (IM) y se confirmó la eficacia; en la parte B se definió la dosis óptima y el cronograma de L-asparaginasa recombinante intravenosa (IV).

[00250] La parte A del estudio tiene 2 cohortes IM. La cohorte 1 es una cohorte de dosis repetida/confirmatoria, donde se seleccionará un nivel de dosis por vía IM final. La cohorte 2 es una cohorte de expansión para confirmar la eficacia y seguridad del nivel de dosis por vía IM y cronograma finales.

[00251] La parte B se llevará a cabo para definir la dosis óptima de la administración por vía IV de L-asparaginasa recombinante para estudio adicional en pacientes con ALL/IBL como una dosis repetida.

[00252] Se administrarán ciclos adicionales de L-asparaginasa recombinante en función del plan de tratamiento original de cada paciente durante el tiempo que el paciente obtenga un beneficio clínico.

[00253] Se extraerán muestras de sangre en puntos temporales preespecificados para determinar los niveles de actividad de asparaginasa sérica, y los pacientes se monitorean para detectar eventos adversos. También se evaluó la inmunogenicidad del tratamiento con L-asparaginasa recombinante.

[00254] Los objetivos primarios son (1) determinar la tasa de respuesta durante el primer ciclo de administración por vía IM de L-asparaginasa recombinante. La tasa de respuesta se define como la proporción de pacientes con el nivel de actividad de asparaginasa sérica de nadir de las últimas 72 horas $\geq 0,1$ IU/ml durante el primer ciclo de tratamiento, y (2) evaluar la aparición de eventos adversos emergentes del tratamiento (TEAE).

[00255] Los objetivos secundarios son determinar (1) la proporción de pacientes con el nivel de actividad de asparaginasa sérica de nadir de las últimas 48 horas $\geq 0,1$ UI/ml durante el primer ciclo de administración por vía IM de L-asparaginasa recombinante, en un período de tiempo de dos semanas, (2) la proporción de pacientes con el nivel de actividad de asparaginasa sérica de nadir de las últimas 48 horas $\geq 0,4$ UI/ml durante el primer ciclo de administración por vía IM de L-asparaginasa recombinante, en un período de tiempo de dos semanas, (3) la proporción de pacientes con el nivel de actividad de asparaginasa sérica de nadir de las últimas 72 horas $\geq 0,4$ UI/ml durante el primer ciclo de administración por vía IM de L-asparaginasa recombinante, en un período de tiempo de dos semanas, (4) caracterización de la farmacocinética de

L-asparaginasa por vía IM en función de la actividad de asparaginasa sérica mediante el uso de un enfoque de farmacocinética poblacional y correlaciones relacionadas a la exposición en un período de tiempo de hasta 30 días después de la última dosis, (5) incidencia de la formación de un anticuerpo antifármaco contra L-asparaginasa recombinante en un período de tiempo de 30 días después de la última dosis.

[00256] Los criterios de elegibilidad permitieron la participación tanto de hombres como de mujeres. Los criterios de inclusión incluyen: (1) pacientes pediátricos y adultos con un diagnóstico de ALL o LBL, (2) pacientes que han padecido una reacción alérgica a una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada O que tienen inactivación silenciosa, (3) pacientes que tienen 1 o más ciclos de asparaginasa derivada de *E. coli* restante en su plan de tratamiento, (4) los pacientes deben haberse recuperado totalmente, a criterio del investigador, de una reacción alérgica previa a asparaginasa derivada de *E. coli*. Los criterios de exclusión incluyen: (1) pacientes que recibieron previamente L-asparaginasa derivada de *Erwinia chrysanthemi* o L-asparaginasa recombinante, (2) pacientes que padecen ALL o LBL recidivante, (3) pacientes que actualmente reciben otro agente en investigación y/o que son tratados con un dispositivo de investigación al mismo tiempo que L-asparaginasa recombinante (dentro de las 48 horas) durante el ciclo 1 de L-asparaginasa recombinante, (4) pacientes que tienen un antecedente de pancreatitis de $\geq$ grado 3, (5) pacientes que tienen antecedentes previos de evento hemorrágico de $\geq$ grado 3 asociado con asparaginasa o trombo asociado con asparaginasa que requieren tratamiento de anticoagulación, excepto eventos trombóticos relacionados con catéter.

[00257] Se realizarán pruebas adicionales con subcohortes adicionales con dosis más altas por encima de 37,5 mg/m², donde cada nivel de dosis adicional no excederá un aumento de 50 % con respecto al nivel de dosis anterior.

[00258] Este estudio permite la inscripción para una evaluación de la formulación por vía IV, así como de la formulación por vía IM; la participación en el centro del estudio quedará a discreción del patrocinador.

[00259] Los niveles indetectables de SAA pueden basarse en el límite inferior de cuantificación, según lo definido por un laboratorio certificado autorizado por CLIA para realizar esta prueba. Los laboratorios certificados por CLIA utilizan diferentes límites de cuantificación en función de sus metodologías de ensayo, y los resultados para determinar los niveles de SAA indetectables pueden variar entre laboratorios.

[00260] La concentración de asparaginasa sérica es la misma que el contenido de

PK para este estudio. Alineación entre el SAP (que utiliza la concentración de asparaginasa sérica) y la etiqueta de los tubos de laboratorio (que utiliza PK Content).

[00261] En ciertas formas de realización preferidas, la ventana de prueba es de 7 días para todas las pruebas de laboratorio, incluidas las pruebas de coagulación y las pruebas de laboratorio en el cribado.

Ejemplo 5: Estudio para evaluar la agregación de proteína

[00262] Un estudio de calificación se llevó a cabo en un lote de L-asparaginasa recombinante a pequeña escala producido a escala de laboratorio. El estudio consistió en la comparación analítica con el producto comercial Erwinase® para garantizar que la calidad, seguridad y potencia de la L-asparaginasa recombinante fuera comparable a la L-asparaginasa nativa a partir de la fermentación natural de *Dickeya chrysanthemi* (actualmente en uso clínico) y no esté afectada de manera adversa por el uso de un sistema de expresión y un proceso de purificación alternativos.

[00263] Método de SEC-HPLC: La determinación de la pureza por cromatografía de exclusión por tamaño se realizó mediante el uso de SEC-HPLC con una columna Phenomenex BioSep SEC-s4000. La columna se acondicionó con fase móvil (fosfato 50 mM, NaCl 200 mM, pH 7,0) a 1 ml/min durante 1 hora antes de las inyecciones. Los estándares de filtración en gel de BioRad se diluyeron a 1 mg/ml en fase móvil y se inyectaron por triplicado después de múltiples inyecciones de blancos de fase móvil para limpiar la columna. Se evaluaron las purezas de la L-asparaginasa recombinante, la crisantaspasa recombinante derivada de *E. coli* y Erwinase® (Figura 2).

[00264] Los resultados de SEC-HPLC exhiben un pico principal que representa el tetramero, así como un pico agregado. Hay diferentes niveles de agregación de HMW en todas las muestras, con cantidades más altas en Erwinaze CAMR176 (6 %) en comparación con la L-asparaginasa recombinante (0,3 %).

[00265] Método de dispersión de luz multiángulo con cromatografía de exclusión por tamaño (SEC MALLS): Mediante C.52.S1640 y el procedimiento operativo estándar Solvias, las soluciones de prueba se prepararon por duplicado para todas las muestras. Las muestras se diluyeron con amortiguador de formulación a 10 mg/ml y se mezclaron. Se prepararon al menos 4 ml. La solución de muestra se filtró a través de un filtro de jeringa 0,2 µM directamente en un vial de HPLC. Se descartaron las primeras gotas. Si la concentración de proteínas era inferior a 10 mg/ml, era necesario ajustar el volumen de inyección para poder inyectar 750 µg. Con esta técnica se analizaron las siguientes muestras y referencias: todos los lotes no estresados, todos

los lotes estresados por congelación durante la noche a $<-75^{\circ}\text{C}$ y 3 horas descongelados a temperatura ambiente durante cinco y diez veces, respectivamente. Los resultados se muestran en la Figura 3.

[00266] Los resultados de SEC MALLS confirman los resultados de SEC-HPLC con niveles de agregación de HMW en Erwinaze® CAMR176 (6 %) más altos en comparación con la L-asparaginasa recombinante (1 %).

[00267] Método de AUC de la velocidad de sedimentación (svAUC): Las muestras de L-asparaginasa recombinante y Erwinaze® se diluyeron a 10 mg/ml en fosfato de sodio 20 mM, pH 7,0, y se dializaron contra el mismo amortiguador. Las muestras luego se colocaron en un rotor analítico AN-60Ti y se cargaron en una ultracentrífuga analítica Beckman-Coulter ProteomeLab XL-I. Los datos se analizaron con el método c(s) desarrollado por Peter Schuck en el N.I.H. e implementado en su programa de análisis SEDFIT (versión 11.3). Las distribuciones de tamaño resultantes se graficaron y los picos se integraron mediante el uso de OriginLab Origin® versión 9.0. En la Figura 4, los resultados demuestran que la L-asparaginasa recombinante exhibe la mayor homogeneidad (debido al menor contenido agregado 1 %) y el material Erwinase® es el menos homogéneo (agregado 5 %). En conclusión, medida por múltiples métodos ortogonales, la L-asparaginasa recombinante tiene un nivel agregado más bajo que Erwinase®.

Ejemplo 6: Estudio para evaluar la agregación de proteína a escala comercial

[00268] Este estudio de calificación se llevó a cabo en un lote de L-asparaginasa recombinante a escala completa producido a 1000 L (que se pretende que sea a escala comercial). El estudio consistió en la comparabilidad analítica con el producto comercial Erwinase® para garantizar que el estudio de comparabilidad de la L-asparaginasa recombinante a pequeña escala (SS) en el Ejemplo 5 se verificara a escala completa (1000 L). El estudio también utilizó el método SEC-MALLS para caracterizar la L-asparaginasa recombinante.

[00269] Se pipetearon alícuotas de L-asparaginasa recombinante de un ml en frascos de PETG de 5 ml y se almacenaron a -20°C . La formulación fue fosfato de sodio 20 mM, cloruro de sodio 50 mM, 6,4 % de trehalosa y el pH fue de 7,0.

[00270] Método de SE-UHPLC: La cromatografía líquida de ultra alta presión por exclusión por tamaño (SE-UPLC) con detección UV se usa para determinar la pureza de las muestras L-asparaginasa recombinante DS en función del tamaño de la molécula, es decir, el radio hidrodinámico. Las muestras y el material de referencia se

diluyen en fase móvil (fosfato 10 mM, arginina 0,3 M, 0,05 % de azida de sodio) a 2,5 mg/ml y se inyectan en una columna de UPLC Waters Acquity (BEH 200 SEG, 1,7 μ m, 4,6 x 30 mm). La L-asparaginasa recombinante DS se eluye isocráticamente a 0,4 ml/min. El perfil de pureza se caracteriza por la detección UV a 280 nm. Para la pureza, se integran y notifican el % de tetrámero (pico principal), el % de HMW y el % de LMW. El perfil de SE-UPLC de la L-asparaginasa DS recombinante consiste en un pico principal identificado como la forma tetramérica de la enzima, así como un pico HMW que se identifica como el octómero en el análisis SEC-MALLS a continuación. También existen niveles muy bajos de hombros traseros de bajo peso molecular (LMW). Las áreas porcentuales se muestran en la Figura 5.

[00271] Según los datos a pequeña escala del Ejemplo 5, la SEC-UPLC mostró que el lote de L-asparaginasa FS recombinante (0,2 %) tiene valores agregados significativamente más bajos que Erwinase CAMR-174 (6 %).

[00272] Método de SEC-MALLS: Las especies de alto peso molecular presentes en dos muestras (A y B) de la L-asparaginasa recombinante se midieron mediante el uso de cromatografía de exclusión por tamaño SEC-MALLS acoplada a un detector de dispersión de luz multiángulo (SEC-MALLS). Las muestras se diluyeron con amortiguador de formulación y se inyectaron en una columna SuperdexTM 200 Increase con un detector Minidawn Treos MALLS. La Figura 6 describe el porcentaje de áreas pico de UV. Los resultados muestran que la L-asparaginasa recombinante está presente principalmente en forma tetramérica con niveles bajos de octámero y agregados de orden superior. También se observaron niveles menores de una especie LMW.

[00273] Las muestras de L-asparaginasa recombinante y Erwinaze[®] se diluyeron a 10 mg/ml en fosfato de sodio 20 mM, pH 7,0, y se dializaron contra el mismo amortiguador. Las muestras luego se colocaron en un rotor analítico AN-60Ti y se cargaron en una ultracentrífuga analítica Beckman-Coulter ProteomeLab XL-I. Los datos se analizaron con el método c(s) desarrollado por Peter Schuck en el N.I.H. e implementado en su programa de análisis SEDFIT (versión 11.3). Las distribuciones de tamaño resultantes se graficaron y los picos se integraron mediante el uso de OriginLab Origin[®] versión 9.0.

[00274] Como se observa en la Figura 7 y la Figura 8, la L-asparaginasa recombinante es altamente homogénea con 99,2 % en la forma tetramérica de la enzima con niveles bajos de octámero (0,61 %) y agregados de orden superior

(0,07 %). Esto confirma los niveles bajos de agregados observados en los métodos SE-UHPLC y SEC-MALLS. Se observó que el lote de Erwinase® era más heterogéneo, con 93,6 % identificado como tetrámero con niveles más altos (6,4 %) de especies de HMW presentes.

Ejemplo 7: Un estudio de fase 1 aleatorizado de la seguridad, tolerabilidad y farmacocinética de *Erwinia Asparaginase recombinante (JZP-458)* en voluntarios adultos sanos

[00275] JZP-458 es una asparaginasa de *Erwinia* recombinante producida con una novedosa plataforma de expresión de *Pseudomonas fluorescens* que proporciona una enzima sin reactividad cruzada inmunológica con asparaginastas derivadas de *E. coli*. Para evaluar la seguridad, tolerabilidad y farmacocinética de una dosis única de JZP-458, se llevó a cabo un estudio aleatorizado, de centro único, abierto y de fase 1 con JZP-458 administrado mediante inyección por vía intramuscular (IM) o infusión por vía intravenosa (IV) a voluntarios adultos sanos. Para determinar la eficacia de la asparaginasa, los niveles séricos de actividad de la asparaginasa (SAA) sirvieron como marcador sustituto de la disminución de asparagina, y los niveles de SAA de nadir (NSAA) $\geq 0,1$ UI/ml fueron el umbral aceptado para demostrar una disminución adecuada de asparagina en la práctica clínica.

[00276] *Métodos.* Entre el 19 de noviembre de 2018 y el 20 de mayo de 2019 se llevó a cabo un estudio de fase 1, aleatorizado, de centro único y abierto en Estados Unidos. El estudio fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional de IntegReview en Austin, Texas, y se llevó a cabo en QPS Miami Research Associates (Miami Clinical Research) en Miami, Florida, de acuerdo con la Declaración de Helsinki y las guías de Buenas prácticas clínicas. Todos los voluntarios sanos concedieron consentimiento informado por escrito antes de la inscripción. Los voluntarios elegibles fueron hombres y mujeres no embarazadas y no lactantes de entre 18 y 55 años de edad con un índice de masa corporal normal (es decir, 19,0-30,0 kg/m²) que gozaban de buena salud general según lo determinado por el investigador en el cribado y en el día -1 y que eran capaces de comprender y cumplir con los requisitos específicos del estudio. Las principales exclusiones del estudio incluyeron antecedente o presencia de cualquier enfermedad, hallazgo físico, examen de laboratorio o hallazgo de electrocardiograma que, a criterio del patrocinador y/o del investigador, pudiera confundir los resultados o la realización del estudio o representar un riesgo para el voluntario sano. Esto incluía cualquier afección que pudiera interferir con la distribución, el metabolismo o la

excreción de fármacos.

[00277] *Diseño del estudio.* En este estudio se seleccionaron voluntarios adultos sanos para elegibilidad entre 2 y 28 días antes de la dosis (Figura 20). Los voluntarios sanos elegibles se registraron en el centro del estudio el día 1 para las evaluaciones iniciales, luego, fueron admitidos en la clínica de internación y recibieron una dosis única del fármaco del estudio el día 1. Todos los voluntarios permanecieron en la clínica de internación para recibir evaluaciones farmacocinéticas (PK) y de seguridad hasta que fueron dados de alta el día 5. Las llamadas telefónicas de seguimiento de seguridad con respecto a los eventos adversos (EA) se realizaron los días 6 y 30.

[00278] Este fue un estudio abierto con una inscripción total de 30 voluntarios adultos sanos. El estudio utilizó un diseño adaptativo para JZP-458, donde la dosis inicial para la cohorte 1 fue de 25 mg/m², y la selección de dosis para la cohorte 2 se basó en datos de seguridad, tolerabilidad y farmacocinética de la cohorte 1. Se siguió un enfoque de dosis centinela para JZP-458 para los primeros 2 voluntarios que recibieron la dosis en el estudio, que fueron aleatorizados a la cohorte de dosis 1 de JZP-458 solamente. Estos 2 voluntarios fueron aleatorizados a JZP-458 por vía IM o IV, 1 por cada vía de administración. Una semana separó a los voluntarios de la dosis centinela de la dosis de los voluntarios restantes en las cohortes iniciales (cohorte de dosis 1 de JZP-458 y cohorte de dosis de Erwinaze), lo cual fue permitido por el protocolo, ya que la seguridad y tolerabilidad de los primeros 2 voluntarios fue considerada aceptable por el investigador y el patrocinador (sin AE relacionado con el fármaco del estudio $\geq$ grado 3).

[00279] Los siguientes 16 voluntarios se aleatorizaron a las cohortes de dosis JZP-458 y Erwinaze, con 10 voluntarios aleatorizados a la cohorte de dosis 1 de JZP-458 y 6 voluntarios a la cohorte de dosis de Erwinaze. Dentro de la cohorte de dosis 1 de JZP-458 y la cohorte de dosis de Erwinaze, los voluntarios se aleatorizaron a grupos de tratamiento IM o IV en una relación de 1:1. Este esquema de aleatorización es equivalente a aleatorizar a los 18 voluntarios a JZP-458 por vía IM, JZP-458 por vía IV, Erwinaze por vía IM o Erwinaze por vía IV en una relación de 2:2:1:1, mientras que se garantiza que los primeros 2 voluntarios aleatorizados recibieron JZP-458 por vía IM y JZP-458 por vía IV con el enfoque de dosis centinela.

[00280] El investigador y el patrocinador evaluaron los datos de seguridad, tolerabilidad y PK de todos los voluntarios de la cohorte de dosis 1 de JZP-458 para determinar la necesidad de inscribir voluntarios en otra cohorte, cohorte de dosis 2 de

JZP-458. Sin embargo, durante el desarrollo del SAP, se determinó que se realizaría la cohorte de dosis 2 de JZP-458 y se evaluaron los datos de seguridad, tolerabilidad y PK recopilados previamente para determinar los niveles de dosis que se utilizarían en esta cohorte. Para la cohorte de dosis 2 de JZP-458, se aleatorizaron 12 voluntarios adicionales a grupos de tratamiento IM o IV en una relación de 1:1.

[00281] *Objetivos.* El objetivo primario fue evaluar la seguridad y tolerabilidad de una dosis única de JZP-458 (IM o IV) en voluntarios adultos sanos, evaluadas según la aparición de eventos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) y cambios clínicamente significativos en los signos vitales y las pruebas de laboratorio. El objetivo secundario fue caracterizar la PK de una dosis única de JZP-458 (IM o IV) en voluntarios adultos sanos, en función de los datos de SAA. Las evaluaciones adicionales incluyeron determinaciones de la concentración de asparaginasa sérica (SAC) para JZP-458 y la medición de los niveles de L-asparagina y L-glutamina para evaluar el efecto farmacodinámico (PD) de JZP-458 en adultos sanos.

[00282] *Método bioanalítico y recolección de muestras farmacodinámicas/farmacocinéticas.* Se recogieron muestras de sangre en serie para la evaluación de PK/PD de todos los voluntarios sanos en puntos de tiempo preespecificados hasta 96 horas después de la dosis. Para la dosis por vía IM, las muestras se tomaron antes de la dosis y a 0,5, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas después de la dosis. Para la dosis por vía IV, las muestras se tomaron antes de la dosis y a 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 y 96 horas después del inicio de la infusión. Las muestras de sangre para el análisis de PK se recogieron en tubos de 4 ml etiquetados de EDTA y se mantuvieron en hielo hasta que las muestras se centrifugaron hasta convertirlas en suero. Las muestras de sangre para el análisis de PD se recogieron en tubos de 4 ml de EDTA y se mantuvieron en hielo hasta que las muestras se centrifugaron hasta convertirlas en suero.

[00283] El análisis bioanalítico de las muestras de PK fue realizado por Charles River Laboratories (Skokie, IL). Las muestras de PK se analizaron para determinar los niveles de SAA mediante el uso de un método de actividad enzimática validado en suero humano en el rango de 0,025 UI/ml a 0,15 UI/ml. Además, las muestras de PK también se analizaron para determinar SAC mediante el uso de un ensayo de contenido enzimático ECLIA validado en suero humano en el rango de 1,0 ng/ml a 128 ng/ml. Se analizaron las muestras de PD para determinar las concentraciones de L-asparagina y L-glutamina a través de Syneos Health (Princeton, NJ), mediante el uso

de un método (LC/MS/MS) de espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida validado en el rango de 0,025 µg/ml a 10,0 µg/ml para L-asparagina y de 0,250 µg/ml a 100 µg/ml para L- glutamina.

[00284] *Análisis estadísticos y de farmacocinética.* La PK de JZP-458 se evaluó principalmente en función de los datos de SAA. Los siguientes parámetros de PK se evaluaron mediante el uso del análisis no compartimental en Phoenix WinNonlin versión 6,3: $C_{\text{máx}}$ = SAA máxima; $C_{48\text{h}}$ = valor de SAA a las 48 horas; $C_{72\text{h}}$ = valor de SAA a las 72 horas; $t_{\text{máx}}$ = tiempo hasta alcanzar $C_{\text{máx}}$; AUC_{0-t} = área bajo la curva de tiempo de SAA desde el momento cero hasta el momento de la última SAA cuantificable; $AUC_{0-\text{inf}}$ = área bajo la curva de tiempo de SAA desde el momento cero hasta el infinito; CL = depuración; V_{ss} = estimación del volumen de distribución en estado estacionario después de la dosis por vía IV; V_z/F = volumen aparente de distribución después de la dosis por vía IM y $t_{1/2}$ = semivida de eliminación final.

[00285] Se utilizaron la estadística descriptiva (n, media, desviación estándar, mediana, mínima y máxima) para resumir los datos continuos, mientras que se usaron los recuentos y porcentajes se para resumir los datos categóricos. Se realizaron análisis *post hoc* para evaluar la relación entre SAA y la concentración de asparaginasa sérica (SAC). Se realizaron análisis de regresión lineal y correlación por fármaco de estudio y entre las vías de administración, así como por vía de administración. En el modelo de regresión lineal, la SAC era la variable dependiente y la SAA era la variable independiente. Por último, no se realizó prueba de hipótesis formal.

[00286] *Resultados.* A las dosis más altas probadas para cada vía de administración (es decir, 25 mg/m² para IM y 37,5 mg/m² para IV), JZP-458 alcanzó niveles de actividad de asparaginasa sérica (SAA) $\geq 0,1$ UI/ml a las 72 horas después de la dosis para el 100 % de los voluntarios sanos. Todos los niveles de dosis de JZP-458 fueron bien tolerados. No hubo eventos adversos imprevistos (AE), AE graves ni AE de grado 3 o superior. En función de los datos de farmacocinética y seguridad a partir de este estudio, la dosis inicial recomendada de JZP-458 para la fase 2/3 es de 25 mg/m² para la vía de administración IM y de 37,5 mg/m² para la vía de administración IV en un cronograma de dosificación de lunes/miércoles/viernes.

[00287] *Datos demográficos iniciales.* En total, se inscribieron 30 voluntarios adultos sanos y se aleatorizaron en el estudio. De los 30 voluntarios inscritos, los 30 completaron el estudio, incluida la llamada telefónica de seguimiento de seguridad final

programada el día 30. Los datos demográficos iniciales generales (media $\pm$ SD) incluyeron una media $\pm$ SD de edad de $38,4 \pm 8,30$ años, peso de $77,04 \pm 9,998$ kg y BSA de $1,91 \pm 0,150$ m² (Figura 16). Además, 63 % eran hombres, 97 % eran hispanos o latinos, 83 % eran blancos y 17 % eran negros/afroamericanos.

[00288] *Análisis de farmacocinética.* El análisis PK establecido consistía en los 30 voluntarios sanos (100 %) inscriptos en el estudio.

[00289] *Datos de actividad de asparaginasa en suero.* En este estudio, la dosis inicial para la cohorte de dosis 1 de JZP-458 fue de 25 mg/m². Se generaron perfiles individuales de tiempo de SAA para todos los grupos de tratamiento (Figura 12). Los valores de SAA antes de la dosis estuvieron por debajo del límite de cuantificación para todos los voluntarios y todos los tratamientos. En la Figura 9 se presenta la cantidad y la proporción de voluntarios con niveles de SAA $\geq 0,1$ UI/ml y $\geq 0,4$ UI/ml a las 48 y 72 horas después de la dosis.

[00290] El nivel de dosis de la cohorte 2 se determinó en función de los datos de SAA de seguridad, tolerabilidad y PK a partir de la cohorte 1. No hubo AE imprevistos, no se informaron AE graves ni se observaron AE de grado 3 o superior en la cohorte 1. En la Figura 12 se muestran los datos de SAA de PK para JZP-458 en la cohorte 1 a 25 mg/m². Para la dosis por vía IM de 25 mg/m², los valores de SAA a las 72 horas después de la dosis fueron $\geq 0,1$ IU/ml en 6/6 (100 %) voluntarios sanos. En la cohorte 2, el nivel de dosis por vía IM se redujo en 50 % para 12,5 mg/m² para estudiar la proporcionalidad de dosis y el perfil de seguridad a esta dosis. De manera alternativa, para una dosis por vía IV de 25 mg/m², los valores de SAA a las 72 horas después de la dosis fueron $\geq 0,1$ IU/ml en solo 4/6 (67 %) voluntarios sanos. Esto sugirió que la dosis por vía IV de 25 mg/m² era inadecuada para mantener los niveles de SAA $\geq 0,1$ IU/ml durante 72 horas. Por lo tanto, en la cohorte 2, el nivel de dosis por vía IV aumentó en 50 % para 37,5 mg/m².

[00291] Después de la administración por vía IM de JZP-458, los niveles de SAA alcanzaron $\geq 0,1$ IU/ml en 6/6 (100 %) voluntarios sanos a las 48 y 72 horas después de la dosis tanto para los niveles de dosis de 12,5 mg/m² y 25 mg/m². Tras la administración por vía IV de JZP-458, los niveles de SAA alcanzaron $\geq 0,1$ IU/ml en 6/6 (100 %) voluntarios sanos a las 48 horas y en 4/6 (67 %) voluntarios sanos a las 72 horas después de la dosis al nivel de dosis de 25 mg/m², mientras que los niveles de SAA alcanzaron $\geq 0,1$ IU/ml en 6/6 (100 %) voluntarios sanos a las 48 y 72 horas después de la dosis al nivel de dosis de 37,5 mg/m². Al mismo nivel de dosis, la vía de

administración IM fue capaz de mantener niveles superiores de SAA en comparación con la vía IV. En la Figura 12 y la Figura 9 se presentan también los datos de SAA de voluntarios sanos que recibieron ERW.

[00292] También se generaron la media y curvas de 95 % de intervalo de confianza (CI) para SAA para JZP-458 con administración por vía IM a 25 mg/m² y la administración por vía IV a 37,5 mg/m² en función de los datos observados (N = 6 cada uno; Figura 13). Los datos indicaron que el límite inferior de 95 % de CI alcanzó $\geq 0,1$ IU/ml a las 72 horas después de la dosis tanto para la administración por vía IM a 25 mg/m² y la administración por vía IV a 37,5 mg/m² para JZP-458 (el límite inferior de 95 % de CI para IM y IV fue de 0,31107 IU/ml y 0,09476 IU/ml, respectivamente). Estos datos facilitaron las recomendaciones de dosis para el estudio crucial de fase 2/3.

[00293] Se resumieron los parámetros de PK basados en SAA para todos los grupos de tratamiento (Figura 10). Al administrarse por vía IM, JZP-458 se absorbió lentamente en función de SAA, con una mediana de t_{máx} de 24 horas y 36 horas después de la administración de las dosis de 12,5 mg/m² y 25 mg/m², respectivamente. La media de valores t_{1/2} de 23,4 horas y 19,1 horas se estimó después de la administración de 12,5 mg/m² y 25 mg/m², respectivamente. Al administrarse por vía IV, los niveles de SAA de JZP-458 disminuyeron con una media de t_{1/2} de 11,5 horas y 12,6 horas después de la administración de la dosis de 25 mg/m² y 37,5 mg/m², respectivamente. En general, la t_{1/2} de JZP-458 después de la administración por vía IM fue mayor que la infusión por vía IV. Además, el volumen de la distribución fue aproximadamente el mismo que el volumen de plasma.

[00294] La evaluación de la proporcionalidad de dosis en función de SAA demostró que las exposiciones a JZP-458 aumentaron al aumentar las dosis en función de SAA (Figura 17). Tanto para la administración por vía IM como IV, los aumentos en las exposiciones a SAA de JZP-458 (C_{máx} y AUC) fueron aproximadamente proporcionales a la dosis para los rangos de dosis estudiados. También se calculó la biodisponibilidad de JZP-458 para la vía de administración IM; se estimó entre 34,5 % y 36,8 % para JZP 458 en función de los datos de SAA.

[00295] *Datos de concentración de asparaginasa sérica:* Históricamente, la PK de la asparaginasa se determina en función de los datos de SAA. Sin embargo, se desarrolló un ensayo de contenido de enzima para medir las concentraciones de asparaginasa JZP-458 en suero humano.

[00296] Se generaron perfiles de tiempo de SAC individuales y promedio para todos los grupos de tratamiento (Figuras 14A-C), y los parámetros PK en función de la SAC se resumen en la Figura 18. Al administrarse por vía IM, JZP-458 se absorbió lentamente en función de SAC, con valores de mediana de $t_{\text{máx}}$ de 30 horas para ambas dosis de 12,5 mg/m² y 25 mg/m². Se estimaron valores de media de $t_{1/2}$ de 28,9 horas y 25,4 horas para JZP-458 a 12,5 mg/m² y 25 mg/m², respectivamente. Después de la administración por vía IV de JZP-458, los niveles de SAC disminuyeron con una media de $t_{1/2}$ de 12,0 horas y 12,7 horas después de la administración de la dosis de 25 mg/m² y 37,5 mg/m², respectivamente.

[00297] También se evaluaron la proporcionalidad de la dosis y la biodisponibilidad de JZP-458 en función de la SAC (Figura 19). Las exposiciones a JZP-458 aumentaron al aumentar la dosis en función de la SAC. Tanto para la administración por vía IM como IV, los aumentos en las exposiciones a JZP-458 basados en SAC ($C_{\text{máx}}$ y AUC) fueron aproximadamente proporcionales a la dosis para los rangos de dosis estudiados. Para la vía de administración IM, la biodisponibilidad se estimó entre 37,7 % y 43,9 % para JZP-458 en función de los datos de la SAC.

[00298] La relación entre SAA y SAC se exploró adicionalmente para JZP-458 (Figura 14D). Cuando se evaluaron las vías de administración de JZP-458, se observó una fuerte asociación positiva entre SAA y SAC con un coeficiente de correlación superior a 0,95. Además, la ecuación del modelo de regresión lineal fue $\text{SAC} = 1407,9 \times \text{SAA}$. Estos datos sugieren que cuando los niveles de SAA son de 0,1 UI/ml, el SAC correspondiente sería de aproximadamente 141 ng/ml en esta población adulta sana.

[00299] *Datos farmacodinámicos.* La asparaginasa hidroliza el aminoácido asparagina en ácido aspártico y amoníaco. Los niveles plasmáticos de asparagina se monitorearon durante toda la duración del tratamiento. En la Figura 15 se proporcionan los perfiles de concentración media de SAA comparada con la concentración plasmática media de asparagina a lo largo del tiempo. La media de concentraciones de asparagina en plasma de referencia (antes de la dosis) fueron similares para los grupos IM y IV; las concentraciones individuales previas a la dosis de asparagina estuvieron en el rango entre 5,09 µg/ml y 13,8 µg/ml para todos los voluntarios, lo que concuerda con los valores informados en la literatura. Después de la administración de JZP-458 (IM e IV), los niveles medios de asparagina plasmática disminuyeron rápidamente con respecto a las concentraciones previas a la dosis (cohorte 1: 8,62 µg/ml y 8,96 µg/ml para IM e IV, respectivamente; cohorte 2: 6,42 µg/ml y 5,89 µg/ml

para IM e IV, respectivamente) a niveles por debajo del límite inferior de cuantificación del ensayo (LLOQ; 0,025 µg/ml) para ambas vías, y permaneció indetectable hasta el momento final de recolección de la muestra a las 96 horas. Los datos indicaron que había una correlación directa entre SAA y la reducción de los niveles de asparagina plasmática. En todos los niveles de dosis de JZP-458, los niveles de asparagina plasmática disminuyeron completamente con la administración de JZP-458. A las dosis más altas de JZP-458 probadas (es decir, 25 mg/m² para IM y 37,5 mg/m² para IV) en este estudio de fase 1 con voluntarios sanos, JZP-458 no solo alcanzó niveles de SAA ≥0,1 UI/ml a las 72 horas después de la dosis para el 100 % de los voluntarios sanos para cada vía, pero también resultó en una disminución completa de los niveles plasmáticos de asparagina hasta 96 horas después de la dosis.

[00300] Además de la asparagina, la asparaginasa también es capaz de hidrolizar la glutamina a ácido glutámico y amoníaco, pero con mucha menos eficacia. Se monitorearon los niveles plasmáticos de glutamina para todos los tratamientos (Figura 17). Las concentraciones medias de glutamina en plasma de referencia (antes de la dosis) fueron similares para los grupos IM y IV; las concentraciones individuales previas a la dosis de glutamina estuvieron en el rango entre 60,4 µg/ml y 146 µg/ml para todos los voluntarios, lo que también concuerda con los valores informados en la literatura. Los datos mostraron que los niveles medios de glutamina en plasma cayeron rápidamente después de la administración por vía IV de JZP-458 desde las concentraciones previas a la dosis de 106,5 y 74,0 µg/ml para la cohorte 1 y la cohorte 2, respectivamente, a niveles por debajo del LLOQ del ensayo (0,25 µg/ml) durante aproximadamente 12 horas, después de lo cual los niveles de glutamina se recuperan aproximadamente a los niveles previos a la dosis en el momento final de recolección de la muestra, 96 horas después de la dosis. Para la vía IM, los niveles medios de glutamina plasmática disminuyeron después de la administración por vía IM de JZP-458, donde el nivel más bajo de glutamina se observó 36 horas después de la dosis con una disminución de la glutamina de 79 % y 47 % a 25 mg/m² y 12,5 mg/m², respectivamente, después de lo cual los niveles de glutamina se recuperaron a niveles similares a los previos a la dosis en el último punto temporal de recolección de muestra de 96 horas después de la dosis. No se observó una disminución completa de L-glutamina; los niveles de glutamina se vieron afectados moderadamente hasta sólo una disminución parcial, y los datos fueron más variables que los observados para la L-asparagina.

[00301] *Seguridad y tolerabilidad.* El perfil de seguridad observado para JZP-458 en este estudio de fase 1 fue consistente con los perfiles de otras asparaginasa. Todos los niveles de dosis de JZP-458 fueron bien tolerados; no hubo AE imprevistos, no se informaron AE graves ni AE de grado 3 o superior. El TEAE más común que se produjo en ≥ 2 voluntarios sanos en cada cohorte de dosis fue la náusea (Figura 11).

[00302] *Análisis.* Se está desarrollando JZP-458, una asparaginasa recombinante de *Erwinia* sin reactividad cruzada inmunológica esperada con las asparaginasa derivadas de *E coli.*, para garantizar la disponibilidad del tratamiento con asparaginasa para pacientes con ALL o LBL que desarrollan hipersensibilidad a las asparaginasa derivadas de *E coli.* En este estudio de fase 1 aleatorizado, de centro único y abierto a las dosis más altas probadas para cada vía de administración (es decir, 25 mg/m² para IM y 37,5 mg/m² para IV), JZP-458 alcanzó niveles de SAA $\geq 0,1$ UI/ml a las 72 horas después de la dosis para el 100 % de los voluntarios adultos sanos en este estudio en cada vía. Los niveles de SAA observados en este estudio también indicaron que JZP-458 es capaz de reducir por completo los niveles de asparagina plasmática. Esto se confirmó por las concentraciones de asparagina medidas en este estudio. En todos los niveles de dosis de JZP-458, los niveles de asparagina plasmática disminuyeron completamente con el tratamiento con JZP-458 con vías de administración tanto IM como IV. Además, el perfil de seguridad de JZP-458 en este estudio fue consistente con los perfiles de otras asparaginasa. Todos los niveles de dosis de JZP-458 fueron bien tolerados; no hubo AE imprevistos, no se informaron AE graves ni AE de grado 3 o superior.

[00303] De acuerdo con los datos acumulados de PK y seguridad, la dosis inicial crucial recomendada de fase 2/3 de JZP-458 es de 25 mg/m² para la vía de administración IM y de 37,5 mg/m² para la vía de administración IV en un esquema de dosis de lunes/miércoles/viernes. Estas dosis alcanzaron niveles de SAA $\geq 0,1$ UI/ml a las 72 horas posteriores a la dosis para 6/6 (100 %) voluntarios sanos en este estudio de fase 1 en voluntarios adultos sanos, y se espera que estas dosis mantengan niveles de SAA $\geq 0,1$ UI/ml durante toda la duración del tratamiento en el estudio crucial de fase 2/3.

[00304] Completar el tratamiento con asparaginasa es importante para mejorar los resultados de los pacientes, como se demostró en estudios anteriores. En el estudio del Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 91-01, los pacientes con intolerancia a la asparaginasa, definida como la finalización de ≤ 25 semanas de un

total planificado de 30 semanas de tratamiento con asparaginasa, tuvieron una EFS a 5 años significativamente menor en comparación con los pacientes que recibieron ≥ 26 semanas de tratamiento con asparaginasa (73 % en comparación con 90 %, respectivamente; $P < 0,01$). Un estudio reciente de Children's Oncology Group demostró que los pacientes con ALL de riesgo estándar de alto riesgo y respuesta temprana lenta que no completaron las dosis de asparaginasa prescritas tuvieron una EFS significativamente inferior en comparación con los pacientes que recibieron todas las dosis de asparaginasa prescritas. Cabe destacar que los pacientes con reacciones de hipersensibilidad que completaron su ciclo de tratamiento con sustitución de asparaginasa de Erwinia presentaron una SSC similar a la de aquellos que completaron su ciclo de tratamiento de primera línea con asparaginasa. Estos estudios sugieren que los pacientes que completan las dosis de asparaginasa prescritas, ya sea con asparaginasa de primera o segunda línea, tienen mejores resultados que aquellos que interrumpen el tratamiento temprano. Estos resultados resaltan la necesidad de preparaciones de asparaginasas alternativas para garantizar que los pacientes que desarrollan hipersensibilidad a las asparaginasas derivadas de *E. coli* puedan completar su tratamiento completo.

[00305] Conclusiones. A las dosis más altas probadas para cada vía de administración (es decir, 25 mg/m² para IM y 37,5 mg/m² para IV), JZP-458 alcanzó niveles de SAA $\geq 0,1$ UI/ml a las 72 horas después de la dosis en cada vía para el 100 % de los voluntarios adultos sanos en este estudio de fase 1, y resultó en una disminución completa de la asparagina sin AE imprevistos, SAE o AE de grado ≥ 3 . De acuerdo con los datos acumulados de PK y seguridad de este estudio, la dosis inicial recomendada de fase 2/3 de JZP-458 es de 25 mg/m² para la vía de administración IM y de 37,5 mg/m² para la vía de administración IV en un esquema de dosis de lunes/miércoles/viernes. Se puede usar JZP-458 como alternativa de tratamiento para pacientes con ALL/IBL que desarrollen hipersensibilidad a las asparaginasas derivadas de *E-coli*.

Ejemplo 8: Estudio de fase 2/3 de JZP-458 en pacientes con ALL/IBL hipersensibles a las asparaginasas derivadas de *E. coli* (Cohortes 1a y 1b).

[00306] Se diseñó un estudio abierto, multicéntrico, de confirmación de dosis y PK de JZP-458 para participantes (de cualquier edad) con ALL/IBL hipersensibles a las asparaginasas derivadas de *E-coli* (reacción alérgica o inactivación silenciosa). Este estudio se diseñó para evaluar la tolerabilidad y eficacia de JZP-458, como se mide

por la actividad de asparaginasa sérica con análisis adicionales de apoyo para la disminución de asparagina y los niveles de anticuerpos antifármaco (ADA). Se sustituyen seis dosis de JZP-458 por cada dosis de asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. Dos semanas consecutivas de tratamiento con JZP-458 se definen como un tratamiento.

[00307] *Diseño del estudio.* Este estudio consta de 2 partes: La Parte A para determinar la dosis de JZP-458 para administración IM y confirmar la seguridad y eficacia; y la Parte B para definir la dosis óptima y el programa de administración IV de JZP-458 (ver la Figura 22 y la Figura 23). Las Partes A y B se pueden investigar de forma paralela. La Parte A (IM) investigó múltiples cohortes: en la Cohorte 1, se determinó la dosis óptima; y en la Cohorte 2, se expandió el número de participantes tratados con la dosis óptima. La Parte B (IV) refleja la Parte A: en ambas partes, un tratamiento de JZP-458 (6 dosis durante 2 semanas) puede comenzar ya sea un lunes, miércoles o viernes, y el número de tratamiento por participante dependerá de su plan de tratamiento individual. En cada parte, un tratamiento de JZP-458 (6 dosis durante 2 semanas) puede comenzar en un lunes, miércoles o viernes; el número de tratamiento por participante dependerá de su plan de tratamiento individual. La dosis inicial fue de 25 mg/m² para la vía de administración IM (Cohorte 1a). La dosis inicial se seleccionó en función de los resultados del estudio de fase 1.

[00308] *Objetivos:* Los objetivos primarios del estudio fueron determinar la eficacia de la administración intramuscular de JZP-458, como se mide por la respuesta en la Cohorte 1 y la Cohorte 2, que se define como el último nivel de NSAA de 72 horas $\geq$ 0,1 UI/ml durante el primer tratamiento, y evaluar la seguridad y tolerabilidad de JZP-458 administrado de forma intramuscular en participantes con ALL/IBL hipersensibles a las asparaginasas derivadas de *E. coli*. Los objetivos adicionales incluyeron los siguientes:

[00309] *Objetivo secundario clave:* Determinar la eficacia de la administración IM de JZP-458, como se mide por la respuesta en la Cohorte 1 y la Cohorte 2, que se define como el último nivel de NSAA de 48 horas $\geq$ 0,1 UI/ml durante el primer tratamiento

[00310] *Objetivos secundarios:* 1) Determinar la eficacia de la administración IM de JZP-458, como se mide por la respuesta en la Cohorte 1 y la Cohorte 2, que se define como los niveles de NSAA durante las últimas 48 horas y las últimas 72 horas $\geq$ 0,4 IU/ml durante el primer tratamiento, 2) Caracterizar la PK de JZP-458 administrado de forma IM mediante un enfoque PPK y explorar correlaciones E-R mediante el uso de

datos de todos los participantes de todos los niveles de dosis y muestras de todos los puntos de tiempo, y 3) Evaluar la inmunogenicidad de JZP-458 administrado de forma IM después de la administración repetida de JZP-458.

[00311] *Objetivos exploratorios (para la Parte B del estudio).* 1) Determinar la eficacia de la administración IV de JZP-458, como se mide por la respuesta, que se define como los niveles de NSAA durante las últimas 48 horas $\geq 0,1$ IU/ml y las últimas 72 horas $\geq 0,1$ IU/ml durante el primer tratamiento; 2) Determinar la eficacia de la administración IV de JZP-458, como se mide por la respuesta, que se define como los niveles de NSAA durante las últimas 48 horas $\geq 0,4$ IU/ml y las últimas 72 horas $\geq 0,4$ IU/ml durante el primer tratamiento.

3) Evaluar la seguridad y tolerabilidad de JZP-458 administrado por IV en participantes con ALL/IBL

hipersensibles a las asparaginasas derivadas de *E-coli*, 4) Caracterizar la PK de JZP-458 IV mediante un enfoque PK poblacional y 5) Evaluar la inmunogenicidad de JZP-458 IV tras la administración repetida de JZP-458.

[00312] *Resultados preliminares:* Hasta el 07 de octubre de 2020, se inscribieron 31 participantes en la Cohorte 1a y 56 participantes en la Cohorte 1b del estudio crucial de Fase 2/3 (JZP458-201). La primera evaluación SDRC definida por protocolo de la Cohorte 1a incluyó datos de 6 participantes evaluables, y la segunda evaluación SDRC de la Cohorte 1a incluyó datos acumulativos de 16 participantes evaluables. Cada recomendación del SDRC se basa en una revisión de todos los datos disponibles en ese momento. Después de una evaluación de los datos de eficacia disponibles y debido a que no se observaron acontecimientos de seguridad imprevistos en el nivel de dosis de IM de 25 mg/m^2 , se inició la evaluación del nivel de dosis de IM de $37,5 \text{ mg/m}^2$ (Cohorte 1b). El primer participante se inscribió en la Cohorte 1b el 29 de junio de 2020. La evaluación del SDRC de los datos de la Cohorte 1b tuvo lugar el 01 de septiembre de 2020 como una revisión preliminar de los datos de los primeros 7 participantes inscritos en la Cohorte 1b. Esta reseña incluyó todos los datos disponibles de SAA, datos de modelado y simulación PPK, y datos de seguridad del estudio. Los resultados preliminares respaldaron la continuación de la inscripción sin modificaciones, con una revisión posterior del estudio cuando estuvieron disponibles datos de al menos 13 participantes evaluables en la Cohorte 1b, de acuerdo con el Estatuto del SDRC. A continuación se resumen los resultados preliminares disponibles de las cohortes 1a (N = 31) y 1b (N = 17).

[00313] Niveles de actividad de asparaginasa en suero. Se analizaron muestras de suero para determinar la SAA. Los niveles de SAA sirven como marcador sustituto de eficacia y respuesta. Los análisis bioanalíticos para SAA fueron realizados por Charles River Laboratories (Skokie, IL), mediante un método validado de actividad enzimática en suero humano y el estándar de referencia JZP-458 (lote N.º RM-M-009; actividad específica de 693 U/mg) en el rango de 0,035 IU/ml a 0,210 IU/ml.

[00314] Los participantes evaluables para la Cohorte 1 se definieron como aquellos participantes que habían recibido al menos 3 dosis de JZP-458 IM y tenían un nivel de NSAA de 72 horas recolectado dentro de la ventana de recolección de muestras definida por el protocolo (± 2 horas) durante la segunda mitad del Tratamiento 1. De los 31 participantes inscritos a 25 mg/m², 26 se consideraron evaluables a efectos del objetivo primario de eficacia en la Cohorte 1 de acuerdo con el protocolo. Las razones por las cuales los participantes fueron considerados no evaluables incluyeron lo siguiente: 1) En 2 participantes se recolectaron muestras de PK a las 72 horas fuera de la ventana de tiempo definida para la recolección de muestras. 2) En 1 participante no se recolectó ninguna muestra PK a las 72 horas. 3) 1 participante retiró su consentimiento informado y no se recolectaron muestras de PK. 4) 1 participante tuvo valores de SAA que fueron considerados no evaluables debido a interferencias en el ensayo por lípidos elevados (de acuerdo con la evaluación del laboratorio bioanalítico, Charles River Laboratory). Este participante tenía hipertrigliceridemia de Grado 2 (318 mg/dl) al inicio del estudio e hipertrigliceridemia de Grado 4 (2679 mg/dl) (informada como TEAE; ver los detalles en la síntesis de seguridad a continuación) durante el Tratamiento 1. Los triglicéridos del participante continuaron disminuyendo hasta el valor inicial o por debajo de éste en los ciclos posteriores de JZP-458 y, más recientemente, el participante completó el ciclo 5 con una disminución de los niveles de triglicéridos a 234 mg/dl (Grado 1).

[00315] De los 17 participantes incluidos en el análisis preliminar de la Cohorte 1b (37,5 mg/m²), 16 participantes fueron evaluables para el propósito del objetivo primario de eficacia en la Cohorte 1 (1 participante tuvo una muestra de PK de 72 horas recolectada fuera de la ventana de recolección definida, por lo que fue excluido para el punto final primario pero se incluyó para otros puntos finales). En la Figura 24 se resumen los resultados preliminares de la SAA individual en puntos temporales clave. Los resultados preliminares observados de SAA muestran que en el nivel de dosis IM de JZP-458 de 25 mg/m² (N = 26 participantes evaluables), la media (CI de 95 %) de

los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,1560 (0,1144-0,1976) y 0,4504 (0,3637-0,5370), respectivamente (la media [primer cuartil, Q1; tercer cuartil, Q3] de los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,1345 [0,0886, 0,2178] y 0,4091 [0,2813, 0,6577], respectivamente). Los resultados preliminares observados de SAA muestran que en el nivel de dosis IM de JZP-458 de 37,5 mg/m² (N = 16 participantes evaluables), la media (CI de 95 %) de los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,2605 (0,1326-0,3884) y 0,7146 (0,3976-1,0316), respectivamente (la media [Q1, Q3] de los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,1732 [0,1157, 0,2849] y 0,6503 [0,3248, 0,8736], respectivamente).

[00316] Las proporciones de participantes con niveles de NSAA $\geq 0,1$ UI/ml y $\geq 0,4$ UI/ml en las últimas 72 y 48 horas posdosis se presentan en la Figura 25. En los niveles de dosis IM de JZP-458 de 25 mg/m² (N = 26 participantes evaluables) y 37,5 mg/m² (N = 16 participantes evaluables), el 65,4 % y el 81,3 % de los participantes, respectivamente, alcanzaron niveles de NSAA $\geq 0,1$ IU/ml en la última evaluación de 72

horas (criterio de valoración primario); y 96,2 % y 93,8 % de los participantes, respectivamente, alcanzaron

niveles de NSAA $\geq 0,1$ UI/ml en la última evaluación de 48 horas (criterio de valoración secundario clave).

[00317] *Modelización y simulación farmacocinética de poblaciones:* Se realizaron análisis preliminares de PPK (criterio de valoración secundario) mediante el uso de datos de SAA (datos recibidos el 28 de septiembre de 2020). Se incluyeron un total de 319 puntos de datos cuantificables de SAA (solo Tratamiento 1) de 47 participantes (30 participantes a 25 mg/m² y 17 participantes a 37,5 mg/m²) del estudio JZP458-201 que recibieron JZP-458 por IM en el desarrollo del modelo PPK. Se ajustaron modelos a los datos de SAA para identificar un modelo estructural. Peso, altura, superficie corporal, edad, género, raza, etnia, enfermedad y subtipo de enfermedad se evaluaron como posibles covariables en la depuración y el volumen de SAA en JZP-458. Solo el peso resultó ser estadísticamente significativo y se incluyó en el modelo.

[00318] El modelo de covariables desarrollado para JZP-458 fue un único modelo IM de 1 compartimento con eliminación lineal y absorción de primer orden, con el peso incluido como covariable alométrica en el aclaramiento y volumen de SAA en JZP-458, y un modelo de error residual proporcional. Los diagnósticos del modelo mostraron

buenos ajustes en función de los datos predichos frente a los datos observados y en las metodologías de modelado predictivo.

[00319] El modelo de covariables se utilizó para simular perfiles de SAA en pacientes (N = 2000 sujetos por nivel de dosis) para explorar la probabilidad de alcanzar un nivel terapéutico de NSAA $\geq 0,1$ IU/ml. Las poblaciones virtuales simuladas se crearon a partir de un nuevo muestreo con sustitución de sujetos a partir de los datos demográficos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de los Centros para el Control de Enfermedades. La población de simulación abarcó desde los 2 hasta los 85 años de edad, con un rango de peso de 8,9 a 174,6 kg (mediana de 62,7 kg).

[00320] Se simularon tanto los programas de dosis de los días viernes, lunes, miércoles (FMW) así como los de los días lunes, miércoles, viernes (MWF) para 6 dosis por 1 curso de tratamiento, con un enfoque en el programa FMW porque representaba el escenario más conservador con el primer NSAA de 72 horas después de solo una dosis. Los datos de simulación indicaron que el día de inicio no afecta el porcentaje simulado de pacientes con niveles de NSAA $\geq 0,1$ IU/ml para los puntos temporales de las últimas 48 o 72 horas. Los perfiles simulados para el programa de dosificación FMW, con medianas e intervalos de predicción del 95 %, se presentan en la Figura 26. Los resúmenes tabulares del porcentaje simulado de pacientes que alcanzan NSAA $\geq 0,1$ IU/ml y los niveles medios predichos de SAA para dosis IM comprendidas entre 25 y 80 mg/m² se presentan en la Figura 27.

[00321] En función del modelado y simulación PPK, con una dosis IM de 37,5 mg/m² de JZP-458 en un cronograma de dosificación FMW, se espera que JZP-458 alcance niveles de NSAA de las últimas 72 horas $\geq 0,1$ IU/ml en 87 % de los pacientes (IC de 95 %: 85,5 %-88,5 %) y que alcance niveles de NSAA de las últimas 48 horas $\geq 0,1$ IU/ml en un 99,9 % de los pacientes (IC del 95 %: 99,7 %-100 %); los niveles medios simulados de NSAA fueron 0,29 (intervalo de predicción: 95 % 0,06-0,88) y 0,58 (intervalo de predicción: 95 %: 0,2-1,32) en las últimas 72 y 48 horas, respectivamente. El modelo PPK predice que con una dosis de 50 mg/m², el 94,2 % de los pacientes alcanzarían niveles de NSAA $\geq 0,1$ UI/ml a las 72 horas después de la dosis.

[00322] *Resultados preliminares de la disminución de asparagina.* Las muestras farmacodinámicas se analizaron para determinar las concentraciones de asparagina por Syneos Health (Princeton, NJ), mediante el uso de un método validado de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem en un rango de 0,025 a 10,0 µg/ml (Biomarker Partial Validation Report Amendment 1, SN 0044). Las

muestras de sangre para el ensayo de asparagina se colocaron en un baño de hielo inmediatamente después de la recolección, y el plasma procesado se almacenó a -80°C dentro del plazo de 30 minutos para garantizar que las mediciones analíticas representen los niveles de asparagina in vivo. Se midieron los niveles de asparagina para corroborar la eficacia de JZP-458 durante el intervalo de la dosis. El nivel promedio de asparagina de inicio fue de 10,2557 µg/ml (IC de 95 %: 9,2175-11,2938) para 30 participantes tratados en la Cohorte 1a (25 mg/m²) y fue de 10,2282 µg/ml (CI de 95 %: 7,1852-13,2712) para 17 participantes tratados en la Cohorte Cohort 1b (37,5 mg/m²), lo cual es consistente con los valores informados en la literatura (Tong 2014). En la mayoría de los participantes, se observó una disminución completa de la asparagina plasmática en la mayoría de las muestras, por ejemplo, los niveles de asparagina plasmática disminuyeron rápidamente desde los niveles antes de la dosis hasta niveles por debajo o cerca del límite inferior de cuantificación del ensayo (0,025 µg/ml) y se mantuvieron durante toda la duración del tratamiento del Tratamiento 1 hasta la dosis anterior 6, en la que se recogió la última muestra. Cuatro participantes presentaron aumentos transitorios de niveles bajos de asparagina (3 de la Cohorte 1a y 1 de la Cohorte 1b).

[00323] *Resultados de seguridad preliminares.* En la Cohorte 1a, se administró JZP-458 IM de 25 mg/m² a un total de 31 participantes. En la Cohorte 1b, se dispone de datos de 17 participantes con dosis de JZP-458 IM de 37,5 mg/m².

[00324] La Figura 28 presenta un resumen de los TEAE por cohorte de dosis. La mayoría de los participantes experimentaron al menos 1 TEAE. En la cohorte JZP-458 IM de 25 mg/m², los eventos adversos más frecuentes fueron la disminución del recuento de neutrófilos (32,3 % de los participantes, 10/31), la disminución del recuento de glóbulos blancos (25,8 % de los participantes, 8/31) y anemia (22,6 % de los participantes, 7/31) (Tabla 4, Cohorte 1a). En la cohorte JZP-458 IM de 37,5 mg/m², los eventos adversos más frecuentes fueron vómitos (35,3 % de los participantes, 6/17) y náuseas (23,5 % de los participantes, 4/17) (Figura 27, Cohorte 1b).

[00325] En la cohorte de JZP-458 IM 25 mg/m² (N = 31), se notificaron TEAE de grado 3 o 4 en 18 participantes (58,1 %), de los cuales los TEAE de grado 3 o 4 de disminución del recuento de neutrófilos (29,0 %), disminución del recuento de leucocitos (16,1 %) y neutropenia febril (19,4 %) fueron los más frecuentes (Tabla 6). En general, se informó una toxicidad no hematológica de Grado 3 o superior

relacionada con el tratamiento, no anticipada y clínicamente significativa en 1 participante (hipertrigliceridemia de Grado 4, considerada relacionada con el fármaco del estudio) (Tabla 6 y Listado 1, Cohorte 1a). Se informaron TEAE graves en 9 participantes (29,0 %) en la cohorte JZP-458 IM de 25 mg/m² (Tabla 5). Los EAE graves incluyeron presíncope en 1 participante; rinorrea y neutropenia febril en 1 participante; neutropenia febril, deshidratación y pirexia en 1 participante; hipersensibilidad al fármaco y neutropenia febril en 1 participante; neutropenia febril en 1 participante; neutropenia febril y estomatitis en 1 participante; empeoramiento de la mucositis oral en 1 participante; pirexia en 1 participante; y metahemoglobinemia en 1 participante. Todos estos TEAE graves se consideraron no relacionados con el fármaco del estudio, a excepción de los eventos de hipersensibilidad al fármaco y neutropenia febril en 1 participante.

[00326] En general, 1 participante (JZP-458 de 25 mg/m²) experimentó un evento adverso relacionado con el tratamiento que llevó a la discontinuación del fármaco del estudio. El participante (4 años de edad) presentó una reacción alérgica de grado 2 (no grave) a la cefepima y el sulfametoxazol/trimetoprima el día de la dosis 5 del Tratamiento 1.

[00327] Ambos fármacos se interrumpieron. Posteriormente, 1 día después de recibir la dosis 3 del Tratamiento 2 de JZP-458, el participante experimentó un TEAE grave de hipersensibilidad al fármaco (Grado 3). Al día siguiente, el episodio se resolvió y el participante fue dado de alta. Este acontecimiento se consideró relacionado con el fármaco del estudio y condujo a la interrupción de este (Listado 1, Cohorte 1a). En la cohorte de JZP-458 IM de 37,5 mg/m² (N = 17), 6 participantes experimentaron TEAE de Grado 3 o 4, con la neutropenia febril (17,6 %, 3/17) como la más común (Figura 30 y Listado 1, cohorte 1b). Tres participantes en la cohorte JZP-458 IM de 37,5 mg/m² experimentaron TEAE graves (vómitos y dolor abdominal [no relacionado con el fármaco del estudio] en 1 participante; hipersensibilidad al fármaco [término literal: reacción alérgica a JZP-458; relacionada con el fármaco del estudio] y neutropenia febril en 1 participante [relacionado con el fármaco del estudio]; y neutropenia febril [relacionada con el fármaco del estudio; 2 eventos] en 1 participante) (Figura 28). En estos participantes no se informó de ningún acontecimiento de toxicidad no hematológica de grado 3 o superior, imprevisto y clínicamente significativo, y ningún TEAE provocó la interrupción del estudio (Figura 29, Cohorte 1b).

[00328] Los eventos adversos de interés para la asparaginasa incluyen reacciones

alérgicas, pancreatitis y trombosis (Stock 2011; Kearney 2009; Pieters 2011; Plourde 2014; Kloos 2020; Asparlas, Summary Basis of Approval 2018). A partir del corte de datos para este análisis preliminar de seguridad, solo 1 participante (Cohorte 1a) experimentó una reacción alérgica/hipersensibilidad $\geq$ Grado 3 (analizada anteriormente) y ningún participante experimentó un evento de pancreatitis o trombosis $\geq$ Grado 3. No se informaron muertes.

[00329] En resumen, el perfil de TEAE relacionados con el tratamiento observado es consistente con otros asparaginasa y demostró que ambos niveles de dosis de JZP-458 (25 y 37,5 mg/m²) fueron bien tolerados por los participantes.

[00330] En función de una revisión completa de los datos del estudio disponibles por expertos internos y externos en el SDRC, se considera que una dosis de JZP-458 IM de 37,5 mg/m² es la dosis adecuada para el registro de JZP-458, con un perfil beneficio-riesgo favorable. Esta dosis puede garantizar que los pacientes completen su régimen de tratamiento con asparaginasa y está en línea con la orientación de la FDA con respecto al beneficio-riesgo y la dosis mínima efectiva.

[00331] *Seguridad.* Se llevará a cabo un estudio adicional de seguridad con un mínimo de 82 participantes, incluidos 31 de la Cohorte 1a (25 mg/m²) y 51 de la Cohorte 1 b (37,5 mg/m²), que estarán disponibles para la evaluación de la seguridad. Los datos preliminares sobre 47 participantes (31 participantes a 25 mg/m² y 17 participantes a 37,5 mg/m²) demostraron que la dosis propuesta de 37,5 mg/m² es segura y bien tolerada. En un análisis preliminar de seguridad, solo 1 participante (Cohorte 1a, 25 mg/m²) experimentó una reacción alérgica/hipersensibilidad de Grado $\geq$ 3 y ningún participante experimentó un evento de pancreatitis o trombosis de Grado $\geq$ 3. El evento adverso grave (SAE) de Grado 3 de hipersensibilidad al fármaco (relacionado con el fármaco del estudio) condujo a la interrupción del fármaco del estudio; ningún otro participante interrumpió el estudio por un TEAE relacionado con el tratamiento.

[00332] *Datos de eficacia.* La norma para la evaluación precoz de la eficacia estuvo basada en el valor diana de SAA de 0,1 UI/ml, así como en la confirmación de la disminución de asparagina y la consideración de una tasa de respuesta clínicamente adecuada para los pacientes con exposición previa a una asparaginasa. Los resultados preliminares observados de SAA muestran que en el nivel de dosis IM de JZP-458 de 25 mg/m² (N = 26 participantes evaluables), la media (CI de 95 %) de los

niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,1560 (0,1144-0,1976) y 0,4504 (0,3637-0,5370), respectivamente (la media [Q1, Q3] de los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,1345 [0,0886, 0,2178] y 0,4091 [0,2813, 0,6577], respectivamente). Los resultados preliminares observados de SAA muestran que en el nivel de dosis IM de JZP-458 de 37,5 mg/m² (N = 16 participantes evaluables), la media (CI de 95 %) de los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,2605 (0,1326-0,3884) y 0,7146 (0,3976-1,0316), respectivamente (la media [Q1, Q3] de los niveles de SAA en las últimas 72 y 48 horas posteriores a la dosis fue de 0,1732 [0,1157, 0,2849] y 0,6503 [0,3248, 0,8736], respectivamente).

[00333] En los niveles de dosis de JZP-458 IM de 25 y 37,5 mg/m², 65,4 % y 81,3 % de los participantes, respectivamente, alcanzaron niveles de NSAA $\geq$ 0,1 UI/ml en la última evaluación de 72 horas (criterio de valoración primario); y 96,2 % y 93,8 % de los participantes, respectivamente, alcanzaron niveles de NSAA $\geq$ 0,1 UI/ml en la última evaluación de 48 horas (criterio de valoración secundario clave). A una dosis d 37,5 mg/m² (N = 16), aunque el porcentaje de participantes que alcanzaron niveles de NSAA $\geq$ 0,1 UI/ml en la última evaluación de 72 horas no cumplió con los criterios del punto final primario (de acuerdo con lo definido en el plan de análisis estadístico [SAP]), los resultados muestran tasas de respuesta clínicamente apropiadas consistentes con tasas observadas o predichas publicadas (80 % a 88 %) para pacientes que recibieron asparaginasa no basada en *E. coli* para el tratamiento después de reacciones de hipersensibilidad (Vrooman 2010; Panetta 2020; Salzer 2013). A una dosis d 37,5 mg/m² (N = 16), el porcentaje de participantes que alcanzaron niveles de SAA $\geq$ 0,1 IU/ml en la última evaluación de 48 horas (criterio de valoración secundario clave) fue de 93,8 % y se espera que cumpla con los criterios de éxito preestablecidos delineados en el SAP para el análisis intermedio (planeado para N = 51 participantes).

[00334] Se proporciona una confirmación adicional de la eficacia de JZP-458 en los resultados preliminares de (PPK). Los resultados preliminares de PPK fueron consistentes con los datos observados y brindan un respaldo adicional para la selección de la dosis propuesta de 37,5 mg/m². En función del modelado y simulación PPK (criterio de valoración secundario), con una dosis IM de 37,5 mg/m² de JZP-458 en un cronograma FMW, se espera que JZP-458 alcance niveles de NSAA de las últimas 72 horas $\geq$ 0,1 IU/ml en 87 % de los pacientes (IC de 95 %: 85,5 %-88,5 %) y

que alcance niveles de NSAA de las últimas 48 horas $\geq 0,1$ IU/ml en un 99,9 % de los pacientes (IC del 95 %: 99,7 %-100 %); los niveles medios simulados de NSAA fueron 0,29 (intervalo de predicción: 95 % 0,06-0,88) y 0,58 (intervalo de predicción: 95 %: 0,2-1,32) en las últimas 72 y 48 horas, respectivamente. Los datos de la simulación indicaron que el día de inicio no tiene un impacto en el porcentaje de pacientes con niveles de NSAA $\geq 0,1$ IU/ml para los puntos temporales de las últimas 72 o 48 horas.

[00335] El análisis de PPK proporciona un sólido respaldo de los datos observados y para el paquete total de datos para la BLA porque el modelo utiliza datos disponibles de todos los pacientes, puntos temporales y nivel de dosis. Los resultados del modelo de PPK, en función de todos los datos clínicos y de PK disponibles, pueden ilustrar las características de exposición-respuesta de JZP-458. Como este modelo no depende de datos categorizados, proporciona predicciones fiables de los niveles de NSAA en los momentos relevantes. El modelo demuestra que el porcentaje de pacientes con niveles de NSAA a las 72 horas $\geq 0,1$ IU/ml después de la administración de JZP-458 por IM es consistente con la respuesta esperada en una población de pacientes con hipersensibilidad a productos de asparaginasa basados en *E. coli*. Los valores de SAA modelados sugieren que una dosis de $37,5 \text{ mg/m}^2$ por IM es una dosis apropiada en un esquema de dosis MWF.

[00336] Como medida adicional de la dosis confirmada de $37,5 \text{ mg/m}^2$ de JZP-458, se logró el objetivo de disminución total de asparagina, como se mide por el método validado (Biomarker Partial Validation Report Amendment 1, SN 0044). Una comparación de los niveles iniciales de asparagina con aquellos medidos en el punto más bajo a lo largo del período de dosis a 25 y $37,5 \text{ mg/m}^2$ demostró de manera consistente una disminución casi completa de la asparagina. Las desviaciones de este patrón fueron pequeñas y transitorias. Se evaluaron los efectos de las dosis potenciales, los estudios de toxicidad, el efecto del número de inyecciones, el número de viales, así como otros factores. Tales estudios equilibraron dosis más altas con el potencial efecto de un mayor riesgo de eventos adversos.

Ejemplo 9: Paquete de datos clínicos exhaustivos para JZP-458: Datos de eficacia observada, datos de PD, datos de seguridad y datos de inmunogenicidad de las cohortes 1a y 1b

[00337] A continuación se exponen los 4 elementos clave de los datos que respaldan la eficacia y la seguridad de $25/25/50 \text{ mg/m}^2$ de JZP-458 administrados IM en MWF:

[00338] 1. Datos de eficacia observados de las cohortes 1a y 1b. A 25 mg/m^2 (N =

29) y 37,5 mg/m² (N = 51) de JZP-458 administrado por vía intramuscular en un esquema MWF/WFM/FMW, el porcentaje de participantes que alcanzaron niveles de NSAA $\geq$ 0,1 IU/ml en la última evaluación de 72 horas en el Tratamiento 1 fue de 65,5 % (CI de 95 %: 48,2 %, 82,8 %) y 80,4 % (95 % CI: 69,5 %, 91,3 %), respectivamente (Análisis Inicial, Tabla 9.2.1.1). A 25 mg/m² (N = 32) y 37,5 mg/m² (N = 53) de JZP-458 administrado por IM en un esquema MWF/WFM/FMW, el porcentaje de participantes que alcanzaron niveles de NSAA $\geq$ 0,1 IU/ml en la última evaluación de 48 horas en el Tratamiento 1 fue de 96,9 % (CI de 95 %: 90,8 %, 100 %) y 98,1 % (95 % CI: 94,5 %, 100,0 %), respectivamente. El límite inferior de IC de 95 % supera 90 %, lo que respalda la eficacia de la dosis de JZP-458 de 25 mg/m² y 37,5 mg/m² cada 48 horas.

[00339] 2. *Datos de PD de las cohortes 1a (N = 32) y 1b (N = 53).* La administración de dosis IM de 25 y 37,5 mg/m² de JZP-458 produjo una disminución completa de los niveles plasmáticos de asparagina. Los niveles de asparagina plasmática disminuyeron rápidamente desde los niveles antes de la dosis hasta niveles por debajo o cerca del límite inferior de cuantificación del ensayo (0,025 µg/ml) y se mantuvieron durante toda la duración del tratamiento del Tratamiento 1 hasta la dosis 6, en la que se recogió la última muestra. Cuatro participantes presentaron aumentos transitorios de bajo nivel en la asparagina plasmática (3 de la cohorte 1a y 1 de la cohorte 1b).

[00340] 3. *Datos de seguridad de las cohortes 1a y 1b (por cohorte y en general).* El perfil de seguridad general de JZP-458 en participantes con ALL/IBL, en función de los datos de seguridad combinados de las Cohortes 1a y 1b (N = 86), demostró que JZP-458 es bien tolerado y que el perfil de seguridad es predecible y consistente con el perfil de seguridad establecido de las asparaginasas.

[00341] 4. *Eventos adversos.* En general, 96,5 % de los participantes (83/86) experimentaron 1 o más efectos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) durante el estudio (Figura 31). En general, los eventos adversos más frecuentes fueron anemia (37,2 % de los participantes [32/86]), disminución del recuento de neutrófilos (34,9 % de los participantes [30/86]) y disminución del recuento de plaquetas (29,1 % de los participantes [25/86]). Los TEAE más frecuentes relacionados con el tratamiento fueron disminución del recuento de neutrófilos (18,6 % de los participantes [16/86]), anemia (15,1 % de los participantes [13/86]) y náuseas (15,1 % de los participantes [13/86]).

Ejemplo 10: Estudio de seguridad de la Cohorte 1c

[00342] Los datos preliminares de seguridad (TEAE) para la Cohorte 1c (25/25/50 mg/m² administrados por IM en MWF) indican que esta dosis y régimen de JZP-458 son bien tolerados y son consistentes con el perfil de seguridad bien establecido de los productos de asparaginasa. Los datos preliminares muestran que, en la Cohorte 1c, 81,3 % de los participantes (13/16) experimentaron 1 o más TEAE (Figura 32). En general, los TEAE más frecuentes fueron anemia (25,0 % de los participantes [4/16]), disminución del recuento de plaquetas (25,0 % de los participantes [4/16]) y disminución del recuento de linfocitos, neutrófilos y leucocitos (18,8 % de cada uno de los participantes [3/16])

[00343] Los datos preliminares también muestran que ningún participante falleció en la Cohorte 1c. Cuatro de 16 participantes (25,0 %) experimentaron SAE. Un participante tuvo un SAE relacionado con el tratamiento de pancreatitis aguda (Grado 3), que condujo a la interrupción del fármaco del estudio. Este evento se inició el Día 13 del estudio y se resolvió el Día 24 del estudio. Ningún otro participante de la Cohorte 1c interrumpió el fármaco del estudio debido a un TEAE en los datos preliminares. Asimismo, en los datos preliminares de la Cohorte 1c (N = 16), no se produjeron TEAE de reacciones alérgicas (incluidas hipersensibilidad y anafilaxia) o trombosis.

[00344] Hasta la fecha de corte de los datos, 2 de 16 participantes (12,5 %) en la Cohorte 1c experimentaron eventos adversos relacionados con la pancreatitis, ambos evaluados por el investigador como relacionados con JZP-458. El primer participante desarrolló pancreatitis de Grado 2 a los 4 días de recibir la dosis 6 del Tratamiento 1. El participante comenzó con dolor epigástrico de Grado 2 sin otros síntomas y tuvo niveles elevados de lipasa de 871 U/l (rango de referencia 73-393 U/l). El investigador informó de que la amilasa estaba dentro de los límites normales (no se proporcionaron valores). El investigador declaró que los síntomas se resolvieron rápidamente sin tratamiento y que la lipasa disminuyó a 300 U/l 8 días después. El investigador evaluó el acontecimiento como pancreatitis de grado 2 y relacionada con JZP-458. No se tomó ninguna medida con JZP-458 y el participante comenzó el ciclo 2 de JZP-458 14 días después de la aparición de este evento sin problemas adicionales. Los resultados de laboratorio al inicio del Tratamiento 2 fueron lipasa de 218 U/l y amilasa de 64 (rango de referencia 25-115 U/l).

[00345] El segundo participante desarrolló pancreatitis de Grado 3 a 1 día de recibir la dosis 6 del Tratamiento 1. El participante acudió a urgencias con dolor abdominal

moderado (8/10) que se irradiaba al cuadrante superior izquierdo, abdomen medio y cuadrante inferior izquierdo. Se administró morfina IV y el dolor disminuyó a 7/10. Los resultados de laboratorio relevantes incluían: lipasa 549 U/l (rango de referencia 73-393) y amilasa 47 U/l (rango 25-115 U/l). Las radiografías mostraron un grado moderado de estreñimiento. La prueba de COVID y el urocultivo fueron negativos. El participante fue hospitalizado para la realización de pruebas y el tratamiento de una pancreatitis. El acontecimiento se resolvió aproximadamente 10 días después, y los resultados de la lipasa volvieron a estar dentro de los límites en esta fecha (lipasa 355 U/l). El investigador consideró que el acontecimiento estaba relacionado con JZP-458, y el participante finalizó el tratamiento el día 13 del estudio debido a una pancreatitis de grado 3.

[00346] Se realizó una revisión preliminar de la base de datos clínicos en busca de informes de pancreatitis en JZP458-201. Entre los 161 participantes actualmente inscritos, incluidos 44 participantes de la Cohorte 1c, hubo 7 casos que informaron de un evento de pancreatitis en todas las cohortes. Cinco informes se produjeron en participantes inscritos en la Cohorte 1b, además de los 2 participantes de la Cohorte 1c. Seis de los 7 informes se consideraron graves y 1 no grave. Dos de los 6 informes graves de pancreatitis se produjeron en un participante de la Cohorte 1b, que falleció posteriormente (1 participante desarrolló sepsis y falleció y el otro desarrolló neumonía por aspiración asociada a fístula esofagotraqueal y falleció), se describen más arriba. La tasa global de pancreatitis está dentro de lo esperado para las asparaginasa.

[00347] *Breve descripción de la invención.* En el estudio en curso JZP458-201, se evaluaron 3 regímenes de dosis que presentaban un perfil beneficio/riesgo positivo. La totalidad de los datos respalda la eficacia de JZP-458 de 25/25/50 mg/m² administrada por vía IM en un esquema de MWF, administrada en 6 dosis para reemplazar un curso de asparaginasa de *E. coli* de acción prolongada. El perfil de seguridad de JZP-458 (datos preliminares de las Cohortes 1a, 1b y la Cohorte 1c) es comparable al perfil de seguridad establecido de los productos de asparaginasa.

Ejemplo 11: Actualización a los 60 días: Datos PK y PD de eficacia de las cohortes 1a, 1b y 1c

[00348] *Datos disponibles de eficacia, PK (SAA) y PD de las cohortes 1a (N = 32) y 1b (N = 53).* Los datos disponibles incluyen los datos recolectados para las Cohortes 1a (N = 33) y 1b (N = 53) hasta la fecha de corte de datos que fueron analizados por el laboratorio bioanalítico antes de la fecha de extracción de datos.

[00349] *Datos de eficacia, PK (SAA) y PD de las cohortes 1c (N = 16).* En la fecha de cierre de los datos, un total de 17 participantes (incluido 1 participante que nunca recibió la dosis) se habían inscrito en la Cohorte 1c (25/25/50 mg/m² administrados IM en MWF). Para los 16 participantes que recibieron al menos 1 dosis del fármaco del estudio, la duración mediana (rango) de tiempo en el estudio fue de 4,75 (1,9 a 7,1) semanas, con 2 participantes en el estudio por < de 2 semanas, 3 participantes en el estudio por 2 a < de 4 semanas, 9 participantes en el estudio por 4 a < de 6 semanas y 2 participantes en el estudio por 6 a < de 8 semanas. De estos 16 participantes, 7 han recibido 1 curso de tratamiento y 9 han recibido 2 cursos de tratamiento.

[00350] De acuerdo con los resultados preliminares, con 25/25/50 mg/m² de JZP-458 administrados por vía IM en MWF (N = 13), el porcentaje de participantes que alcanzaron niveles de NSAA $\geq 0,1$ UI/ml en las últimas evaluaciones de 72 y 48 horas en el Tratamiento 1 fue de 92,3 % (12/13 participantes) y 92,3 % (12/13 participantes), respectivamente. Estos resultados respaldan la eficacia de JZP-458 de 25/25/50 mg/m² administrado por IM en un esquema de MWF. El único participante (de 12 a < 18 años de edad) que no alcanzó niveles de SAA $\geq 0,1$ IU/ml en las últimas evaluaciones de 72 y 48 horas en el Tratamiento 1 tuvo una reacción alérgica de Grado 3 a Oncaspar y recibió aproximadamente el 5 % de la infusión cuando comenzó a tener síntomas. La primera dosis de JZP-458 se administró 7 días después. Los valores de laboratorio del participante (incluidos hemoglobina, bilirrubina, triglicéridos y colesterol) en el cribado y el día 1 no fueron elevados. Hasta la fecha, se han notificado dos AE en este participante: dolor de garganta (no relacionado) y reacción leve (grado 1) en el lugar de la inyección (relacionada con JZP-458), que se produjeron después de la última dosis del Tratamiento 1 (dosis 6). En el Tratamiento 1, este participante tuvo niveles de NSAA $> 0,1$ IU/ml (a las 2,5 y 48 horas después de la dosis 1 y a las 48 horas después de la dosis 2), que disminuyeron a 0,0453 IU/ml a las 72 horas después de la dosis 3 (última evaluación de 72 horas), 0,1369 IU/ml a las 2,5 horas después de la dosis 4, BLQ a las 48 horas después de la dosis 4 y 0,0510 IU/ml a las 48 horas después de la dosis 5 (última evaluación de 48 horas). Los datos ADA de este participante están pendientes.

Ejemplo 12: Estudio de fase 2/3 de JZP-458 en pacientes con ALL/IBL hipersensibles a las asparaginasas derivadas de E. coli

[00351] Este es un estudio en curso, abierto, multicéntrico, de confirmación de dosis y farmacocinética de JZP-458 en participantes (de cualquier edad) con ALL/IBL

hipersensibles a las asparaginasas derivadas de *E. coli* (reacción alérgica o inactivación silente). Este estudio se diseñó para evaluar la tolerabilidad y eficacia de JZP-458, como se mide por SAA con análisis adicionales de apoyo para la disminución de asparagina y los niveles de ADA. Se sustituyen seis dosis de JZP 458 por cada dosis de asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada. Dos semanas consecutivas de tratamiento con JZP-458 se definen como 1 curso. Un curso de JZP-458 (6 dosis durante 2 semanas) puede comenzar un lunes, miércoles o viernes; el número de cursos por participante dependerá de su plan de tratamiento individual.

[00352] Este estudio consta de 2 partes: La Parte A para determinar la dosis de JZP-458 para administración IM y confirmar la seguridad y eficacia; y la Parte B para definir la dosis óptima y el programa de administración IV de JZP-458.

[00353] Parte A: La Cohorte 1a se inició con una dosis IM de 25 mg/m² en un esquema de MWF durante 2 semanas. Los datos de la Cohorte 1a se evaluaron después de que 6 participantes evaluables se inscribieran con la dosis IM 25 mg/m² en el esquema MWF y nuevamente con los datos acumulados de 16 participantes evaluables. Dado que el porcentaje de participantes con niveles de NSAA en las últimas 72 horas después de las dosis se situó por debajo del umbral definido por el protocolo, y debido al perfil de seguridad aceptable en el nivel de dosis IM de 25 mg/m², Jazz decidió escalar a una dosis IM de 37,5 mg/m² en un cronograma de MWF (Cohorte 1b).

[00354] Se evaluaron los datos de seguridad, los datos de SAA, el modelado PPK y los resultados de la simulación después de los primeros 7 participantes, y nuevamente de forma acumulativa después de 17 participantes evaluables inscritos en la Cohorte 1b. Jazz decidió entonces continuar la inscripción con la dosis de 37,5 mg/m² en un esquema MWF sin modificaciones en la Cohorte 1b.

[00355] En función del modelo PPK y de un análisis con la FDA, se inició la Cohorte 1c para evaluar una dosis de 25 mg/m² los lunes y miércoles y una dosis de 50 mg/m² los viernes. Un modelo PPK preliminar con datos de participantes del Tratamiento 1 de las Cohortes 1a (N = 30) y 1b (N = 32) predijo que la dosis óptima para respaldar un cronograma de dosificación MWF es una dosis de 25/25/50 mg/m² administrada en MWF para un total de 6 dosis para reemplazar cada dosis de asparaginasa de acción prolongada de *E. coli*. Hasta el 19 de julio de 2021, un total de 51 participantes se habían inscrito en la Cohorte 1c.

[00356] Parte B

[00357] Parte B, Cohorte 1a (Confirmación de dosis por IV): Los participantes de esta cohorte recibirán 6 dosis IV de JZP 458; se inscribió un objetivo de al menos 6 participantes evaluables. Los participantes evaluables se definen como aquellos que recibieron al menos 3 dosis de JZP 458 IV y tienen un nivel de NSAA de 72 horas (obtenido dentro de la ventana de ± 2 horas) durante la segunda mitad del Tratamiento 1. Se recolectaron muestras de sangre para la determinación del nivel de SAA y otras evaluaciones de laboratorio PK/PD. Se administrarán ciclos adicionales de JZP 458 IV de acuerdo con el plan de tratamiento original del participante mientras éste obtenga beneficios clínicos; las dosis programadas posteriores de una asparaginasa derivada de *E. coli* de acción prolongada que permanezcan en el plan de tratamiento del participante se sustituirán por 6 dosis, lo que equivale a un ciclo, de JZP 458 IV hasta que se haya completado el tratamiento con asparaginasa del participante.

[00358] Después de que todos los participantes requeridos de una cohorte se inscriban y sean tratados con 6 dosis de JZP 458, se evaluará el nivel de dosis y el SDRC determinará la necesidad de participantes/cohortes adicionales.

[00359] Parte B (IV JZP 458 Determinación de posibles cohortes adicionales): Si 6 de 6 participantes evaluables en la cohorte de dosificación IV inicial tienen un nivel de NSAA en 72 horas $\geq 0,1$ UI/ml y la seguridad y tolerabilidad son aceptables en función de una revisión del SDRC, entonces la dosis puede confirmarse como dosis para evaluación adicional. Si no se confirma la dosis, se puede investigar cohortes de dosis adicionales como se describe en (Section 8.1/Protocol Amendment 02/Section 3.1.3).

[00360] Esta síntesis presenta los resultados de un análisis de un subconjunto de datos con fecha de corte el 19 de julio de 2021, que incluye a participantes de la Parte A (Cohorte 1a [25 mg/m² por IM en un esquema de MWF; N = 33], Cohorte 1b [37,5 mg/m² por IM en un esquema de MWF; N = 83] y Cohorte 1c [25 mg/m² por vía intramuscular los lunes y miércoles y 50 mg/m² por vía intramuscular los viernes; N = 51]) y la Parte B (25 mg/m² por IV los lunes y miércoles y 50 mg/m² por IV los viernes; N = 62).

[00361] Los objetivos primarios del estudio fueron determinar la eficacia de la administración IM de JZP-458, como se mide por la respuesta en la Cohorte 1 y la Cohorte 2, que se define como el último nivel de NSAA de 72 horas $\geq 0,1$ UI/ml durante el primer curso, y evaluar la seguridad y tolerabilidad de JZP-458 administrado de forma IM en participantes con ALL/IBL hipersensibles a las asparaginasas derivadas de *E. coli*.

[00362] Hasta la fecha de corte de datos del 19 de julio de 2021, un total de 228 participantes (Parte A: 33 en la Cohorte 1a [IM 25 mg/m² MWF], 83 en la Cohorte 1b [IM 37,5 mg/m² MWF] y 51 en la Cohorte 1c [IM 25 (MW)/50 (F) mg/m²]; Parte B: 62 en la Cohorte 1a [IV 25 (MW)/50 (F) mg/m²]) se inscribieron en el estudio. Hasta el 19 de julio de 2021, 28 (16,8 %) participantes en la Parte A y 39 (62,9 %) participantes en la Parte B continúan recibiendo tratamiento con JZP-458 en el estudio.

[00363] En la Parte A (IM), un total de 35 de 167 participantes (21,0 %) interrumpieron el tratamiento con JZP-458 (21 de 167 [12,6 %] debido a TEAE, 8 de 167 [4,8 %] debido a la decisión del médico, 3 de 167 [1,8 %] debido a la progresión de la enfermedad, 1 de 167 [0,6 %] retirado por un padre o tutor, 1 de 167 [0,6 %] debido al desistimiento del participante, y 1 de 167 [0,6 %] fue interrumpido debido a “otras causas”). Hasta la fecha de corte de datos del 19 de julio de 2021, un total de 3 de 167 [1,8 %] participantes en la Parte A murieron.

[00364] En la Parte B (IV), un total de 22 de 62 participantes (35,5 %) interrumpieron el tratamiento con JZP-458 (15 de 62 [24,2 %] debido a TEAE, 4 de 62 [6,5 %] debido a la decisión del médico, 1 de 62 [1,6 %] debido a enfermedad recurrente, 1 de 62 [1,6 %] por desistimiento del participante y 1 de 62 [1,6 %] por “otras causas”). Ningún participante en la Parte B falleció hasta la fecha de corte de datos del 19 de julio de 2021.

[00365] En general, para la Parte A (IM), la mayoría de los participantes eran de raza blanca (115 de 167 [68,9 %]); la edad mediana al momento de la inscripción fue de 10 años (rango: 1 a 25 años). De los 167 participantes en el Conjunto de Análisis de Seguridad, 44 (26,3 %) tenían < de 6 años, 57 (34,1 %) tenían de 6 a < de 12 años, 45 (26,9 %) tenían de 12 a < de 18 años y 21 (12,6 %) tenían ≥ a 18 años. En el Conjunto de Análisis de Seguridad se incluye un mayor porcentaje de participantes masculinos (103 de 167 [61,7 %]) que femeninos (64 de 167 [38,3 %]).

[00366] En la Parte B (IV), la mayoría de los participantes eran blancos (43 de 61 [70,5 %]); la edad media al momento de la inscripción fue de 10 años (rango: 1 a 24 años). De los 61 participantes en el Conjunto de Análisis de Seguridad, 20 (32,8 %) tenían < de 6 años, 14 (23,0 %) tenían de 6 a < de 12 años, 17 (27,9 %) tenían de 12 a < de 18 años y 10 (16,4 %) tenían ≥ 18 años. En el Conjunto de Análisis de Seguridad se incluye un mayor porcentaje de participantes masculinos (36 de 61 [59,0 %]) que femeninos (25 de 61 [41,0 %]).

[00367] En general, en la Parte A (IM), el estado de la enfermedad primaria se

informó como ALL de linfocitos B para 124 de 167 participantes [74,3 %], ALL de linfocitos T para 26 de 167 participantes [15,6 %], LBL de linfocitos T para 16 de 167 participantes (9,6 %) y LBL de linfocitos B para 1 de 167 participantes [0,6 %]. En general, el tiempo transcurrido desde el diagnóstico primario, en relación con el día 1 del estudio, estuvo en el rango entre 0 y 3 meses para la mayoría de los participantes (122 de 167 [73,1 %]). El tratamiento previo con asparaginasa fue Oncaspar para todos los participantes (167 de 167) y el tiempo promedio desde el último tratamiento con asparaginasa, en relación con el día 1 del estudio, fue de 24,3 días (rango de 2 a 158 días).

[00368] En general, en la Parte B (IV), el estado de la enfermedad primaria se informó como ALL de linfocitos B para 51 de 61 participantes [83,6 %], ALL de linfocitos T para 7 de 61 participantes [11,5 %], LBL de linfocitos B para 2 de 61 participantes (3,3 %) y LBL de linfocitos T para 1 de 61 participantes [1,6 %]. En general, el tiempo transcurrido desde el diagnóstico primario, en relación con el día 1 del estudio, estuvo en el rango entre 0 y 3 meses para la mayoría de los participantes (47 de 61 [77,0 %]). El tratamiento previo con asparaginasa fue Oncaspar para la mayoría de los participantes (60 de 61 [98,4 %]) y el tiempo promedio desde el último tratamiento con asparaginasa, en relación con el día 1 del estudio, fue de 24,9 días (rango de 2 a 138 días). Las características demográficas y de referencia se proporcionan en la Figura 33.

[00369] Farmacocinética basada en la actividad de la asparaginasa sérica: En la Parte A (IM), el conjunto de análisis farmacocinético consistió en 32 participantes (97,0 %) en la cohorte de MWF de 25 mg/m², 83 participantes (100 %) en la cohorte de MWF de 37,5 mg/m² y 51 participantes (100 %) en la cohorte de 25 (MW)/50 (F) mg/m²; en la Parte B (IV), el conjunto de análisis farmacocinético consistió en 60 (96,8 %) participantes que recibieron JZP 458 IV en dosis de 25 (MW)/50 (F) mg/m².

[00370] Los resultados de SAA observados muestran que a niveles de dosis IM de JZP-458 de 25 mg/m² MWF, 37,5 mg/m² MWF y 25 (MW)/50 (F) mg/mg², los niveles medios y medianos de SAA en las últimas 72 y 48 horas después de la dosis fueron ≥0,1 UI/ml (Figura 34).

[00371] Parte A (IM):

[00372] En niveles de dosis IM de JZP-458 25 y 37,5 (F) mg/m² administrados según un cronograma MWF, 64,3 % (95 % de CI: 46,5 %, 82,0 %) y 90,8 % (95 % de CI: 84,3 %, 97,3 %) de los participantes, respectivamente, alcanzaron niveles de NSAA

≥0,1 UI/ml en la evaluación de las últimas 72 horas durante el primer ciclo de tratamiento. Cuando se administró JZP 458 por vía IM en dosis de 25 (MW)/ 50 (F) mg/m², 89,8 % (95 % de CI: 81,3 %, 98,3 %) de los participantes, alcanzaron niveles de NSAA ≥0,1 UI/ml en la evaluación de las últimas 72 horas durante el primer ciclo de tratamiento.

[00373] En niveles de dosis IM de JZP-458 25 y 37,5 (F) mg/m² administrados según un cronograma MWF, 96,9 % (95 % de CI: 90,8 %, 100,0 %) y 98,8 % (95 % de CI: 96,4 %, 100,0 %) de los participantes, respectivamente, alcanzaron niveles de NSAA ≥0,1 UI/ml en la evaluación de las últimas 48 horas durante el primer ciclo de tratamiento. Cuando se administró JZP 458 por vía IM en dosis de 25 (MW)/ 50 (F) mg/m², 95,9 % (95 % de CI: 90,4 %, 100,0 %) de los participantes, alcanzaron niveles de NSAA ≥0,1 UI/ml en la evaluación de las últimas 48 horas durante el primer ciclo de tratamiento.

[00374] Parte B (IV)

[00375] En niveles de dosis IV de JZP-458 25 (MW)/ 50 (F) mg/m² administrados según un cronograma MWF, 40,0 % (95 % de CI: 26,4 %, 53,6 %) de los participantes, respectivamente, alcanzaron niveles de NSAA ≥0,1 UI/ml en la evaluación de las últimas 72 horas durante el primer ciclo de tratamiento.

[00376] En los niveles de dosis IV de JZP-458 administrados por vía IV en dosis de 25 (MW)/ 50 (F) mg/m², 89,8 % (95 % de CI: 82,1 %, 97,5 %) de los participantes, alcanzaron niveles de NSAA ≥0,1 UI/ml en la evaluación de las últimas 48 horas durante el primer ciclo de tratamiento.

[00377] Farmacocinética basada en la concentración sérica de asparaginasa: La relación entre SAA y SAC se exploró para JZP-458 dentro del estudio JZP458-201.

[00378] Parte A (IM):

[00379] Cuando se administró JZP-458 por vía IM en participantes con ALL/IBL, se observó una fuerte asociación positiva entre SAA y SAC, con un coeficiente de correlación de 0,9640 (coeficiente de correlación de Pearson) para JZP 458 IM 25 mg/m² MWF agrupadas, IM 37,5 mg/m² MWF e IM 25 (MW)/50 (F) mg/m² del Tratamiento 1 (Figura 35). Además, la ecuación del modelo de regresión lineal fue SAC = 1254,7 × SAA (Figura 35). Estos datos sugirieron que cuando los niveles de SAA son de 0,1 UI/ml, la concentración de asparaginasa sérica correspondiente sería de alrededor de 125 ng/ml en esta población de pacientes.

[00380] Parte B (IV)

[00381] Cuando se administró JZP-458 por vía IV en participantes con ALL/IBL, se observó una fuerte asociación positiva entre SAA y SAC, con un coeficiente de correlación de 0,9263 (coeficiente de correlación de Pearson) para JZP 458 IV 25 (MW)/50 (F) mg/m² del Tratamiento 1 (Figura 35). Además, la ecuación del modelo de regresión lineal fue $SAC = 1080,8 \times SAA$ (Figura 35). Estos datos sugirieron que cuando los niveles de SAA son de 0,1 UI/ml, la concentración de asparaginasa sérica correspondiente sería de alrededor de 108 ng/ml en esta población de pacientes.

[00382] Resultados farmacodinámicos: El conjunto de análisis de PD consistió en 166 (99,4 %) participantes inscritos en la Parte A (IM) del estudio y 60 (96,8 %) participantes inscritos en la Parte B (IV) del estudio. Se analizaron las muestras de PD para determinar las concentraciones de L-asparagina y L-glutamina en plasma humano mediante el uso de un método de espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida validado en el rango de 0,025 a 10,0 µg/ml para L-asparagina y de 0,250 a 100 µg/ml para L- glutamina.

[00383] Disminución de la L-asparagina plasmática:

[00384] Parte A (IM): Se observó una disminución completa de asparagina plasmática después de dosis por vía IM de JZP-458 a 25 mg/m² MWF, 37,5 mg/m² MWF y 25 (MW)/50 (F) mg/m². En el Tratamiento 1, las concentraciones medias de L-asparagina antes de la dosis estuvieron en el rango entre 7,5865 y 11,3215 µg/ml para todos los niveles de dosis y todos los cronogramas. En la mayoría de los participantes, se observó una disminución completa de asparagina plasmática. Las Figuras 36A, 36B y 36C muestran que después de la administración por vía IM de dosis de JZP-458 a 25 mg/m² MWF, 37,5 mg/m² MWF y 25 (MW)/50 (F) mg/m², los niveles medios de asparagina plasmática disminuyeron rápidamente desde los niveles previos a la dosis a niveles inferiores o cercanos al LLOQ del ensayo (0,025 µg/ml). Los niveles reducidos de asparagina en plasma duraron durante todo el tratamiento del Tratamiento 1 hasta la predosis 6, donde se recolectó la última muestra. Cuatro participantes tuvieron aumentos transitorios de niveles bajos de asparagina plasmática (3 participantes de la cohorte 1a y 1 participante de la cohorte 1b).

[00385] Parte B (IV): Se observó una disminución completa de asparagina plasmática después de dosis por vía IV de JZP-458 a 25 (MW)/50 (F) mg/m². En el Tratamiento 1, las concentraciones medias de L-asparagina antes de la dosis estuvieron en el rango entre 8,2218 y 8,9348 µg/ml para todos los cronogramas. En la mayoría de los participantes, se observó una disminución completa de asparagina plasmática. Las

Figuras 36A-36C muestran que después de la administración por vía IV de dosis de JZP-458 a 25 (MW)/50 (F) mg/m², los niveles medios de asparagina plasmática disminuyeron rápidamente desde los niveles previos a la dosis a niveles inferiores o cercanos al LLOQ del ensayo (0,025 µg/ml). Los niveles reducidos de asparagina en plasma duraron durante todo el tratamiento del Tratamiento 1 hasta la predosis 6, donde se recolectó la última muestra. Dos participantes tuvieron aumentos de niveles bajos a moderados en asparagina plasmática.

[00386] Disminución de la L-glutamina plasmática:

[00387] Parte A (IM): También se observó una disminución completa de glutamina plasmática después de dosis por vía IM de JZP-458 a 25 mg/m² MWF, 37,5 mg/m² MWF y 25 (MW)/50 (F) mg/m². En el Tratamiento 1, las concentraciones medias de L-glutamina antes de la dosis estuvieron en el rango entre 88,3000 y 112,7875 µg/ml para todos los niveles de dosis y todos los cronogramas. Las Figuras 37A-37C muestran que los niveles medios de L-glutamina disminuyeron después de la administración por vía IM de JZP-458 a dosis de 25 mg/m² MWF, 37,5 mg/m² MWF y 25 (MW)/50 (F) mg/m²; sin embargo, no se observó una disminución completa de la L-glutamina según los perfiles medios, y los niveles de glutamina solo se vieron afectados moderadamente.

[00388] Parte B (IV): También se observó disminución de la glutamina plasmática después de dosis por vía IV de JZP-458 a 25 (MW)/50 (F) mg/m². En el Tratamiento 1, las concentraciones medias de L-glutamina antes de la dosis estuvieron en el rango entre 99,3727 y 111,0048 µg/ml para todos los cronogramas de dosis. Las Figuras 37A-37C muestran que los niveles medios de L-glutamina disminuyeron después de la administración por vía IV de JZP-458 a dosis de 25 (MW)/50 (F) mg/m². La disminución completa de L-glutamina sólo se observó inmediatamente después de la dosis al final de la infusión; en otros momentos durante la duración del tratamiento durante el Tratamiento 1, los niveles de glutamina solo se vieron afectados moderadamente.

[00389] La farmacología clínica de JZP-458 se caracterizó mediante análisis de PPK. Un análisis PPK de los datos del estudio JZP458-101 en participantes sanos facilitó la selección de una dosis inicial y un cronograma de dosis en el estudio crucial de fase 2/3. En el estudio de fase 2/3 JZP458-201, se recolectaron escasas muestras de SAA de participantes con ALL/IBL. Análisis poblacionales PK y E-R con datos (al 19 de julio de 2021) de 228 participantes con ALL/IBL en el Estudio JZP458-201 (Parte A:

Cohortes 1a [N = 33; 25 mg/m² JZP458 administrado por vía IM según un cronograma MWF], 1b [N = 83; 37,5 mg/m² JZP458 administrado por vía IM según un cronograma MWF], y 1c [N = 51; JZP458 administrado por vía como 25 (MW)/50 (F) mg/m²]; parte B: N = 61; se realizaron administraciones de JZP458 por vía IV como 25 [MW]/50 [F] mg/m²) para estimar los parámetros de PPK y establecer la dosis eficaz óptima de JZP-458.

[00390] Absorción: JZP-458 se absorbe lentamente después de la administración por vía IM. La mediana (rango) de la T_{máx} individual prevista de JZP 458 después de la sexta dosis de JZP-458 es de 13,1 (5,85 a 20,2) horas en participantes con ALL/IBL según el análisis de PPK mediante el uso de datos de las cohortes 1a y 1b (N = 85) del estudio JZP458 201.

[00391] Distribución: La estimación poblacional de V/F para JZP-458 en un paciente de 40 kg es 3,35 (error estándar: 0,46) L basado en el análisis PPK de datos de 85 participantes con ALL/IBL en las Cohortes 1a y 1b del Estudio JZP458 201.

[00392] Metabolismo: JZP-458 es una enzima que puede metabolizarse mediante degradación proteolítica.

[00393] Eliminación: PK de JZP-458 se describe mediante un modelo IM de un compartimento con eliminación lineal y absorción secuencial de orden mixto, con el peso incluido como covariable alométrica en JZP-458 CL/F y V/F. La media (SD) del t_{1/2} individual previsto de JZP-458 después de la simulación de la primera dosis en el Tratamiento 1 es de 16,1 (1,38) horas. La estimación poblacional de CL/F para JZP-458 en un paciente de 40 kg es 0,416 (error estándar: 0,0193) L/h basado en el análisis PPK de datos de 85 participantes con ALL/IBL en las Cohortes 1a y 1b del Estudio JZP458 201.

[00394] Proporcionalidad de dosis: La proporcionalidad de la dosis de JZP-458 se evaluó en la fase 1, estudio de dosis única JZP458-101 en voluntarios sanos y en la fase 2/3 del estudio JZP458-201 en participantes con ALL/IBL. En el estudio JZP458-101, las exposiciones a JZP-458 (C_{máx} y AUC) aumentaron con dosis crecientes basadas en SAA, y los aumentos en las exposiciones a JZP-458 SAA fueron aproximadamente proporcionales a la dosis entre el rango de dosis de 12,5 a 25 mg/m² para la administración por vía IM. En el estudio JZP458-201, basado en análisis PPK, los valores previstos por el modelo C_{máx} y AUC después de que la primera y sexta dosis de JZP-458 (C_{máx,1} y C_{máx,6}, respectivamente) se presentan en la Figura 38. Con un aumento de dosis de 1,5 veces desde 25 a 37,5 mg/m², las relaciones de C_{máx}

37,5 mg/m²/ C_{máx} 25 mg/m² fueron 1,63 y 1,62 para la media C_{máx,1} y C_{máx,6}, respectivamente; y la relación de AUC 37,5 mg/m²/ AUC 25 mg/m² fue 1,69. Estos resultados sugieren que los aumentos en las exposiciones a JZP-458 SAA (C_{máx} y AUC) fueron aproximadamente proporcionales a la dosis entre el rango de dosis de 25 a 37,5 mg/m² para la administración por vía IM.

[00395] Acumulación: Se evaluó la acumulación de JZP-458 en la fase 2/3 del estudio JZP458-201 en participantes con ALL/IBL. En el estudio JZP458-201, basado en la frecuencia de dosis y el t_{1/2} (16,1 horas), la relación de acumulación para JZP-458 por vía IM es 1,15, suponiendo un intervalo de dosis de 48 horas. Los valores previstos de C_{máx} del modelo PPK después de la primera y sexta dosis de JZP-458 en el Estudio JZP458-201 se presentan en la Figura 39. Las relaciones de acumulación (calculadas como C_{máx,6}/C_{máx,1}) fueron 1,18 y 1,17 para 25 y 37,5 mg/m² de JZP-458, respectivamente, lo que sugiere muy poca acumulación.

[00396] En el Módulo 5,3,5,3/ISI se proporciona un resumen integrado de la inmunogenicidad de JZP-458. En general, no se esperan riesgos adicionales para JZP-458 en comparación con otras asparaginastas.

[00397] Se utiliza un enfoque de varios niveles para medir ADA y NAb con el fin de evaluar la inmunogenicidad de JZP-458 en el estudio clínico JZP458-201 (Figura 40). Durante el primer nivel, se analizan muestras de suero para detectar ADA que se unen a JZP-458. Las muestras de suero con muestras potencialmente ADA positivas del ensayo de cribado se vuelven a evaluar para confirmar la especificidad de la unión. Las muestras que tienen anticuerpos confirmados se titulan adicionalmente para medir la magnitud de la respuesta de ADA. Además, las muestras con anticuerpos confirmados se evalúan adicionalmente para determinar la actividad neutralizante de JZP 458.

[00398] En el estudio JZP458-201, se recolectan muestras de inmunogenicidad de todos los participantes antes de la primera dosis en cada tratamiento, antes de la dosis 6 en el Tratamiento 1 y en la visita de fin del estudio (30 días [±3] después de la última dosis en el último tratamiento). Se pueden obtener muestras adicionales para detectar ADA si un participante experimenta una reacción alérgica. Si se determina que un participante tiene niveles subterapéuticos de NSAA (<0,1 IU/ml), se puede realizar una prueba de ADA si hay una muestra de sangre disponible. Además, para los participantes que presentan ADA positivo en muestras obtenidas antes del final del estudio, se están haciendo esfuerzos para recolectar muestras de ADA de seguimiento

hasta alrededor de 6 meses después de la última dosis del participante de su último tratamiento de JZP-458. Para estos participantes ADA positivos, sus muestras de ADA de seguimiento serán la última muestra obtenida. Todas las muestras de inmunogenicidad se evalúan como se describe en la Figura 40 mediante el uso de métodos validados.

[00399] En la Parte A (IM), se recolectaron un total de 217, 500 y 245 muestras de participantes en las cohortes de dosis IM de 25 mg/m² MWF, IM de 37,5 mg/m² MWF y dosis IM de 25 (MW)/50 (F) mg/m², respectivamente. En la fecha límite de datos, los datos de ADA estaban disponibles de una mediana (rango) de 5,0 (1 a 14) tratamientos de 33 participantes en la Cohorte 1a, 4,0 (1 a 15) tratamientos de 83 participantes en la Cohorte 1b y 4,0 (1 a 11) tratamientos de 51 participantes en la Cohorte 1c. En la Parte B (IV), se recolectaron un total de 174 muestras de los participantes después de la administración IV de dosis de 25 (MW)/50 (F) mg/m². En la fecha límite de datos, los datos de ADA estaban disponibles de una mediana (rango) de 1,0 (1 a 10) tratamientos. La cantidad máxima de tratamientos con recopilación ADA se resume categóricamente en la Figura 41.

[00400] Parte A (IM): A la fecha límite de datos, 83 de 167 (49,7 %) participantes que recibieron JZP 458 por vía IM habían confirmado ser ADA positivos respecto de JZP 458. De estos 83 participantes ADA positivos, 11 de 83 participantes experimentaron reacciones de hipersensibilidad relacionadas con el tratamiento durante el estudio, y 4 de 83 participantes tuvieron NAb. Un total de 84 de 167 (50,3 %) participantes fueron ADA negativos respecto de JZP-458, y 5 de 84 participantes experimentaron reacciones de hipersensibilidad relacionadas con el tratamiento durante el estudio.

[00401] De los 83 participantes ADA positivos, 7 participantes dieron positivo para ADA en la predosis 1 y todos dieron negativos para ADA al menos una vez durante el estudio. El estado ADA positivo previo a la dosis 1 no afectó los niveles de SAA del Tratamiento 1 en estos participantes; los 7 participantes tenían niveles de SAA $\geq 0,1$ UI/ml en todos los puntos de tiempo disponibles de 48 y 72 horas durante el Tratamiento 1. Hubo 76 participantes que desarrollaron una ADA positiva después de la administración de JZP-458; posteriormente, 51 de estos 76 participantes resultaron ADA negativos al menos una vez durante el estudio.

[00402] El estado de los anticuerpos antifármacos se evaluó como una covariable potencial para la farmacocinética de JZP 458 dentro del análisis PPK y se determinó que no era una covariable significativa. De acuerdo con los datos observados, se

observaron 4 participantes ADA positivos con niveles más bajos de SAA ($<0,1$ IU/ml) en puntos temporales coincidentes en el Tratamiento 1 en las Figuras 42A y 42B. Los datos de SAA y SAC para estos 4 participantes están altamente correlacionados, lo que sugiere que la SAA baja observada puede deberse a una SAC baja. Se observaron diecisiete participantes ADA positivos con niveles altos de SAA ($\geq 0,1$ IU/ml) en momentos coincidentes en el Tratamiento 1, lo que sugiere que un SAA bajo puede no deberse a un ADA positivo.

[00403] Parte B (IV): A la fecha límite de datos, el análisis de los participantes que recibieron JZP 458 mediante administración IV mostró que 20 de 61 (32,8 %) participantes habían confirmado ser ADA positivos respecto de JZP-458. De estos 20 participantes ADA positivos, 9 participantes experimentaron reacciones de hipersensibilidad relacionadas con el tratamiento durante el estudio. Un total de 41 participantes fueron ADA negativos respecto de JZP-458, y 5 de estos participantes experimentaron reacciones de hipersensibilidad relacionadas con el tratamiento durante el estudio. De acuerdo con los datos observados, se observaron 3 participantes ADA positivos con niveles más bajos de SAA ($<0,1$ IU/ml) en puntos temporales coincidentes en el Tratamiento 1 (Figuras 42A y 42B). Los datos de SAA y SAC para estos 3 participantes están altamente correlacionados, lo que sugiere que la SAA baja observada puede deberse a una SAC baja.

[00404] Ver la Figura 43 para obtener un resumen de los resultados de inmunogenicidad.

[00405] Si bien las formas de realización y aplicaciones de la presente invención se describieron con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo, sería evidente para la persona del oficio de nivel medio que serían posibles muchas modificaciones adicionales sin apartarse de los conceptos inventivos contenidos en la presente. Todas las referencias citadas en la presente se incorporan en su totalidad.