

# 抗 HER3 抗体药物偶联物及其组合物和用途

## 技术领域

本发明涉及抗体药物偶联物，其包含相连接的抗体部分、中间接头部分和细胞毒药物部分。本发明还涉及所述抗体药物偶联物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

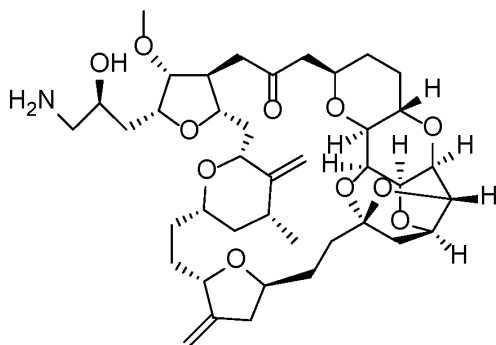
## 背景技术

HER3 (human epidermal growth factor receptor 3, 人类表皮生长因子受体 3), 也称为 ErbB-3 (Receptor tyrosine-protein kinase erbB-3), 是人类表皮生长因子受体 (HER/EGFR/ERBB) 家族的成员, 该家族包括 EGFR (ErbB-1)、HER2/c-neu (ErbB-2)、HER3 (ErbB-3) 和 HER4 (ErbB-4)。HER3 具有细胞外配体结合结构域 (ECD)、ECD 内的二聚结构域、跨膜结构域、蛋白酪氨酸激酶结构域 (TKD) 和 C 端磷酸化结构域, 但缺乏胞内酪氨酸激酶活性。

HER3 的配体——神经调节蛋白 (neuregulin, NRG; 又称为 heregulin, HRG) 与 HER3 的胞外结构域相结合, 并通过促进与其他 HER 家族成员二聚化, 以及其胞内结构域的转磷酸作用, 激活受体介导的信号传导通路。HER3 与其它 HER 家族成员的二聚体形成扩展 HER3 的信号传导潜力, 而且不仅充当信号多样化的手段, 还用作信号放大的手段。例如, HER2/HER3 杂二聚体诱导 HER 家族成员中最重要促有丝分裂信号之一。HER3 在各种癌症中普遍表达, 包括乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、胃癌、肺癌、皮肤癌和胰腺癌。

抗体药物偶联物 (Antibody-Drug Conjugate, ADC) 是结合了治疗性抗体的高特异性和细胞毒药物的高杀伤活性的一类药物, 其中治疗性抗体部分与细胞毒药物部分通过中间的接头部分连接。目前全球范围内已有至少十款 ADC 药物上市, 其中 brentuximab vedotin、polatuzumab vedotin 与 enfortumab vedotin 的抗体部分分别针对靶点 CD30、CD79b 与 Nectin-4, Trastuzumab emtansine 与 Trastuzumab deruxtecan 的抗体部分针对 HER2 靶点, gemtuzumab ozogamicin 与 inotuzumab ozogamicin 的抗体部分分别针对 CD33 和 CD22 靶点, sacituzumab govitecan 的抗体部分针对 TROP2 靶点, 最新获批的 belantamab mafodotin 和 loncastuximab tesirine 分别针对 BCMA 和 CD19 靶点。细胞毒药物部分: brentuximab vedotin、polatuzumab vedotin、enfortumab vedotin 和 belantamab mafodotin 均采用作用于微管的奥利斯他汀类 (auristatins), Trastuzumab emtansine 采用作用于微管的美登素类 (maytansinoid) 毒素分子, gemtuzumab ozogamicin 与 inotuzumab ozogamicin 采用作用于 DNA 的卡奇霉素类 (calicheamicins) 毒素分子, Trastuzumab deruxtecan 和 sacituzumab govitecan 均采用喜树碱类毒素分子, loncastuximab tesirine 则采用作用于 DNA 的 PBD 二聚体。中间接头部分: Trastuzumab emtansine、belantamab mafodotin 采用不可断裂接头, 其余八个分子都采用可断裂的接头。

艾日布林 (Eribulin, 下式 I) 为天然海洋产物 halichondrin B 的一种合成类似物, 其可抑制微管生长期, 其通过基于微管蛋白的抗有丝分裂机制发挥作用, 导致 G2M 细胞周期的停滞、有丝分裂纺锤体的破坏, 并最终在长期的有丝分裂阻滞导致细胞凋亡。艾日布林目前已获批用于转移性乳腺癌和软组织肉瘤的治疗。



ADC 类药物结合了细胞毒小分子的高效能和抗体对特定肿瘤细胞的高选择性的双重优点，当前仍然存在开发可以针对更多适应症的高效低毒的 ADC 药物的需求。

## 发明内容

### 抗体药物偶联物 (ADC)

本发明提供了一种抗体药物偶联物，其中，抗体或其抗原结合片段与细胞毒药物艾日布林或其衍生物相偶联；优选地，所述抗体或其抗原结合片段特异性结合 HER3。

在一个方面，本发明提供了一种具有通式  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 表示抗体部分，L 表示接头部分，U 表示细胞毒药物部分，n 为选自 1 至 10 的整数或小数。在某些实施方案中，抗体部分 Ab 与接头部分通过特定官能团连接，该抗体部分可以与抗原特异性结合。

在一个方面，本发明提供了通式为  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中细胞毒药物部分 U 与抗体部分 Ab 通过接头部分 L 偶联。在一些具体实施方案中，本发明提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中每一个细胞毒药物部分 U 与抗体部分 Ab 通过一个接头部分 L 偶联。本发明的接头部分 L 可以通过本领域已知的任何方法与抗体部分连接，优选接头部分与抗体部分通过巯基和/或氨基连接。在一些更优选的实施方案中，本发明的接头部分通过巯基与抗体部分相连。

在一个方面，本发明提供通式为  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中细胞毒药物部分 U 与抗体部分 Ab 通过接头部分 L 偶联，所述接头部分可以是可切割的接头或者不可切割的接头。在一些实施方案中，本发明的接头部分为可切割的接头，例如可以是依赖低 pH 值降解型（包括胺键、碳酸酯键等）、蛋白酶解型（包括肽键）或者依赖高谷胱甘肽浓度降解型（包括二硫键）等。可切割接头可以在靶细胞内断裂，从而释放细胞毒药物。在另一些实施方案中，本发明的接头部分为不可切割的接头，例如可以是马来酰亚胺基己酰基等。

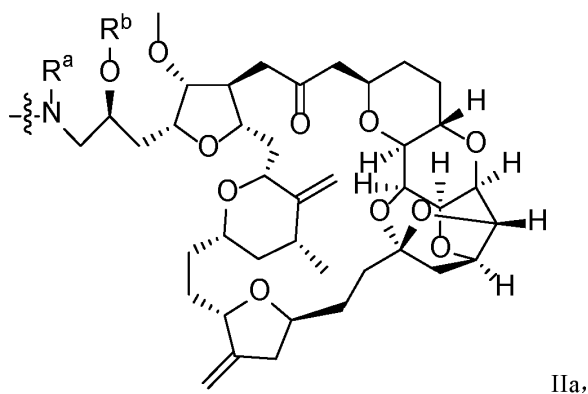
在一个方面，本发明提供了一种通式为  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中抗体部分 Ab 与一个或多个细胞毒药物部分 U 偶联，细胞毒药物例如可以选自生物碱类、抗代谢类、抗肿瘤抗生素类、烷化剂类及铂类等，优选的细胞毒性药物为微管抑制剂类细胞毒药物（包括美登素类、奥利斯他汀类、艾日布林类等）或者作用于 DNA 的细胞毒药物（包括卡奇霉素类、duocarmycin 类、PBD (pyrrolobenzodiazepine) 类、拓扑异构酶 I 抑制剂类等）。

在一些具体实施方案中，本发明提供的通式为  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的细胞毒药物部分 U 为微管抑制剂。

在一些具体实施方案中，本发明提供的通式为  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的细胞毒药物部分 U 为艾日布林或其衍生物。

在某些实施方案中，所述细胞毒药物部分与接头部分通过官能团连接，在肿瘤细胞内，会游离出细胞毒药物分子，从而发挥抗肿瘤效果。

在一个方面，本发明提供了一种具有通式  $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 表示抗体部分，L 表示接头部分，U 表示细胞毒药物部分，n 为选自 1 至 10 的整数或小数，其中所述抗体药物偶联物包含以下式 IIa 所示的结构：



其中,

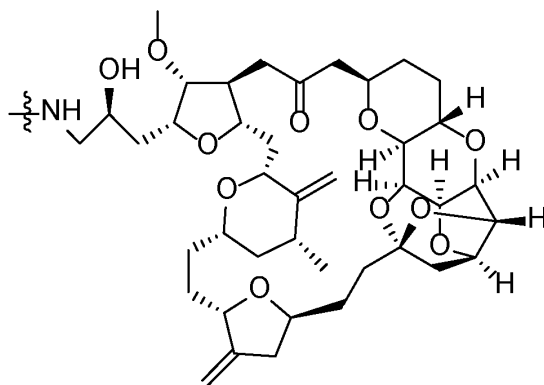
$R^a$  选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

$R^b$  选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

或者,

$R^a$  与  $R^b$  与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。在一些实施方案中, 所述  $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。在一些实施方案中, 所述  $R^a$  和  $R^b$  为氢原子。

在一些实施方案中, 所述抗体药物偶联物包含以下式 IIa-1 所示的结构:



IIa-1。

在一些实施方案中, 本发明提供了一种具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中  $Ab$  表示抗体部分,  $L$  表示接头部分,  $U$  表示细胞毒药物部分,  $n$  为选自 1 至 10 的整数或小数, 其中所述  $U$  为式 IIa 所示的结构,

其中,

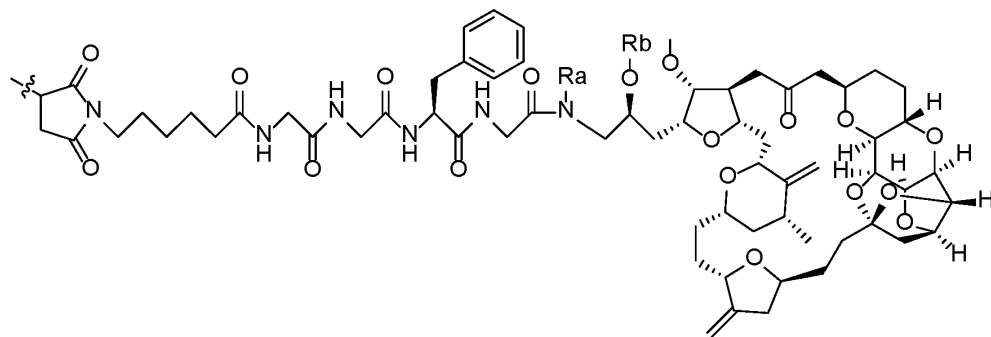
$R^a$  选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

$R^b$  选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

或者,

$R^a$  与  $R^b$  与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。在一些实施方案中, 所述  $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。在一些实施方案中, 所述  $R^a$  和  $R^b$  为氢原子。在一些实施方案中, 所述  $U$  为式 IIa-1 所示的结构。

在一些实施方案中, 本发明提供的通式为  $Ab-(L-U)_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物包含以下式 IIIa 所示的结构:



IIIa,

其中,

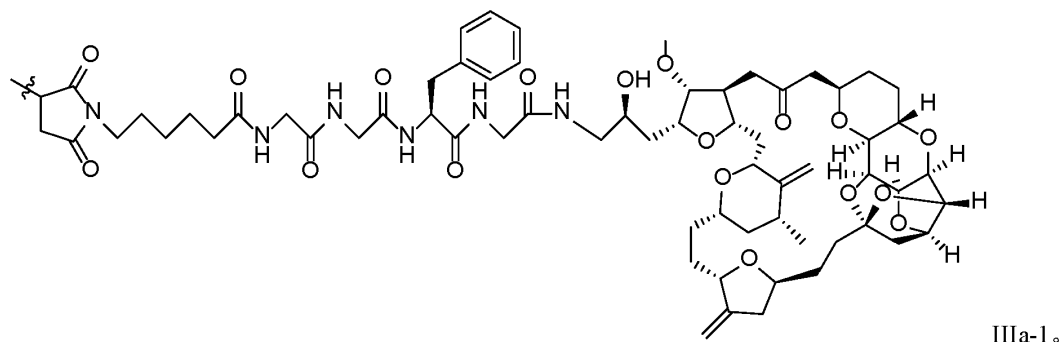
$R^a$ 选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基；

$R^b$ 选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基；

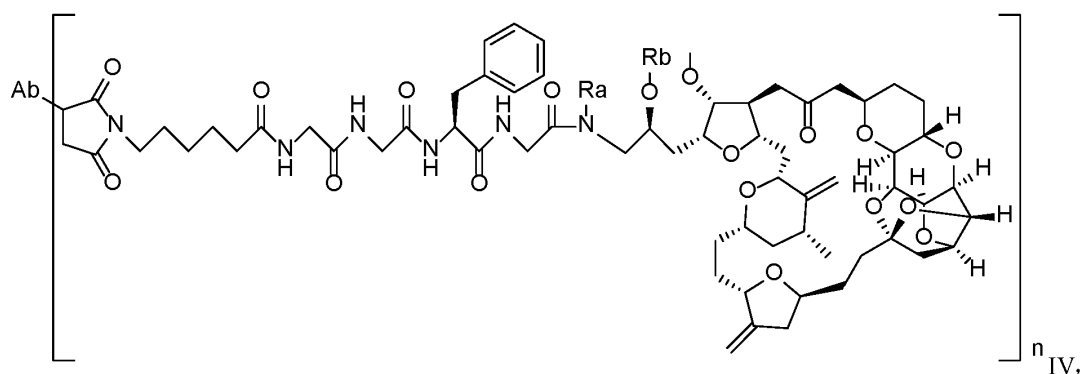
或者，

$R^a$ 与 $R^b$ 与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。在一些实施方案中，所述  $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。在一些实施方案中，所述  $R^a$  和  $R^b$  为氢原子。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物包含以下式 IIIa-1 所述的结构：



在一些实施方案中，本发明提供的通式为  $Ab-(L-U)_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物为以下式 IV 所示的结构：



其中，Ab 表示抗体部分；

$n$  为选自 1-10 的整数或小数；

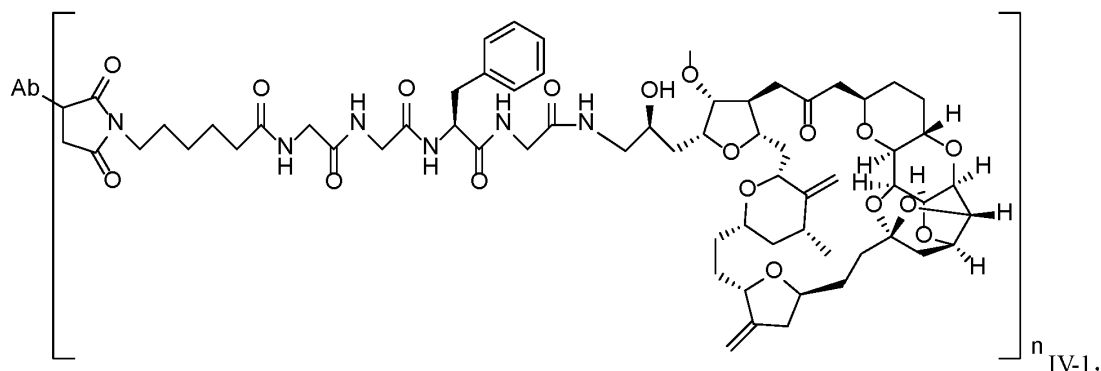
$R^a$ 选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基；

$R^b$ 选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基；

或者，

$R^a$ 与 $R^b$ 与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。在一些实施方案中，所述  $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子或  $C_{1-5}$  烷基（优选  $C_{1-4}$  烷基，例如  $C_{1-3}$  烷基）。在一些实施方案中，所述  $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。在一个实施方案中，所述  $R^a$  和  $R^b$  为氢原子。

在一个具体实施方案中，本发明提供下式 IV-1 所示的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，



其中，

Ab 为抗体部分，

n 为选自 1 至 10 的整数或小数。

在一些实施方案中，在上述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中，所述 n 为 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。在一些实施方案中，所述 n 为约 2.6、约 4、约 4.2、约 4.8、约 7、约 7.1、约 7.5、约 7.6、约 7.9 或约 8。

与本发明的抗体药物偶联物 (ADC) 中抗体部分偶联的细胞毒药物的数量可以变化，使得在本发明提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物可以是异质的，即本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物包括偶联有不同数量细胞毒药物的抗体或其抗原结合片段，例如 1 分子抗体或其抗原结合片段偶联有 0 个 (即不含细胞毒药物)、1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或其他更多个分子细胞毒药物。

通过控制上述偶联有不同数量细胞毒药物的抗体或其抗原结合片段的比例，可以产生具有不同药物抗体比率 (DAR) 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在本文中，“DAR”与“n”可互换使用。应理解，所述 DAR 或 n 是 ADC 中细胞毒药物与抗体或其抗原结合片段的平均摩尔比值，即每一分子抗体或其抗原结合片段的细胞毒药物平均偶联数。例如，“DAR 为约 4”或“n 为约 4”是指如下的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物：包含每一分子抗体或其抗原结合片段偶联有不同数量细胞毒药物 (例如，每个抗体或其抗原结合片段偶联有 0、1、2、3、4、5、6、7 或 8 个细胞毒药物) 的异质混合物，但细胞毒药物与抗体或其抗原结合片段的平均摩尔比为约 4。类似地，“DAR 为约 8”或“n 为约 8”是指该 ADC 中细胞毒药物与抗体或其抗原结合片段的平均摩尔比为约 8。

在一个方面，本发明提供一种具有通式  $\text{Ab}-(\text{L-U})_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab (抗体部分) 可以特异性结合肿瘤抗原，所述肿瘤抗原可以选自本领域已知的任何肿瘤治疗的靶点，所述靶点的非限制性实例包括 HER2、HER3、EGFR、CD20、CD30、CD33、CD47、CD79b、VEGF、VEGFR、MET、RET、PD-1 或 PD-L1。在一些实施方案中，本发明提供了一种式 IV-1 所示的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab (抗体部分) 可以特异性结合肿瘤抗原，所述肿瘤抗原可以选自本领域已知的任何肿瘤治疗的靶点，所述靶点的非限制性实例包括 HER2、HER3、EGFR、CD20、CD30、CD33、CD47、CD79b、VEGF、VEGFR、MET、RET、PD-1 或 PD-L1。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中，Ab 为抗 HER3 抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，所述 Ab 为抗 HER3 抗体或其抗原结合片段，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的重链 CDR (HCDR) 1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 HCDR2，包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 HCDR3，包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的轻链 CDR (LCDR) 1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 LCDR3。

所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段的 CDR 氨基酸序列提供于下表 S1 中。

在一些实施方案中，本发明提供的通式为  $Ab-(L-U)_n$  的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的抗体部分为帕曲妥单抗（Patritumab），其具有下表 S1 所示的序列。

表 S1 帕曲妥单抗的 CDR 和可变区氨基酸序列

| 名称    | 氨基酸序列                                                                                                                                 | SEQ ID NO: |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| HCDR1 | GGSFSGY                                                                                                                               | 1          |
| HCDR2 | NHSGS                                                                                                                                 | 2          |
| HCDR3 | DKWTWYFDL                                                                                                                             | 3          |
| LCDR1 | QSVLYSSSNRNYLA                                                                                                                        | 4          |
| LCDR2 | WASTRES                                                                                                                               | 5          |
| LCDR3 | QYYSTPRT                                                                                                                              | 6          |
| 重链可变区 | QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVY<br>GGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEI<br>NHSGSTNYPNPSLKSRTISVETSKNQF<br>SLKLSSVT AADTAVYYCARDKWTWY<br>FDLWGRGTLTVSS | 7          |
| 轻链可变区 | DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQ<br>SVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKL<br>LIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTL<br>TISLQAEDVAVYYCQYYSTPRTFG<br>QGTKVEIK       | 8          |

在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含与 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示的氨基酸序列，轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 8 所示。

在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段还可包含免疫球蛋白的恒定区，或所述恒定区的片段、类似物、变体或衍生物。在一些实施方案中，所述恒定区来自人免疫球蛋白重链，例如 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 或其他类别免疫球蛋白的重链，优选为 IgG1 的重链。在一些实施方案中，所述恒定区可包含任何文本所述的修饰，例如氨基酸的插入、缺失、取代或化学修饰。在一些实施方案中，所述恒定区包含改变效应功能的突变。在一些实施方案中，所述恒定区的任意氨基酸残基可用任意同种异型（allotype）的氨基酸残基取代。

在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，所述重链包含与 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，所述轻链包含与 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链，所述重链包含 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列，所述轻链包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段的轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 10 所示。

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTISVETSKNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHPK

SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN  
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVQLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR  
EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK  
SRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 9);

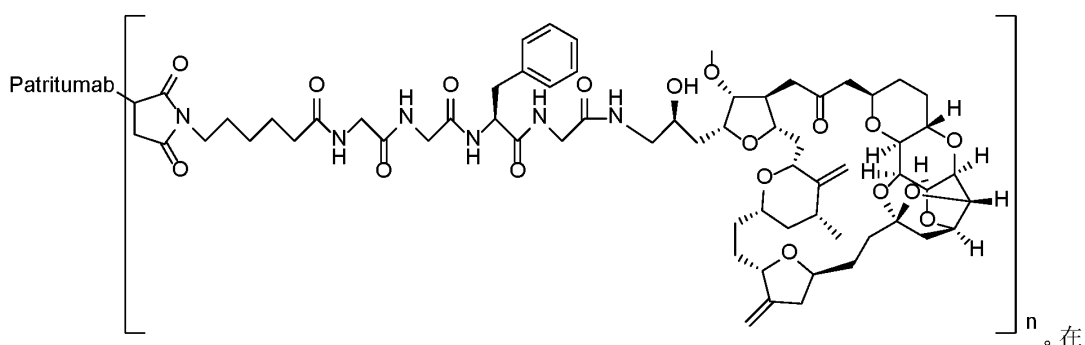
DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPLLIYWASTRESGVDPDR  
FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV  
VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG  
LSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 10)。

在一些实施方案中,所述抗HER3抗体选自以下抗体组成的组:帕曲妥单抗(Patritumab)、瑟瑞妥单抗(Seribantumab)、Elgemtumab、Duligotuzumab、CDX-3379、Lumretuzumab或GSK2849330。在一些具体的实施方案中,所述抗HER3抗体为帕曲妥单抗。

在一些实施方案中,所述抗HER3抗体或其抗原结合片段选自单克隆抗体、多特异性抗体、Fab片段、Fab'片段、F(ab)'<sub>2</sub>片段、Fd片段、Fv片段、dAb片段、分离的CDR区、scFv、纳米抗体或融合蛋白。

在一些实施方案中,本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,其通式为Ab-(L-U)<sub>n</sub>,其中Ab是可以修饰的,例如包括一个或多个氨基酸序列的改变、增加或减少。在本文中,修饰后的Ab仍然保留了特异性地结合至其相应抗原的活性。

在一些实施方案中,本发明提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物为如下所示的结构:



一些这种实施方案中,所述n为2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或7.6-7.9。在一些具体的实施方案中,所述n为约2.6、约4、约4.2、约4.8、约7、约7.1、约7.5、约7.6、约7.9或约8。

在一个方面,本发明提供的具有通式Ab-(L-U)<sub>n</sub>的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,展现出下述性质中的一种或多种的组合:

- (a) 结合HER3;
- (b) 阻断HER3与配体的结合;
- (c) 在表达HER3的细胞中显示内吞作用;
- (d) 对表达HER3的肿瘤细胞具有杀伤活性;
- (e) 具有旁观者效应。

在一些实施方案中,所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物结合人HER3。

在一些实施方案中,本发明提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在不同HER3表达量细胞中显示了较强的内吞作用,同时能随着内吞时间的增加不断累积内吞的ADC量。

#### 药物组合物

在一个方面,本发明提供了一种药物组合物,其包含本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在一些实施方案中,本发明提供了一种药物组合物,其包含根据本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,以及可药用载体。可药用载体包括例如赋形剂、稀释剂、包封材料、填充剂、缓冲剂或其它试剂。

用途

在一个方面，本发明提供了本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。在一个方面，本发明提供了包含本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物及可药用载体的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。在一个方面，本发明提供了本发明的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途。

在一个方面，本发明提供了用于治疗癌症的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或上述的药物组合物。

在一个方面，本发明提供了一种治疗癌症的方法，该方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者包含本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物与可药用载体的药物组合物。在一个方面，本发明提供了一种治疗癌症的方法，该方法包括向有需要的患者施用治疗有效量的本发明的药物组合物。在一些实施方案中，所述方法包括使肿瘤细胞与所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述药物组合物接触，从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

在一些实施方案中，向患者施用治疗有效量的本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者本发明的药物组合物，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

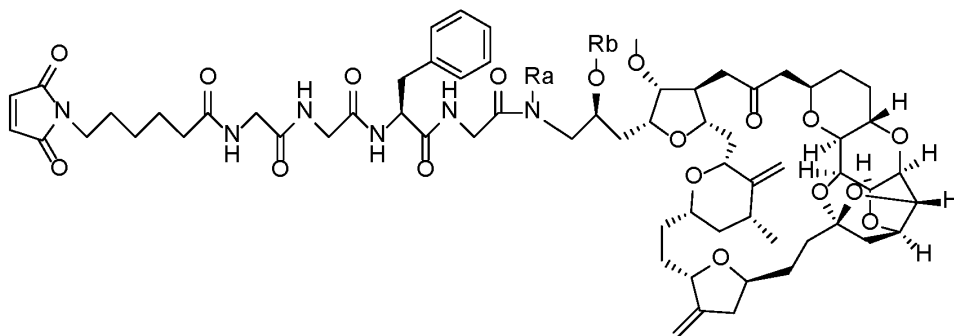
在一个方面，本发明提供了本申请的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物治疗癌症的用途。在一个方面，本发明提供了本申请的包含本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、可药用载体的药物组合物治疗癌症的用途。在一个方面，本发明还提供了本发明的药物组合物治疗癌症的用途。

在一些实施方案中，上述的方法或用途中，所述患者不适合用靶向 HER2 的药物进行治疗。在一些实施方案中，上述的方法或用途中，所述患者对靶向 HER2 的药物耐药。

在一些实施方案中，上述的方法或用途中，所述癌症为 HER3 阳性癌症。在一些实施方案中，本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物可以用于治疗表达 HER3 蛋白的癌症。在一些实施方案中，向患者施用治疗有效量的本发明的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者本发明的药物组合物，可以杀伤 HER3 表达肿瘤细胞或抑制 HER3 表达肿瘤细胞生长。癌症的实例包括但不限于：胆道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管结合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌、结直肠癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮肤癌、肺癌、多形胶质母细胞瘤、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃肠道间质瘤、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、肛门癌或阴茎癌。

接头-药物中间体化合物

在一些方面，本发明提供以下式 III 所示结构的接头-药物中间体化合物：



III,

其中，

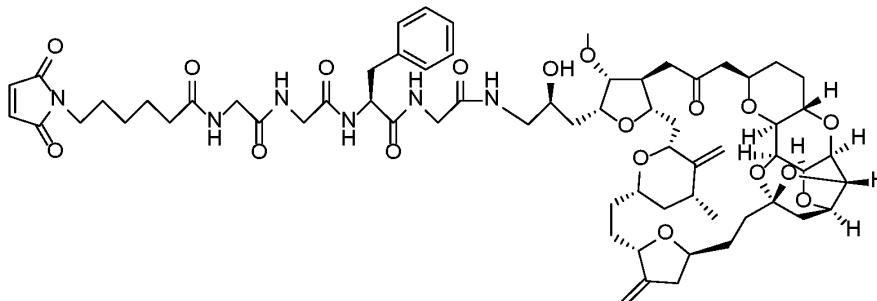
R<sup>a</sup> 选自氢原子、氘原子、任选被取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 环烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 杂环基、任选被取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选被取代的 C<sub>5-12</sub> 杂芳基；

R<sup>b</sup> 选自氢原子、氘原子、任选被取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 环烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 杂环基、任选被取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选被取代的 C<sub>5-12</sub> 杂芳基；

或者  $R^a$  与  $R^b$  与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。

在一些实施方案中，所述式 III 所示结构的接头-药物中间体化合物，其中， $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。

在一个具体实施方案中，本发明提供以下式 III-1 所示结构的接头-药物中间体化合物，



III-1。

本发明采用的接头结构将抗肿瘤化合物艾日布林或其衍生物与抗体或其抗原结合片段连接，所提供的抗体药物偶联物实现了优异的抗肿瘤效果及/或安全性。在一些实施方案中，抗体药物偶联物的抗肿瘤效果和/或安全性优于艾日布林。在一些实施方案中，抗体药物偶联物的抗肿瘤效果和/或安全性优于第一三共株式会社的抗 HER3 抗体药物偶联物 U3-1402 (Patritumab deruxtecan)。在一些实施方案中，提供的抗 HER3 抗体药物偶联物表现了对肿瘤细胞良好的杀伤活性，对多种肿瘤细胞和/或不同 HER3 表达水平（高和/或中和/或低）的细胞表现了良好的杀伤活性。在一些实施方案中，提供的抗 HER3 抗体药物偶联物对曲妥珠单抗耐药肿瘤细胞表现了良好的杀伤活性。在一些实施方案中，提供的抗 HER3 抗体药物偶联物具有优异的安全性。在一些实施方案中，提供的抗体药物偶联物如抗 HER3 抗体药物偶联物不易聚集。在一些实验中发现，采用本发明的接头结构将抗肿瘤化合物艾日布林或其衍生物与抗体或其抗原结合片段连接可以提高抗体药物偶联物的抗聚集性。

#### 附图说明

图 1A-1G 为不同 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物、帕曲妥单抗-DDDXd-D8 和帕曲妥单抗对不同 HER3 表达水平细胞的结合活性；

图 2A-2D 为不同 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物、帕曲妥单抗-DDDXd-D8 和帕曲妥单抗在不同 HER3 表达水平细胞中的内吞作用；

图 3A-3I 为不同 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物、以及帕曲妥单抗-DDDXd-D8 对不同 HER3 表达水平细胞的细胞杀伤率；

图 4 为不同 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物、帕曲妥单抗-DDDXd-D8 以及溶媒对照对 JIMT-1 人乳腺癌细胞裸小鼠皮下移植瘤模型中小鼠肿瘤体积变化的影响；

图 5 为不同 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物、帕曲妥单抗-DDDXd-D8 以及溶媒对照对 JIMT-1 人乳腺癌细胞裸小鼠皮下移植瘤模型中小鼠体内瘤重的影响；

图 6 为不同 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物、帕曲妥单抗-DDDXd-D8 以及溶媒对照对 JIMT-1 人乳腺癌细胞裸小鼠皮下移植瘤模型中小鼠体重变化的影响。

#### 解释和定义

除非另有说明，本申请中所用的下列术语具有下列含义。一个特定的术语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照本领域普通的含义去理解。当本文中出现商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

术语“被取代”是指特定原子上的任意一个或多个氢原子被取代基取代，只要特定原子的价态是正常的并且取代后的化合物是稳定的。当取代基为氧代（即=O）时，意味着两个氢原子被取代，氧代不会发生在芳香基上。

术语“任选”或“任选地”是指随后描述的事件或情况可以发生或不发生，该描述包括发生所述事件或情况和不发生所述事件或情况。术语“任选被取代的”表示被取代或未被取代的，例如，乙基“任选”被卤素取代，指乙基可以是未被取代的( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ )、单取代的(如  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ )、多取代的(如  $\text{CHFCH}_2\text{F}$ 、 $\text{CH}_2\text{CHF}_2$  等)或完全被取代的( $\text{CF}_2\text{CF}_3$ )。本领域技术人员可理解，对于包含一个或多个取代基的任何基团，不会引入任何在空间上不可能存在和/或不能合成的取代或取代模式。

本文中的  $\text{C}_{m-n}$ ，是该部分具有给定范围中的整数或小数个碳原子。例如“ $\text{C}_{1-6}$ ”是指该基团可具有 1 个碳原子、2 个碳原子、3 个碳原子、4 个碳原子、5 个碳原子或 6 个碳原子。

当任何变量(例如 R)在化合物的组成或结构中出现一次以上时，其在每一种情况下的定义都是独立的。因此，例如，如果一个基团被 2 个 R 所取代，则每个 R 都有独立的选项。

当一个连接基团的数量为 0 时，比如  $-(\text{CH}_2)_0-$ ，表示该连接基团为共价键。

当其中一个变量选自共价键时，表示其连接的两个基团直接相连，比如 A-L-Z 中 L 代表共价键时表示该结构实际上是 A-Z。

术语“卤”或“卤素”是指氟、氯、溴和碘。

术语“羟基”指-OH 基团。

术语“氰基”指-CN 基团。

术语“巯基”指-SH 基团。

术语“氨基”指- $\text{NH}_2$  基团。

术语“硝基”指- $\text{NO}_2$  基团。

术语“烷基”是指通式为  $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$  的烃基。该烷基可以是直链或支链的。例如，术语“ $\text{C}_{1-6}$  烷基”指含有 1 至 6 个碳原子的烷基(例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、新戊基、己基、2-甲基戊基等)。类似地，烷氧基、烷基氨基、二烷基氨基、烷基磺酰基和烷硫基的烷基部分(即烷基)具有上述相同定义。

术语“烷氧基”指-O-烷基。

术语“烷基氨基”指-NH-烷基。

术语“二烷基氨基”指-N(烷基) $_2$ 。

术语“烷基磺酰基”指- $\text{SO}_2$ -烷基。

术语“烷硫基”指-S-烷基。

术语“烯基”是指由碳原子和氢原子组成的直链或支链的具有至少一个双键的不饱和脂肪族烃基。烯基的非限制性实例包括但不限于乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、异丁烯基、1,3-丁二烯基等。

术语“炔基”是指由碳原子和氢原子组成的直链或支链的具有至少一个三键的不饱和脂肪族烃基。炔基的非限制性实例包括但不限于乙炔基( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ )、1-丙炔基( $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$ )、2-丙炔基( $-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$ )、1,3-丁二炔基( $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{CH}$ )等。

术语“环烷基”指完全饱和的并且可以以单环、桥环或螺环存在的碳环。除非另有指示，该碳环通常为 3 至 10 元环。环烷基非限制性实例包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、降冰片基(双环[2.2.1]庚基)、双环[2.2.2]辛基、金刚烷基等。

术语“环烯基”是指不完全饱和的并且可以以单环、桥环或螺环存在的非芳族碳环。除非另有指示，该碳环通常为 5 至 8 元环。环烯基的非限制性实例包括但不限于环戊烯基、环戊二烯基、环己烯基、环己二烯基、环庚烯基、环庚二烯基等。

术语“杂环基”是指完全饱和的或部分不饱和的(但不是完全不饱和的杂芳族)并且可以以单环、桥环或螺环存在的非芳族环。除非另有指示，该杂环通常为含有 1 至 3 个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选 1 或 2 个杂原子)的 3 至 7 元环。杂环基的非限制性实例包括但不限于环氧乙烷基、四氢呋喃基、二氢呋喃基、吡咯烷基、N-甲基吡咯烷基、二氢吡咯基、哌啶基、哌嗪基、吡唑烷基、4H-吡喃基、吗啉基、硫代吗啉基、四氢噻吩基等。

术语“杂环烷基”是指完全饱和的并且可以以单环、桥环或螺环存在的环状基团。除非另有指示，该杂环通常为含有 1 至 3 个独立地选自硫、氧和/或氮的杂原子(优选 1 或 2 个杂原子)的 3 至 7 元环。3 元杂环烷基的实例包括但不限于环氧乙烷基、环硫乙烷基、环氮乙烷基，4 元杂环烷基的非限制性实例包括

但不限于吡啶基、噁丁环基、噻丁环基，5 元杂环烷基的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、异噁唑烷基、噁唑烷基、异噻唑烷基、噻唑烷基、咪唑烷基、四氢吡唑基，6 元杂环烷基的实例包括但不限于哌啶基、四氢吡喃基、四氢噻喃基、吗啉基、哌嗪基、1,4-噻噁烷基、1,4-二氧六环基、硫代吗啉基、1,3-二噻烷基、1,4-二噻烷基，7 元杂环烷基的实例包括但不限于氮杂环庚烷基、氧杂环庚烷基、硫杂环庚烷基。优选为具有 5 或 6 个环原子的单环杂环烷基。

术语“芳基”是指具有共轭的  $\pi$  电子体系的全碳单环或稠合多环的芳香环基团。例如，芳基可以具有 6-20 个碳原子、6-14 个碳原子或 6-12 个碳原子。芳基的非限制性实例包括但不限于苯基、萘基、蒽基和 1,2,3,4-四氢化萘等。

术语“杂芳基”是指单环或稠合多环体系，其中含有至少一个选自 N、O 或 S 的环原子，其余环原子为 C，并且具有至少一个芳香环。优选的杂芳基具有单个 4 至 8 元环，尤其是 5 至 8 元环，或包含 6 至 14 个，尤其是 6 至 10 个环原子的多个稠合环。杂芳基的非限制性实例包括但不限于吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、喹啉基、异喹啉基、四唑基、三唑基、三嗪基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、异吲哚基等。

“衍生物”：母体化合物分子中的原子或原子团被其它原子或原子团取代形成的化合物称为母体化合物的衍生物。

本申请的化合物和中间体还可以以不同的互变异构体形式存在，并且所有这样的形式包含于本申请的范围内。术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指可由低能垒互变的不同能量的结构异构体。例如，质子互变异构体（也称为质子转移互变异构体）包括经由质子迁移的互变，如酮-烯醇及亚胺-烯胺异构化。质子互变异构体的具体实例是咪唑部分，其中质子可在两个环氮间迁移。价互变异构体包括通过一些成键电子的重组的互变。

本申请化合物可以是不对称的，例如，具有一个或多个立体异构体。除非另有说明，所有立体异构体都包括，如对映异构体和非对映异构体。本申请的含有不对称碳原子的化合物可以以光学活性纯的形式或外消旋形式被分离出来。光学活性纯的形式可以从外消旋混合物拆分，或通过使用手性原料或手性试剂合成。

本发明中所标记合成的化合物的任何原子若没有特别指定，可代表该原子的任何一种稳定的同位素。除非特别说明，当结构中某一位置被定义为 H 即氢（H-1）时，该位置仅含天然存在的同位素。同样，除非特别说明，当结构中某一位置被定义为 D 即氘（H-2）时，该位置含同位素量至少比天然存在的同位素量（0.015%）大 3340 倍（即至少含 50.1% 氘同位素），当所标记合成的化合物的结构中某一个或多个位置被定义为 D 即氘（H-2）时，该结构所示的化合物的含量可至少为 52.5%、至少为 60%、至少为 67.5%、至少为 75%、至少为 82.5%、至少为 90%、至少为 95%、至少为 97%、至少为 98.5%、至少为 99%、至少为 99.5%。本发明中所标记合成的化合物的氘代率是指标记合成的同位素含量与天然存在的同位素量的比值。本发明中所标记合成的化合物的每个指定氘原子的氘代率可至少为 3500 倍（52.5%）、至少为 4000 倍（60%）、至少为 4500 倍（67.5%）、至少为 5000 倍（75%）、至少为 5500 倍（82.5%）、至少为 6000 倍（90%）、至少为 6333.3 倍（95%）、至少为 6466.7 倍（97%）、至少为 6566.7 倍（98.5%）、至少为 6600 倍（99%）、至少为 6633.3 倍（99.5%）。本发明中的同位素体（isotopologues）是指在化学结构方面仅有同位素组成上不同的化合物。本发明中所标记合成的化合物具有相同的化学结构、仅在其分子的原子组成中同位素的变化。因此，本发明中所标记合成的在特定位置含氘化合物也同样会含非常少的该位置的氢同位素体，本发明中所标记合成的化合物中的某位置的氢同位素体的量取决于许多因素，其中包括氘代试剂（ $D_2O$ 、 $D_2$ 、 $NaBD_4$ 、 $LiAlD_4$  等）的氘同位素纯度以及引入氘同位素合成方法的有效性。然而，如前所述这种某位置的氢同位素体的量总数将少于 49.9%。本发明中所标记合成的化合物中的某位置的氢同位素体的量总数将少于 47.5%、40%、32.5%、25%、17.5%、10%、5%、3%、1% 或 0.5%。

本发明中，任何未指定为氘的各原子以其天然同位素丰度存在。

术语“旁观者效应”（Bystander effect），如本文所用，指代这样的效应，其中通过可断裂或不可断裂接头偶联至抗体或其抗原结合片段的细胞毒药物在从抗体或其抗原结合片段释放后有能力扩散穿过细胞膜，并从而引起对相邻细胞的杀伤。扩散穿过细胞膜的能力与细胞毒药物或细胞毒药物和接头的组合的疏

水性有关。此类细胞毒药物可以例如是艾日布林或 MMAE。尤其是在具有异质靶表达的肿瘤和其中抗体穿透可能受限的实体瘤中，旁观者效应可能是期望的。

术语“治疗”意为将本申请所述化合物或药物组合物进行给药以预防、改善或消除疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状，且包括但不限于：

(i) 预防疾病或疾病状态在哺乳动物中出现，特别是当这类哺乳动物易患有该疾病状态，但尚未被诊断为已患有该疾病状态时；

(ii) 抑制疾病或疾病状态，即遏制其发展；

(iii) 缓解疾病或疾病状态，即使该疾病或疾病状态消退；

(iv) 降低疾病或疾病状态的任何直接或间接病理学后果。

术语“治疗有效量”意指(i) 治疗或预防特定疾病、病况或障碍，(ii) 减轻、改善或消除特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状，或(iii) 预防或延迟本文中所述的特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状发作的本申请化合物的用量。构成“治疗有效量”的本申请化合物或药物组合物的量可根据一些因素而变化，例如取决于该化合物或药物组合物及其在个体中引发所需应答的能力，疾病状态及其严重性，给药方式以及待被治疗的哺乳动物的年龄、性别和体重。有效量也可例行性地由本领域技术人员根据其自身的知识及本发明内容而确定。

术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

作为药学上可接受的盐，例如，可以提及金属盐、铵盐、与有机碱形成的盐、与无机酸形成的盐、与有机酸形成的盐、与碱性或者酸性氨基酸形成的盐等。

术语“溶剂化物”是指化合物与溶剂分子缔合形成的物质。

术语“抗体”以其最广义使用，特别涵盖完整的单克隆抗体、多克隆抗体、至少由两种完整抗体所形成的多特异性抗体（例如双特异性抗体）、多功能抗体以及抗体片段，只要它们具有所需的生物学活性。

术语“人源化抗体”是指一种抗体，包含来源于非人源抗体的 CDR 区，并且该抗体分子的其它部分来源于一种或多种人抗体。

术语“突变体”用于指包含如下从肽的氨基酸序列衍生出的氨基酸序列的肽：用不同于原始肽的氨基酸置换一个或两个或更多个氨基酸，缺失一个或两个或更多个野生型氨基酸，插入在野生型中不存在的一个或两个或更多个氨基酸，和/或将在野生型中不存在的氨基酸添加至野生型的氨基端（N 端）和/或羧基端（C 端）（被统称为“突变”）。在本发明中，“插入”也可以被包括在“添加”中。

术语“CDR”（互补决定区），也称为“高变区”，是指在序列上高度可变和/或形成结构限定的环的抗体可变结构域的每个区域。天然四链抗体通常包含六个 CDR，三个在重链可变区中，三个在轻链可变区中。

术语“可变区”是指抗体的轻链或重链的 N 端结构域限定的约 100 至 110 个或更多个氨基酸的主要负责抗原识别的结构域。术语轻链可变区（VL）和重链可变区（VH）分别指这些轻链和重链结构域。

术语“Fab”是指含有轻链的恒定结构域（CL）和重链的第一恒定结构域（CH1）连同分别在轻链和重链上的可变结构域 VL（轻链可变区）和 VH（重链可变区）。可变结构域包含参与抗原结合的互补决定区（CDR）。

术语“scFv”包括抗体的 VH 和 VL 结构域，其中这些结构域存在于单一多肽链中。在一些实施方案中，scFv 还包含介于 VH 和 VL 结构域之间的多肽接头，其使得 scFv 能够形成抗原结合所需的结构。

术语“抗体部分”是指抗体药物偶联物中的抗体部分。在某些特定的方案中，其与中间接头部分通过特定官能团连接，该抗体部分可以与抗原特异性结合。

术语“接头部分”是指抗体药物偶联物中将抗体部分与细胞毒药物部分相连接的部分，可以是可切割的或者不可切割的，可切割接头可以在靶细胞内断裂，从而释放细胞毒药物。

术语“细胞毒药物部分”是指抗体药物偶联物中的细胞毒药物部分。在某些特定的方案中，其与中间接头部分通过官能团连接，在肿瘤细胞内，会游离出细胞毒药物分子，从而发挥抗肿瘤效果。

术语“曲妥珠单抗”通用名 Trastuzumab，是一种重组的人源化单克隆抗体，选择性地作用于人表皮生长因子受体-2（HER2）的 ECD4，可以用于治疗 HER2 阳性的癌症，其一个实例是以商品名 HERCEPTIN® 上市的治疗性单克隆抗体产品。

术语“Patritumab”或“帕曲妥单抗”是一种全人源抗 HER3 的单克隆抗体，可以用于治疗表达 HER3 蛋白的癌症。

术语“HER2”是 EGFR 家族的第二个成员，具有酪氨酸激酶活性，其中 HER2 表达水平可以按照免疫组织化学检测法进行检测，HER2 阳性指 IHC3+，HER2 阴性指 IHC1+/0，对于 IHC2+ 的情况应该再进行 ISH 检测以进一步明确。

术语“HER3”（人表皮生长因子受体 3，也称为 ErbB3）是受体蛋白酪氨酸激酶，并且属于受体蛋白酪氨酸激酶的表皮生长因子受体（EGFR）亚家族，其还包括 HER1（也称为 EGFR）、HER2 和 HER4。HER3 是跨膜受体，并且由细胞外配体结合结构域（ECD）、ECD 内的二聚结构域、跨膜结构域和胞内蛋白酪氨酸激酶结构域（TKD）及 C 末端磷酸化结构域构成。已发现 HER3 在若干类型的癌（例如乳腺癌、肠胃癌和胰腺癌）中过表达。已示出 HER2/HER3 的表达与从非侵袭进展至侵袭阶段之间的关联。

术语“三阴性乳腺癌”是指雌激素受体、孕激素受体和人表皮生长因子受体 2 表达都为阴性的乳腺癌。

术语“EC<sub>50</sub>”是指有效浓度，该浓度引起抗原结合构建体的 50% 最大应答。EC<sub>50</sub> 可以通过 ELISA 或 FACS 分析或本领域已知的任何其它方法进行测量。

术语“同一性”，也称一致性。氨基酸序列的“同一性百分数（%）”是指将待比对序列与本文中所示的具体氨基酸序列进行比对并且如有必要的话为达到最大序列同一性百分数而引入空位后，并且不考虑任何保守置换作为序列同一性的一部分时，待比对序列中与本文中所示的具体氨基酸序列的氨基酸残基相同的氨基酸残基百分数。同一性的氨基酸序列比对可以采用本领域范围内的多种方式进行，例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可决定用于比对序列的适宜参数，包括在比较序列的全长里获得最大比对需要的任何算法。

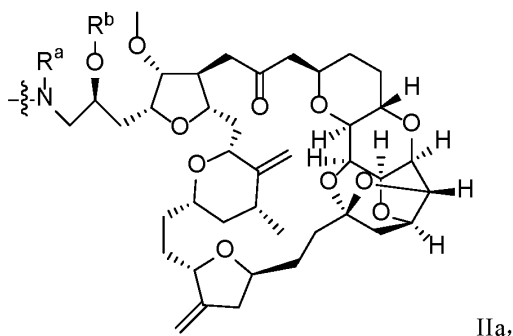
在本文中，术语“受试者”、“患者”或“主体”可互换使用。在一些实施方案中，术语“受试者”、“患者”或“主体”是哺乳动物。在部分实施方案中，所述受试者、患者或主体是小鼠。在部分实施方案中，所述受试者、患者或主体是人。

如本文所用，“约”表示在本领域普通技术人员判定的对特定值可以接受的误差范围内，其部分取决于如何测量或测定该值，即测量系统的限制。例如，“约”按照本领域实践可表示 1 倍或超过 1 倍标准偏差以内。或者，“约”可以表示多至 ±5% 的范围，例如在所给定的具体数值范围 ±2% 范围内、±1% 范围内或 ±0.5% 范围内波动。当本申请或发明申请专利范围中给出特定值时，除非另有说明，“约”的含义应认为是在该特定值的可接受的误差范围内。在本文中，除非另有说明，步骤参数或条件的值默认均由“约”修饰。

### 具体实施方式

本发明还提供了以下一些具体的实施方案，但本发明的保护范围不限于此：

实施方案 1. 一种具有通式 Ab-(L-U)<sub>n</sub> 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 表示抗体部分，L 表示接头部分，U 表示细胞毒药物部分，n 为选自 1 至 10 的整数或小数，其中，所述抗体药物偶联物包含以下式 IIa 所示的结构：



其中,

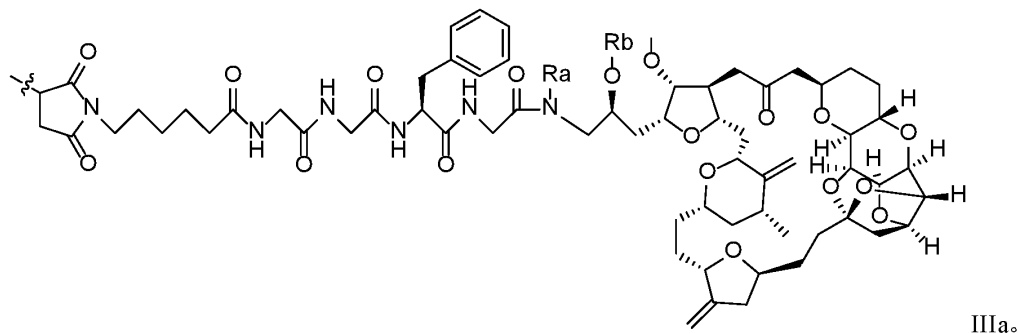
$R^a$ 选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

$R^b$ 选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

或者,

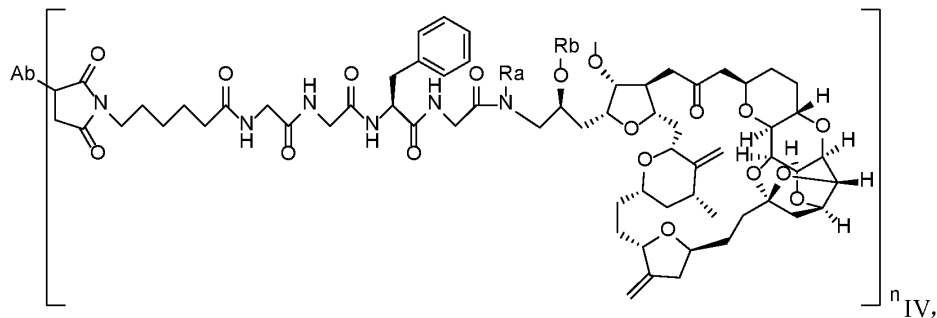
$R^a$ 与  $R^b$ 与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。

实施方案 2. 根据实施方案 1 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物包含以下式 IIIa 所示的结构:



IIIa.

实施方案 3. 根据实施方案 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物为以下式 IV 所示结构:



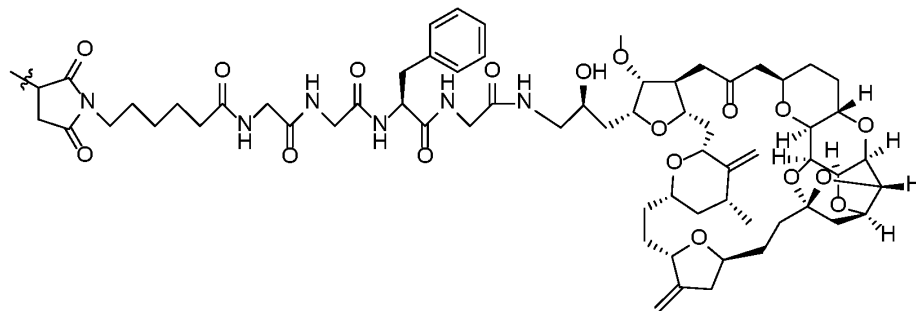
其中,

Ab 表示抗体部分,

n 为选自 1-10 的整数或小数。

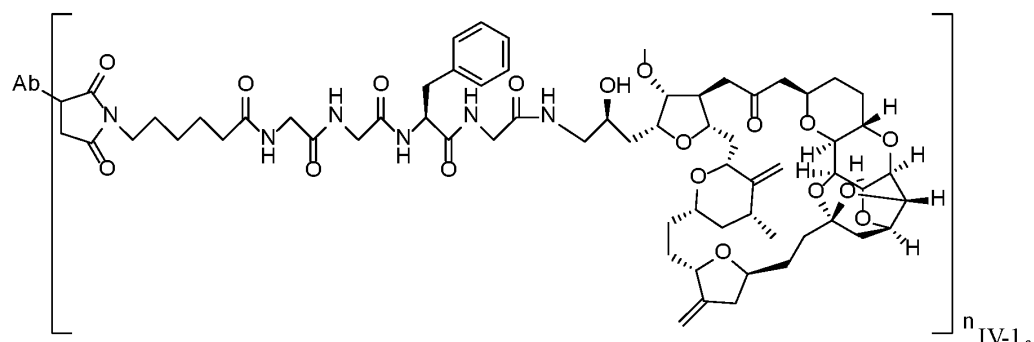
实施方案 4. 根据实施方案 1-3 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中,  $R^a$ 与  $R^b$ 各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。

实施方案 5. 根据实施方案 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物包含以下式 IIIa-1 所示的结构:



IIIa-1.

实施方案 6. 根据实施方案 3 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物为以下式 IV-1 所示结构:



实施方案 7. 根据实施方案 1-6 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述  $n$  为 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。

实施方案 8. 根据实施方案 7 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述  $n$  为约 2.6、约 4、约 4.2、约 4.8、约 7、约 7.1、约 7.5、约 7.6、约 7.9 或约 8。

实施方案 9. 根据实施方案 1-8 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述 Ab 为抗 HER3 抗体或其抗原结合片段。

实施方案 10. 根据实施方案 9 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 HCDR1, 包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 HCDR2, 包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 HCDR3, 包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 LCDR1, 包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 LCDR2 和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 LCDR3。

实施方案 11. 根据实施方案 10 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含与 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列; 或所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列。

实施方案 12. 根据实施方案 10 或 11 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链, 所述重链包含与 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列。

实施方案 13. 根据实施方案 9 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体为帕曲妥单抗。

实施方案 14. 根据实施方案 9-13 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物展现出下述性质中的一种或多种的组合:

- (a) 结合 HER3;
- (b) 阻断 HER3 与配体的结合;
- (c) 在表达 HER3 的细胞中显示内吞作用;
- (d) 对表达 HER3 的肿瘤细胞具有杀伤活性;
- (e) 具有旁观者效应。

实施方案 15. 一种药物组合物, 其包含实施方案 1-14 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物; 任选地, 所述药物组合物还包括可药用载体。

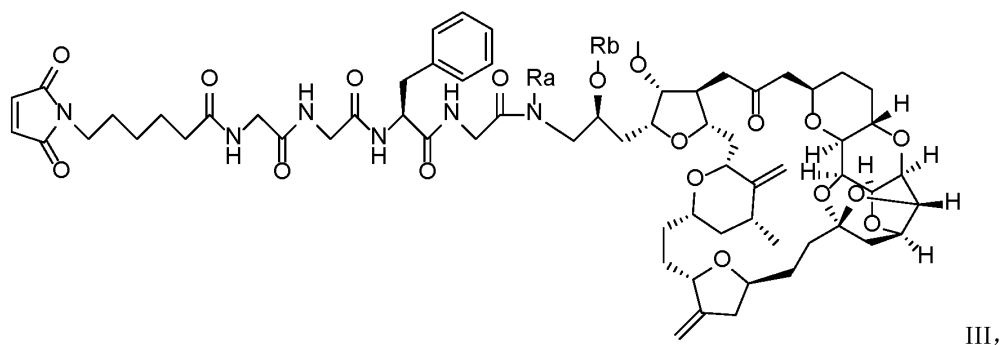
实施方案 16. 实施方案 1-14 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 15 所述的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途；优选地，所述癌症为 HER3 阳性癌症；优选地，所述癌症为胆道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管结合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌、结直肠癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮肤癌、肺癌、多形胶质母细胞瘤、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃肠道间质瘤、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、肛门癌或阴茎癌。

实施方案 17. 一种治疗癌症的方法，其包括向有需要的患者施用治疗有效量的实施方案 1-14 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 15 所述的药物组合物；优选地，所述癌症为 HER3 阳性癌症。

实施方案 18. 根据实施方案 17 所述的方法，所述方法包括使肿瘤细胞与所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述药物组合物接触，从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

实施方案 19. 根据实施方案 17 或 18 所述的方法，其中所述癌症为胆道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管结合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌、结直肠癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮肤癌、肺癌、多形胶质母细胞瘤、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃肠道间质瘤、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、肛门癌或阴茎癌。

实施方案 20. 一种具有式 III 所示结构的接头-药物中间体化合物：



其中，

R<sup>a</sup>选自氢原子、氘原子、任选被取代的 C<sub>1-6</sub>烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub>环烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub>杂环基、任选被取代的 C<sub>6-10</sub>芳基、任选被取代的 C<sub>5-12</sub>杂芳基；

R<sup>b</sup>选自氢原子、氘原子、任选被取代的 C<sub>1-6</sub>烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub>环烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub>杂环基、任选被取代的 C<sub>6-10</sub>芳基、任选被取代的 C<sub>5-12</sub>杂芳基；

或者 R<sup>a</sup>与 R<sup>b</sup>与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。

实施方案 21. 根据实施方案 20 所述的接头-药物中间体化合物，其中，R<sup>a</sup>与 R<sup>b</sup>各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。

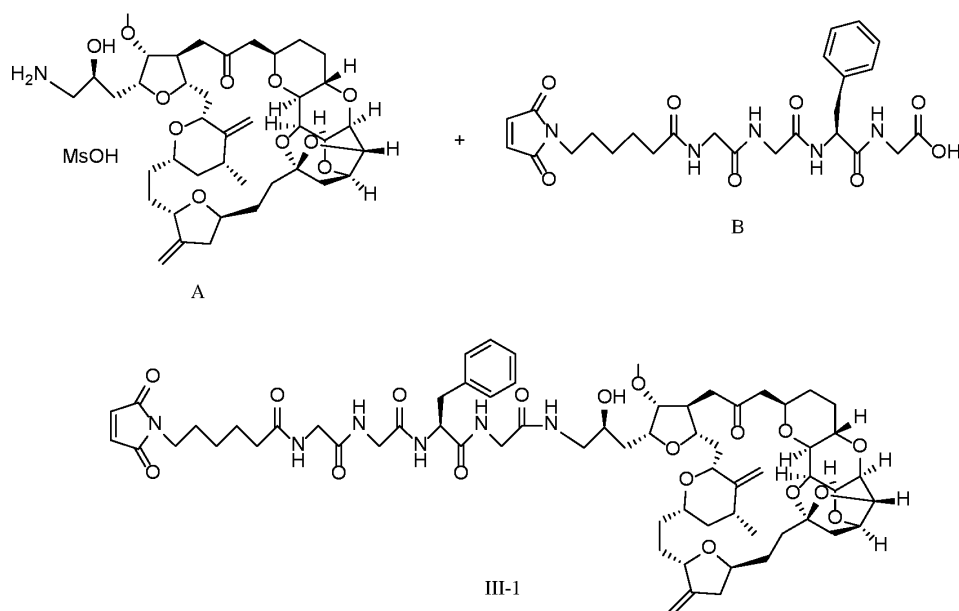
为清楚起见，进一步用实施例来阐述本发明，但是实施例并非限制本申请的范围。本申请所使用的试剂通常是市售的，无需进一步纯化即可使用。

本申请实施例中采用的帕曲妥单抗 (Patritumab) 按照抗体的常规方法进行制备，先进行表达载体（包括例如 CN107001463A 披露的 pcDNA3.1 载体、CN109422811A 披露的 pCHO1.0 载体等）构建，转染 Expi-CHO 宿主细胞之后进行表达，并采用 Protein A 亲和层析进行纯化；帕曲妥单抗重链和轻链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:9 和 10 所示。氘代 MC-GGFG-DXd (MC-GGFG-DDDXd) 的合成参见专利公开 WO2022033578A1 中实施例 14 中的方法。

本申请实施例中涉及的细胞及其来源如下表所示：

| 细胞         | 来源                     |
|------------|------------------------|
| NCI-N87    | 中国科学院细胞库               |
| BT474      | 中科院                    |
| SKBR3      | 中美冠科                   |
| SK-OV3     | 中国科学院细胞库               |
| JIMT-1     | ATCC                   |
| Capan1     | 北纳生物                   |
| MCF-7      | 中国科学院细胞库               |
| KYSE410    | 雅吉生物                   |
| MDA-MB-468 | 北纳生物                   |
| HCC1569    | 南京科佰                   |
| SW620      | 南京科佰                   |
| A549       | 中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心 |
| WiDr       | 南京科佰                   |

### 实施例 1 化合物 III-1 的制备



称取 100 mg 化合物 A (0.12 mmol) 和 75 mg 化合物 B (0.145 mmol) 加入到 20 mL 反应管中 (化合物 A 的 CAS 号为 2413428-36-9, 化合物 B 的 CAS 号为 441045-17-6), 加入 2 mL N,N-二甲基甲酰胺, 降温到 0°C, 加入 70 mg 2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐 (0.18 mmol) 与 49 mg N,N-二异丙基乙胺 (0.36 mmol), 0°C 下反应 1 h, 经制备液相纯化得到化合物 III-1 (MC-GGFG-Eribulin, 或称为 MC-GGFG-艾日布林) 约 70 mg。经 ESI-MS 分析, 化合物 III-1 的  $m/z=1241.72[M+H]^+$ 。化合物 III-1 的氢谱如下:

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$  8.22 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 8.06 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 7.99 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.30-7.21 (m, 4H), 7.18 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 6.99 (s, 2H), 5.02 (d, J = 26.0 Hz, 2H), 4.79 (d, J = 38.9 Hz, 2H), 4.65-4.60 (m, 2H), 4.56 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 4.26 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 4.21-4.14 (m, 1H), 4.10 (s, 3H), 4.05-3.98 (m, 1H), 3.86-3.64 (m, 8H), 3.60-3.45 (m, 4H), 3.37-3.30 (m, 2H), 3.26 (s, 4H), 3.17-3.09 (m, 1H), 3.08-2.99 (m, 2H), 2.84 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 2.86-2.66 (m, 3H), 2.56-2.50 (m, 1H), 2.37-2.18 (m, 5H), 2.15-2.05 (m, 3H), 2.05-1.96 (m, 2H), 1.95-1.84 (m, 4H), 1.75-1.57 (m, 6H), 1.55-1.38 (m, 6H), 1.35-1.25 (m, 3H), 1.23-1.12 (m, 3H), 1.03 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.00-0.92 (m, 1H).

**实施例 2 抗体药物偶联物的制备****试剂：**

溶液 A: pH 7.4 PBS 缓冲液

溶液 B: 10 mM TCEP (三(2-羧基乙基)膦盐酸盐) 水溶液

溶液 C: DMSO

溶液 D: 组氨酸缓冲液 (含 L-组氨酸 0.89 mg/mL 和盐酸 L-组氨酸一水合物 4.04 mg/mL)

溶液 E: 700 mg/mL 蔗糖溶液 (用溶液 D 配制)

溶液 F: 20 mg/mL 吐温 80 (用溶液 D 配制)

**实验流程：****1、抗体置换**

- a、将 30 KD 的超滤离心管用溶液 A 充分润湿
- b、将抗体置换到溶液 A 中
- c、加入适量溶液 A 调节抗体浓度

**2、抗体还原**

- a、计算抗体摩尔量，记为 N1
- b、向抗体溶液中加入适量溶液 B，使反应体系 TCEP 摩尔量为 N2
- c、铝箔包扎，置于旋转培养仪上低速 (20 rpm) 震荡，37°C 避光反应 1 h

**3、偶联**

- a、取适量 linker-payload，用 DMSO 溶解，终浓度为 10 mg/mL
- b、向抗体溶液中加入 DMSO，使浓度为 5%，再加入适量 linker-payload 溶液，使摩尔量为 N3
- c、铝箔包扎，置于旋转培养仪上低速 (20 rpm) 震荡，22°C 避光反应 1.5 h

**4、偶联终止**

- a、用溶液 D 将超滤离心管润湿
- b、将抗体置换至溶液 D 中，加入适量溶液 E、F，-80°C 冻存

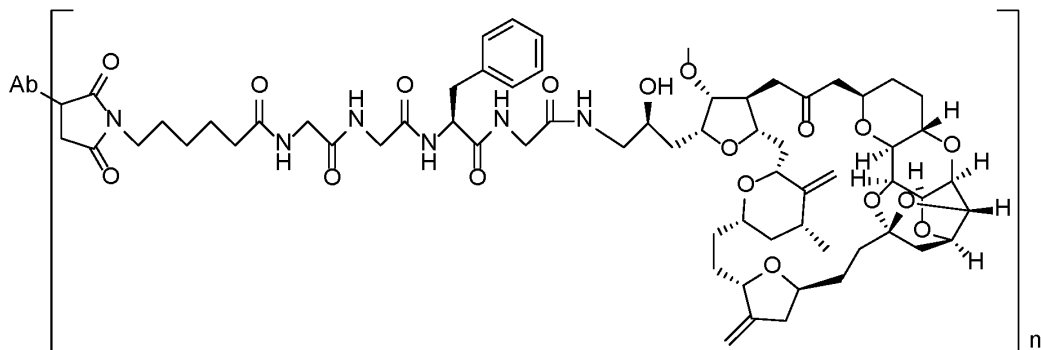
**抗体药物偶联物的 DAR 值 (每一分子抗体的药物平均连接数) 测定**

采用 LC-MS 方法测定 DAR 值。取 50  $\mu$ g ADC 样品，加入 1  $\mu$ L 糖苷酶 PNGase F (瑞安生物，中国)，在 37°C 孵育 20 小时。实验中的质谱仪为高分辨的 Xevo G2-XS (Waters，美国)。将样品浓度调至 5  $\mu$ M，采用直接进样法，采集正离子模式下的质谱数据。采集的非变性质谱数据采用软件 UNIFI 1.8.2.169 (Waters，美国) 进行分析处理。

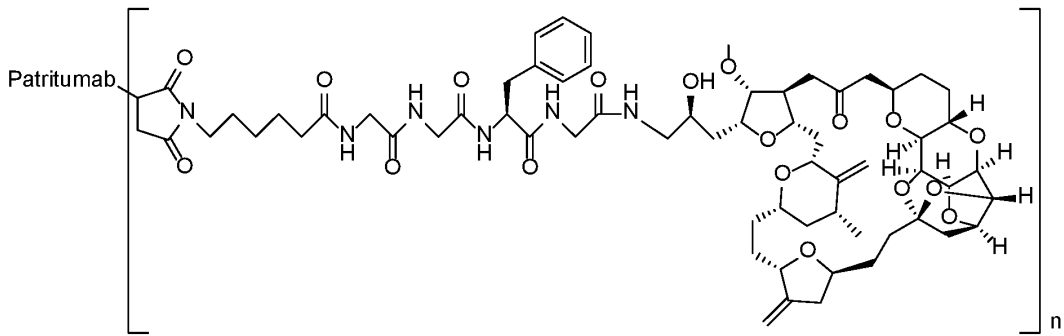
**抗体药物偶联物的蛋白浓度测定**

采用 lowry 法检测蛋白浓度。用酶标仪测定样品在 OD<sub>650</sub> 波长的吸光度值，拟合标准曲线，将样品吸光度值带入标准曲线，计算蛋白浓度。

通过以上方法制备式 IV-1 的抗体药物偶联物 (包括 IV-1(Patritumab)) 以及式 IV 系列的其他抗体药物偶联物：



IV-1



IV-1(Patritumab)

分别制备得到样品 1：DAR=4.8、蛋白浓度=1.71 mg/mL 和样品 2：DAR=7.1、蛋白浓度=1.65 mg/mL。

实施例 3 小分子细胞毒化合物以及抗体药物偶联物的细胞活性

将小分子细胞毒化合物使用培养基稀释至 35000 ng/mL-0.0896 ng/mL，共 9 个浓度。取对数生长期肿瘤细胞，调整密度至  $1 \times 10^5$  cells/mL 进行铺板，每孔加入 100  $\mu$ L，并设置无细胞空白孔作为对照。加入上述梯度稀释的样品，每孔 50  $\mu$ L。于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 二氧化碳培养箱中培养 5 天。弃掉培养液，加入 CCK-8（日本同仁化学，货号：CK04）工作液，每孔 100  $\mu$ L，孵育显色 4-5 小时后置于酶标仪中（厂家 Thermo，型号：VarioskanFlash），以 630 nm 为参比波长，读取并记录波长 450 nm 下孔板的吸光度值。计算肿瘤细胞增殖抑制率。

将抗体药物偶联物使用培养基稀释至 5000 ng/mL-0.0128 ng/mL，共 9 个浓度。取对数生长期肿瘤细胞，调整密度至  $2 \times 10^4$  cells/mL 进行铺板，每孔加入 100  $\mu$ L，并设置无细胞空白孔作为对照。加入上述梯度稀释的样品，每孔 50  $\mu$ L。于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 二氧化碳培养箱中培养。弃掉培养液，加入 CTG 检测液（Promega，货号：G7572），每孔 100  $\mu$ L，孵育显色 10 min 后置于多功能读板（厂家 Thermo，型号：VarioskanFlash），读取化学发光值。计算肿瘤细胞增殖抑制率。

IV-1(Patritumab)细胞活性：

| 细胞系   | EC <sub>50</sub> (nM) |         |
|-------|-----------------------|---------|
|       | DAR=4.8               | DAR=7.1 |
| MCF-7 | 0.08                  | 0.05    |
| BT474 | 0.07                  | 0.04    |
| SKBR3 | 0.17                  | 0.08    |

实施例 4 抗体药物偶联物的制备

试剂：

溶液 G：组氨酸/盐酸组氨酸缓冲液（L-组氨酸 1.43 mg/mL、盐酸 L-组氨酸一水合物 2.27 mg/mL）；

溶液 H：10 mM TCEP（三(2-羧基乙基)膦盐酸盐）水溶液；

溶液 I：DMSO（二甲基亚砜）；

溶液 J：500 mg/mL 蔗糖溶液（用溶液 G 配制）；

溶液 K：30 mg/mL 吐温 80（用溶液 G 配制）；

溶液 L：10% DMSO 的溶液 G；

溶液 M：0.3 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>；

抗体：帕曲妥单抗；

linker-payload（接头-药物中间体化合物）：实施例 1 中式 III-1 所示结构的化合物 MC-GGFG-艾日布林（制备帕曲妥单抗-艾日布林偶联物时使用）；MC-GGFG-DDDXd（制备帕曲妥单抗-DDDXd 偶联物时使用）。

（1）按照如下实验流程制备 DAR 为 2.6 或 7.6 的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物，分别命名为帕曲妥单抗-艾日布林-D2 和帕曲妥单抗-艾日布林-D8；按照如下实验流程制备 DAR 为 7.9 的帕曲妥单抗-DDDXd 偶联物，命名为帕曲妥单抗-DDDXd-D8；

**实验流程:**

1、抗体置换:

将 30 KD 的超滤离心管用溶液 G 充分润湿, 将抗体置换到溶液 G 中, 加入适量溶液 G 调节抗体浓度为 10 mg/mL; 之后加入适量溶液 M 调节抗体溶液的 pH 约为 7.0。

2、抗体还原:

计算抗体摩尔量, 记为 N1; 向抗体溶液中加入适量溶液 H, 使反应体系 TCEP 摩尔量为 N2; 将获得的混合物于 37°C 避光振荡 1 h, 从而抗体二硫键被还原, 获得反应溶液 1。

3、抗体与接头-药物中间体化合物的偶联:

取适量 linker-payload, 用 50% 丙酮水溶液溶解, 终浓度为 10 mg/mL; 向反应溶液 1 中加入溶液 I (溶液 I: 反应溶液 1 (v/v) = 1:10), 混匀, 再加入适量的上述用丙酮水溶液溶解的 linker-payload 溶液, 使 linker-payload 的摩尔量为 N3; 反应混合物于 22°C 避光振荡 1 h, 获得反应溶液 2。

4、偶联反应的终止:

用溶液 L 将超滤离心管润湿; 先后用 20 倍体积的溶液 L 和 20 倍体积的溶液 G 来超滤反应溶液 2, 加入适量溶液 J、K, -80°C 冻存。

其中, 实验条件及组别如下表 1-1 所示。

表 1-1 实验条件及组别

| ADC            | 抗体    | linker-payload | N1:N2 | N1:N3  |
|----------------|-------|----------------|-------|--------|
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D2  | 帕曲妥单抗 | MC-GGFG-艾日布林   | 1:2   | 1:3    |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D8  | 帕曲妥单抗 | MC-GGFG-艾日布林   | 1:8.5 | 1:10.5 |
| 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 | 帕曲妥单抗 | MC-GGFG-DDDXd  | 1:8.5 | 1:10.5 |

(2) 按照如下实验流程制备 DAR 为 4.0-4.2 的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物, 命名为帕曲妥单抗-艾日布林-D4:

**实验流程:**

1、抗体置换:

将 30 KD 的超滤离心管用溶液 G 充分润湿, 将抗体置换到溶液 G 中, 加入适量溶液 G 调节抗体浓度为 10 mg/mL; 之后加入适量溶液 M 调节抗体溶液的 pH 约为 7.0。

2、抗体还原:

计算抗体摩尔量, 记为 N1; 向抗体溶液中加入适量溶液 H, 使反应体系 TCEP 摩尔量为 N2; 将获得的混合物于 5-10°C 避光反应 6 h, 从而抗体二硫键被还原, 获得反应溶液 3。

3、抗体与接头-药物中间体化合物的偶联:

取适量 linker-payload, 用 50% 丙酮水溶液溶解, 终浓度为 10 mg/mL; 向反应溶液 3 中加入适量的上述用丙酮水溶液溶解的 linker-payload 溶液, 使 linker-payload 的摩尔量为 N3; 反应混合物于 5-10°C 避光反应 40 min, 获得反应溶液 4。

4、偶联反应的终止:

用溶液 L 将超滤离心管润湿; 先后用 20 倍体积的溶液 L 和 20 倍体积的溶液 G 来超滤反应溶液 4, 加入适量溶液 J、K, -80°C 冻存。

其中, 实验条件及组别如下表 1-2 所示。

表 1-2 实验条件及组别

| ADC           | 抗体    | linker-payload | N1:N2  | N1:N3 |
|---------------|-------|----------------|--------|-------|
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D4 | 帕曲妥单抗 | MC-GGFG-艾日布林   | 1:2.58 | 1:5.1 |

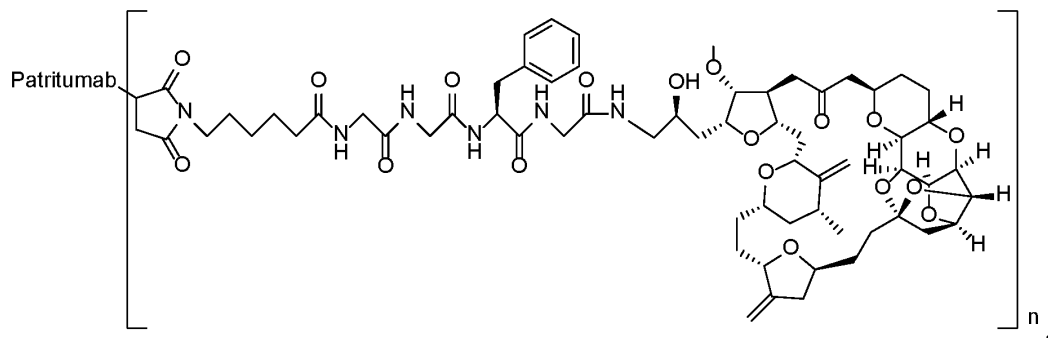
**实施例 5 抗体药物偶联物的 DAR 值测定**

采用键合丁基的无孔聚苯乙烯/二乙烯苯 (PS/DVB) 填料对上述实施例 4 制备的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物各组分进行分离, 利用中性高盐流动相提高蛋白分子的疏水性质, 从而和色谱柱中疏水的键合相结合, 而后通过逐步降低盐浓度, 并逐步增大异丙醇的比例洗脱物质, 疏水性小的组分先洗脱, 疏水性大的组分后洗脱。

色谱柱规格为 Sepax HIC-Butyl,  $4.6 \times 100 \text{ mm}$ 、 $5 \mu\text{m}$ , 柱温  $25^\circ\text{C}$ 。流动相 A 为  $10 \text{ mM}$  磷酸盐缓冲液- $1.5 \text{ M}$  硫酸铵,  $\text{pH } 7.0$  (称取无水磷酸氢二钠  $1.42 \text{ g}$ 、硫酸铵  $198.21 \text{ g}$ , 加入约  $800 \text{ mL}$  超纯水, 搅拌至充分溶解后, 用磷酸调节至  $\text{pH } 7.0 \pm 0.1$ , 定容至  $1 \text{ L}$ , 混匀后经  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤)。流动相 B 为  $10 \text{ mM}$  磷酸盐缓冲液,  $\text{pH } 7.0$  (称取无水磷酸氢二钠  $1.42 \text{ g}$ , 加入约  $800 \text{ mL}$  超纯水, 搅拌至充分溶解后, 用磷酸调节至  $\text{pH } 7.0 \pm 0.1$ , 定容至  $1 \text{ L}$ , 混匀后经  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤)。流动相 C 为  $100\%$  异丙醇。流速为  $0.5 \text{ mL/min}$ , 梯度洗脱  $30 \text{ min}$ , 流动相参数为:  $0-15 \text{ min}$  由  $75\%$  流动相 A 加  $25\%$  流动相 B 升至  $75\%$  流动相 B 加  $25\%$  流动相 C,  $15-20 \text{ min}$  为  $75\%$  流动相 B 加  $25\%$  流动相 C,  $20-30 \text{ min}$  为  $75\%$  流动相 A 加  $25\%$  流动相 B)。用第  $0 \text{ min}$  初始流动相将帕曲妥单抗-艾日布林偶联物稀释  $1$  倍作为供试品溶液, 根据帕曲妥单抗-艾日布林偶联物浓度调整进样体积进样  $50 \mu\text{g}$  蛋白, 在  $280 \text{ nm}$  波长处检测吸光度值。

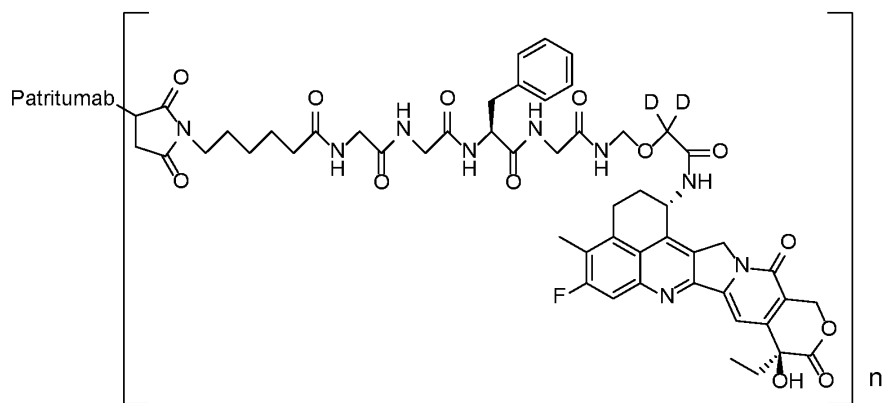
数据处理, 采用面积归一化法对结果进行定量分析。分别计算含有  $0$ 、 $1$ 、 $2$ 、 $3$ 、 $4$ 、 $5$ 、 $6$ 、 $7$  和  $8$  个细胞毒药物的 ADC 的峰面积百分比, 并计算 DAR 值结果。计算公式为:  $\text{DAR 值} = (\text{含有 } 0 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 0 + \text{含有 } 1 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 1 + \text{含有 } 2 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 2 + \text{含有 } 3 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 3 + \text{含有 } 4 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 4 + \text{含有 } 5 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 5 + \text{含有 } 6 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 6 + \text{含有 } 7 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 7 + \text{含有 } 8 \text{ 个细胞毒药物的 ADC 峰面积百分比} \times 8) / 100\%$ 。

通过实施例 4 和实施例 5 的方法制备并测定帕曲妥单抗-艾日布林偶联物, 其具有如下结构:



其中, 帕曲妥单抗-艾日布林-D2, 其测得的 DAR 值为  $2.6$ ; 帕曲妥单抗-艾日布林-D4, 其测得的 DAR 值为  $4-4.2$ ; 帕曲妥单抗-艾日布林-D8, 其测得的 DAR 值为  $7.6$ 。

通过实施例 4 和实施例 5 的方法制备并测定帕曲妥单抗-DDDXd-D8, 其具有如下结构:



其测得的 DAR 值为  $7.9$ 。

### 实施例 6 抗体药物偶联物的聚集体验证

采用凝胶色谱柱对上述实施例 4 制备的帕曲妥单抗-药物偶联物各组分进行分离。利用添加  $10\%$  异丙醇的中性  $\text{pH}$  缓冲液作为流动相进行洗脱, 各组分按照分子量由大到小的顺序依次被洗出。色谱柱为

ACQUITY UPLC Protein BEH SEC Column 200Å、1.7 μm、4.6 × 300 mm 规格的凝胶色谱柱，柱温 25℃。流动相为 50 mM 磷酸盐缓冲液-200 mM 氯化钠-10%异丙醇，pH 7.0（称取十二水合磷酸氢二钠 12.53 g、二水合磷酸二氢钠 2.33 g、氯化钠 11.69 g，加入约 800mL 超纯水，搅拌至充分溶解，加超纯水至 1000mL 备用，取异丙醇 100 mL 加上述溶液至 1000 mL，混匀后经 0.22 μm 滤膜过滤）。精密取 20 μg 帕曲妥单抗-药物偶联物注入液相色谱仪，在 280 nm 波长处检测。流速为 0.3 mL/min，等度洗脱 15 min。

数据处理，采用面积归一化法对结果进行定量分析。分别计算聚集体、免疫球蛋白单体和低分子量杂质的峰面积百分比，其中主峰前为聚集体，主峰为免疫球蛋白单体，主峰后为低分子量杂质。帕曲妥单抗-药物偶联物的单体、聚集体及低分子量杂质含量比例见表 2。

表 2 帕曲妥单抗-药物偶联物的单体、聚集体及低分子量杂质含量

| 名称    | 帕曲妥单抗-艾日布林-D2 | 帕曲妥单抗-艾日布林-D4 | 帕曲妥单抗-艾日布林-D8 | 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 |
|-------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| 聚集体   | 0.29%         | 0.52%         | 0%            | 0.95%          |
| 单体    | 98.36%        | 97.85%        | 97.44%        | 97.55%         |
| 低分子片段 | 1.35%         | 1.62%         | 2.56%         | 1.5%           |

实施例 7 抗体药物偶联物的细胞结合活性

基于 FACS 的方法，以帕曲妥单抗-DDDXd-D8 和帕曲妥单抗作为对照，分析上述实施例 4 制备的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物与不同 HER3 表达水平细胞的结合活性，包括 HER3 高表达水平的 MCF-7、HCC1569、BT474 细胞，HER3 中表达水平的 MDA-MB-468、JIMT-1 细胞，HER3 低表达水平的 SW620 细胞以及 HER3 阴性的 A549 细胞。

将 1 × 10<sup>5</sup> 个细胞加入到 96 孔细胞培养板的各孔中，帕曲妥单抗-艾日布林偶联物以 135.14 nM 起始浓度，4 倍稀释、9 个浓度梯度，稀释于 FACS buffer（Miltenyi Biotec，货号：130-091-221）中，于 4℃孵育 60 min 后，1000rpm 离心 5 min，弃上清，用预冷 PBS（pH 7.4）洗涤 3 次，加入按照 1:200（v/v）稀释的羊抗人 IgG Fcγ-PE 二抗（Jackson immunoresearch，货号：109-116-170），100 μL/孔，4℃孵育 30 min。用预冷 PBS（pH 7.4）洗涤 3 次，用 100 μL PBS（pH 7.4）重悬，然后使用流式细胞仪（Sartorius，iQUE）分析检测荧光信号。通过染色的平均荧光强度（MFI）来测量帕曲妥单抗-艾日布林偶联物和对照与上述各细胞的结合活性。使用 GraphPad Prism5 分析数据，结果如图 1A-1G 所示，计算的 EC<sub>50</sub> 在下表 3 中示出。结果表明，各 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物与 HER3 高、中、低表达水平细胞的结合活性均与帕曲妥单抗的相当，与 HER3 阴性的 A549 细胞无结合。

表 3 帕曲妥单抗-艾日布林偶联物与不同 HER3 表达水平细胞的结合活性

|                | EC <sub>50</sub> (nM) |       |         |            |        |       |
|----------------|-----------------------|-------|---------|------------|--------|-------|
|                | MCF-7                 | BT474 | HCC1569 | MDA-MB-468 | JIMT-1 | SW620 |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D2  | 0.8554                | 3.049 | 1.416   | 1.564      | 1.588  | 1.888 |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D4  | 0.9318                | 2.776 | 1.486   | 1.671      | 1.04   | 1.28  |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D8  | 1.019                 | 2.854 | 1.487   | 3.307      | 1.729  | 1.744 |
| 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 | 0.7703                | 2.68  | 1.164   | 1.7        | 1.304  | 1.37  |
| 帕曲妥单抗          | 0.807                 | 3.017 | *       | 1.299      | 1.515  | 1.465 |

\*：未检测。

实施例 8 抗体药物偶联物的内吞实验

基于 FACS 的方法，以帕曲妥单抗-DDDXd-D8 和帕曲妥单抗作为对照，分析上述实施例 4 制备的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物在不同 HER3 表达水平细胞中的内吞情况，包括 HER3 高表达水平的 MCF-7、BT474 细胞，HER3 中表达水平的 NCI-N87 细胞以及 HER3 低表达水平的 SW620 细胞。

调整细胞密度为 1 × 10<sup>6</sup> 个/mL，50 μL/孔加入 96 孔细胞培养板。样品准备：将帕曲妥单抗-艾日布林偶联物预稀释至浓度为 20 μg/mL，标记为 S1，其后按 3 倍浓度梯度稀释，获得 9 个样品 S1-S9；把梯度稀释的样品溶液加到细胞培养板中，每孔加 50 μL，4℃孵育 30 min。孵育结束后取出 96 孔细胞培养板，置于 4℃，400 g 离心 4 min，弃上清。按照 1:200（v/v）稀释 pHrodo™ Green Malcimide（绿色马来酰亚胺；

Invitrogen, 货号: P35370) 标记的 AffiniPure Goat Anti-Human IgG, Fc $\gamma$  fragment specific (羊抗人 IgG, Fc 片段特异性抗体; Jackson Immuno; 货号: 109-005-190), 每孔加 50  $\mu$ L 后于 4 $^{\circ}$ C 孵育。30 min 后洗涤, 每孔加入 50  $\mu$ L 细胞培养基, 混匀后置于 37 $^{\circ}$ C 内化 2 h, 置于流式细胞仪 (Sartorius, iQUE), 测定 BL1 通道的荧光读值。使用 GraphPad Prism5 分析数据, 结果如图 2A-2D 所示, 计算的 EC<sub>50</sub> 在下表 4 中示出。结果表明, 各 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物在 HER3 高、中表达水平细胞中表现出明显的内吞作用, 在低表达水平的 SW620 细胞中内吞作用较弱。

表 4 帕曲妥单抗-艾日布林偶联物在不同 HER3 表达水平细胞中的内吞作用

|                | EC <sub>50</sub> (nM) |        |           |
|----------------|-----------------------|--------|-----------|
|                | MCF-7                 | BT474  | NCI-N87   |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D2  | 0.5801                | 1.07   | 4.495     |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D4  | 0.7968                | 0.9615 | 4.721     |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D8  | 1.255                 | 0.9306 | 9.463     |
| 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 | 0.869                 | 0.8587 | 56.82     |
| 帕曲妥单抗          | 0.5088                | 0.8208 | ~4.479E18 |

实施例 9 抗体药物偶联物的细胞杀伤活性

为检测上述实施例 4 制备的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物对肿瘤细胞的增殖抑制作用, 以帕曲妥单抗-DDDXd-D8 作为对照, 分别用不同 HER3 表达水平的细胞进行杀伤活性检测, 包括 HER3 高表达水平的 BT474、MCF-7、HCC1569 细胞, HER3 中表达水平的 SKBR3、NCI-N87、JIMT-1、MDA-MB-468 细胞, 以及 HER3 低表达水平的 SW620、WiDr 细胞。

取对数生长期的细胞加入 96 孔板, 100  $\mu$ L/孔, 细胞密度为 1 $\times$ 10<sup>4</sup> 个/mL 或 2 $\times$ 10<sup>4</sup> 个/mL。37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 贴壁过夜培养。样品准备: 将帕曲妥单抗-艾日布林偶联物用含 10% FBS 的基础培养基配制成分待测样品 (5  $\mu$ g/mL 起始, 5 倍梯度稀释、九个梯度)。取出过夜贴壁培养的细胞, 实验组加入 50  $\mu$ L/孔稀释好的待测样品, 对照组加入 50  $\mu$ L/孔含 10%FBS 的基础培养基, 继续培养 96 h、120 h 或 144 h 后采用 CellTiter-Glo Luminescent Cell 试剂盒 (Promega, 货号: G7572) 检测, 取出 96 孔板, 在每孔中加入 75  $\mu$ L CTG 检测液 (Promega, 货号: G7572), 震荡混匀, 室温避光孵育 10 min 后每孔各吸取 180  $\mu$ L 转移至不透明白板, 去除气泡, 读取化学发光值, 并计算杀伤率。

杀伤率 (%) = (1-实验组发光值/对照组发光值)  $\times$  100%。

用 Graphpad Prism5 分析处理数据, 结果如图 3A-3I 所示, 计算的 EC<sub>50</sub> 在下表 5-1 和 5-2 中示出。结果表明, 对于 HER3 高、中、低表达水平细胞, DAR 值越大, 帕曲妥单抗-艾日布林偶联物的杀伤活性越强, 且各 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物的杀伤活性均优于帕曲妥单抗-DDDXd-D8。

表 5-1 帕曲妥单抗-艾日布林偶联物对 HER3 高表达水平细胞的杀伤活性

|                | EC <sub>50</sub> (nM) |           |           |
|----------------|-----------------------|-----------|-----------|
|                | BT474                 | MCF-7     | HCC1569   |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D2  | 9.345E-02             | 1.173     | 3.600     |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D4  | 3.982E-02             | 9.942E-02 | 7.780E-01 |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D8  | 1.807E-02             | 3.613E-02 | 2.457E-01 |
| 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 | 1.045E+01             | /         | 1.829E+01 |

表 5-2 帕曲妥单抗-艾日布林偶联物对 HER3 中表达水平细胞的杀伤活性

|                | EC <sub>50</sub> (nM) |           |           |            |
|----------------|-----------------------|-----------|-----------|------------|
|                | SKBR3                 | NCI-N87   | JIMT-1    | MDA-MB-468 |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D2  | 1.937E-01             | /         | 1.047E+01 | 1.209E+01  |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D4  | 4.299E-02             | 1.386E+01 | 3.266E+00 | 1.413E+00  |
| 帕曲妥单抗-艾日布林-D8  | 2.319E-02             | 6.905E-01 | 9.462E-01 | 3.206E-01  |
| 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 | 5.785E+01             | 3.709E-01 | /         | /          |

**实施例 10 抗体药物偶联物在 JIMT-1 人乳腺癌细胞裸小鼠皮下移植瘤模型中的药效学评价**

通过曲妥单抗耐药细胞株 JIMT-1 人乳腺癌细胞裸小鼠皮下移植瘤模型评价上述实施例 4 制备的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物的体内药效。

在 SPF 级雌性裸小鼠（来源：常州卡文斯实验动物有限公司）右侧腋窝皮下接种 JIMT-1 细胞， $2 \times 10^6$  个/只。待肿瘤平均体积达  $100\text{-}300\text{mm}^3$  时，将动物分成 5 组，每组 6 只，具体分组和给药方案在表 6 中示出。

表 6 分组和给药方案

| 组别 | 药物             | 剂量 (mg/kg) | 给药途径  | 给药频次 |
|----|----------------|------------|-------|------|
| 1  | 溶媒对照           | N/A        | 尾静脉注射 | Q1W  |
| 2  | 帕曲妥单抗-DDDXd-D8 | 3          | 尾静脉注射 | Q1W  |
| 3  | 帕曲妥单抗-艾日布林-D2  | 3          | 尾静脉注射 | Q1W  |
| 4  | 帕曲妥单抗-艾日布林-D4  | 3          | 尾静脉注射 | Q1W  |
| 5  | 帕曲妥单抗-艾日布林-D8  | 3          | 尾静脉注射 | Q1W  |

Q1W：每周给药一次。

分组当天为 d0 天，分组后 d1 天尾静脉给药。每周测 2-3 次瘤体积，同时给小鼠称重，记录数据；每日观察与记录小鼠一般表现。实验结束后剥取肿瘤并称重、拍照。

检测指标包括：

肿瘤体积  $TV\text{ (mm}^3\text{)} = 1/2 \times (a \times b^2)$ ；其中，a 为长径，b 为短径。

相对肿瘤体积  $RTV = TV_i/TV_0$ ；其中， $TV_0$  为 d0 天肿瘤体积， $TV_i$  为每一次测量时的肿瘤体积。

相对肿瘤增殖率  $T/C\text{ (}\%\text{)} = T_{RTV}/C_{RTV} \times 100\%$ ；其中， $T_{RTV}$  为治疗组 RTV， $C_{RTV}$  为对照组 RTV。

肿瘤生长抑制率： $1-T/C$ 。

抑瘤率  $TGI\text{ (}\%\text{)} = (1-TW/TW_0) \times 100\%$ ；其中，TW 为治疗组瘤重， $TW_0$  为对照组瘤重。

体重变化率， $WCR\text{ (}\%\text{)} = (W_t - W_0)/W_0 \times 100\%$ ；其中， $W_0$  为 d0 天动物体重， $W_t$  为每一次测量时的动物体重。

各药物对肿瘤体积、瘤重、及小鼠体重的影响见图 4-6，检测指标结果在下表 7 中示出。到 d21 天实验结束，无动物死亡，各治疗组的小鼠体重增长与模型组相当，药物无明显毒性作用，安全性好。各 DAR 值的帕曲妥单抗-艾日布林偶联物均表现出较好的体内肿瘤增殖抑制活性，且均优于帕曲妥单抗-DDDXd-D8；帕曲妥单抗-艾日布林偶联物的 DAR 值越大，体内肿瘤增殖抑制活性越强。

表 7 帕曲妥单抗-艾日布林偶联物在 JIMT-1 人乳腺癌细胞裸小鼠移植瘤模型中的肿瘤抑制作用

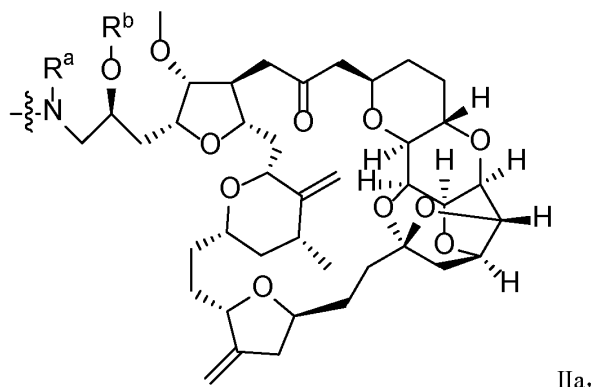
| 组别 | 肿瘤生长抑制率 $1-T/C$ | 抑瘤率 TGI |
|----|-----------------|---------|
| 2  | 24.4%           | 26.6%   |
| 3  | 36.6%           | 41.1%   |
| 4  | 65.9%           | 68.9%   |
| 5  | 82.9%           | 84.3%   |

根据本发明所公开的内容，虽然根据优选实施方案对本发明的方法进行了描述，但对本领域技术人员而言，在不背离本发明的概念、精神和范围的情况下，可对此所述的方法以及所述方法的步骤或步骤的顺序进行改变。

本文所引用的所有文献的公开内容通过引用结合于此，引用程度为，他们提供示例性的，程序上和其他的细节补充本文所述内容。

## 权利要求书

1. 一种具有通式 Ab-(L-U)<sub>n</sub> 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 表示抗体部分，L 表示接头部分，U 表示细胞毒药物部分，n 为选自 1 至 10 的整数或小数，其特征在于，所述抗体药物偶联物包含以下式 IIa 所示的结构：



其中，

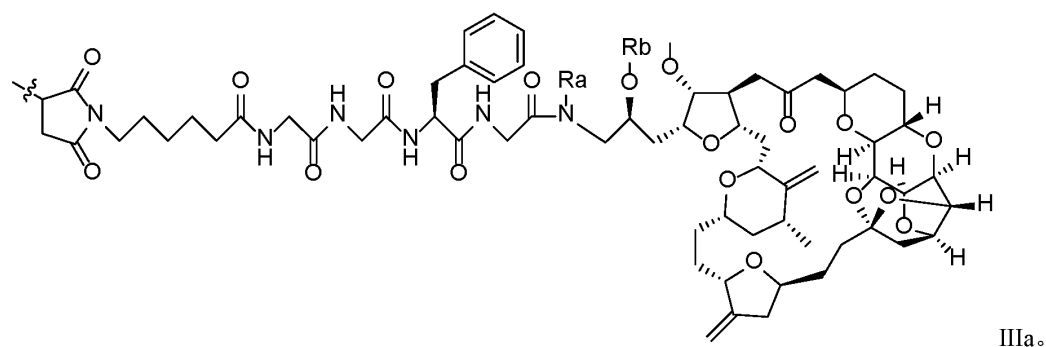
R<sup>a</sup> 选自氢原子、氘原子、任选被取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 环烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 杂环基、任选被取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选被取代的 C<sub>5-12</sub> 杂芳基；

R<sup>b</sup> 选自氢原子、氘原子、任选被取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 环烷基、任选被取代的 C<sub>3-7</sub> 杂环基、任选被取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选被取代的 C<sub>5-12</sub> 杂芳基；

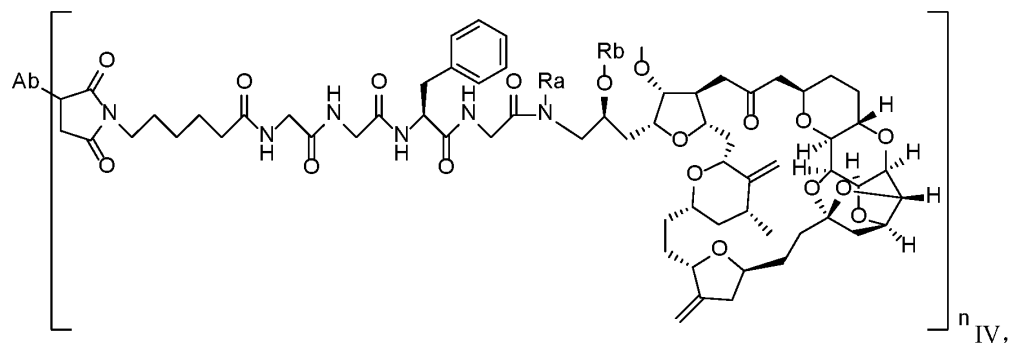
或者，

R<sup>a</sup> 与 R<sup>b</sup> 与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。

2. 根据权利要求 1 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中，所述抗体药物偶联物包含以下式 IIIa 所示的结构：



3. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中，所述抗体药物偶联物为以下式 IV 所示结构：

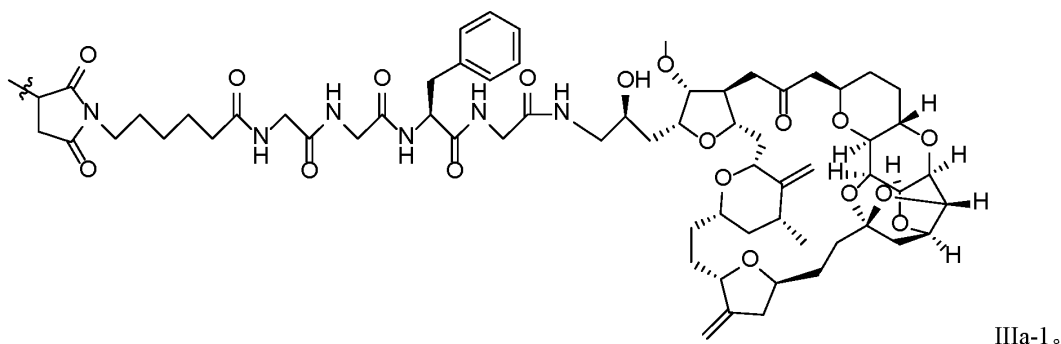


其中,

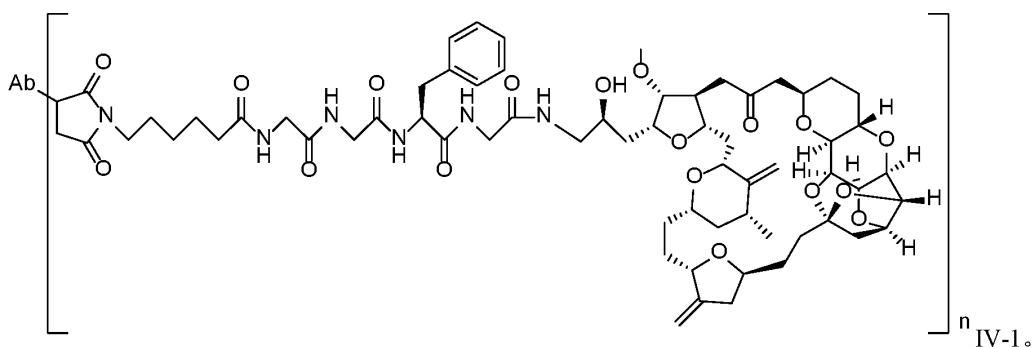
Ab 表示抗体部分,

n 为选自 1-10 的整数或小数。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中,  $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。
5. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物包含以下式 IIIa-1 所示的结构:

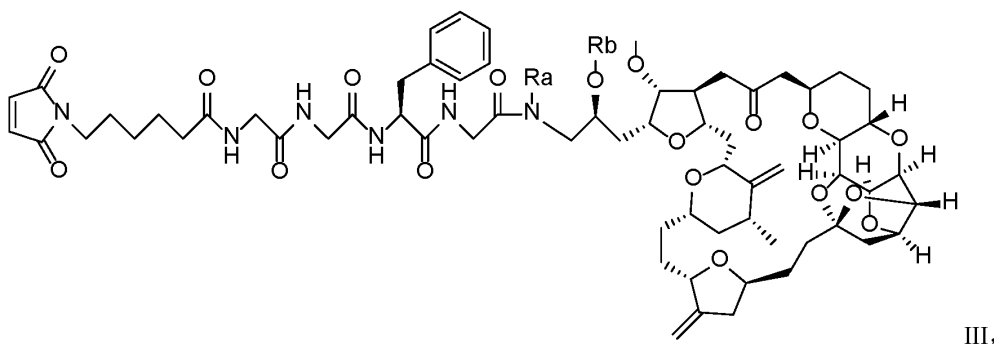


6. 根据权利要求 3 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物为以下式 IV-1 所示结构:



7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述 n 为 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。
8. 根据权利要求 7 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述 n 为约 2.6、约 4、约 4.2、约 4.8、约 7、约 7.1、约 7.5、约 7.6、约 7.9 或约 8。
9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述 Ab 为抗 HER3 抗体或其抗原结合片段。
10. 根据权利要求 9 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 HCDR1, 包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 HCDR2, 包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 HCDR3, 包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 LCDR1, 包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 LCDR2 和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 LCDR3。
11. 根据权利要求 10 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含与 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列; 或所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列。

12. 根据权利要求 10 或 11 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体或其抗原结合片段包含重链和轻链, 所述重链包含与 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列。
13. 根据权利要求 9 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗 HER3 抗体为帕曲妥单抗。
14. 根据权利要求 9-13 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物展现出下述性质中的一种或几种的组合:
  - (a) 结合 HER3;
  - (b) 阻断 HER3 与配体的结合;
  - (c) 在表达 HER3 的细胞中显示内吞作用;
  - (d) 对表达 HER3 的肿瘤细胞具有杀伤活性;
  - (e) 具有旁观者效应。
15. 一种药物组合物, 其包含权利要求 1-14 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物; 任选地, 所述药物组合物还包括可药用载体。
16. 权利要求 1-14 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者权利要求 15 所述的药物组合物在制备用于治疗癌症的药物中的用途; 优选地, 所述癌症为 HER3 阳性癌症; 优选地, 所述癌症为胆道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管结合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌、结直肠癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮肤癌、肺癌、多形胶质母细胞瘤、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃肠道间质瘤、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、肛门癌或阴茎癌。
17. 一种治疗癌症的方法, 其包括向有需要的患者施用治疗有效量的权利要求 1-14 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者权利要求 15 所述的药物组合物; 优选地, 所述癌症为 HER3 阳性癌症; 优选地, 所述癌症为胆道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管结合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌、结直肠癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮肤癌、肺癌、多形胶质母细胞瘤、胶质母细胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃肠道间质瘤、鳞状细胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外阴癌、甲状腺癌、睾丸癌、肛门癌或阴茎癌。
18. 根据权利要求 17 所述的方法, 所述方法包括使肿瘤细胞与所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述药物组合物接触, 从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。
19. 一种具有式 III 所示结构的接头-药物中间体化合物:



其中,

$R^a$  选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

$R^b$  选自氢原子、氘原子、任选被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  环烷基、任选被取代的  $C_{3-7}$  杂环基、任选被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任选被取代的  $C_{5-12}$  杂芳基;

或者  $R^a$  与  $R^b$  与其相连接的原子一起形成任选被取代的 5 至 8 元的杂环基。

20. 根据权利要求 19 所述的接头-药物中间体化合物，其特征在于， $R^a$  与  $R^b$  各自独立地选自氢原子、甲基、乙基、丙基或异丙基。