

一种含抗 TROP2 抗体药物偶联物的药物组合物及其用途

技术领域

本披露属于药物制剂领域，具体涉及一种包含抗 TROP2 抗体药物偶联物的药物组合物，以及其作为抗癌药物的用途。

背景技术

这里的陈述仅提供与本披露有关的背景信息，而不必然地构成现有技术。

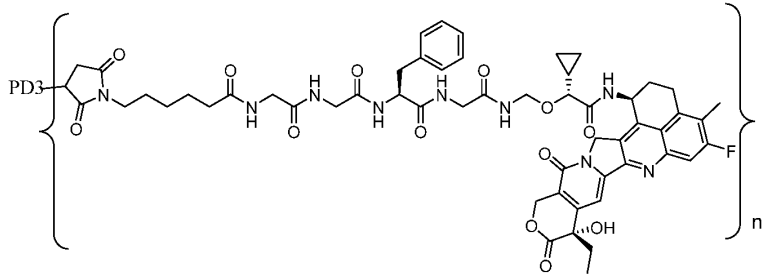
抗体药物偶联物 (antibody drug conjugate, ADC) 将单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的化学接头化合物与具有生物活性的细胞毒素相连，充分利用了抗体对肿瘤细胞表面抗原结合的特异性和细胞毒素的高效性，同时又避免了前者疗效偏低和后者毒副作用过大等缺陷。这也就意味着，与以往传统的化疗药物相比，抗体药物偶联物能精准地结合肿瘤细胞并降低对正常细胞的影响 (Mullard A, (2013) *Nature Reviews Drug Discovery*, 12:329–332; DiJoseph JF, Armellino DC, (2004) *Blood*, 103:1807-1814)。

用于抗体药物偶联物的具有细胞毒性的小分子有几类，其中有一类是喜树碱衍生物，它们通过抑制拓扑异构酶 I 而具有抗肿瘤作用。报道喜树碱衍生物依沙替康 (化学名: (1S, 9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-2, 3-二氢-9-羟基-4-甲基-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3', 4': 6,7]咪唑并[1, 2-b]喹啉-10, 13 (9H, 15H) -二酮) 应用于抗体药物偶联物 (ADC) 的文献有 WO2014057687; *Clinical Cancer Research* (2016) 22 (20): 5097-5108; *Cancer Sci* (2016) 107: 1039-1046。但仍需进一步开发疗效更好的 ADC 药物。

但是，ADC 具有比抗体更复杂的异质结构，因此，对于治疗目的 ADC 制剂提出了更大的挑战。

发明内容

本披露提供一种药物组合物，其包含抗体药物偶联物和缓冲剂，其中所述抗体药物偶联物具有如下所示的结构：



如上所述的抗体药物偶联物参照 PCT/CN2021/073279 的说明书中第 41 页中抗体偶联物实施例 3-1 ADC-1 制备；

其中：

PD3 为抗 TROP2 抗体，其来源参照 PCT/CN2021/073279 中第 41 页的抗体 PD3，包含如 SEQ ID NO: 1 所示的重链（PCT/CN2021/073279 中的 SEQ ID NO: 13）和如 SEQ ID NO: 2（PCT/CN2021/073279 中的 SEQ ID NO: 14）所示的轻链：

5 PD3 的重链氨基酸序列：

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWM
GWINTYTGEPYTYTQDFKGRFAFLDTSVSTAYLQISLKAEDTAVYYCARGGFGS
SYWYFDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSN
10 TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV
KGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

15 SEQ ID NO: 1;

PD3 的轻链氨基酸序列：

DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSI~~AW~~WYQQKPGKAPKLLIYSASYRY
TGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQ~~Q~~HYITPLTFGAGTKVEIKRTVA
APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
20 QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 2;

n 为 1 至 10，优选为 1 至 8，更优选为 3 至 5，最优选为约 4；

所述药物组合物的缓冲剂为组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂，pH 为约 5.0 至约 6.5，优选 pH 为约 5.5 至约 6.5，更优选 pH 为约 5.9 至约 6.2。

25 在可选的实施方案中，药物组合物中所述缓冲剂的 pH 值约为 5.0 至约 6.5，非限制性的实施例包括约 5.0、约 5.1、约 5.2、约 5.3、约 5.4、约 5.5、约 5.6、约 5.7、约 5.8、约 5.9、约 6.0、约 6.1、约 6.2、约 6.3、约 6.4、约 6.5，以及这些点值之间的任意范围；优选 pH 为约 5.5 至约 6.5，更优选 pH 为约 5.9 至约 6.2。

在可选的实施方案中，药物组合物中缓冲剂浓度为大约 5mM 至约 50 mM，非限制性的实施例包括 10 mM、12 mM、15 mM、16 mM、17 mM、18 mM、19 mM、
30 20 mM、30 mM、40 mM、50 mM 以及这些点值之间的任意范围，优选为大约 10 mM 至约 50 mM，更优选为大约 20 mM 至约 40 mM；最优选为约 30 mM。

在可选的实施方案中，药物组合物还包含表面活性剂。可选自聚山梨酯、聚山梨酯 20、聚山梨酯 80、聚羟亚烃、Triton、十二烷基磺酸钠、月桂基磺酸钠、
35 辛基糖甙钠、月桂基-磺基甜菜碱、肉豆蔻基-磺基甜菜碱、亚油基-磺基甜菜碱、硬脂基-磺基甜菜碱、月桂基-肌氨酸、肉豆蔻基-肌氨酸、亚油基-肌氨酸、硬脂基-肌氨酸、亚油基-甜菜碱、肉豆蔻基-甜菜碱、鲸蜡基-甜菜碱、月桂酰胺基丙基-甜菜碱、柯卡酰胺基丙基-甜菜碱、亚油酰胺基丙基-甜菜碱、肉豆蔻酰胺基丙基-甜

菜碱、棕榈酰胺基丙基-甜菜碱、异硬脂酰胺基丙基-甜菜碱、肉豆蔻酰胺基丙基-二甲基胺、棕榈酰胺基丙基-二甲基胺、异硬脂酰胺基丙基-二甲基胺、甲基可可酰基钠、甲基油基牛磺酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇和乙烯与丙烯二醇的共聚物等等。优选的表面活性剂是聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20，更优选为聚山梨酯 80。

5 在可选的实施方案中，药物组合物中表面活性剂的浓度为约 0.01 mg/mL 至约 1.0 mg/mL，优选为约 0.05 mg/mL 至约 0.5 mg/mL，更优选为约 0.1 mg/mL 至约 0.3 mg/mL 约或约 0.2 mg/mL 至约 0.6 mg/mL，最优选为约 0.2 mg/mL，非限制性的实施例包括约 0.02 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.15 mg/mL、0.2 mg/mL、0.25 mg/mL、0.3 mg/mL、0.35 mg/mL、0.4 mg/mL、0.45 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6
10 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL，以及这些点值之间的任意范围。

在可选的实施方案中，前述药物组合物还包含糖。本披露的“糖”包含常规组合物 $(CH_2O)_n$ 及其衍生物，包括单糖，二糖，三糖，多糖，糖醇，还原性糖，非还原性糖等等。所述的糖可选自葡萄糖，蔗糖，海藻糖，乳糖，果糖，麦芽糖，右旋糖苷，甘油，赤藻糖醇，丙三醇，阿拉伯糖醇，sylitol，山梨糖醇，甘露醇，
15 密里二糖，松三糖，蜜三糖，甘露三糖，水苏糖，麦芽糖，乳果糖，麦芽酮糖，山梨醇，麦芽糖醇，乳糖醇，异-麦芽酮糖等等。优选的糖是非还原性二糖，更优选自二水合海藻糖或蔗糖，最优选为蔗糖。

在可选的实施方案中，前述药物组合物中糖的浓度为约 25 mg/mL 至约 80 mg/mL，优选约 30 mg/mL 至约 50mg/mL，非限制性的实施例包括 25 mg/mL、30
20 mg/mL、35 mg/mL、40 mg/mL、45 mg/mL、50 mg/mL、55 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围，优选为 40 mg/mL。

在可选的实施方案中，前述药物组合物还包含氨基酸及其盐，所述氨基酸及其盐优选选自甘氨酸和精氨酸盐酸盐，更优选为甘氨酸。

在可选的实施方案中，前述药物组合物中所述甘氨酸浓度为约 6 mg/mL 至约
25 15mg/mL，为约 7mg/mL 至约 11mg/mL，优选为约 7mg/mL 至约 10mg/mL，更为约 7mg/mL 至约 9 mg/mL，为约 8 mg/mL 至约 9 mg/mL，非限制性的实施例包括约 6 mg/mL、6.5 mg/mL、7 mg/mL、7.2 mg/mL、7.6 mg/mL、7.8 mg/mL、8 mg/mL、8.5mg/mL、9 mg/mL、10 mg/mL、10.2 mg/mL、11 mg/mL、12 mg/mL、13 mg/mL、14 mg/mL、15 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围，最优选为约 9mg/mL。

30 在可选的实施方案中，药物组合物中所述抗体药物偶联物浓度为以蛋白浓度计，大约 1 mg/mL 至约 100 mg/mL，非限制性的实施例包括 1 mg/mL、10 mg/mL、11 mg/mL、12 mg/mL、13 mg/mL、14 mg/mL、15 mg/mL、16 mg/mL、17 mg/mL、18 mg/mL、19 mg/mL、20 mg/mL、21 mg/mL、22 mg/mL、23 mg/mL、24 mg/mL、25 mg/mL、26 mg/mL、27 mg/mL、28 mg/mL、29 mg/mL、30 mg/mL、40 mg/mL、
35 50 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL、90 mg/mL、100 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围，优选为大约 10 mg/mL 至约 30 mg/mL；更优选为约 18 mg/mL

至约 22 mg/mL, 最优选为约 20 mg/mL。具体的, 非限制性的实施例包括 20.1 mg/mL、20.2 mg/mL、20.3 mg/mL、20.4 mg/mL、20.5 mg/mL、20.6 mg/mL、20.7 mg/mL、20.8 mg/mL、20.81 mg/mL、20.82 mg/mL、20.83 mg/mL、20.84 mg/mL、20.85 mg/mL、20.86 mg/mL、20.87 mg/mL、20.88 mg/mL、20.89 mg/mL、20.9 mg/mL、
5 20.9 mg/mL、20.91 mg/mL、20.92 mg/mL、20.93 mg/mL、20.94 mg/mL、20.95 mg/mL、20.96 mg/mL、20.97 mg/mL、20.98 mg/mL、20.99 mg/mL、21 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围。所述的以蛋白浓度计, 是指以抗体药物偶联物中的抗体部分的浓度计。

在可选的实施方案中, 药物载量 (n) 的范围可以是每个抗 Trop2 抗体结合细胞毒性药物的平均数, 非限制性的实施例包括每个抗体结合细胞毒性药物的平均
10 个数约为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 以及这些点值之间的任意范围。优选自 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4, 3-4, 3-5, 5-6, 5-7, 5-8 和 6-8 的范围。示例性的, 载药量可以为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 的均值。n 是小数或整数。

在可选的实施方案中, 药物载量 (n) 为约 4。

15 在可选的实施方案中, 所述药物组合物包含:

(a) 以蛋白浓度计, 约 10 mg/mL 至约 30 mg/mL 的所述抗体药物偶联物, (b) 约 0.1 mg/mL 至约 0.3 mg/mL 的聚山梨酯, (c) 约 30mg/mL 至约 50 mg/mL 的糖, (d) 约 7mg/mL-11mg/mL 甘氨酸和(e) 约 20 mM 至约 40 mM 的组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂; 所述组合物的 pH 为约 5.5-6.5;

20 优选地, 所述药物组合物包含如下组分:

(a) 以蛋白浓度计, 约 18 mg/mL 至约 22 mg/mL 的所述抗体药物偶联物, (b) 约 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80, (c) 约 40 mg/mL 的蔗糖, (d) 约 9mg/mL 甘氨酸和 (e) 约 30 mM 组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂, 所述组合物的 pH 为约 5.9-6.2;

更优选地, 所述药物组合物包含如下组分:

25 (a) 以蛋白浓度计, 约 20 mg/mL 的所述抗体药物偶联物, (b) 约 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80, (c) 约 40 mg/mL 的蔗糖, (d) 约 9mg/mL 甘氨酸和 (e) 约 30 mM 组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂, 所述组合物的 pH 为约 6.0。

在可选的实施方案中, 前述任一项的药物组合物是液体制剂。本发明的液体制剂或者复溶后的制剂, 具有较好的稳定性, 在冷藏温度(4℃)保存至少 3 个月。

30 另外, 稳定的液体制剂包括这样的液体制剂: 其在包括 25℃的温度保存包括 1 个月、2 个月、3 个月在内的时段后表现出期望的特征。进一步的, 稳定的液体制剂包括这样的液体制剂: 其在包括 40℃的温度保存 1 个月后表现出期望的特征。

本披露还提供一种含抗体药物偶联物的冻干制剂, 其特征在于所述制剂复溶后可形成如上所述的药物组合物。

35 本披露还提供一种制备含抗体药物偶联物的冻干制剂的方法, 其中包括将如上所述的药物组合物经冷冻干燥的步骤。

在可选的实施方案中，制备包含抗体药物偶联物的冻干制剂的方法中所述冷冻干燥依次包括预冻、一次干燥和二次干燥的步骤。通过冷冻制剂和随后在适于一次干燥的温度使水升华，进行冷冻干燥。在此条件下，产物温度低于制剂的低共熔点或坍塌温度。通常，一次干燥的温度范围为约-30至25℃（假设产物在一次干燥过程中保持冷冻）。制剂、容纳样品的容器（例如，玻璃小瓶）的大小和类型以及液体的体积决定了干燥所需的时间，所述时间的范围可为几小时至几天（例如40-60小时）。二次干燥阶段可在约0-40℃进行，这主要取决于容器的类型和大小以及采用的蛋白的类型。二次干燥时间由产物中的期望残余水分水平决定，通常需要至少约5小时。通常，低压冻干的制剂的含水量小于约5%，优选小于约3%。

10 压力可与在一次干燥步骤中应用的压力相同，优选的，二次干燥的压力低于一次干燥。冷冻干燥条件可以随制剂和小瓶大小而变化。

在本披露的一个可选实施例中，将4.4mL的组合物原液进行冻干，冻干程序如下所示：预冻温度依次为5℃和-45℃，一次干燥的温度为-20℃，真空度为10Pa，二次干燥的温度为25℃，真空度依次为10Pa和1Pa。

15 在一些实施方案中，冻干制剂于2-8℃稳定至少16天，至少1个月，至少3个月，至少6个月，至少12个月，至少18个月或至少24个月。在一些实施方案中，该冻干制剂于40℃稳定至少7天，至少14天，至少28天或至少30天。

本披露还提供一种包含抗体药物偶联物的冻干制剂，所述冻干制剂通过将如上所述的抗体药物偶联物的药物组合物经冷冻干燥获得。

20 本披露还提供一种含抗体药物偶联物的复溶溶液，其特征在于所述复溶溶液是通过将如上所述的冻干制剂经复溶制备获得。

本披露还提供制备上述复溶溶液的方法，其中包括将前述冻干制剂经复溶的步骤，其复溶所用溶液选自但不限于注射用水、生理盐水或葡萄糖溶液。

在可选的实施方案中，所述的复溶溶液包含如下组分：

25 (a) 约10 mg/mL至约30 mg/mL的所述抗体药物偶联物，(b) 约0.1 mg/mL至约0.3 mg/mL的聚山梨酯，(c) 约25 mg/mL至约80 mg/mL的蔗糖，(d) 约7mg/mL-11mg/mL甘氨酸和(e) 约10mM至约40 mM的组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂；所述组合物的pH为约5.5-6.5；

优选地，所述药物组合物包含如下组分：

30 (a) 约18 mg/mL至约22 mg/mL的所述抗体药物偶联物，(b) 约0.2 mg/mL的聚山梨酯80，(c) 约40 mg/mL的蔗糖，(d) 约9mg/mL甘氨酸和(e) 约30 mM组氨酸-盐酸组氨酸，所述组合物的pH为约5.9-6.2；

更优选地，所述药物组合物包含如下组分：

(a) 约20 mg/mL的所述抗体药物偶联物，(b) 约0.2 mg/mL的聚山梨酯80，
35 (c) 约40 mg/mL的蔗糖，(d) 约9mg/mL甘氨酸和(e) 约30 mM组氨酸-盐酸组氨酸，所述组合物的pH为约6.0。

本披露还提供一种制品，其包括容器，该容器中装有如上所述的药物组合物、冻干制剂或复溶溶液。在一些实施方案中，该容器为中性硼硅玻璃管制注射剂瓶。

本披露还提供前述的药物组合物或冻干制剂或复溶溶液或制品在制备治疗或预防肿瘤的药物中的应用。

5 本披露还提供治疗疾病的方法，包括提供前述的药物组合物或冻干制剂或复溶溶液或制品。

本披露还提供作为药物的前述的药物组合物，或冻干制剂，或复溶溶液，或制品，用于治疗疾病的用途。

10 本披露还提供作为药物的前述的药物组合物，或冻干制剂，或复溶溶液，或制品，优选的，所述药物用于治疗或预防肿瘤疾病。

在可选的实施方案中，所述的疾病或肿瘤为与 TROP2 介导的疾病或病症。

本披露还提供作为药物的前述的药物组合物，或冻干制剂，或复溶溶液，或制品，在制备治疗和/或预防肿瘤和癌症的药物中的用途，其中所述肿瘤和癌症优选头和颈鳞状细胞癌、头和颈癌、脑癌、神经胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、咽喉癌、咽鳞癌、口腔鳞癌、鼻咽癌、食管癌、甲状腺癌、恶性胸膜间皮瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、肝胆癌、胰腺癌、胃癌、胃肠道癌、肠癌、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、透明细胞肾细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、皮肤癌、黑色素瘤、白血病、淋巴瘤、骨癌、软骨肉瘤、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、骨髓异常增生综合征、库肯勃氏瘤、骨髓增生性肿瘤、鳞状细胞癌、尤因氏肉瘤、尿路上皮癌和梅克尔细胞癌；更优选的，所述淋巴瘤选自：何杰金淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、弥漫性大 B-细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、原发性纵隔大 B-细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、富含 T-细胞/组织细胞的大 B-细胞淋巴瘤和淋巴浆细胞性淋巴瘤；所述肺癌选自：非小细胞肺癌和小细胞肺癌；所述白血病选自：慢性髓细胞样白血病、急性髓细胞样白血病、淋巴细胞白血病、成淋巴细胞性白血病、急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病和髓样细胞白血病。

15
20
25

如本领域技术人员所熟知的，本披露中所述各个实施方案的一项、一些或所有特性可以进一步组合以形成本披露的其它实施方案。本披露的以上实施方案和通过组合得到的其他实施方案通过下面的详述进一步说明。

30 发明详述

本披露提供一种更利于生产和给药，性能稳定的药物组合物。其中，不期望的不稳定性可包括下列任何一项或多项：聚集、脱酰胺化（例如 Asn 脱酰胺化）、氧化（例如 Met 氧化）、异构化（例如 Asp 异构化）、剪裁（clipping）/水解/片段化（例如铰链区片段化）、琥珀酰亚胺形成、不成对的半胱氨酸、毒素的解离等。

35 具体地，本披露所述的药物组合物包含抗体药物偶联物和缓冲剂。

术语

为了更容易理解本披露，以下具体定义了某些技术和科学术语。除非在本文中另有明确定义，本文使用的所有其它技术和科学术语都具有本披露所属领域的一般技术人员通常理解的含义。

本披露将申请 WO2020063673 中的全部内容引入本申请。

5 “抗体药物偶联物 (antibody drug conjugate, ADC) 是把抗体通过连接单元与具有生物活性的细胞毒素或具有细胞杀伤活性的小分子药物相连。

“载药量”也称药物抗体比例 (Drug-to-Antibody Ratio, DAR)，即 ADC 中每个抗体所偶联的药物的平均数量。其可在例如每个抗体偶联约 1 至约 10 个药物的范围内，并且在某些实施例，在每个抗体偶联约 1 至约 8 个药物的范围内，优选自 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4, 3-4, 3-5, 5-6, 5-7, 5-8 和 6-8 的范围。示例性的，载药量可以为 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 的均值。本披露的 ADC 通式包括与前述一定范围内的药物偶联的抗体的集合。在本披露的实施方式中，载药量可表示为 n。可用常规方法如 UV/可见光光谱法，质谱，ELISA 试验和 HPLC 测定载药量。

15 术语“接头单元”或“连接片段”或“连接单元”是指一端与抗体或其抗原结合片段连接而另一端与药物相连的化学结构片段或键，也可以连接其他接头后再与药物相连。

接头，包括延伸物、间隔物和氨基酸单元，可以通过本领域已知方法合成，诸如 US2005-0238649A1 中所记载的。接头可以是便于在细胞中释放药物的“可切割接头”。例如，可使用酸不稳定接头（例如脲）、蛋白酶敏感（例如肽酶敏感）接头、光不稳定接头、二甲基接头、或含二硫化物接头 (Chari 等, Cancer Research 52: 127-131(1992); 美国专利 No.5,208,020)。

可以用以下非限制性方法控制细胞毒性药物的载量，包括：

- 25 (1) 控制连接试剂和单抗的摩尔比，
(2) 控制反应时间和温度，
(3) 选择不同的反应试剂。

本披露所用氨基酸三字母代码和单字母代码如 J. biol. chem, 243, p3558 (1968) 中所述。

30 本披露所述的“抗体”以最广义使用，并且涵盖各种抗体结构，包括但不限于全长抗体和抗体片段（或抗原结合片段，或抗原结合部分），只要它们展现出期望的抗原结合活性。通常，天然的完整抗体由两条相同的重链和两条相同的轻链通过链间二硫键连接而成的四肽链结构。

本披露工程化的抗体或抗原结合片段可用常规方法制备和纯化。比如，编码重链和轻链的 cDNA 序列，可以克隆并重组至 GS 表达载体。重组的免疫球蛋白表达载体可以稳定地转染 CHO 细胞。作为一种更推荐的现有技术，哺乳动物类表达系统会导致抗体的糖基化，特别是在 Fc 区的高度保守 N 端位点。阳性的克隆在生

物反应器的无血清培养基中扩大培养以生产抗体。分泌了抗体的培养液可以用常规技术纯化。比如，用含调整过的缓冲液的 A 或 G Sepharose FF 柱进行纯化。洗去非特异性结合的组分。再用 pH 梯度法洗脱结合的抗体，用 SDS-PAGE 检测抗体片段，收集。抗体可用常规方法进行过滤浓缩。可溶的混合物和多聚体，也可以用常规方法去除，比如分子筛、离子交换。得到的产物需立即冷冻，如-70℃，或者冻干。

“缓冲剂”指通过其酸-碱共轭组分的作用而耐受 pH 变化的缓冲剂。将 pH 控制在适当范围中的缓冲剂的例子包括醋酸盐、琥珀酸盐、葡萄糖酸盐、组氨酸、草酸盐、乳酸盐、磷酸盐、枸橼酸盐、酒石酸盐、延胡索酸盐、甘氨酸和甘氨酸和其它有机酸缓冲剂。

“组氨酸缓冲剂”是包含组氨酸的缓冲剂。组氨酸缓冲剂的实例包括组氨酸-盐酸组氨酸，组氨酸-醋酸组氨酸，组氨酸-磷酸组氨酸，组氨酸-硫酸组氨酸等缓冲剂，优选组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂。组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂可由组氨酸与盐酸配制而成，或者由组氨酸与盐酸组氨酸配制而成。

“枸橼酸盐缓冲剂”是包括枸橼酸根离子的缓冲剂。枸橼酸盐缓冲剂的实例包括枸橼酸-枸橼酸钠、枸橼酸-枸橼酸钾、枸橼酸-枸橼酸钙、枸橼酸-枸橼酸镁等。优选的枸橼酸盐缓冲剂是枸橼酸-枸橼酸钠。

“琥珀酸盐缓冲剂”是包括琥珀酸根离子的缓冲剂。琥珀酸盐缓冲剂的实例包括琥珀酸-琥珀酸钠盐、琥珀酸-琥珀酸钾、琥珀酸-琥珀酸钙盐等。优选的琥珀酸盐缓冲剂是琥珀酸-琥珀酸钠盐。示例性的，所述的琥珀酸-琥珀酸钠可由琥珀酸与氢氧化钠配制而成，或由琥珀酸与琥珀酸钠盐配制而成。

“磷酸盐缓冲剂”是包括磷酸根离子的缓冲剂。磷酸盐缓冲剂的实例包括磷酸氢二钠-磷酸二氢钠、磷酸氢二钠-磷酸二氢钾、磷酸氢二钠-枸橼酸等。优选的磷酸盐缓冲剂是磷酸氢二钠-磷酸二氢钠。

“醋酸盐缓冲剂”是包括醋酸根离子的缓冲剂。醋酸盐缓冲剂的实例包括醋酸-醋酸钠、组氨酸-醋酸组氨酸、醋酸-醋酸钾、醋酸-醋酸钙、醋酸-醋酸镁等。优选的醋酸盐缓冲剂是醋酸-醋酸钠。

“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述抗体药物偶联物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，所述其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是保持抗体活性成分的稳定性，促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。

本披露中，“药物组合物”和“制剂”并不互相排斥。

本披露中所述药物组合物的溶液形式，若无特殊说明，其中的溶剂均为水。

“冻干制剂”表示液体或溶液形式的药物组合物或液体或溶液制剂经真空冷冻干燥步骤之后获得的制剂或药物组合物。

本文所用术语“约”、“大约”是指数值在由本领域一般技术人员所测定的

具体值的可接受误差范围内，所述数值部分取决于怎样测量或测定(即测量体系的限度)。例如，在本领域每一次实行中“约”可意味着在 1 内或超过 1 的标准差。或者，“约”或“基本上包含”可意味着至多 20%的范围。此外，特别对于生物学系统或过程而言，该术语可意味着至多一个数量级或数值的至多 5 倍。除非另外说明，否则当具体值在本申请和权利要求中出现时，“约”或“基本上包含”的含义应该假定为在该具体值的可接受误差范围内。

本披露所述的药物组合能够达一种稳定的效果：其中的抗体药物偶联物在贮藏后基本上保留其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物学活性的药物组合物，优选地，药物组合物在贮藏后基本上保留其物理和化学稳定性以及其生物学活性。贮藏期一般基于药物组合物的预定保存期来选择。目前有多种测量蛋白质稳定性的分析技术，可测量在选定温度贮藏选定时间段后的稳定性。

稳定的制剂是在下述情况下没有观察到显著变化的制剂：在冷藏温度(2-8℃)保存至少 3 个月、优选 6 个月、更优选 1 年。另外，稳定的液体制剂包括这样的液体制剂：其在包括 25℃的温度保存包括 1 个月、2 个月、3 个月在内的时段后表现出期望的特征。进一步的，稳定的液体制剂包括这样的液体制剂：其在包括 40℃的温度保存包括 10 天、20 天、1 个月在内的时段后表现出期望的特征。稳定性的典型的例子：通过 SEC-HPLC 测得，通常不超过约 10%、优选不超过约 5%的抗体单体发生聚集或降解。通过视觉分析，制剂是淡黄色近无色澄明液体或者无色，或澄清至稍微乳白色。所述制剂的浓度、pH 和重量克分子渗透压浓度具有不超过 ±10%变化。通常观察到不超过约 10%、优选不超过约 5%的减少。通常形成不超过约 10%、优选不超过约 5%的聚集。

如果在目检颜色和/或澄清度后，或者通过 UV 光散射、尺寸排阻色谱法(SEC)和动态光散射(DLS)测得，抗体药物偶联物没有显示出显著的聚集增加、沉淀和/或变性，那么所述抗体药物偶联物在药物制剂中“保留它的物理稳定性”。蛋白构象的变化可以通过荧光光谱法(其确定蛋白三级结构)和通过 FTIR 光谱法(其确定蛋白二级结构)来评价。

如果抗体药物偶联物没有显示出显著的化学改变，那么所述抗体在药物制剂中“保留它的化学稳定性”。通过检测和定量化学上改变的形式蛋白，可以评估化学稳定性。经常改变蛋白化学结构的降解过程包括水解或截短(通过诸如尺寸排阻色谱法和 CE-SDS 等方法来评价)、氧化(通过诸如与质谱法或 MALDI/TOF/MS 结合的肽谱法等方法来评价)、脱酰胺作用(通过诸如离子交换色谱法、毛细管等电聚焦、肽谱法、异天冬氨酸测量等方法来评价)和异构化(通过测量异天冬氨酸含量、肽谱法等来评价)。

如果抗体药物偶联物在给定时间的生物活性是在制备药物制剂时表现出的生物活性的预定范围内，那么所述抗体药物偶联物在药物制剂中“保留它的生物活性”。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述地事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生的场合。例如，“任选包含 1-3 个抗体重链可变区”意味着特定序列的抗体重链可变区可以但不必须存在。

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定（通过实验或理论）可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和（如烯属）键的碳原子结合时可能是不稳定的。

常规的药物组合物的制备见中国药典。

术语“载体”用于本披露的药物，是指能改变药物进入人体的方式和在体内的分布、控制药物的释放速度并将药物输送到靶向器官的体系。药物载体释放和靶向系统能够减少药物降解及损失，降低副作用，提高生物利用度。如可作为载体的高分子表面活性剂由于其独特的两亲性结构，可以进行自组装，形成各种形式的聚集体，优选的实例如胶束、微乳液、凝胶、液晶、囊泡等。这些聚集体具有包载药物分子的能力，同时又对膜有良好的渗透性，可以作为优良的药物载体。

“给予”和“处理”当应用于动物、人、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流体时，是指外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物与动物、人、受试者、细胞、组织、器官或生物流体的接触。“给予”和“处理”可以指例如治疗、药物代谢动力学、诊断、研究和实验方法。细胞的处理包括试剂与细胞的接触，以及试剂与流体的接触，其中所述流体与细胞接触。“给予”和“处理”还意指通过试剂、诊断、结合组合物或通过另一种细胞体外和离体处理例如细胞。“处理”当应用于人、兽医学或研究受试者时，是指治疗处理、预防或预防性措施，研究和诊断应用。

“治疗”意指给予患者内用或外用治疗剂，例如包含本披露的任一种结合化合物的组合物，所述患者具有一种或多种疾病症状，而已知所述治疗剂对这些症状具有治疗作用。通常，在受治疗患者或群体中以有效缓解一种或多种疾病症状的量给予治疗剂，以诱导这类症状退化或抑制这类症状发展到任何临床可测量的程度。有效缓解任何具体疾病症状的治疗剂的量（也称作“治疗有效量”）可根据多种因素变化，例如患者的疾病状态、年龄和体重，以及药物在患者产生需要疗效的能力。通过医生或其它专业卫生保健人士通常用于评价该症状的严重性或进展状况的任何临床检测方法，可评价疾病症状是否已被减轻。尽管本披露的实施方案（例如治疗方法或制品）在缓解每个目标疾病症状方面可能无效，但是根据本领域已知的任何统计学检验方法如 Student t 检验、卡方检验、依据 Mann 和 Whitney 的 U 检验、Kruskal-Wallis 检验（H 检验）、Jonckheere-Terpstra 检验和 Wilcoxon 检验确定，其在统计学显著数目的患者中应当减轻目标疾病症状。

“有效量”包含足以改善或预防医学疾病的症状或病症的量。有效量还意指

足以允许或促进诊断的量。用于特定患者或兽医学受试者的有效量可依据以下因素而变化：例如，待治疗的病症、患者的总体健康情况、给药的方法途径和剂量以及副作用严重性。有效量可以是避免显著副作用或毒性作用的最大剂量或给药方案。

- 5 “置换”是指溶解抗体蛋白的溶剂体系的置换，例如，使用稳定制剂的缓冲体系经物理操作方式将含抗体蛋白的高盐或高渗溶剂体系置换，从而使抗体蛋白存在于稳定制剂中。所称物理操作方式包括但不限于超滤、透析或离心后复溶。

附图说明

- 10 图 1：ADC 对 BxPC3 细胞和 MiaPaCa2 混合细胞的旁观杀伤活性结果。

具体实施方式

- 以下结合实施例进一步描述本披露，但这些实施例并非是对本披露范围的限制。本披露实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，如参照冷泉港实验室出版的《抗体技术实验手册》，《分子克隆手册》；或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

制备例 1

I. 抗体的制备

- 本披露中使用的对照分子 hRS7 参照专利 WO03074566 构建，TINA 抗体参照
20 专利 WO2015098099A1 构建，其序列分别如下：

hRS7 重链：

- QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYT*
GEPTYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWFVDVWG
QGSLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
25 *TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK*
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
30 *NHYTQKSLSLSPGK* SEQ ID NO: 3;

hRS7 轻链：

- DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIQAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVP*
DRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
35 *TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

SEQ ID NO: 4;

TINA 重链：

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTTAGMQWVRQAPGQGLEWMGWINTHS

GVPKYAEDFKGRVTISADTSTSTAYLQLSSLKSEDTAVYYCARSFGSSYWFVDVWGQ
 GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
 GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
 DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
 5 NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
 ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
 SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNH
 YTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 5;

TINA 轻链:

10 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRTGV
 PSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFI
 FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
 STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 6。

15 II. ADC 的制备

ADC 原液药物载量分析

ADC 是一种抗体交联物类药物,其治疗疾病的机理是依赖抗体的靶向性将毒素分子运送到细胞中,进而将细胞杀死。药物的载量对药效起着决定性的作用。

一、UV-Vis 计算方法

20 使用紫外法对 ADC 原液的药物载量进行测定。

实验方法

将装有琥珀酸钠缓冲液的比色皿分别置于参比吸收池和样品测定吸收池中后,扣除溶剂空白后,再将装有供试品溶液的比色皿置于样品测定吸收池中,测定 280nm 和 370nm 处吸光度。

25 结果计算

采用紫外分光光度法(使用仪器: Thermo nanodrop2000 紫外分光光度计)测定 ADC 原液载量,其原理是在某波长下 ADC 原液的总吸光值等于细胞毒性药物与单克隆抗体在该波长下吸光值的加和,即:

$$(1) A_{280nm} = \epsilon_{mab-280} b C_{mab} + \epsilon_{Drug-280} b C_{Drug}$$

30 $\epsilon_{Drug-280}$: 药物在 280nm 平均摩尔消光系数 5100;

C_{Drug} : 药物的浓度;

$\epsilon_{mab-280}$: 单抗原液在 280nm 平均摩尔消光系数 214600;

C_{mab} : 单抗原液的浓度;

b: 光程长度为 1cm。

35 同理可以得到样品在 370nm 下的总吸光值方程:

$$(2) A_{370nm} = \epsilon_{mab-370} b C_{mab} + \epsilon_{Drug-370} b C_{Drug}$$

$\epsilon_{Drug-370}$: 药物在 370nm 平均摩尔消光系数 19000;

C_{Drug} : 药物的浓度;

$\epsilon_{mab-370}$: 单抗原液在 370nm 消光系数为 0;

C_{mab} : 单抗原液的浓度;

b : 光程长度为 1cm。

- 5 由 (1) 和 (2) 方程结合单克隆抗体和药物在两个检测波长下的消光系数和浓度数据可以计算出药物的载量。

药物载量 = C_{Drug}/C_{mab} 。

二、CE-SDS 计算方法

试剂和仪器

- 10 SDS-Mw Analysis Kit: Beckman 生产, 货号 390953, 该试剂盒中包含 SDS-MW 凝胶分离缓冲液、SDS-MW 样品缓冲液、酸性清洗液(0.1mol/L 盐酸溶液)、碱性清洗液(0.1mol 氢氧化钠溶液)、内标物质(10 kDa)。也可采用北京博思雅生化技术研究院生产的 SDS 试剂盒, 货号 BSYK018, 该试剂盒中包含 CE-SDS 凝胶缓冲液、CE-SDS 样品缓冲液。

- 15 烷基化溶液(0.25mo 碘乙酰胺溶液): 称取约 0.046g 碘乙酰胺, 加入 1mL 超纯水溶解混匀, 可于 2-8℃ 避光保存 7 天。

毛细管电泳仪: SCIEX 公司 PA800plus。

毛细管: 非涂层熔融石英毛细管(内径 50 μ m), 切割至总长为 30.2cm, 高分辨率方法有效分离长度为 20cm。

- 20 供试品溶液制备

用 SDS 样品缓冲液将供试品稀释至 1mg/mL。取供试品溶液(1mg/mL)95 μ L, 加入 0.8mol/L 碘乙酰胺水溶液 5 μ L, 涡旋混匀。取空白对照 95 μ L, 加入 0.8mol/L 碘乙酰胺水溶液 5 μ L, 涡旋混匀, 从样品管中分别取出 75 μ L 至样品瓶中, 立即进行分析。

- 25 测定方法

1) 毛细管的预处理: 0.1mol/L 氢氧化钠溶液在 60psi 压力下冲洗 3 分钟, 然后用 0.1mol/L 盐酸溶液在 60psi 压力下冲洗 2 分钟, 最后用纯水在 70psi 压力下冲洗 1 分钟。每次运行前应进行。

- 2) 毛细管的预填充: SDS 凝胶分离缓冲液在 50psi 压力下冲洗 15 分钟。每
30 次运行前应进行。

样品进样: 10kV 反相极性电动进样, 还原样品进样 20 秒。

分离: 15kV 下运行 40 分钟, 反相极性。

样品室温度: 18 至 25℃。

毛细管温度: 18 至 25℃。

- 35 结果分析

基于抗体中打开的二硫键游离出的巯基都偶联上相应的药物, 用 Beckman 软

件对数据进行分析，以重链、非糖基化重链和轻链等校正峰面积分别占有校正峰面积计算。根据公式： $DAR=[4 * \text{重链 (H) 峰面积} + 2 * \text{半抗 (H-L) 峰面积} + 4 * \text{双重链 (H-H) 峰面积} + 2 * \text{重重轻链 (H-H-L) 峰面积}] / [\text{重链 (H) 峰面积} / 2 + \text{半抗 (H-L) 峰面积} / 2 + \text{双重链 (H-H) 峰面积} + \text{重重轻链 (H-H-L) 峰面积} + \text{全抗峰面积}]$ ，最终计算出该 ADC 的加权平均值。

三、反相高效液相色谱法 (RP-HPLC)

1、试剂和仪器：

HPLC 系统：Waters H-Class 超高效液相色谱仪 UPLC 系统

检测器：TUV 检测器（测量波长：280nm）

10 色谱柱：BioResolve RP mAb Polyphenyl (2.7μm 4.6*150 mm)

2、检测条件：

柱温：80℃

流速：1.0 mL/分钟

流动相 A：0.1% 甲酸+0.025% 三氟乙酸(TFA)水溶液。

15 流动相 B：0.1% FA+0.025%三氟乙酸(TFA)乙腈溶液。

梯度程序：27.0%B-45.0%B(0.00 分钟-12.00 分钟)，45.0%B-80.0%B(12.00 分钟-13.00 分钟)，80.0%B-80.0%B(13.00 分钟-15.00 分钟)，27.0%B-27.0%B(15.04 分钟-20.00 分钟)，

注入样品量：5.0μL

20 3、 数据分析

与不结合药物的抗体轻链(L0)和抗体重链(H0)相比，结合药物的轻链(结合 1 个药物的轻链：L1)和结合药物的重链(结合 1 个药物的重链：H1，结合 2 个药物的重链：H2，结合 3 个药物的重链：H3，结合 4 个药物的重链：H4)的疏水性与其结合药物的数目成正比例的增加，并且保留时间延长。因此，可以以 L0、L1、H0、H1、H2、H3 和 H4 的顺序进行分别洗脱。作为比较 L0 和 H0 之间的保留时间的结果，将检测峰分配给 L0、L1、H0、H1、H2、H3 和 H4 中的任何一个。

由于药物接头吸收 UV，根据以下表达式，使用轻链、重链和药物接头的摩尔吸光系数，根据结合的药物的数目，对所得的峰面积进行校正。计算公式如下：

轻链 $(\epsilon_{LC-280})/(\epsilon_{LC-280} + \text{连接药物数} * \epsilon_{drug-280})$

30 重链 $(\epsilon_{HC-280})/(\epsilon_{HC-280} + \text{连接药物数} * \epsilon_{drug-280})$

备注：ε_{LC-280}: 轻链在 280 nm 的摩尔消光系数；

ε_{HC-28}: 重链在 280 nm 的摩尔消光系数；

ε_{drug-280}: 毒素在 280 nm 的摩尔消光系数。

表1. 反相色谱载药量计算表

名称	连接药物数	校正峰面积百分比
L ₀	0	100*L ₀ 校正峰面积/ LC 校正峰面积总和

L ₁	1	100*L ₁ 校正峰面积/ LC 校正峰面积总和
H ₀	0	100*H ₀ 校正峰面积/ HC 校正峰面积总和
H ₁	1	100*H ₁ 校正峰面积/ HC 校正峰面积总和
H ₂	2	100*H ₂ 校正峰面积/ HC 校正峰面积总和
H ₃	3	100*H ₃ 校正峰面积/ HC 校正峰面积总和
H ₄	4	100*H ₄ 校正峰面积/ HC 校正峰面积总和

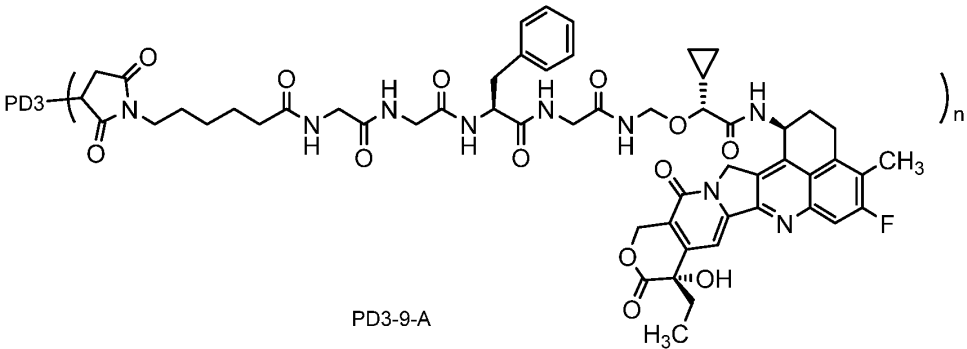
备注：LC校正峰面积总和=L₀校正峰面积+L₁校正峰面积。

HC校正峰面积总和=H₀校正峰面积+H₁校正峰面积+H₂校正峰面积+H₃校正峰面积+H₄校正峰面积，计算出该ADC 的载药量如下：

$$\text{载药量 } n = 2 \times \sum (\text{连接药物数} \times \text{校正峰面积百分比}) / 100$$

5

制备例 2-1 ADC-1



在 37 °C 条件下，向抗体 PD3 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10.0 mg/mL，4.0 mL，270 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)膦(TCEP)的水溶液(10 mM，67.5 μL，675 nmol)，置于水浴振荡器，于 37 °C 下振荡反应 3 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

将化合物 9-A(参照 WO2020063676A1 说明书实施例 9 的 9-A 进行制备，2.9mg，2700 nmol)溶解于 180μL DMSO 中，加入到上述反应液中，置于水浴振荡器，于 25 °C 下振荡反应 3 小时，停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到如式 PD3-9-A 所示的示例性产物 ADC-1 的 PBS 缓冲液(1.93 mg/mL，18.4 mL)，于 4°C 储存。

UV-Vis 计算平均值：n=3.77。

20

制备例 2-2 ADC-2

在 37 °C 条件下，向抗体 PD3 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS

缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 4.0 mL, 270 nmol)加入配制好的三(2-羧乙基)膦(TCEP)的水溶液(10 mM, 143.1 μ L, 1431 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 $^{\circ}$ C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 $^{\circ}$ C。

将化合物 9-A (4.35 mg, 4050 nmol)溶解于 270 μ L DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 $^{\circ}$ C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液, 含 0.001M 的 EDTA), 得到式 PD3-9-A 所示的示例性产物 ADC-2 的 PBS 缓冲液(1.69 mg/mL, 17.8 mL), 于 4 $^{\circ}$ C 储存。

UV-Vis 计算平均值: $n=6.59$ 。

10

制备例 2-3 ADC-3

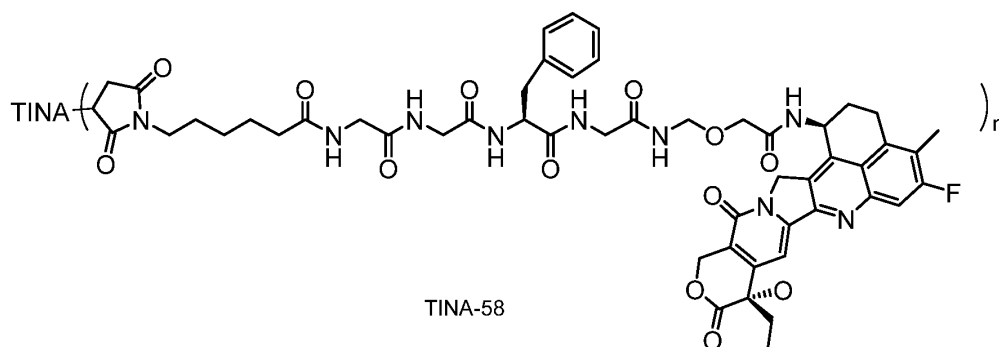
在 12 $^{\circ}$ C 条件下, 在含有 2.5 mM EDTA 的 10mM 组氨酸-醋酸-Tris 缓冲液(pH 7.2) 中, 含 145.24g PD3 抗体原液 (1.00mmol, 用 10mM 组氨酸-醋酸稀释至抗体浓度 17.5mg/mL) 与 0.6308 克三(2-羧乙基)膦盐酸盐(Sigma, 2.20 mmol) 在恒温水浴中搅拌反应 100 分钟, 生成中间体 I 溶液。滴加 2M 醋酸调节反应液 pH 至 5.0。

将化合物 9-A (4.834g, 4.50mmol)溶解于 0.456 L DMSO 中, 生成化合物 9-A 的 DMSO 溶液。向上述中间体 I 溶液中预加 0.373 L DMSO, 再将上述化合物 9-A 的 DMSO 溶液加入到预加 DMSO 的中间体 I 溶液中, 于水浴 12 $^{\circ}$ C 下搅拌反应 90 分钟, 停止反应。

将上述反应液经 0.22 μ m 滤器过滤后, 先进行 15 倍体积等体积超滤 (30kd 超滤膜包) 换液至 10%DMSO-30 mM 组氨酸-醋酸缓冲液 (pH=5.0), 再进行 18 倍体积等体积超滤换液至 30 mM 组氨酸-盐酸缓冲液 (pH=6.0), 加入蔗糖至 40g/L、甘氨酸至 9g/L、吐温-80 至 0.2g/L, 得到如式 PD3-9-A 所示的示例性产物 ADC-3 (20g/L, 132.20g, 收率 91.0%, 反相色谱计算平均值: $n=4.0$), 最后制成 80mg/瓶装冻干粉。

25

制备例 2-4 ADC-4



其合成过程参照 WO2015098099 实施例 19。

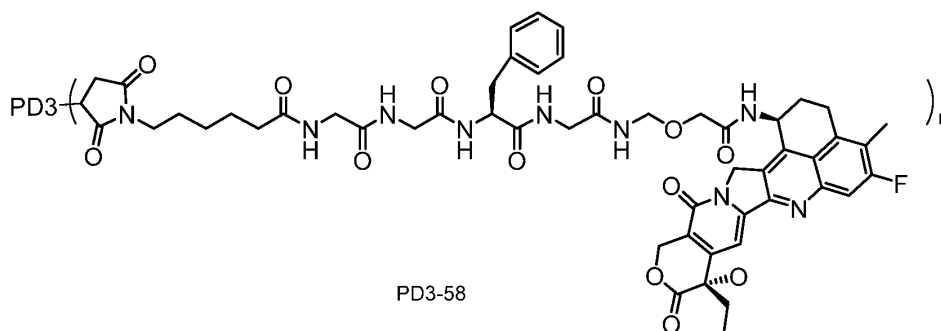
30

在 37℃条件下, 向抗体 TINA 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 2.0 mL, 135.4 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (10 mM, 33.8 μL, 338 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

5 将化合物 58 (1.4 mg, 1354 nmol) 溶解于 70 μL DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化 (洗脱相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液, 含 0.001M 的 EDTA), 得到式 TINA-58 所示的示例性标题产物 ADC-4 的 PBS 缓冲液 (1.13 mg/mL, 15.1 mL), 于 4℃ 储存。

10 UV-Vis 计算平均值: $n=3.99$ 。

制备例 2-5 ADC-5



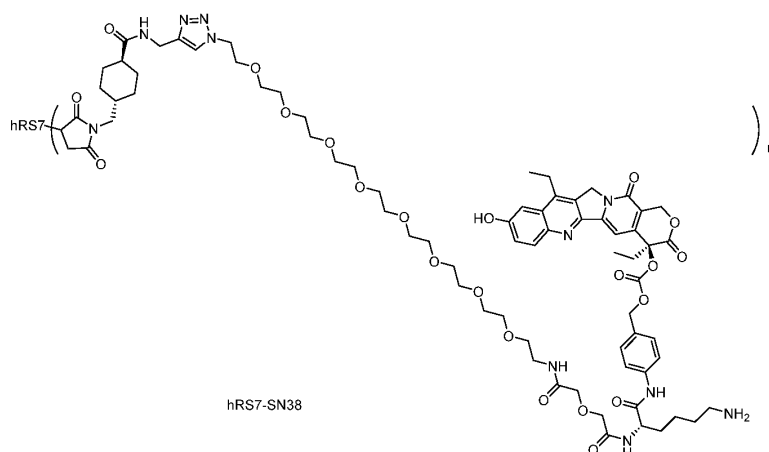
15 在 37℃条件下, 向抗体 PD3 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 1.5 mL, 101.4 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (10 mM, 25.3 μL, 253 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37℃ 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25℃。

20 将化合物 58 (1.05 mg, 1014 nmol, 参照专利 “CN104755494A 中第 163 页的实施例 58) 溶解于 60 μL DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化 (洗脱相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液), 得到式 PD3-58 所示的示例性标题产物 ADC-5 的 PBS 缓冲液 (0.82mg/mL, 13.5 mL), 于 4℃ 储存。

UV-Vis 计算平均值: $n=3.88$ 。

25

制备例 2-6 ADC-6

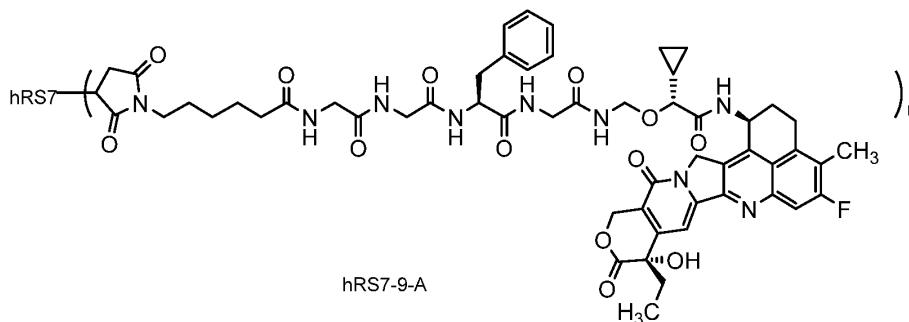


在 37 °C 条件下, 向抗体 **hRS7** 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 1.4 mL, 94.60 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (10 mM, 50.1 μ L, 501 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

将化合物 **SN38** (参照专利 CN105407891A 第 59 页实施例 1 合成, 2.1 mg, 1419 nmol) 溶解于 50 μ L DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液), 得到式 **hRS7-SN38** 所示的示例性标题产物 **ADC-6** 的 PBS 缓冲液 (1.03 mg/mL, 11.5 mL), 于 4 °C 储存。

CE-SDS 计算平均值: $n=7.56$ 。

制备例 2-7 ADC-7



在 37 °C 条件下, 向抗体 **hRS7** 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 2.18 mL, 147.3 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)膦 (TCEP) 的水溶液 (10 mM, 36.8 μ L, 368 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

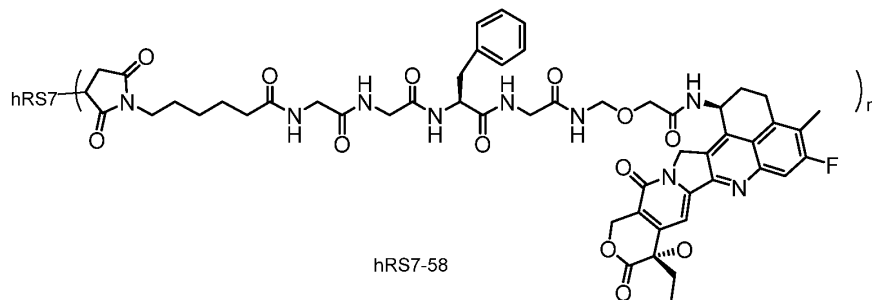
将化合物 **9-A** (1.58 mg, 1471 nmol) 溶解于 100 μ L DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液), 得到式

hRS7-9-A 所示的示例性标题产物 **ADC-7** 的 PBS 缓冲液(1.10mg/mL, 16.4 mL), 于 4℃ 储存。

UV-Vis 计算平均值: $n=3.72$ 。

5

制备例 2-8 ADC-8

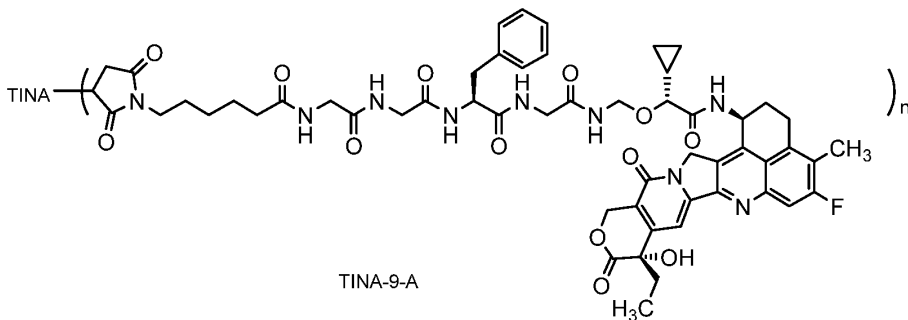


在 37 °C 条件下, 向抗体 **hRS7** 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 2.18 mL, 147.3 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)磷 (TCEP) 的水溶液(10 mM, 36.8 μL, 368 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

将化合物 58(1.52 mg, 1473 nmol, 参照专利 “CN104755494A 中第 163 页的实施例 58) 溶解于 100 μL DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相: pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液), 得到式 **hRS7-58** 所示的示例性标题产物 **ADC-8** 的 PBS 缓冲液(1.02mg/mL, 16.8 mL), 于 4℃ 储存。

UV-Vis 计算平均值: $n=3.93$ 。

制备例 2-9 ADC-9



在 37 °C 条件下, 向抗体 **TINA** 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 0.95 mL, 64.2 nmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)磷 (TCEP) 的水溶液(10 mM, 16.0 μL, 160 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

将化合物 **9-A** (0.69 mg, 642 nmol) 溶解于 30 μL DMSO 中, 加入到上述反应液

中，置于水浴振荡器，于 25℃下振荡反应 3 小时，停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相：pH 为 6.5 的 0.05M 的 PBS 缓冲水溶液)，得到式 TINA-9-A 所示的示例性标题产物 ADC-9 的 PBS 缓冲液(0.99mg/mL，7.0 mL)，于 4℃储存。

5 UV-Vis 计算平均值：n=3.99。
 以下用生化测试方法验证本公开的抗体及偶联物的活性。

测试例 1：抗体蛋白水平结合实验

用 pH7.4 的 PBS（源培生物，B320）缓冲液将 hTROP-2 蛋白稀释至 1 μg/mL，以 100 μL/孔的体积加入 96 孔酶标板中，4℃过夜孵育。弃去液体后，每孔加入 300
10 μL 用 PBS 稀释的 5%脱脂牛奶（BD，232100）进行封闭，37℃孵育 2 小时。封闭结束后，弃去封闭液，并用 PBST 缓冲液（PH7.4 PBS 含 0.1% tween-20）洗板 3 次后，每孔加入 100 μL 梯度稀释的抗体溶液，于 37℃孵育 1 小时。孵育结束后用 PBST 洗板 3 次，每孔加入 100 μL 鼠抗-人 IgG (H+L)(Jackson ImmunoResearch，209-035-088，1:8000 稀释)，37℃孵育 1 小时。用 PBST 洗板 3 次后，每孔加入 100
15 μL TMB 显色底物（KPL，5120-0077），室温孵育 10-15 分钟，每孔加入 50μL 1 M H₂SO₄ 终止反应，用酶标仪读取在 450 nm 处的吸收值，用软件拟合出抗体与抗原的结合曲线，计算出 EC₅₀ 值。抗体与蛋白的结合活性见表 2。

表 2. 抗体蛋白水平结合活性

抗体	PD3	hRS7	TINA
E _{max} (OD 值)	1.40	1.37	1.39
EC ₅₀ (nM)	13.6	18.29	16.14

结果显示，本申请中的 PD3 抗体与 hTROP-2 蛋白具有较高的结合活性。

20

测试例 2：抗体细胞水平结合实验

将稳转 TROP-2 的 CHOK1 细胞用 FACS 缓冲液（2%胎牛血清（Gibco，10099141）pH7.4 PBS（Sigma,P4417-100TAB））制备成 1×10⁶/mL 的细胞悬液，100μL/孔加入 96 孔圆底板中。离心去除上清后加入 50μL/孔用 FACS 缓冲液稀释
25 的不同浓度待测抗体，放于 4℃冰箱中避光孵育 1 小时。以 FACS 缓冲液 300g 离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 Alexa Fluor 488 羊抗-人 IgG (H+L) (invitrogen, A-11013)，放于 4℃冰箱中避光孵育 40 分钟。以 FACS 缓冲液 300g 离心洗涤 3 次后，在 BD FACSCantoII 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度（MFI），计算抗体对稳转表达 TROP-2 的细胞的结合 EC₅₀ 值。抗体与细胞的结合活性见表 3。

30

表 3. 抗体细胞水平结合活性

抗体	PD3	hRS7	TINA
E _{max} （MFI）	16693	16050	14217
EC ₅₀ (nM)	1.57	2.31	3.55

结果显示，本申请中的 PD3 抗体与表达 TROP-2 蛋白的细胞具有较高的结合活性。

测试例 3：抗体内吞实验

5 本实验的目的是根据 DT3C 蛋白进入细胞后，活化的 DT 对细胞进行杀伤，间接反映了抗 TROP-2 抗体的内吞情况。根据 EC₅₀ 和 Emax 来评价抗体的体外内吞活性。

DT3C 是重组表达的融合蛋白，由白喉毒素的片段 A（仅毒素部分）和 G 群链球菌的 3C 片段（IgG 结合部分）融合而成，该蛋白能够与抗体的 IgG 部分高度
10 亲和，在抗体发生内吞时一同进入细胞，在胞内弗林蛋白酶的作用下，释放出具有毒性的 DT，DT 能够抑制 EF2-ADP 核糖基化的活性，阻断蛋白翻译过程，最终导致细胞死亡。而未进入细胞的 DT3C 则不具有杀伤细胞的活性。根据细胞杀伤情况来评价抗体的内吞活性。

用含 20% 低 IgG FBS 的新鲜细胞培养基制备细胞悬液，细胞密度为 2×10⁴ 细
15 胞/mL，以 50μL/孔加入细胞培养板中，5%二氧化碳 37℃培养 16 小时。用无血清培养基配制 4×浓度的 DT3C，0.22μm 小滤器过滤成无菌溶液。用无血清培养基配制 4×浓度的抗体，将 80μL DT3C 和 80μL 抗体按照 1:1 的体积混匀，室温下静置孵育 30 分钟。取 50μL 稀释好的抗体-DT3C 混合物加入 50μL 的细胞中，培养箱中孵育三天。每孔加入 50μL CTG，室温下避光孵育 10 分钟，Victor3 上读取化学发
20 光。抗体的内吞活性见表 4。

表 4. 抗体内吞活性

抗体	PD3	hRS7	TINA
Emax	99.1%	98.5%	98.7%
EC50 (nM)	0.15	0.18	0.18

结果显示，本申请中的 PD3 抗体有较高的内吞效率。

测试例 4：抗体亲和力测定

25 抗体对 TROP-2 亲和力的检测，采用捕获抗体的形式。用偶联有抗-人 IgG 抗体(Cat.#BR-1008-39, Lot. # 10260416, GE)的 Protein A (Cat. # 29127556, GE) 生物传感芯片亲和捕获抗体，然后于芯片表面流经抗原 hTROP-2，用 Biacore T200 仪器实时检测反应信号获得结合和解离曲线。在每个实验循环解离完成后，用再生
30 缓冲液 Glycine1.5(Cat# BR100354, GE)或 3 M MgCl₂(来自 Human antibody capture kit, Cat.#BR100839, GE) 将芯片洗净再生。实验结束后用 GE Biacore T200 Evaluation version 3.0 软件以（1:1）Langmuir 模型拟合数据，得出亲和力数值。抗体与蛋白的亲和力见表 5。

表 5. Biacore 测定的抗体的亲和力

抗体	PD3	hRS7	TINA
KD (M)	6.86E-10	9.87E-10	2.15E-8

结果显示，本申请中的 PD3 抗体与 hTROP-2 的亲和力较高。

测试例 5：ADC 分子细胞活性实验

5 该实验中使用的细胞如下：FaDu(++++)购于 ATCC，货号 HTB-43™；HCC827 (+++)，购于 ATCC，货号 CRL-2868；Colo205(++)，购于中科院细胞库，货号：TCHu102；DMS53 (++)，购于 ATCC，货号：CRL-2062™；SK-OV-3 (+)，购于 ATCC，货号：HTB-77；CHO-K1 (-)，购于 ATCC，货号：CCL-61™。其中“+”表示细胞汇总 TROP-2 的表达量，“+”越多，表示 TROP-2 的表达量越高，“-”表示不表达 TROP-2。

10

 用含 10% FBS 的新鲜细胞培养基制取细胞悬液，密度为 3703 细胞/mL，以每孔 135μL 加入到 96 孔细胞培养板中，5%二氧化碳 37℃ 16 小时培养。ADC 样品用 PBS 配制成 5μM。以此为首浓度，用 PBS 五倍稀释，共 8 个浓度。每孔加入 15μL 的上述 ADC 溶液。5%二氧化碳 37℃培养 6 天。每孔加入 70μL CTG，室温

15 下避光孵育 10 分钟，Victor3 上读取化学发光利用 GraphPad Prism 软件进行数据分析。

 结果显示 ADC-1 有较强的细胞杀伤效果，而且杀伤效果与肿瘤细胞表面 TROP-2 表达水平正向相关。

表 6. ADC 对不同 TROP-2 表达量细胞的杀伤活性

样品	FaDu		HCC827		Colo205		DMS53		SK-OV-3		CHO-K1	
	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)
ADC-1	0.23	100.42	0.14	89.64	39.23	99.38	42.46	89.39	NA	61.91	NA	9.31
ADC-4	0.53	101.25	0.27	88.16	59.8	99.66	75.58	89.83	NA	49.15	NA	1.71
ADC-7	0.31	100.75	0.18	89.33	52.75	99.52	72.92	88.74	NA	66.11	NA	8.69

20 按照上述方法进行第二次平行比较实验，获得如下结果：

表 7. ADC 对不同 TROP-2 表达量细胞的杀伤活性

样品	FaDu		HCC827		Colo205		DMS53	
	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)	EC ₅₀ (nM)	E _{max} (%)
ADC-1	0.08	101.6	0.06	89.57	12.07	100.34	15.08	93.24
ADC-5	0.14	101.58	0.13	88.23	25.63	99.64	25.71	92.47

测试例 6：旁观杀伤活性实验

 BxPC3（人胰腺癌细胞，ATCC，CRL-1687）和 MiaPaCa2 细胞（人胰腺癌细

25 胞，biocytogen，B-HCL-014）分别用 RPMI1640 +10%FBS 和 DMEM/高 葡萄糖

+10%FBS 培养，细胞用胰酶消化，新鲜培养基中和，1000rpm 离心 3 分钟，弃上清，细胞用 RPMI1640+10%FBS 重悬。细胞计数后，将 BxPC3 细胞密度调整为 6×10^4 个/mL，将 MiaPaCa2-luc 细胞密度调整为 1.5×10^4 个/mL。12 孔板板 1 中每孔加入 500 μ L 的 BxPC3 细胞和 500 μ L 的 MiaPaCa2-luc 细胞。12 孔板板 2 中加入 500 μ L 的 MiaPaCa2-luc 细胞和 500 μ L 的含 10%FBS 血清的 RPMI1640 培养液。5%二氧化碳 37℃培养 24 小时。

ADC 样品配制成 40 $\times$ 浓度的中间溶液(0.2 μ M)。各取 25 μ L 上述样品加入到 12 孔板相应孔中。设置溶剂对照组。5%二氧化碳 37℃培养 6 天。12 孔板中的细胞用胰酶消化，新鲜培养基中和，1000rpm 离心 3 分钟，弃上清，用 1mL 的 FACS 缓冲液（PBS+2.5%FBS）重悬，取 20 μ L 的细胞加入 20 μ L 的台盼蓝，计数。板 1 的细胞，1000rpm 离心 3 分钟，弃上清，用 100 μ L 的 FACS Buffer 重悬，加入 2 μ L 的 TROP-2 (EGP-1) 单克隆抗体 (MR54)，冰上孵育 30 分钟。4℃，2000rpm 离心 1 分钟，弃去上清，加入 150 μ L FACS 缓冲液重悬细胞。用 BD FACSVerser 检测。用 Flowjo 7.6 分析数据。旁观杀伤活性实验结果见图 1。

结果显示，本披露中的 ADC-1 有明显的旁观杀伤效果，ADC 并不会杀伤 TROP-2 阴性的 MiaPaCa2 细胞，但将表达 TROP-2 的 BxPC3 细胞与阴性细胞 MiaPaCa2 混合后，ADC-1 对 TROP-2 阴性的细胞也有杀伤作用。

体内活性生物学评价

测试例 7：Fadu 细胞 CDX 小鼠模型体内药效评价

将 Fadu 细胞（ 3×10^6 个）接种于 Balb/c 裸鼠右肋部皮下，接种 10 天后，待肿瘤体积在~245mm³后去除体重、肿瘤过大和过小的，按肿瘤体积将小鼠随机分为 5 组，每组 8 只。

ADC 腹腔注射，于 0 天和第 8 天共给药 2 次，每只按体重注射 10g/0.1mL，给药量 1mg/kg。每周测量 2 次瘤体积和体重，记录数据，共记录 21 天。

使用 Excel 统计软件记录数据：平均值以 avg 计算；SD 值以 STDEV 计算；SEM 值以 STDEV/SQRT（每组动物数）计算；采用 GraphPad Prism 软件作图，采用 Two-way ANOVA 或 One-way ANOVA 对数据进行统计学分析。

肿瘤体积（V）计算公式为： $V=1/2\times L_{长}\times L_{短}^2$

相对肿瘤增殖率 T/C(%)=(T-T₀)/(C-C₀) $\times$ 100，其中 T、C 为实验结束时治疗组和对照组的肿瘤体积；T₀、C₀ 为实验开始时的肿瘤体积。

抑瘤率 TGI(%)=1- T/C(%)。

结果见表 8，表明在 1mpk 剂量下，ADC-1 对 FaDu 移植瘤有较强的抑瘤效果。

表8. ADC对荷瘤裸鼠FaDu移植瘤的疗效

分组	平均肿瘤体积 (mm3)		平均肿瘤体积 (mm3)		抑瘤率 TGI（%）
	D0	SEM	D21	SEM	

空白对照	246.8	29.04	2245.04	275.14	N/A
ADC-4 1mg/kg	244.41	29.62	1180.96	193.55	53
ADC-1 1mg/kg	251.19	23.45	238.54	107.62	101
ADC-2 1mg/kg	270.48	21.36	0	0	114
PD3 30mg/kg	246.02	25	2407.37	207.71	-8

测试例 8：SKOV3 细胞 CDX 小鼠模型体内药效评价

将 SKOV3 细胞（ 5×10^6 个）接种于 Balb/c 裸鼠右肋部皮下，接种 23 天后，待肿瘤体积在约 180mm^3 后去除体重、肿瘤过大和过小的，按肿瘤体积将小鼠随机分为 5 组，每组 8 只。

ADC 腹腔注射，共给药 2 次，每只按体重注射 $10\text{g}/0.1\text{mL}$ ，给药量见下表。每周测量 2 次瘤体积和体重，记录数据。使用 Excel 统计软件记录数据：平均值以 avg 计算；SD 值以 STDEV 计算；SEM 值以 STDEV/SQRT （每组动物数）计算；采用 GraphPad Prism 软件作图，采用双因素 ANOVA 或单因素 ANOVA 对数据进行统计学分析。

肿瘤体积（V）计算公式为： $V=1/2\times L_{\text{长}}\times L_{\text{短}}^2$

相对肿瘤增殖率 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times100$ ，其中 T、C 为实验结束时治疗组和对对照组的肿瘤体积； T_0 、 C_0 为实验开始时的肿瘤体积。

抑瘤率 $\text{TGI}(\%)=1-T/C(\%)$ 。

结果显示见表 9，在不同剂量下，ADC-1 对 SKOV3 移植瘤有较强的抑瘤效果，同时抑瘤效果有剂量依赖效应。

效果有剂量依赖效应。

表9. ADC对荷瘤裸鼠SKOV3移植瘤的疗效

分组	平均肿瘤体积 (mm3)		平均肿瘤体积 (mm3)		抑瘤率 TGI (%)
	D0	SEM	D21	SEM	
空白对照	183.26	7.6	1081.36	132.88	N/A
ADC-110mg/kg	185.48	9.62	302.93	39.34	87
ADC-1 3mg/kg	185.09	10.07	519.9	38.93	63
ADC-1 1mg/kg	183.29	8.87	795.34	124.81	32
ADC-4 10mg/kg	183.83	8.9	938.99	148.98	16
ADC-4 3mg/kg	184.17	8.2	873.38	50.84	23
ADC-4 1mg/kg	185.17	8.38	1110.52	159.73	-3
PD3 30mg/kg	182.85	8.38	1384.28	93.87	-34

测试例 9：Colo205 细胞 CDX 小鼠模型体内药效评价

将 Colo205 细胞（ 5×10^6 个）接种于 Balb/c 裸鼠右肋部皮下，接种 10 天后，待肿瘤体积在 $\sim245\text{mm}^3$ 后去除体重、肿瘤过大和过小的，按肿瘤体积将小鼠随机

分为6组，每组8只。

ADC 腹腔注射，于第0天（D0）和第10天共给药2次，每只按体重注射10g/0.1mL，给药量10mg/kg。每周测量2次瘤体积和体重，记录数据，共记录28天(D28)。

5 使用 Excel 统计软件记录数据：平均值以 avg 计算；SD 值以 STDEV 计算；SEM 值以 STDEV/SQRT（每组动物数）计算；采用 GraphPad Prism 软件作图，采用双因素 ANOVA 单因素 ANOVA 对数据进行统计学分析。

肿瘤体积（V）计算公式为： $V=1/2\times L_{长}\times L_{短}^2$

10 相对肿瘤增殖率 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times 100$ ，其中 T、C 为实验结束时治疗组和对对照组的肿瘤体积；T₀、C₀ 为实验开始时的肿瘤体积。

抑瘤率 $TGI(\%)=1-T/C(\%)$ 。

结果见表10，表明在1mpk剂量下，偶联有化合物9-A的ADC-9和ADC-7对 Colo205 移植瘤有较强的抑瘤效果。

表10. ADC对荷瘤裸鼠FaDu移植瘤的疗效

分组	平均肿瘤体积 (mm3)		平均肿瘤体积 (mm3)		抑瘤率 TGI (%)
	D0	SEM	D28	SEM	
空白对照	210.30	24.91	1355.56	117.46	N/A
ADC-6 10mg/kg	194.93	26.56	1344.84	95.93	0
ADC-7 10mg/kg	194.64	21.03	35.13	12.80	113
ADC-8 10mg/kg	199.09	23.41	475.66	175.24	76
ADC-9 10mg/kg	206.70	21.21	99.86	32.55	109
ADC-4 10mg/kg	201.52	27.85	513.83	118.53	73

15

制剂

制剂制备与检测过程中使用的设备及结果计算方法如下：

1) SEC 分子排阻色谱法：

20 根据凝胶孔隙的孔径大小与高分子样品分子的线团尺寸间的相对关系而对溶质进行分离的分析的方法。

SEC%（SEC单体含量百分比）=A单体/A总*100%（A单体为样品中主峰单体的峰面积，A总为所有峰面积之和。）

SEC测定用仪器：安捷伦1260；柱子：waters，XBrige BEH200Å SEC(300×7.8mm 3.5μm)

25

2) R-CE 毛细管凝胶电泳：

将凝胶移到毛细管中作为支持介质进行的一种电泳，并在一定的电压下根据样品分子量的大小进行分离的方法。

R-CE纯度百分比=A主峰/A总*100% （A主峰为样品中轻链主峰+重链主峰的峰面积，A总为所有峰面积之和。

R-CE测定用仪器：Beckman型号plus800

3) 浊度测定：

5 光线透过水层时受到阻碍的程度，表示水层对于光线散射和吸收的能力，不仅与悬浮物的含量有关，而且还与颗粒成分、大小、形状及其表面的反射性能有关。通过对比同一蛋白样品相同浓度且同一波长（近紫外和可见光波长区域）吸收值，吸收值越大说明浊度越大，样品中蛋白分子聚集倾向越明显。测定仪器为多功能酶标仪（Molecular Devices M5），相同体积样品加入96孔板读取吸光度值。

10 4) 渗透压测定：

冰点法测定渗透压，以冰点下降值与溶液的摩尔浓度成正比例关系为基础，采用高灵敏度感温元件，测定溶液结冰点，通过电量转化为渗透压。仪器厂家罗泽Loser，型号OM815。

5) 蛋白浓度测定：

15 本披露中的抗体药物偶联物浓度以蛋白的浓度计，即以抗体药物偶联物中抗体部分的浓度。

因为抗体药物偶联物中的毒素在蛋白特征吸收波长280 nm下有吸收，同时该毒素在370 nm下也有吸收，故用以下公式对上述蛋白浓度进行计算：

$$\begin{aligned} A_{280nm} &= (C_{drug} \times E_{drug-280} + C_{mAb} \times E_{mAb-280}) \times l \\ A_{370nm} &= C_{drug} \times E_{drug-370} \times l \\ \text{取 } R &= \frac{E_{drug-370}}{E_{drug-280}} \end{aligned}$$

20 即：

$$C_{mAb} = \frac{R \times A_{280nm} - A_{370nm}}{R \times E_{mAb-280}}$$

式中，A_{280nm}：供试品溶液单份样品在光程为1 cm时在280 nm波长处的吸光度平均值；

A_{370nm}：供试品溶液单份样品在光程为1 cm时在370 nm波长处的吸光度平均值；

E_{mAb-280}：蛋白在280 nm波长处的质量消光系数，为1.532 g⁻¹cm⁻¹L；

25 E_{drug-280}：毒素在280 nm波长处的质量消光系数，5.17 g⁻¹cm⁻¹L；

E_{drug-370}：毒素在370 nm波长处的质量消光系数，17.89 g⁻¹cm⁻¹L；

R：毒素消光系数在370 nm和280 nm的比值，为3.46；

C_{mAb}：蛋白的浓度，mg/mL；

l：光程长度，cm（此处光程为1 cm）。

30 若供试液经过稀释，则蛋白浓度为：C (mg/mL) = C_{mAb} × N，N为稀释倍数。

蛋白浓度测定仪器：紫外可见分光光度计，型号：Nano Drop One。

实施例 1：抗 Trop2-ADC 抗体制剂缓冲体系和 pH 筛选

使用下列缓冲液，配制 ADC-3 的蛋白浓度为 10~30mg/mL 的抗 Trop2-ADC 抗体制剂。具体如下：

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 1) 10mM 枸橼酸-枸橼酸钠盐（简称：CA），pH5.0，20mg/mL 蛋白浓度；
- 2) 10mM CA，pH5.5，20mg/mL 蛋白浓度；
- 3) 10mM CA，pH6.0，20mg/mL 蛋白浓度；
- 4) 10mM CA，pH6.5，20mg/mL 蛋白浓度；
- 5) 10mM 琥珀酸-琥珀酸钠盐（简称：SA），pH5.0，20mg/mL 蛋白浓度；
- 6) 10mM SA，pH5.5，20mg/mL 蛋白浓度；
- 7) 10mM SA，pH6.0，20mg/mL 蛋白浓度；
- 8) 10mM 组氨酸-盐酸组氨酸（简称：His-HCl），pH5.5，10mg/mL 蛋白浓度；
- 9) 10mM His-HCl，pH5.5，20mg/mL 蛋白浓度；
- 10) 10mM His-HCl，pH5.5，30mg/mL 蛋白浓度；
- 11) 10mM His-HCl，pH6.0，20mg/mL 蛋白浓度；
- 12) 10mM His-HCl，pH6.5，20mg/mL 蛋白浓度；

制备完成的制剂无菌过滤，灌装，加塞，轧盖。考察样品在强制降解 40℃ 高温条件下，以外观、SEC 和 R-CE 为评价指标，考察制剂稳定性。实验结果见表 11。

40℃ M1 时，His-HCl 体系的外观的颗粒数少于 CA 和 SA 体系，在相同 pH 值和相同蛋白浓度时 His 体系的纯度项高于 CA 和 SA 体系，在相同缓冲体系中随着 pH 值的增加 SEC 单体峰和 R-CE 主峰下降值变小。在 10mM pH5.5 His 体系中随着蛋白浓度的增加 SEC 聚体略微增加，R-CE 纯度项无显著变化。综上，缓冲体系优选 His-HCl，pH 范围优选 5.5-6.5，蛋白浓度优选 10mg/mL-30mg/mL。

表 11 pH 和缓冲体系筛选实验结果

序号	放置条件	外观	SEC%			R-CE %	
			聚体	单体	△单体	主峰	△主峰
1	D0	澄明	0.5	98.9		99.2	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	2.1	87.1	11.8	88.8	10.5
2	D0	澄明	0.6	98.8		99.2	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	3.4	90.4	8.4	92.9	6.4
3	D0	澄明	0.6	98.8		99.3	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	3.8	92.7	6.2	95.5	3.8
4	D0	澄明	0.7	98.7		99.2	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	3.7	93.6	5.1	95.9	3.3
5	D0	澄明	0.5	99.0		99.1	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	1.6	91.0	8.0	91.5	7.5

序号	放置条件	外观	SEC%			R-CE %	
6	D0	澄明	0.6	98.8		99.0	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	2.8	92.5	6.3	93.9	5.1
7	D0	澄明	0.8	98.6		99.2	
	40℃M1	微乳光，大量颗粒	3.9	93.2	5.4	95.7	3.6
8	D0	澄明	0.5	99.0		99.4	
	40℃M1	微乳光，颗粒	0.7	95.4	3.6	95.9	3.5
9	D0	澄明	0.5	99.5		99.2	
	40℃M1	微乳光，颗粒	1.0	94.4	5.1	94.9	4.4
10	D0	澄明	0.5	98.9		98.9	
	40℃M1	微乳光，颗粒	1.4	93.9	5.0	95.5	3.4
11	D0	澄明	0.5	98.9		99.2	
	40℃M1	微乳光，颗粒	1.4	95.2	3.6	96.0	3.2
12	D0	澄明	0.6	98.8		99.0	
	40℃M1	微乳光，颗粒	2.0	95.3	3.6	95.8	3.3

备注：D0 表示实验开始时，“M”表示月，例如 M1 表示一个月；△值表示各条件下放样后该检测项与 D0 的差值，下同。

实施例 2：抗 Trop2-ADC 抗体制剂中表面活性剂筛选

5 使用 10 mM pH 6.0 His-HCl 缓冲体系，配制含 80mg/mL 蔗糖，ADC-3 的蛋白浓度为 20mg/mL 含不同浓度聚山梨酯 80（简称：PS80）的抗 Trop2-ADC 抗体制剂。具体如下：

- 1) 不含 PS80;
- 2) 0.2 mg/mL PS80;
- 10 3) 0.4 mg/mL PS80;
- 4) 0.6 mg/mL PS80;

制备完成的制剂无菌过滤，灌装，加塞，轧盖。将样品置于振摇（25℃，300rpm，3 天）和高温（40℃ M1）条件下，以外观、SEC、R-CE 为评价指标，考察制剂稳定性。实验结果见表 12。

15 实验结果显示，所有考察条件下 0.2~0.6mg/mL PS80 组外观均优于不含 PS80 组，0.2mg/mL PS80 组高温 1 个月后的 R-CE 纯度项主峰下降低于 0.4mg/mL 和 0.6mg/mL 组。综上，PS80 浓度优选 0.2mg/mL。

表 12 制剂中表面活性剂筛选实验结果

序号	放置条件	外观	SEC %			R-CE%	
			聚体	单体	△单体	主峰	△主峰
1	D0	澄明	0.5	98.9		99.3	
	25℃振摇 D3	微乳光，大量颗粒	0.6	98.9	0.1	99.2	0.0
	40℃M1	少量颗粒	0.8	95.2	3.8	95.9	3.4
2	D0	澄明	0.5	98.9		98.5	

	25℃振摇 D3	微乳光	0.5	99.0	0.0	98.2	0.3
	40℃M1	微乳光	1.0	94.7	4.2	95.2	3.3
3	D0	澄明	0.5	98.9		99.2	
	25℃振摇 D3	微乳光	0.5	99.0	-0.1	99.0	0.2
	40℃M1	微乳光	1.1	94.8	4.1	93.2	6.0
	D0	澄明	0.5	98.9		99.0	
4	25℃振摇 D3	微乳光	0.5	99.0	-0.1	99.1	-0.1
	40℃M1	微乳光	1.0	95.3	3.6	94.0	5.0

实施例 3：抗 Trop2-ADC 抗体制剂糖种类筛选

使用 10 mM pH 6.0 His-HCl 缓冲体系，配制含 0.4mg/mL 聚山梨酯 80，不同糖种类，ADC-3 的蛋白浓度为 20mg/mL 的抗 Trop2-ADC 抗体制剂。其中不同糖

5 如下，糖含量为溶液渗透压为等渗时的浓度：

- 1) 80 mg/mL 蔗糖；
- 2) 88 mg/mL 二水合海藻糖；

制备完成的制剂无菌过滤，灌装，加塞，轧盖。将样品置于振摇（25℃，300rpm，3 天）、FT5C（-35℃ 和 2~8℃ 之间冻融 5 个循环）和高温（40℃M1）条件下，

10 以外观、SEC、R-CE 为评价指标，考察制剂稳定性。实验结果见表 13。

实验结果显示，在不同条件下蔗糖和二水合海藻糖外观和纯度项无显著性差异。

表 13 糖种类筛选实验结果

序号	放置条件	外观	SEC%			R-CE%	
			聚体	单体	△单体	主峰	△主峰
1	D0	澄明	0.5	98.9		99.2	
	25℃振摇 D3	微乳光	0.5	99.0	-0.1	99.0	0.2
	FT5C	微乳光	0.5	99.0	-0.1	97.9	1.3
	40℃M1	微乳光	1.1	94.8	4.1	93.2	6.0
2	D0	澄明	0.5	98.9		99.1	
	25℃振摇 D3	微乳光	0.5	99.0	0.0	98.3	0.8
	FT5C	微乳光	0.5	99.1	-0.1	98.1	1.0
	40℃M1	微乳光	1.1	95.0	4.0	93.7	5.4

实施例 4：抗 Trop2-ADC 抗体制剂处方优化

使用 pH6.0 His-HCl 缓冲体系，配制含 0.2mg/mL PS80、不同蔗糖浓度和甘氨酸浓度，ADC-3 的蛋白浓度为 20mg/mL 的抗 Trop2-ADC 抗体制剂。具体如下：

- 1) 10mM His- HCl pH6.0，80mg/mL 蔗糖；
- 2) 10mM His- HCl pH6.0，40mg/mL 蔗糖，10.2mg/mL 甘氨酸；
- 3) 30mM His- HCl pH6.0，70mg/mL 蔗糖；
- 4) 30mM His- HCl pH6.0，40mg/mL 蔗糖，7.6mg/mL 甘氨酸；

采用溶液剂和冻干剂两种方式进行考察。

溶液剂：制备完成的制剂无菌过滤，灌装，加塞，轧盖。将溶液剂置于高温（40℃ D10）条件下，以 SEC、R-CE 为评价指标，考察制剂稳定性。实验结果见表 14。所有组别 40℃ D10 后纯度项无显著差异。

5表 14 制剂中渗透压调节剂筛选实验结果

序号	放置条件	外观	SEC %			R-CE%	
			聚体	单体	△单体	主峰	△主峰
1	D0	澄明	2.3	97.2	N/A	98.7	N/A
	40℃ D10	澄明	2.1	94.1	3.1	98.1	0.6
2	D0	澄明	2.2	97.2	N/A	98.7	N/A
	40℃ D10	澄明	2.1	94.2	3.0	98.0	0.7
3	D0	澄明	2.4	97.1	N/A	98.9	N/A
	40℃ D10	澄明	2.4	93.8	3.3	98.2	0.7
4	D0	澄明	2.4	97.0	N/A	98.9	N/A
	40℃ D10	澄明	2.5	93.6	3.5	98.2	0.7

备注：表中“D”表示天，例如 D10 表示 10 天。

冻干剂：制备完成的制剂无菌过滤，灌装，半加塞，冻干，压塞，轧盖。考察冻干后的产品外观和产品复溶情况。冻干程序如下：

表 15 冻干程序

冻干工艺参数	设定温度（℃）	设定时间（分钟）	保持时间（分钟）	真空度（Pa）
预冻	5	10	60	N/A
预冻	-45	50	120	N/A
一次干燥	-20	120	3000	10
二次干燥	25	60	1	10
	25	1	600	1

10结果：

冻干后粉饼外观显示高蔗糖浓度组底部略微缩底，而蔗糖浓度降至 40mg/mL，加入甘氨酸后在相同的冻干条件下，得到的粉饼均匀饱满，无塌陷。说明降低蔗糖浓度，加入甘氨酸后所需要的一次干燥时间短于用高蔗糖浓度处方所需的时间。

15蔗糖浓度为 40mg/mL 时，不同缓冲液浓度配制的样品在经冻干程序后，外观都呈现均匀饱满无塌陷。

表 16 渗透压调节剂筛选冻干结果

序号	渗透压（mOsm）	冻干后的外观	复溶情况
1	289	底部略微缩边	易复溶
2	287	白色均匀饼状	易复溶
3	279	底部略微缩边	易复溶
4	279	白色均匀饼状	易复溶

实施例 5: 抗 Trop2-ADC 抗体制剂稳定性实验

制备 ADC-3 的蛋白浓度 20 mg/mL, 30mM pH6.0 His- HCl 缓冲体系, 40 mg/mL 蔗糖, 9.0mg/mL 甘氨酸和 0.2 mg/mL PS80 的抗 Trop2-ADC 制剂。

将制备好的制剂无菌过滤, 灌装, 加塞, 轧盖。放置振摇 (25℃, 300rpm, 10 天)、FT5C (-35℃ 和 2~8℃ 之间冻融 5 个循环) 和高温 (40℃M1) 强制降解、25℃加速 (25℃ M3) 和 2~8℃长期 (4℃ M3) 条件下, 以外观、SEC 和 R-CE 为评价指标, 考察制剂稳定性。实验结果见表 17。

实验结果显示, 最终处方制剂外观在各强制降解条件下均保持澄明, 具有较好的稳定性。

表 17 稳定性实验数据

放置条件	外观	SEC %		R-CE%	
		单体	△单体	主峰	△主峰
D0	澄明	97.9	N/A	98.8	N/A
振摇 10 天	澄明	97.6	0.2	99.3	-0.5
FT5C	澄明	97.6	0.3	99.3	-0.5
40℃ D16	澄明	95.8	2.1	95.9	2.9
25℃ M3	澄明	94.4	3.5	96.6	2.3
4℃ M3	澄明	97.4	0.5	98.2	0.6

实施例 6: 抗 Trop2-ADC 抗体制剂的冻干

在 30mM pH6.0 His-HCl 的缓冲液中, 制备 ADC-3 的蛋白浓度为 20 mg/mL, 40 mg/mL 蔗糖, 9mg/mL 甘氨酸和 0.2 mg/mL PS80 的抗 Trop2-ADC 抗体制剂, 将制剂样品进行冻干, 冻干程序为预冻、一次干燥和二次干燥, 冻干程序见表 18。冻干程序结束后, 真空加塞。冻干后样品外观为白色均匀饼状, 水分符合标准, 易复溶, 复溶后 SEC、NR-CE 纯度项符合标准, 结果见表 19。复溶后的 PH 为 6.1。

表 18 冻干程序

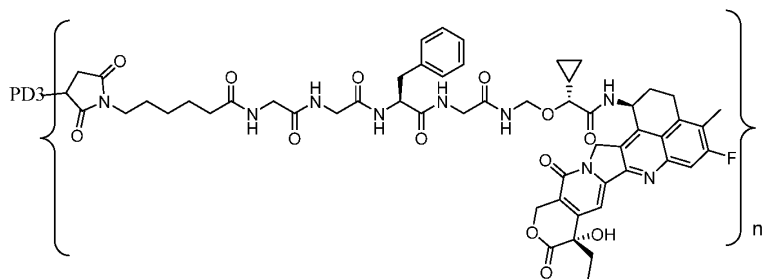
冻干工艺参数	设定温度 (℃)	设定时间 (分钟)	保持时间 (分钟)	真空度 (Pa)
预冻	5	10	60	N/A
一次干燥	-10	120	3000	10
二次干燥	25	60	1	10
	25	1	600	1

表 19 冻干产品数据

产品外观	水分	复溶时间	SEC% (单体)	NR-CE% (主峰)
白色均匀饼状	0.8%	1 分钟	97.7%	97.2%

权利要求书

1. 一种药物组合物，包含抗体药物偶联物和缓冲剂，其中所述抗体药物偶联物具有如下所示的结构：



5

其中：

PD3 为抗 TROP2 抗体，包含如 SEQ ID NO: 1 所示的重链和如 SEQ ID NO: 2 所示的轻链；

n 为 1 至 10，优选为 1 至 8；

10 所述药物组合物的缓冲剂为组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂，pH 为约 5.0 至约 6.5，优选 pH 为约 5.5 至约 6.5，更优选 pH 为约 5.9 至约 6.2。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述缓冲剂的浓度为约 10mM 至约 50 mM，优选为约 20mM 至约 40 mM，更优选为约 30 mM。

15

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含表面活性剂，所述表面活性剂优选为聚山梨酯，更优选为聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20，最优选为聚山梨酯 80。

20

4. 根据权利要求 3 所述的药物组合物，其中所述表面活性剂浓度为约 0.01 mg/mL 至约 1.0 mg/mL，优选为约 0.1 mg/mL 至约 0.3mg/mL，更优选为约 0.2 mg/mL。

5. 根据权利要求 1 至 4 任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还含糖，所述糖优选选自蔗糖和二水合海藻糖，最优选为蔗糖。

25

6. 根据权利要求 5 所述的药物组合物，其中所述糖浓度为约 25 mg/mL 至约 80 mg/mL，优选为约 30 mg/mL 至约 50 mg/mL，更优选为约 40 mg/mL。

7. 根据权利要求 1 至 6 任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含氨基酸或氨基酸盐，所述氨基酸或氨基酸盐优选选自甘氨酸和精氨酸盐酸盐，更优选为甘氨酸。

30

8. 根据权利要求 7 所述的药物组合物，其中所述甘氨酸浓度为约 6mg/mL 至约 15mg/mL，优选为约 7mg/mL 至约 11mg/mL，更优选为约 9mg/mL。

9. 根据权利要求 1 至 8 任一项所述的药物组合物，其中所述抗体药物偶联物浓度为以蛋白浓度计，约 1 mg/mL 至约 100 mg/mL，约 10 mg/mL 至约 30 mg/mL，约 18mg/mL 至约 22 mg/mL。

10. 根据权利要求 1 至 9 任一项所述的药物组合物，其包含如下组分：

(a) 以蛋白浓度计，约 10 mg/mL 至约 30 mg/mL 的所述抗体药物偶联物，(b) 约 0.1 mg/mL 至约 0.3 mg/mL 的聚山梨酯，(c) 约 30 mg/mL 至约 50mg/mL 的蔗糖，(d) 约 7mg/mL 至约 11mg/mL 甘氨酸和(e) 约 20 mM 至约 40 mM 的组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂；所述组合物的 pH 为约 5.5-6.5；

优选地，所述药物组合物包含如下组分：

(a) 以蛋白浓度计，约 18 mg/mL 至约 22 mg/mL 的所述抗体药物偶联物，(b) 约 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 约 40 mg/mL 的蔗糖，(d) 约 9mg/mL 甘氨酸和 (e) 约 30 mM 组氨酸-盐酸组氨酸缓冲剂，所述组合物的 pH 为约 5.9-6.2。

11. 一种含抗体药物偶联物的冻干制剂，其特征在于所述冻干制剂复溶后可形成权利要求 1 至 10 任一项所述的药物组合物。

12. 制备含抗体药物偶联物的冻干制剂的方法，其中包括将权利要求 1 至 10 中任一项所述的药物组合物经冷冻干燥的步骤。

13. 一种含抗体药物偶联物的冻干制剂，所述冻干制剂通过将权利要求 1 至 10 中任一项所述的药物组合物经冷冻干燥获得。

14. 一种含抗体药物偶联物的复溶溶液，其特征在于所述复溶溶液是通过将权利要求 11 或 13 所述的冻干制剂经复溶制备获得。

15. 一种制品，其包括容器，该容器中装有如权利要求 1 至 10 中任一项所述的药物组合物、权利要求 11 或 13 所述的冻干制剂或权利要求 14 所述的复溶溶液。

16. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的药物组合物、根据权利要求 11 或 13 所述的冻干制剂、根据权利要求 14 所述的复溶溶液或权利要求 15 所述制品在制备用于治疗 TROP-2 介导的疾病或病症的药物中的用途。

17. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的药物组合物、根据权利要求 11 或

- 13 所述的冻干制剂、根据权利要求 14 所述的复溶溶液或权利要求 15 所述制品在制备治疗和/或预防肿瘤和癌症的药物中的用途，其中所述肿瘤和癌症优选头和颈鳞状细胞癌、头和颈癌、脑癌、神经胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、咽喉癌、咽鳞癌、口腔鳞癌、鼻咽癌、
- 5 食管癌、甲状腺癌、恶性胸膜间皮瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、肝胆癌、胰腺癌、胃癌、胃肠道癌、肠癌、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、透明细胞肾细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、皮肤癌、黑色素瘤、白血病、淋巴瘤、骨癌、软骨肉瘤、骨髓瘤、多发性骨髓瘤、骨髓异常增生综合征、库肯勃氏瘤、骨髓增生性肿瘤、鳞状细胞癌、尤因氏肉瘤、尿路上皮癌和梅
- 10 克尔细胞癌；更优选的，所述淋巴瘤选自：何杰金淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、弥漫性大 B-细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、原发性纵隔大 B-细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、富含 T-细胞/组织细胞的大 B-细胞淋巴瘤和淋巴浆细胞性淋巴瘤；所述肺癌选自：非小细胞肺癌和小细胞肺癌；所述白血病选自：慢性髓细胞样白血病、急性髓细胞样白血病、淋巴细胞白血病、成淋巴细胞性白血病、
- 15 急性成淋巴细胞性白血病、慢性淋巴细胞性白血病和髓样细胞白血病。