

抗 CLDN6 抗体、其抗体-药物偶联物及其医药用途

本申请要求 2024 年 02 月 01 日提交的中国专利申请(申请号:2024101420189) 的优先权。

技术领域

本披露属于生物技术领域，涉及抗 CLDN6 抗体、其抗体-药物偶联物及其医药用途。

背景技术

这里的陈述仅是提供与本披露有关的背景信息，而不必然地构成现有技术。

Claudin（以下记为CLDN）为紧密连接蛋白；人CLDN6（Claudin 6，以下记为 hCLDN6）是CLDN家族蛋白质的一种，是包含220个氨基酸残基的四次跨膜型膜蛋白质。CLDN6在成体组织中未检测到表达，但在多种实体瘤中有表达且表达较高，包括睾丸癌、卵巢癌、子宫内膜癌和非小细胞肺癌等。而与之序列相似性最高的 CLDN9在正常组织中有部分表达。

目前已公开的 CLDN6 抗体-药物偶联物（ADC）中，使用吡咯并苯并二氮杂卓（PBD）类毒素的 ADC 有 2 款，分别是 Abbvie 的 SC-004（WO2017096163A1）和 Daiichi 的 DS9606a（WO2019065964A1、WO2020196474A1、WO2020196712A1）。上述两款 ADC 的抗体部分均为同时靶向 CLDN6/9 的双特异性单克隆抗体，其中 SC-004 因为临床试验中表现出高毒低效而终止。由于 SC-004 的最大耐受量（maximum tolerated dose, MTD）极低，只有 0.2mg/kg，因此无法排除在起效剂量下是否存在 CLDN9 介导的脱靶（off-tumor）毒性。而另一款 DS9606a 的抗体部分则具有更好的细胞结合活性，并且可以较好地识别 CLDN6 变体 I143V，同时具有较好的内吞活性；其对 Fc 进行了 silenced 改造，PBD 也进行了减毒处理，但目前临床安全性未知。

在偶联毒性较大的 PBD 类毒素时，同时靶向 CLDN9 可能会带来 off-tumor 的风险。因此，临床上亟需开发特异性结合 CLDN6 的抗体及其 ADC 药物。

发明内容

本披露涉及一种抗 CLDN6 抗体，其包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别包含 SEQ ID NO: 12 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的氨基酸序列，和所述轻链可变区的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NO: 32、31、30、33、34 或 35 中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的

HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 是根据选自 Kabat、IMGT、Chothia、AbM 和 Contact 的相同的编号规则定义的。在一些实施方案中，其是根据 Kabat 编号规则定义的。在一些实施方案中，其是根据 IMGT 编号规则定义的。在一些实施方案中，其是根据 Chothia 编号规则定义的。
5 在一些实施方案中，其是根据 AbM 编号规则定义的。在一些实施方案中，其是根据 Contact 编号规则定义的。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和所述轻链可变区的 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 26、25、17、27、28 或 29 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。
10

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和所述轻链可变区的 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 26 或 25 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。
15

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和所述轻链可变区的 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 26 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。
20

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和所述轻链可变区的 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 25 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。
25

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或全人源抗体；优选为人源化抗体。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 32、31、30、33、34 或 35 的氨基酸序列。
30

在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 32 或 31 的氨基酸序列。

35 在一些实施方案中，如前一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 32 的氨

基酸序列。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 31 的氨基酸序列。

5 在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述的抗 CLDN6 抗体是抗体片段；优选地，所述的抗体片段为 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、scFv、dsFv 或 dAb。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述的抗 CLDN6 抗体包含重链恒定区和轻链恒定区；优选地，所述重链恒定区为人 IgG1、IgG2、
10 IgG3、IgG4 或其变体的重链恒定区，所述轻链恒定区为人 κ、λ 或其变体的轻链恒定区；更优选地，所述重链恒定区包含 SEQ ID NO: 20 的氨基酸序列，所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 21 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述的抗 CLDN6 抗体包含重链和轻链，其中所述重链包含 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列，和所述
15 轻链包含 SEQ ID NO: 38、37、36、39、40 或 41 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链包含 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO: 38 或 37 的氨基酸序列。

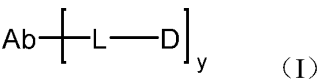
在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链包含
20 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO: 38 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链包含 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO: 37 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所
25 示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 37 所示。

另一方面，本披露涉及一种抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其为通
30 式 (I) 所示：



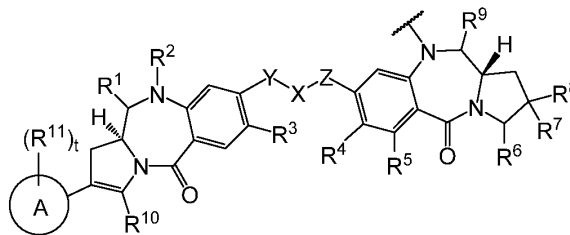
其中 Ab 为如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

L 为连接 Ab 和 D 的连接子；

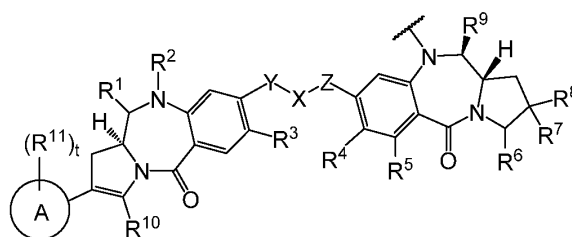
Ab 从其氨基酸处直接与 L 结合，或 Ab 从其糖链或重构的糖链与 L 结合；

35 y 为 1 至 10；

D 如通式(D1)、式(D1-S)或式(D1-R)所示:

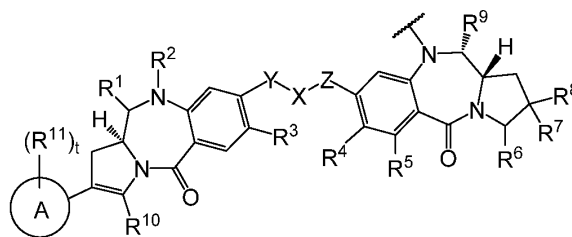


(D1)



(D1-S)

或



(D1-R)

5 其中:

X 为 $(CR^aR^b)_s$;

Y 和 Z 相同或不同, 且各自独立地选自氧原子、硫原子和 NR^c ;

R^1 选自氢原子、卤素和烷基; 或者 R^1 与它相连的碳原子一起形成 $C=O$;

R^2 为氢原子或烷基;

10 或者 R^1 和 R^2 与它们相连的碳原子和氮原子一起形成 $C=N$;

R^3 和 R^4 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、 OR^d 、卤素、卤代烷基、羟烷基、SH、S-烷基和 NR^eR^f ;

R^5 选自氢原子、卤素、烷基和卤代烷基;

15 R^6 选自氢原子、卤素、烷基和卤代烷基; 或者 R^6 与它相连的碳原子一起形成 $C=O$;

R^7 和 R^8 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基和卤代烷基; 或者 R^7 和 R^8 与其相连接的碳原子一起形成 $C=O$; 或者 R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, 其中所述环烷基或杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、氰基、 NR^gR^h 和 OR^i 中的一个或多个取代基所取

代；

R^9 为羟基或烷氧基；

R^{10} 选自氢原子、羟基、烷基、卤代烷基、羟烷基和烷氧基；

环 A 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基；

- 5 R^{11} 选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、 OR^j 、 $C(O)R^k$ 、 $C(O)OR^k$ 、环烷基、杂环基、环烷基烷基、杂环基烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基和杂芳基烷基；

R^a 和 R^b 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、氰基、氨基和羟烷基；

- 10 R^c 、 R^e 、 R^f 、 R^g 和 R^h 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基和卤代烷基；

R^d 、 R^i 和 R^j 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基，所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、氰基、氨基、羟基、烷氧基和羟烷基中的一个或多个取代基所取代；

- 15 R^k 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基和羟烷基；

s 为 1、2、3、4、5 或 6；

t 为 1、2、3、4 或 5。

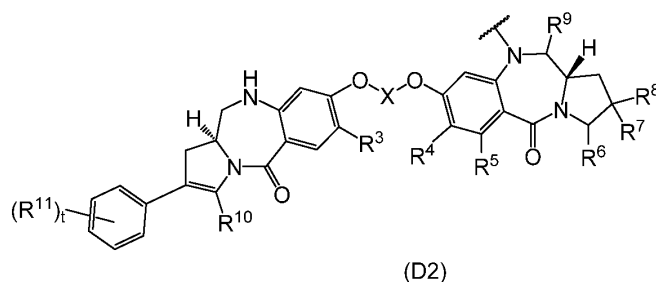
在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 Y 和 Z 均为氧原子。

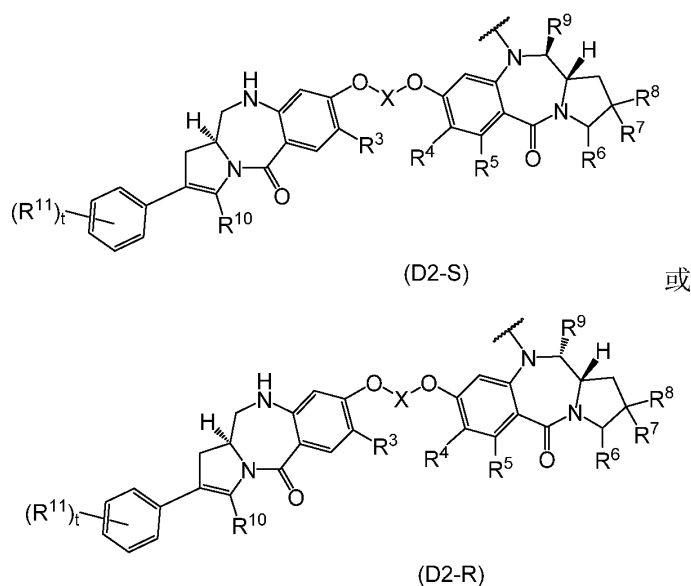
- 20 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^1 为氢原子。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^2 为氢原子。

- 25 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中环 A 为 6 至 10 元芳基；优选地，环 A 为苯基。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 D 如通式(D2)、式(D2-S)或式(D2-R)所示：





其中 X、 R^3 至 R^{11} 和 t 如通式 (I) 中所定义。

5 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 X 为 $(CR^aR^b)_s$ ， R^a 和 R^b 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基和 C_{1-6} 羟烷基；优选地，X 为 $(CH_2)_s$ ；其中 s 为 1、2、3、4、5 或 6。

10 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^3 和 R^4 均为 OR^d ， R^d 选自氢原子、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 羟烷基、3 至 6 元环烷基和 3 至 6 元杂环基，所述的 3 至 6 元环烷基或 3 至 6 元杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、氰基、氨基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代；优选地， R^3 和 R^4 均为 OR^d ，且 R^d 为 C_{1-6} 烷基或 3 至 6 元环烷基；更优选地， R^3 为 C_{1-6} 烷氧基，且 R^4 为 3 至 6 元环烷基氧基；最优选地， R^3 为甲氧基，且 R^4 为环丙基氧基。

15 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^5 为氢原子。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^6 为氢原子。

20 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^7 和 R^8 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基；或者 R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基或 3 至 6 元杂环基，其中所述的 3 至 6 元环烷基或 3 至 6 元杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、羟基和氨基中的一个或多个取代基所取代；优选地， R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基，其中所述的 3 至 6 元环烷基任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、羟基、 C_{1-6} 羟烷基

25

和氨基中的一个或多个取代基所取代；更优选地， R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成3至6元环烷基；最优选地， R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成环丙基。

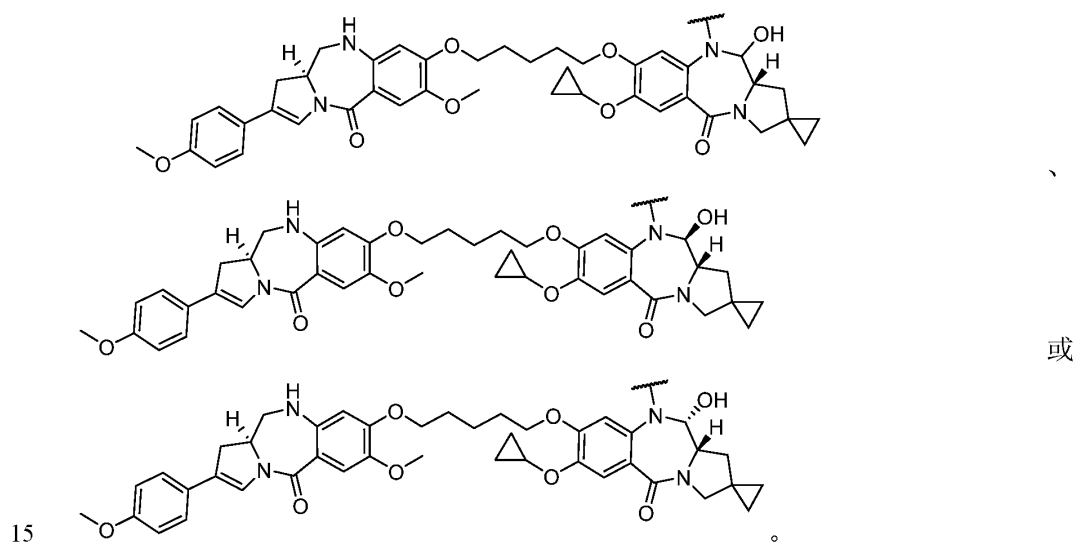
在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^9 为羟基。

- 5 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^{10} 选自氢原子、羟基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 羟烷基和 C_{1-6} 烷氧基；优选地， R^{10} 为氢原子。

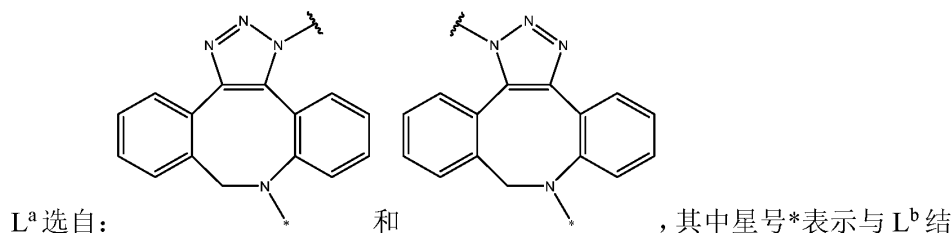
在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^{11} 选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、羟基和 C_{1-6} 烷氧基；

- 10 优选地， R^{11} 为氢原子或 C_{1-6} 烷氧基；更优选地， R^{11} 为甲氧基。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中D选自以下结构：



在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中L是 $-L^a-L^b-L^c-L^d-$ ，



- 20 L^b 选自 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-C(O)-NR^s-$ 、 $(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t2}-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-C(O)-NR^s-(CR^mR^n-CR^pR^q-O)_{t2}-$

$\text{CR}^m\text{R}^n\text{-C(O)-}$ 、 $-\text{C(O)-}(\text{CR}^m\text{R}^n\text{-CR}^p\text{R}^q)_{t1}\text{-NR}^s\text{-C(O)-}(\text{CR}^m\text{R}^n\text{-CR}^p\text{R}^q\text{-O})_{t2}\text{-}(\text{CR}^m\text{R}^n\text{-CR}^p\text{R}^q)_{t3}\text{-C(O)-}$ 和 $-(\text{CR}^m\text{R}^n)_{t4}\text{-O-C(O)-}$;

L^c 为由2至7个氨基酸构成的肽残基;

L^d 为 $-\text{NR}^w\text{-W-CR}^x\text{R}^y\text{O-C(O)-}$ 、 $-\text{NR}^w\text{-CR}^x\text{R}^y\text{O-R}^z\text{-C(O)-}$ 或化学键;

5 R^m 、 R^n 、 R^p 、 R^q 、 R^u 、 R^v 、 R^x 和 R^y 相同或不同,且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基,所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

10 或者 R^m 和 R^n 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, R^p 和 R^q 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, R^u 和 R^v 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, R^x 和 R^y 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基,所述的环烷基或杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

15 或者 R^m 和 R^p 与它们各自相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基,所述的环烷基或杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

R^s 、 R^w 和 R^z 相同或不同,且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基,所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

20 W 为芳基或杂芳基,所述芳基或杂芳基各自独立地任选被选自卤素、羟基、氰基、氨基、烷基、卤代烷基和烷氧基中的一个或多个取代基所取代;优选地, W 为苯基或5或6元杂芳基,所述苯基或5或6元杂芳基各自独立地任选被选自卤素、氧代基、羟基、氰基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基和 C_{1-6} 烷氧基中的一个或多个取代基所取代;

$t1$ 、 $t2$ 、 $t3$ 和 $t4$ 相同或不同,且各自独立地为1、2、3、4、5或6。

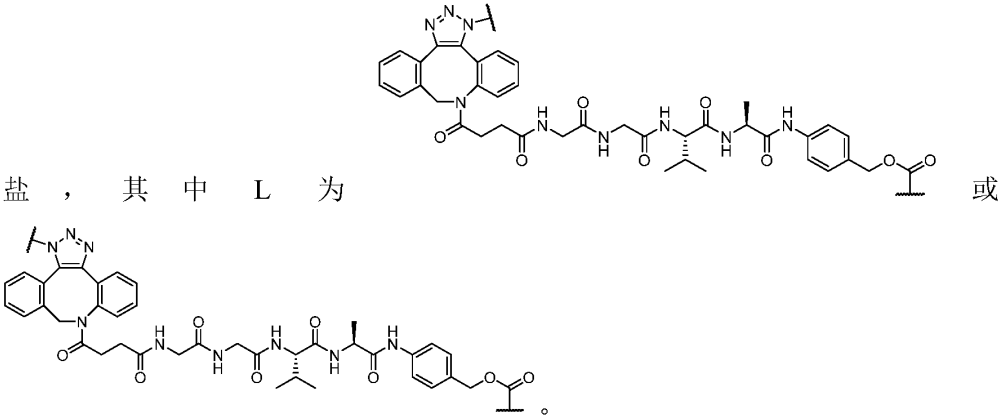
30 在一些实施方案中,如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐,其中 L^b 为 $-\text{C(O)-}(\text{CR}^m\text{R}^n\text{-CR}^p\text{R}^q)_{t1}\text{-C(O)-}$,且 R^m 、 R^n 、 R^p 和 R^q 相同或不同,且各自独立地为氢原子或 C_{1-6} 烷基, $t1$ 为1、2、3、4、5或6;优选地, L^b 为 $-\text{C(O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)-}$ 。

35 在一些实施方案中,如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐,其中 L^c 选自苯丙氨酸(F)、丙氨酸(A)、脯氨酸(P)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、赖氨酸(K)、瓜氨酸(Cit)、丝氨酸(S)、谷氨酸(E)和天冬氨酸(D)中的氨基酸形成的肽残基,所述肽残基各自独立地任选被选自卤素、羟基、氰基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、3至6元环烷基、3至6元杂

环基、6至10元芳基和5至10元杂芳基中的一个或多个取代基所取代；优选地， L^c 选自-GGVA-（SEQ ID NO：45）、-GG-(D-)VA-（SEQ ID NO：46）、-VA-、-GGFG-（SEQ ID NO：44）、-GGPI-（SEQ ID NO：47）、-GGVCit-（SEQ ID NO：48）、-GGVK-（SEQ ID NO：49）、-GG-(D-)PI-（SEQ ID NO：50）和-GGPL-（SEQ ID NO：51），其中(D-)V表示D-缬氨酸，(D-)P表示D-脯氨酸；更优选地， L^c 为-GGVA-（SEQ ID NO：45）。

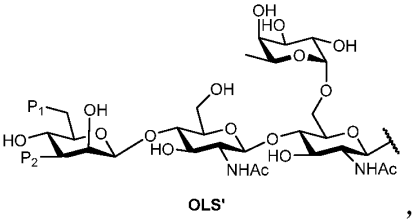
在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 L^d 为-NR^w-W-CR^xR^yO-C(O)-，R^w、R^x和R^y相同或不同，且各自独立地为氢原子或C₁₋₆烷基，且W选自1,4-苯基、2,5-吡啶基、3,6-吡啶基、2,5-噻吩基和2,5-噻吩基；优选地， L^d 为-NH-W-CH₂-O-C(O)-，且W为1,4-苯基。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的



在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中Ab从其297位的氨基酸残基直接与L结合，或Ab从其297位的糖链或重构的糖链与L结合；优选地，Ab从其Asn297处重构的糖链与L结合。

在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述重构的糖链结构为：



式中，波浪线~表示与Ab重链第297位的Asn结合；

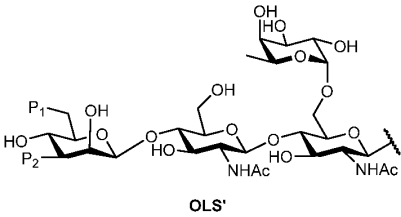
P₁和P₂相同或不同，且各自独立地选自羟基、*-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_s¹-和*-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_s²-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-CR^{X1}R^{Y1}-O)_s³-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_s⁴-，其中R^{P1}、R^{Q1}、R^{S1}、R^{T1}、R^{X1}和R^{Y1}相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆羟烷基、羟基、氰基、氨基、3至6元环

烷基、3至6元杂环基、6至10元芳基和5至10元杂芳基，所述的3至6元环烷基、3至6元杂环基、6至10元芳基和5至10元杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₁₋₆烷氧基、C₁₋₆羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代；星号*表示与所述连接子L结合；

5 s^1 为 1-10，优选为 1-5； s^2 为 0-10，优选为 1-5； s^3 为 1-10，优选为 1-5； s^4 为 0-10，优选为 1-5；

条件是， P_1 、 P_2 不同时为羟基或 $^*-(CH_2CH_2O)s^1-$ 。

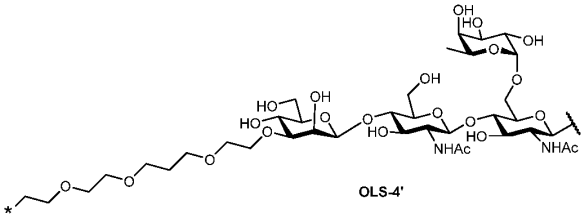
在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述重构的糖链结构为：



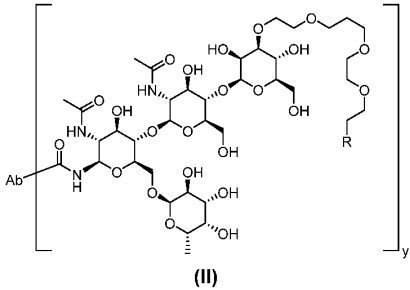
10

式中，波浪线~表示与 Ab 重链第 297 位的 Asn 结合；其中 P_1 为羟基、 P_2 为 $^*-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_{s2}-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-CR^{X1}R^{Y1}-O)_{s3}-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_{s4}-$ ，其中 R^{P1} 、 R^{Q1} 、 R^{S1} 、 R^{T1} 、 R^{X1} 和 R^{Y1} 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、C₁₋₆烷基和 C₁₋₆卤代烷基， $s2$ 为 1， $s3$ 为 1， $s4$ 为 1。

15 在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述重构的糖链结构为：



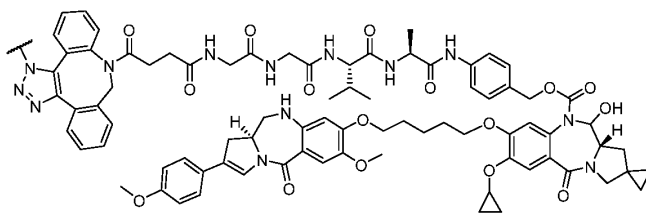
在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其如通式 (II) 所示：



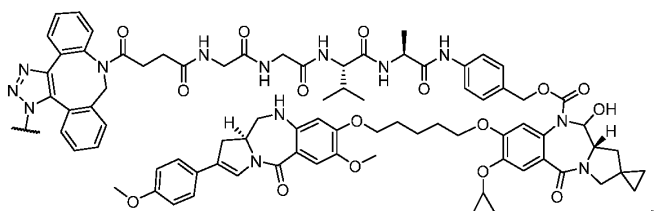
20

其中：

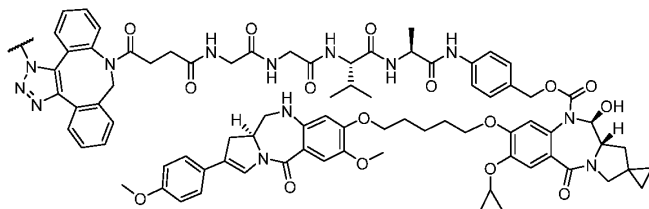
R=



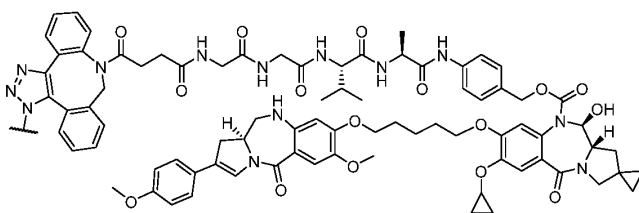
或



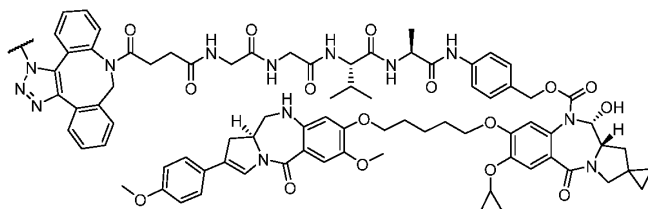
R=



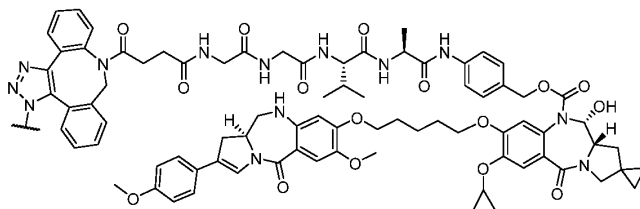
或



R=



或

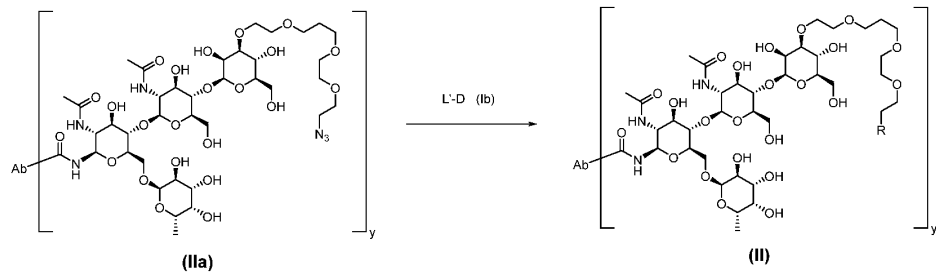


或

Ab 为如前任一所述的抗 CLDN6 抗体;

- 5 y 为 1 至 10; 优选地, y 为 1 至 4; 更优选地, y 为 1 至 2; 最优选地, y 为 2。
另一方面, 本披露涉及一种制备如通式 (II) 所示的抗体-药物偶联物或其药

学上可接受的盐的方法，其包括以下步骤：

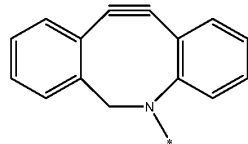


通式(IIa)所示的化合物或其盐与通式(Ib)所示的化合物或其盐反应，得到通式(II)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐；

5

其中：

L'是 L^{aa}-L^b-L^c-L^d，



L^{aa}选自：，其中星号*表示与 L^b 结合；

Ab 为如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

y 为 1 至 10；优选地，y 为 1 至 4；更优选地，y 为 1 至 2；最优选地，y 为 2；

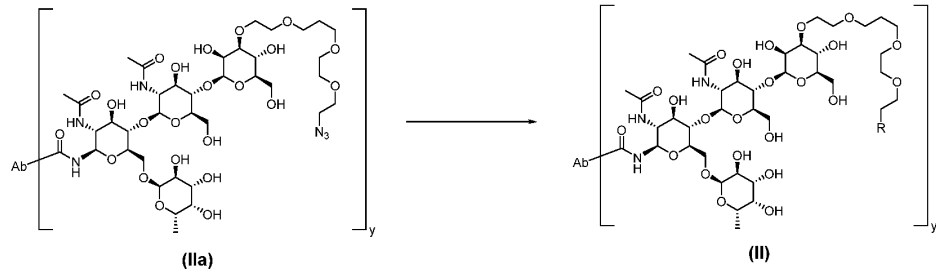
10

L^b、L^c、L^d的定义如通式(I)中所定义；

R 的定义如通式(II)中所定义；

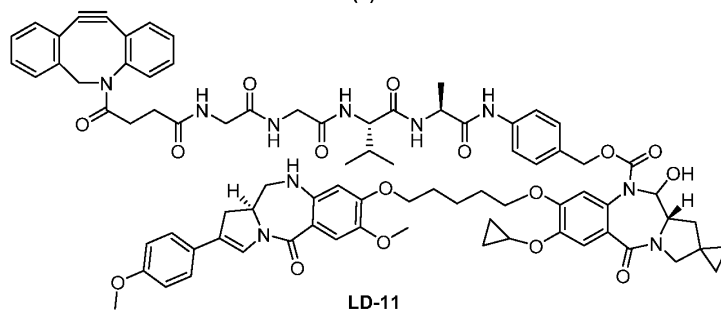
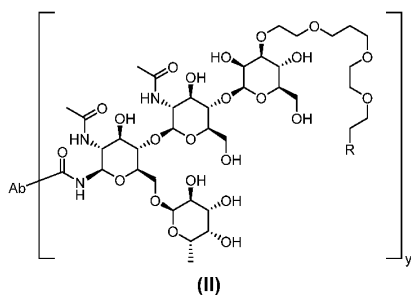
D 的定义如通式(I)中所定义。

在一些实施方案中，本披露涉及一种制备如通式(II)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐的方法，其包括以下步骤：



15

通式(IIa)所示的化合物或其盐与化合物 LD-11 或其盐发生反应，得到通式(II)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐；



其中:

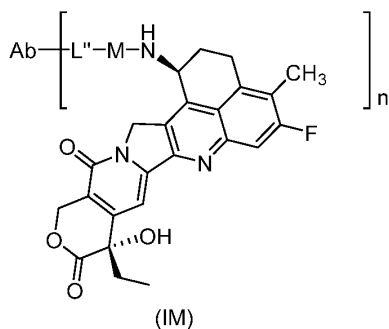
Ab 为如前一项所述的抗 CLDN6 抗体;

y 为 1 至 10; 优选地, y 为 1 至 4; 更优选地, y 为 1 至 2; 最优选地, y 为 2;

5 R 的定义如通式 (II) 中所定义。

在一些实施方案中, 如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 y 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或任意两数值之间数值的均值; 优选地, y 为 1-10; 更优选地, y 为 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3, 1-2, 或 2-8, 或 2-7, 或 2-6, 或 2-5, 或 2-4, 或 3-8, 或 3-7, 或 3-6, 或 4-8, 或 4-7, 或 4-6, 或 4-5 的均值; 最优选地, y 为 2。

另一方面, 本披露涉及一种抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其为通式(III)所示:



其中 Ab 为如前一项所述的抗 CLDN6 抗体;

15 M 选自 $-O-(CR^{12a}R^{12b})_{m1}-CR^{13a}R^{13b}-C(O)-$ 、 $-O-CR^{13a}R^{13b}-(CR^{12a}R^{12b})_{m1}-$ 、 $-O-CR^{13a}R^{13b}-$ 、 $-NH-(CR^{12a}R^{12b})_{m1}-CR^{13a}R^{13b}-C(O)-$ 和 $-S-(CR^{12a}R^{12b})_{m1}-CR^{13a}R^{13b}-C(O)-$;

R^{12a} 和 R^{12b} 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

或者, R^{12a} 和 R^{12b} 与其相连接的碳原子一起形成环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

5 R^{13a} 选自卤素、烷基、卤代烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氰基、氨基、羧基、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、杂环基烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基和杂芳基烷基, 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

10 R^{13b} 选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、羟基、羟烷基、烷氧基、氰基、氨基、 $-(CR^{19a}R^{19b})_{m2}-NR^{20a}R^{20b}$ 、 $-(CR^{19a}R^{19b})_{m2}-COOH$ 、环烷基、环烷基烷基、烷氧基烷基、杂环基、杂环基烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基和杂芳基烷基, 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

15 或者, R^{13a} 和 R^{13b} 与其相连接的碳原子一起形成环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

或者, R^{12a} 和 R^{13a} 与其相连的碳原子一起形成环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 20 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

R^{19a} 和 R^{19b} 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、氨基、氰基、硝基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

或者, R^{19a} 和 R^{19b} 与其相连接的碳原子一起形成环烷基、杂环基、芳基或杂芳基, 25 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

R^{20a} 和 R^{20b} 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地 30 地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

或者 R^{20a} 和 R^{20b} 与它们相连的氮原子一起形成杂环基, 所述的杂环基任选地被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

35 $m1$ 为 0、1、2、3 或 4;

$m2$ 为 0、1、2、3、4、5 或 6;

n 为 1 至 10;

L"为接头单元。

在一些实施方案中, 如前所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 M 为-O-(CR^{12a}R^{12b})_{m1}-CR^{13a}R^{13b}-C(O)-;

- 5 其中, R^{12a} 和 R^{12b} 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素和 C₁₋₆ 烷基;
R^{13a} 为 3 至 6 元环烷基-C₁₋₆ 烷基或 3 至 6 元环烷基;
R^{13b} 选自氢原子、C₁₋₆ 卤代烷基和 3 至 6 元环烷基;
或者, R^{13a} 和 R^{13b} 与其相连接的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基;
m1 为 0、1、2、3 或 4。

- 10 在一些实施方案中, 如前任一项目所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 M 为-O-(CR^{12a}R^{12b})_{m1}-CR^{13a}R^{13b}-C(O)-;

其中, R^{12a} 和 R^{12b} 相同或不同, 且各自独立地为氢原子或 C₁₋₆ 烷基;

R^{13a} 为 3 至 6 元环烷基;

R^{13b} 选自氢原子、C₁₋₆ 卤代烷基和 3 至 6 元环烷基;

- 15 或者, R^{13a} 和 R^{13b} 与其相连接的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基;
m1 为 0、1、2、3 或 4。

在一些实施方案中, 如前任一项目所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中-L"-为-L¹-L²-L³-L⁴-,

其中: L¹ 选自-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-W¹-C(O)-、-CH₂-C(O)-NR¹⁴-W¹-C(O)-和-

- 20 C(O)-W¹-C(O)-, W¹ 选自 C₁₋₆ 亚烷基和 C₁₋₆ 亚烷基-3 至 6 元环烷基, 其中所述的 C₁₋₆ 亚烷基或 C₁₋₆ 亚烷基-3 至 6 元环烷基各自独立地任选被选自卤素、羟基、氰基、氨基、烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、C₁₋₆ 烷氧基和 3 至 6 元环烷基中的一个或多个取代基所取代;

- L² 选自 -NR¹⁵(CH₂CH₂O)_{p1}CH₂CH₂C(O)-、-NR¹⁵(CH₂CH₂O)_{p1}CH₂C(O)-、-S(CH₂)_{p1}C(O)-和化学键, 其中 p1 为 1 至 20 的整数;

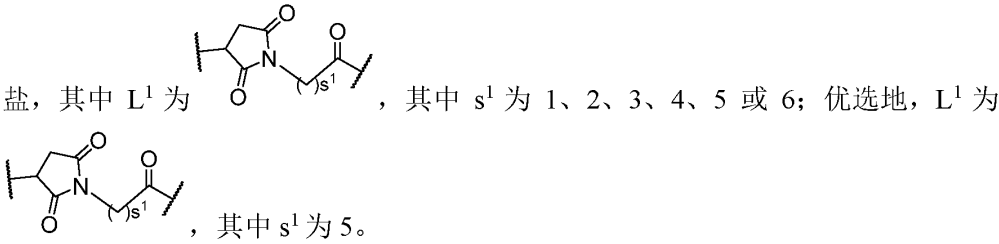
L³ 为由 2 至 7 个氨基酸残基构成的肽残基, 其中所述的氨基酸残基选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸和天冬氨酸中的氨基酸形成的氨基酸残基, 并任选地被选自卤素、羟基、氰基、氨基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、C₁₋₆ 烷氧基和 3 至 6 元环烷基中的一个或多个取代基所取代;

- 30 L⁴ 选自-NR¹⁶(CR¹⁷R¹⁸)_q-、-C(O)NR¹⁶-、-C(O)NR¹⁶(CH₂)_q-和化学键, 其中 q 为 1、2、3、4、5 或 6;

R¹⁴、R¹⁵ 和 R¹⁶ 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基和 C₁₋₆ 羟烷基;

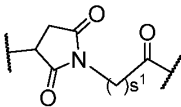
- 35 R¹⁷ 和 R¹⁸ 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、羟基、C₁₋₆ 烷氧基、C₁₋₆ 卤代烷氧基和 C₁₋₆ 羟烷基。

在一些实施方案中, 如前任一项目所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的



在一些实施方案中, 如前任一所述, 的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 L^4 为 $-NR^{16}(CR^{17}R^{18})_q-$, 其中 R^{16} 、 R^{17} 和 R^{18} 相同或不同, 且各自独立地为氢原子或 C_{1-6} 烷基, 且 q 为 1 或 2; 优选地, L^4 为 $-NR^{16}(CR^{17}R^{18})_q-$, 其中 R^{16} 、 R^{17} 和 R^{18} 均为氢原子, 且 q 为 1。

在一些实施方案中, 如前任一所述, 的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 $-L''-$ 为 $-L^1-L^2-L^3-L^4-$,

L^1 为 , 其中 s^1 为 1、2、3、4、5 或 6;

L^2 为化学键;

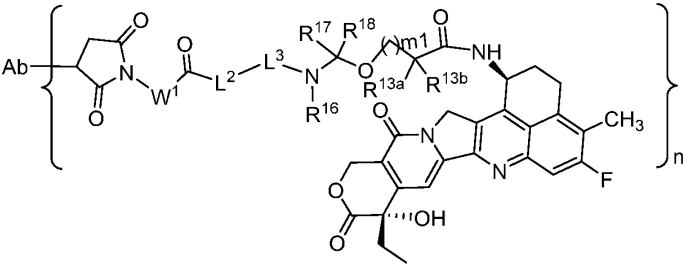
L^3 为四肽残基; 优选地, L^3 为 GGFG (SEQ ID NO:44) 所示的四肽残基;

L^4 为 $-NR^{16}(CR^{17}R^{18})_q-$, 其中 R^{16} 、 R^{17} 和 R^{18} 相同或不同, 且各自独立地为氢原子或 C_{1-6} 烷基, q 为 1 或 2;

其中所述 $-L''-$ 的 L^1 端与 Ab 相连, L^4 端与 Y 相连。

在一些实施方案中, 如前任一所述, 的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 R^{12a} 和 R^{12b} 相同或不同, 且各自独立地为氢原子或 C_{1-6} 烷基; 优选地, R^{12a} 和 R^{12b} 均为氢原子。

在一些实施方案中, 如前任一所述, 的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其为通式(IIM)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐:



(IIM)

其中,

Ab 为如前任一所述, 的抗 CLDN6 抗体;

m_1 为 0、1、2、3 或 4;

n 为 1 至 10;

R^{13a} 为 3 至 6 元环烷基- C₁₋₆ 烷基或 3 至 6 元环烷基;

R^{13b} 选自氢原子、 C_{1-6} 卤代烷基和 3 至 6 元环烷基;

或者, R^{13a} 和 R^{13b} 与其相连接的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基;

W¹选自 C₁₋₆亚烷基和 C₁₋₆亚烷基-3至6元环烷基，其中所述的 C₁₋₆亚烷基和 C₁₋₆亚烷基-3至6元环烷基各自独立地任选自选自卤素、羟基、氰基、氨基、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基、C₁₋₆烷氧基和3至6元环烷基的一个或多个取代基所取代；

L² 选自 -NR¹⁵(CH₂CH₂O)p¹CH₂CH₂C(O)-、-NR¹⁵(CH₂CH₂O)p¹CH₂C(O)-、-S(CH₂)p¹C(O)- 和化学键，其中 p¹ 为 1 至 20；

L³ 为由 2 至 7 个氨基酸残基构成的肽残基，其中所述的氨基酸残基选自苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸和天冬氨酸中的氨基酸形成的肽残基，并任选地被选自卤素、羟基、氰基、氨基、C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 卤代烷基、C₁₋₆ 烷氧基和 3 至 6 元环烷基中的一个或多个取代基所取代；

R¹⁵和R¹⁶选自氢原子、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代烷基和C₁₋₆羟烷基;

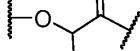
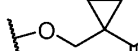
R¹⁷和R¹⁸相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、C₁₋₆烷基、C₁₋₆卤代
15 烷基和C₁₋₆羟烷基。

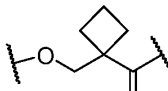
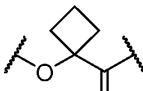
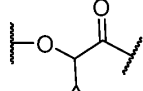
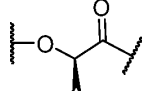
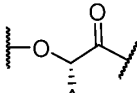
在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^{13a} 为 3 至 6 元环烷基； R^{13b} 为氢原子；或者， R^{13a} 和 R^{13b} 与其相连接的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基。

20 在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 m1 为 0 或 1；优选地，m1 为 0。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的

盐, 其中 M 选自:

、、、、

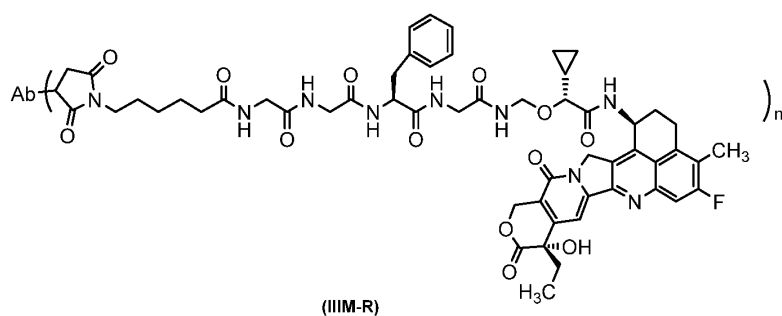
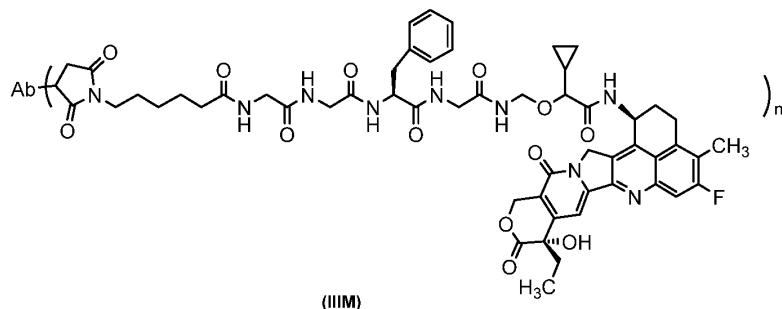
和; 优选地, M 为 (包括和); 其中 M 的 O-端与 L" 相连。

25 在一些实施方案中，如前一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 L^2 为化学键。

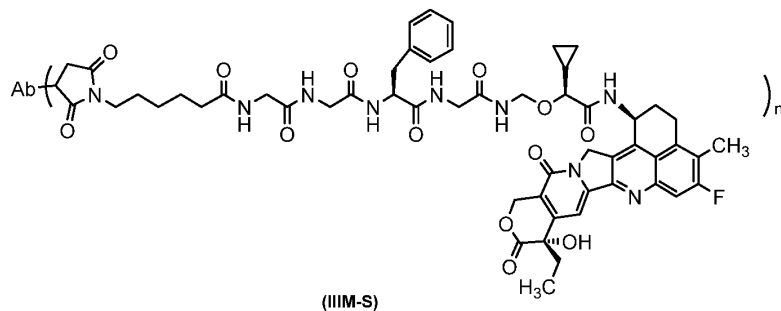
在一些实施方案中,如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐,其中L³为四肽残基;优选地,L³为GGFG(SEQ ID NO:44)所示的四肽残基。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的

盐，其为通式(IIIM)、通式(IIIM-R)或通式(IIIM-S)所示：



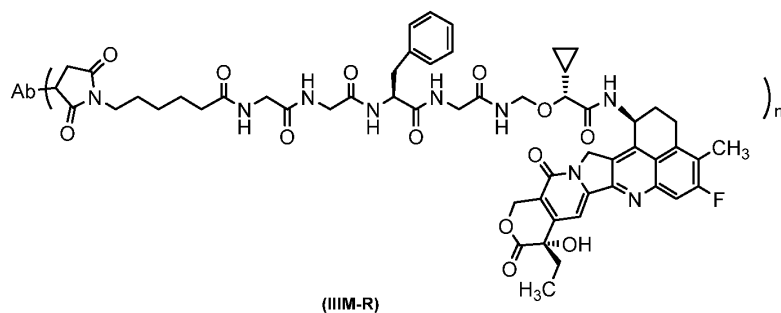
或



5 Ab 为如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

n 为 1 至 10；优选地，n 为 2 至 8；更优选地，n 为 4 至 8；最优选地，n 为 8。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其为通式(IIIM-R)所示：



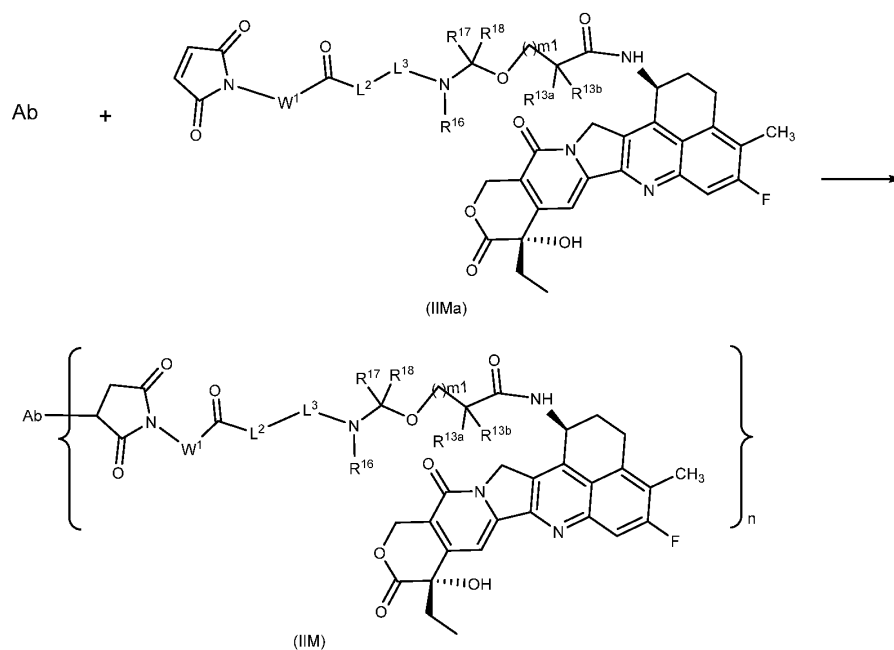
10 Ab 为如前任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

n 为 1 至 10；优选地，n 为 2 至 8；更优选地，n 为 4 至 8；最优选地，n 为 8。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的

盐，其中 n 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或任意两数值之间数值的均值；优选地， n 为 1-10；更优选地， n 为 1-8，1-7，1-6，1-5，1-4，1-3，1-2，或 2-8，或 2-7，或 2-6，或 2-5，或 2-4，或 3-8，或 3-7，或 3-6，或 4-8，或 4-7，或 4-6，或 4-5 的均值；最优选地， n 为 8。

- 5 另一方面，本披露涉及一种制备如通式(IIM)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐的方法，其包括以下步骤：



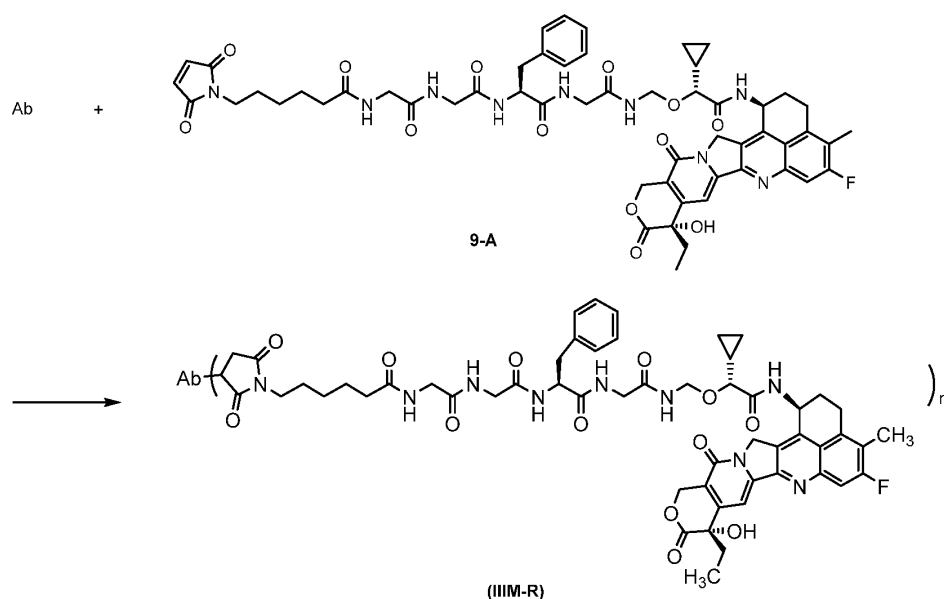
Ab 还原后，与通式(IIMa)所示的化合物或其盐发生偶联反应，得到通式(IIM)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐；

- 10 其中：

Ab 为如前任一所述抗 CLDN6 抗体；

W^1 、 L^2 、 L^3 、 R^{13a} 、 R^{13b} 、 R^{16} 至 R^{18} 、 $m1$ 和 n 如通式(IIM)中所定义。

在一些实施方案中，本披露涉及一种制备如通式(IIM-R)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐的方法，其包括以下步骤：



Ab 还原后，与化合物 9-A 或其盐发生偶联反应，得到通式(IIM-R)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐。

5 在一些实施方案中，本披露通式(IIM)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐的制备方法，可参考通式(IIM-R)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐的制备方法，采用相应的手性原料替换化合物 9-A 得到。

10 另一方面，本披露涉及一种药物组合物，其包含如前一项所述的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

在一些实施方案中，本披露涉及一种药物组合物，其包含如前一项所述的抗 CLDN6 抗体以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

15 在一些实施方案中，本披露涉及一种药物组合物，其包含如通式(I)、通式(II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

在一些实施方案中，基于药物组合物的总重量，所述的药物组合物含有 0.01-99.99%的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐。

20 在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.1-99.9%的前述配体-药物偶联物或其药学上可接受的盐、如前一项所述的抗 CLDN6 抗体、如通式(I)、通式(II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐。

在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.5%-99.5%的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐。

5 在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 1%-99%的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐。

在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 2%-98%的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐。

10 在一些实施方案中，基于药物组合物的总重量，所述的药物组合物含有 0.01%-99.99%的药学上可接受的稀释剂或赋形剂。

在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.1%-99.9%的药学上可接受的稀释剂或赋形剂。

15 在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 0.5%-99.5%的药学上可接受的赋形剂。

在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 1%-99%的药学上可接受的稀释剂或赋形剂。

在一些实施方案中，所述的药物组合物含有 2%-98%的药学上可接受的稀释剂或赋形剂。

20 另一方面，本披露涉及分离的核酸，其编码如前一项所述的抗 CLDN6 抗体。

另一方面，本披露涉及一种宿主细胞，其包含如上所述的分离的核酸。

25 另一方面，本披露涉及一种预防或治疗肿瘤的方法，所述方法包括向受试者施用如前一项所述的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或如前所述的药物组合物。

在一些实施方案中，本披露涉及一种在制备预防或治疗肿瘤的药物中的用途，包括向受试者施用如前一项所述的抗 CLDN6 抗体或如前所述的药物组合物。

30 在一些实施方案中，本披露涉及一种在制备预防或治疗肿瘤的药物中的用途，包括向受试者施用如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或如前所述的药物组合物。

35 另一方面，本披露涉及一种用作药物的如前一项所述的抗 CLDN6 抗体、如通式 (I)、通式 (II)、通式(IM)、通式(IIM)、通式(IIM)、通式(IIM-R)或通式(IIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或如前所述的药物组合物。在一些实施方案中，所述药物用于预防或治疗肿瘤。

在一些实施方案中，本披露涉及一种用作药物的抗 CLDN6 抗体或其药物组合

物。在一些实施方案中，所述药物用于预防或治疗肿瘤。

在一些实施方案中，本披露涉及一种用作药物的如通式(I)、通式(II)、通式(III)、通式(IIIM)、通式(IIIM-R)或通式(IIIM-S)所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或如前所述的药物组合物。在一些实施方案中，所述药物用于预防或治疗肿瘤。

本披露中所述的肿瘤选自卵巢癌、肺癌、子宫内膜癌、胃癌、宫颈癌、睾丸癌、胎盘绒毛膜癌、肾癌、尿路上皮癌、大肠癌、前列腺癌、多形性神经胶质母细胞瘤、脑肿瘤、胰腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、肝癌、膀胱癌和食管癌；优选地，所述肿瘤选自卵巢癌、肺癌、子宫内膜癌和睾丸癌；更优选地，所述肿瘤为卵巢癌。

附图说明

图1至图7表示各抗体与CLDN3和CLDN4的结合情况；其中，A图表示与CLDN3的结合，B图表示与CLDN4的结合。

图8A和图8B表示ADC在PA-1体内模型中的药效评价。

图8C表示ADC在OVCA3体内模型中的药效评价。

图8D表示ADC在OV90体内模型中的药效评价。

具体实施方式

术语

为了更容易理解本披露，以下对某些技术和科学术语进行了描述。除非在本文中另有明确定义，本文使用的全部技术和科学术语具有与本领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。

说明书和权利要求书中所用的单数形式“一个”、“一种”和“所述”包括复数指代，除非上下文清楚表明并非如此。

除非上下文另外清楚要求，否则在专利说明书和权利要求书中，应将词语“包含”、“具有”、“包括”等理解为“包括但不限于”的意义，而不是排他性或穷举性意义。

术语“和/或”，意指包含“和”与“或”两种含义。例如短语“A、B和/或C”旨在涵盖以下方面中的每一个：A、B和C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A和C；A和B；B和C；A(单独)；B(单独)；和C(单独)。

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。

术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸，以及以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸，以及后来修饰的那些氨基酸，例如羟脯氨酸、γ-羧基谷氨酸和O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指与天然存在的氨基酸具有相同基本化学

结构（即与氢、羧基、氨基和 R 基团结合的 α 碳）的化合物，例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砷、甲硫氨酸甲基砷。此类类似物具有修饰的 R 基团（例如，正亮氨酸）或修饰的肽骨架，但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构，但是以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的化学化合物。

术语“氨基酸突变”包括氨基酸取代（也称氨基酸替换）、缺失、插入和修饰。可以进行取代、缺失、插入和修饰的任意组合来实现最终构建体，只要最终构建体拥有期望的特性，例如降低或对 Fc 受体的结合。氨基酸序列缺失和插入包括在多肽链的氨基端和/或羧基端的缺失和插入。具体的氨基酸突变可以是氨基酸取代。

在一个实施方案中，氨基酸突变是非保守性的氨基酸取代，即将一个氨基酸用具有不同结构和/或化学特性的另一种氨基酸替换。氨基酸取代包括由非天然存在的氨基酸或由 20 种天然氨基酸的衍生物（例如 4-羟脯氨酸、3-甲基组氨酸、鸟氨酸、高丝氨酸、5-羟赖氨酸）替换。可以使用本领域中公知的遗传或化学方法生成氨基酸突变。遗传方法可以包括定点诱变、PCR，基因合成等。预计基因工程以外的改变氨基酸侧链基团的方法，如化学修饰也可能是可用的。本文中可使用各种名称来指示同一氨基酸突变。本文中，可采用位置+氨基酸残基的方式表示特定位置的氨基酸残基，例如 82aR，表示在 82a 位点上的氨基酸残基为 R。S82aR 则表示第 82a（也称 82A）位点上的氨基酸残基由原来的 S 突变为了 R。

术语“抗体”以最广义使用，并且涵盖各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体，多克隆抗体；单特异性抗体，多特异性抗体（例如双特异性抗体），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。

术语“双特异性抗体”指能够与两个不同抗原或同一抗原的至少两个不同抗原表位特异性结合的抗体（包括抗体或其抗原结合片段，如单链抗体）。现有技术已公开了各种结构的双特异性抗体，根据 IgG 分子的完整性可分为 IgG 样双特异性抗体和抗体片段型双特异性抗体，根据抗原结合区域的数量可分为二价、三价、四价或更多价的双特异性抗体，根据结构是否对称可分为对称结构双特异性抗体和不对称结构双特异性抗体。其中，基于抗体片段的双特异性抗体，例如缺乏 Fc 片段的 Fab 片段，其通过将 2 个或多个 Fab 片段结合在一个分子中形成双特异性抗体，其具有较低的免疫原性，且分子量小，具有较高的肿瘤组织渗透性，该类型的典型的抗体结构如 F(ab)₂、scFv-Fab、(scFv)₂-Fab；IgG 样双特异性抗体（例如具有 Fc 片段），这类抗体相对分子量较大，Fc 片段有助于抗体的纯化，并提高其溶解性、稳定性，Fc 部分还可能会与受体 FcRn 结合，增加抗体血清半衰期。

“天然抗体”指天然存在的免疫球蛋白分子。例如，天然 IgG 抗体是约 150,000 道尔顿的异四聚糖蛋白，由二硫键结合的两条相同轻链和两条相同重链构成。从 N 至 C 端，每条重链具有一个可变区（VH），又称作可变重域、重链可变区，接着是

重链恒定区，天然 IgG 重链恒定区通常含三个恒定域（CH1、CH2 和 CH3）。类似地，从 N 至 C 端，每条轻链具有一个可变区（VL），又称作可变轻域，或轻链可变域，接着是一个恒定轻域（轻链恒定区、CL）。术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文可互换使用，指具有与天然抗体结构基本类似的结构或具有如本文所限定的 Fc 区的重链的抗体。天然完整抗体轻链包括轻链可变区 VL 及恒定区 CL，VL 处于轻链的氨基末端，轻链恒定区包括 κ 链及 λ 链；重链包括可变区 VH 及恒定区（CH1、CH2 及 CH3），VH 处于重链的氨基末端，恒定区处于羧基末端，其中 CH3 最接近多肽的羧基末端，重链可属于任何同种型，包括 IgG（包括 IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4 亚型）、IgA（包括 IgA1 及 IgA2 亚型）、IgM 及 IgE。

术语抗体“可变区”或“可变域”指抗体重链或轻链中涉及抗体结合抗原的域。本文中，抗体重链可变区（VH）和轻链可变区（VL）各包含四个保守的框架区（FR）和三个互补决定区（CDR）。其中，术语“互补决定区”或“CDR”指可变结构域内主要促成与抗原结合的区域；“框架”或“FR”是指除 CDR 残基之外的可变结构域残基。VH 包含 3 个 CDR 区：HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；VL 包含 3 个 CDR 区：LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。每个 VH 和 VL 由从氨基末端（也称 N 末端）排到羧基末端（也称 C 末端）按以下顺序排列的三个 CDR 和四个 FR 构成：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

可以通过各种公知方案来确定 CDR 的氨基酸序列边界，例如：“Kabat”编号规则（参见 Kabat 等（1991），“Sequences of Proteins of Immunological Interest”，第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD）、“Chothia”编号规则、“ABM”编号规则、“contact”编号规则（参见 Martin, ACR. Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[J]. 2001）和 ImMunoGenTics（IMGT）编号规则（Lefranc, M.P.等, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77（2003）；Front Immunol. 2018 Oct 16;9:2278）等；各种编号系统之间的对应关系是本领域技术人员熟知的。示例性的，如下表 1 中所示。

表 1. CDR 编号系统之间的关系

CDR	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
HCDR1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
HCDR2	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
HCDR3	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
LCDR1	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
LCDR2	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
LCDR3	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

除非另有说明，本披露实施例中的可变区和 CDR 均适用“Kabat”编号规则。

术语“抗体片段”指不同于完整抗体的分子，其包含完整抗体的部分，所述部分与完整抗体所结合的抗原相结合。抗体片段的实例包括但不限于 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、单域抗体、单链 Fab (scFab)、双抗体、线性抗体、单链抗体（例如 scFv）；以及由抗体片段形成的多特异性抗体。

5 术语“Fc 区”或“片段可结晶区”用于定义抗体重链的 C 末端区域，包括天然 Fc 区和改造的 Fc 区。在一些实施方案中，Fc 区包含了相同或不同的两个亚基。在一些实施方案中，人 IgG 重链的 Fc 区定义为从 Cys226 位置处的氨基酸残基或从 Pro230 延伸至其羧基末端。用于本文所述抗体的合适 Fc 区包括人 IgG1、IgG2 (IgG2A、IgG2B)、IgG3 和 IgG4 的 Fc 区。在一些实施方案中，Fc 区的边界还可以变化，例如缺失 Fc 区的 C 末端赖氨酸（根据 EU 编号系统的残基 447）或缺失 Fc 区的 C 末端甘氨酸和赖氨酸（根据 EU 编号系统的残基 446 和 447）。除非另有说明，Fc 区的编号规则为 EU 编号系统，又称作 EU 索引。

术语“嵌合”抗体指抗体中的重和/或轻链的一部分自特定的来源或物种衍生，而重和/或轻链的剩余部分自另外的不同来源或物种衍生的抗体。

15 术语“人源化”抗体是保留非人抗体的反应性同时在人中具有较低免疫原性的抗体。例如，可以通过保留非人 CDR 区并用其人对应物（即，恒定区以及可变区的框架区部分）替换抗体的其余部分来实现。

术语“人抗体”、“人源抗体”、“全人抗体”、“完全人抗体”可以互换使用，意指可变区及恒定区是人序列的抗体。该术语涵盖源自人基因但具有，例如，降低可能的免疫原性、增加亲和力、消除可能会引起不期望的折叠的半胱氨酸或糖基化位点等序列已发生改变的抗体。该术语涵盖这些在非人细胞(其可能会赋予不具人细胞特征的糖基化)中重组产生的抗体。该术语亦涵盖已在含有一些或所有人免疫球蛋白重链及轻链基因座的转基因小鼠中饲养的抗体。人抗体的含义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

25 术语“亲和力”是指分子(例如，抗体)的单个结合部位与其结合配体(例如，抗原)之间非共价相互作用的总体的强度。除非另外指明，如本文所用，结合“亲和力”是指内部结合亲和力，其反映出结合对(例如，抗体与抗原)的成员之间 1:1 相互作用。分子 X 对其配体 Y 的亲和力通常可以由解离常数(KD)表示。亲和力可以通过本领域已知的常规方法(包括本文所述的那些方法)测量。

30 如本文所使用的，术语“kassoc”或“ka”指特定抗体-抗原相互作用的缔合速率，术语“kdis”或“kd”指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。术语“KD”指解离常数，其获得自 kd 与 ka 的比率(即 kd/ka)并且表示为摩尔浓度(M)。可以使用本领域公知的方法测定抗体的 KD 值。例如，使用生物传感系统例如系统测量表面等离子体共振(例如 Biacore)，或通过溶液平衡滴定法(SET)测量溶液中的亲和力。

35 术语“表面等离子共振”指的是通过检测生物传感器基质内的蛋白质浓度的

变化而分析实时相互作用的光学现象，例如，使用 BIAcore™ 系统(Biacore LifeSciences division of GE Healthcare, Piscataway, NJ)。

术语“效应子功能”指那些可归于抗体 Fc 区（天然序列 Fc 区或氨基酸序列突变的 Fc 区）且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应子功能的例子包括但不限于：C1q 结合和补体依赖性细胞毒性、Fc 受体结合、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（ADCC）、吞噬作用、细胞表面受体（例如 B 细胞受体）下调；和 B 细胞活化。

术语“单克隆抗体”指基本上均质的抗体的群，即在该群中包含的抗体分子的氨基酸序列是相同的，除了可能少量存在的天然突变以外。相比之下，多克隆抗体制剂通常包含在其可变结构域具有不同氨基酸序列的多种不同抗体，其通常特异性针对不同表位。“单克隆”表示从基本上均质的抗体群体获得的抗体的特征，并且不应解释为要求通过任何特定方法来生产抗体。在一些实施方案中，本披露提供的抗体是单克隆抗体。

术语“抗原”是指能够由诸如抗原结合蛋白（包括例如抗体）的选择性结合剂结合，且另外能够用于动物中以产生能够结合该抗原的抗体的分子或分子部分。抗原可具有一个或多个能够与不同的抗原结合蛋白（例如抗体）相互作用的表位。

术语“表位”指能够与抗体或其抗原结合片段特异性结合的抗原上的区域（area 或 region）。表位可以由连续氨基酸串（线性表位）形成或包含非连续氨基酸（构象表位），例如因抗原的折叠（即通过蛋白质性质的抗原的三级折叠）而变成空间接近。构象表位和线性表位的差别在于：在变性溶剂的存在下，抗体对构象表位的结合丧失。表位包含处于独特空间构象的至少 3，至少 4，至少 5，至少 6，至少 7，或 8-10 个氨基酸。筛选结合特定表位的抗体（即那些结合相同表位的）可以使用本领域例行方法来进行，例如但不限于丙氨酸扫描，肽印迹，肽切割分析，表位切除，表位提取，抗原的化学修饰（见 Prot. Sci. 9（2000）487-496），和交叉阻断。

术语“能够特异性结合”、“特异性结合”或“结合”是指相比其他抗原或表位，抗体能够以更高的亲和力结合至某个抗原或该抗原的表位。通常地，抗体以约 $1 \times 10^{-7} \text{M}$ 或更小（例如约 $1 \times 10^{-8} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-9} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-10} \text{M}$ 、 $1 \times 10^{-11} \text{M}$ 或更小）的平衡解离常数（KD）结合抗原或抗原内的表位。在一些实施方案中，抗体与抗原结合的 KD 为该抗体结合至非特异性抗原（例如 BSA、酪蛋白）的 KD 的 10% 或更低（例如 1%）。可使用已知的方法来测量 KD，例如通过 BIACORE® 表面等离子体共振测定法所测量的。然而，特异性结合至抗原或抗原内的表位的抗体可能对其它相关的抗原具有交叉反应性，例如，对来自其它物种（同源）（诸如人或猴，例如食蟹猕猴（*Macaca fascicularis*）（*cynomolgus*, cyno）、黑猩猩（*Pan troglodytes*）（*chimpanzee*, chimp）或狨猴（*Callithrix jacchus*）（*common marmoset*, marmoset））的相应抗原具有交叉反应性。

术语“抗体依赖性细胞的细胞毒性”、“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是诱导细胞死亡的机制，该机制依赖于抗体包被靶细胞与具有裂解活性的效应细胞（诸如自然杀伤细胞（NK）、单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞）经由效应细胞上表达的 Fc γ 受体(Fc γ R)发生的相互作用。例如，NK 细胞表达 Fc γ RIIIa，而单核细胞表达 Fc γ RI、Fc γ RII 和 Fc γ RIIIa。本文提供的抗体的 ADCC 活性可使用体外测定，使用表达抗原的细胞作为靶细胞和 NK 细胞作为效应细胞进行评定。根据从裂解的细胞中释放的标记物（例如放射性底物、荧光染料或天然胞内蛋白）来检测细胞裂解。

术语“抗体依赖性细胞吞噬作用（ADCP）”是指通过吞噬细胞（诸如巨噬细胞或树突状细胞）的内化作用消除抗体包被的靶细胞的机制。

术语“补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指诱导细胞死亡的机制，其中靶结合抗体的 Fc 效应域结合并激活补体成分 C1q，C1q 继而激活补体级联，从而导致靶细胞死亡。补体的激活也可导致补体成分沉积在靶细胞表面上，这些补体成分通过结合白细胞上的补体受体（例如，CR3）来促进 CDC。

术语“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用，指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于氨基酸聚合物，其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物，以及适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另外说明，否则特定的多肽序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体。

术语序列“同一性”指，当对两条序列进行最佳比对时，必要时引入间隙，以获取最大序列同一性百分比，且不将任何保守性取代视为序列同一性的一部分，两条序列的氨基酸/核酸在等价位置相同的程度（百分比）。为测定序列同一性百分比，比对可以通过本领域技术已知的技术来实现，例如使用公开可得到的计算机软件，诸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2 或 Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可确定适用于测量比对的参数，包括在所比较的序列全长上达成最大比对所需的任何算法。

术语“载体”意指能够转运与其连接的另一多核苷酸的多核苷酸分子。一种类型的载体是“质粒”，其是指环状双链 DNA 环，其中可以连接附加的 DNA 区段。另一种类型的载体是病毒载体，例如腺相关病毒载体（AAV 或 AAV2），其中另外的 DNA 区段可以连接到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制（例如，具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体）。其他载体（例如，非附加型哺乳动物载体）可以在引入宿主细胞中后整合到宿主细胞的基因组中，从而与宿主基因组一起复制。术语“表达载体”或“表达构建体”是指可对宿主细胞进行转化，且含有指导和/或控制（连同宿主细胞一起）与其可操作地连接的一个或多个异源编码区的表达的核酸序列的载体。表达构建体可以包括但不限于影响或控制转录、翻译且在存在内含子时影响与其可操作地连接的编码区的 RNA 剪接的序列。

术语“宿主细胞”、“宿主细胞系”和“宿主细胞培养物”可互换使用，并且指已经导入外源核酸的细胞，包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”，其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代，而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同，而是可以含有突变。本文中包括具有与在初始转化细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变体后代。宿主细胞包括原核和真核宿主细胞，其中真核宿主细胞包括但不限于哺乳动物细胞、昆虫细胞系植物细胞和真菌细胞。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、犬、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠细胞，包括但不限于中国仓鼠卵巢（CHO）细胞、NSO、SP2 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾（BHK）细胞、猴肾细胞（COS）、人肝细胞癌细胞（例如，Hep G2）、A549 细胞、3T3 细胞和 HEK-293 细胞。真菌细胞包括酵母和丝状真菌细胞，包括例如巴氏毕赤酵母（*Pichia pastoris*）、芬兰毕赤酵母（*Pichia finlandica*）、海藻毕赤酵母（*Pichia trehalophila*）、科克拉马毕赤酵母（*Pichia koclamae*）、膜状毕赤酵母（*Pichia membranaefaciens*）、小毕赤酵母（*Pichia minuta*）（*Ogataea minuta*、*Pichia lindneri*）、仙人掌毕赤酵母（*Pichia opuntiae*）、耐热毕赤酵母（*Pichia thermotolerans*）、柳毕赤酵母（*Pichia salictaria*）、*Pichia guercuum*、皮杰普毕赤酵母（*Pichia pijperi*）、具柄毕赤酵母（*Pichia stiptis*）、甲醇毕赤酵母（*Pichia methanolica*）、毕赤酵母属、酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）、酿酒酵母属、多形汉逊酵母（*Hansenula polymorpha*）、克鲁维酵母属、乳酸克鲁维酵母（*Kluyveromyces lactis*）、白色念珠菌（*Candida albicans*）、构巢曲霉（*Aspergillus nidulans*）、黑曲霉（*Aspergillus niger*）、米曲霉（*Aspergillus oryzae*）、里氏木霉（*Trichoderma reesei*）、勒克氏菌（*Chrysosporium lucknowense*）、镰刀菌属（*Fusarium* sp.）、禾谷镰刀菌（*Fusarium gramineum*）、菜镰刀菌（*Fusarium venenatum*）、小立碗藓（*Physcomitrella patens*）和粗糙脉孢菌（*Neurospora crassa*）。毕赤酵母属、任何酿酒酵母属、多形汉逊酵母（*Hansenula polymorpha*）、任何克鲁维酵母属、白色念珠菌（*Candida albicans*）、任何曲霉属、里氏木霉（*Trichoderma reesei*）、勒克霉（*Chrysosporium lucknowense*）、任何镰刀菌属、解脂耶氏酵母（*Yarrowia lipolytica*）和粗糙脉孢菌（*Neurospora crassa*）。

“细胞”、“细胞系”和“细胞培养物”可以互换使用，并且所有这样的名称均包括子代。因而，词语“转化体”和“转化的细胞”包括原代受试者细胞和来源于其的培养物，而与传代的次数无关。还应理解的是，由于有意或无意的突变，使得并非所有子代均具有完全相同的 DNA 内容物。包括与原始转化细胞具有相同功能或生物学活性的突变子代。

术语“烷基”指饱和的直链或带有支链的脂肪族烃基，其具有 1 至 20 个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）碳原子（即 C₁₋₂₀ 烷基）。所述烷基优选具有 1 至 12 个碳原子的烷基（即 C₁₋₁₂ 烷基），更优选具有 1 至 6 个碳原子的烷基（即 C₁₋₆ 烷基）。非限制性的实例包括：

甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各种支链异构体等。烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，其可以在任何可使用的连接点被取代，取代基优选选自 D 原子、卤素、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基氧基、杂环基氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个。

术语“烷氧基”指-O-(烷基)，其中烷基的定义如上所述。非限制性的实例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基和丁氧基等。烷氧基可以是取代的或非取代的，当被取代时，其可以在任何可使用的连接点被取代，取代基优选选自 D 原子、卤素、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基氧基、杂环基氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个。

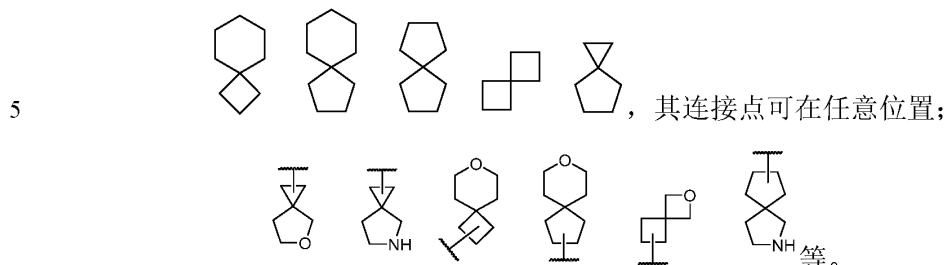
术语“环烷基”指饱和或部分不饱和的单环全碳环（即单环环烷基）或多环系统（即多环环烷基），其具有 3 至 20 个（例如 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）环原子（即 3 至 20 元环烷基）。所述环烷基优选具有 3 至 12 个环原子的环烷基（即 3 至 12 元环烷基），更优选具有 3 至 8 个环原子的环烷基（即 3 至 8 元环烷基），最优选具有 3 至 6 个环原子的环烷基（即 3 至 6 元环烷基）。

所述的单环环烷基，非限制性的实例包括：环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基和环辛基等。

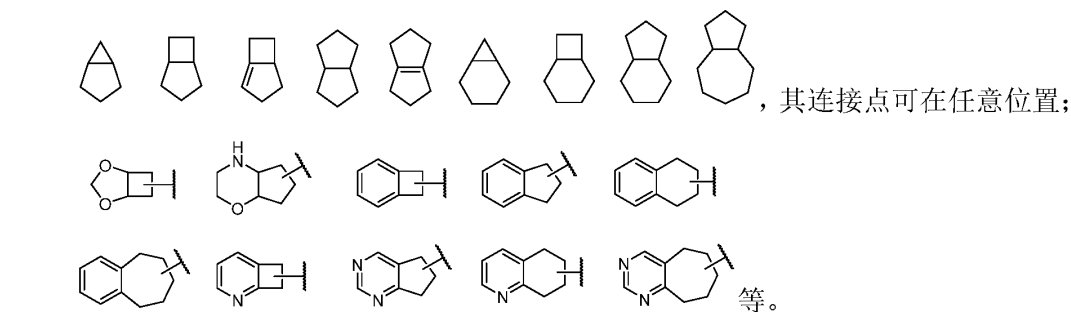
所述的多环环烷基包括：螺环烷基、稠环烷基和桥环烷基。

术语“螺环烷基”指环之间共用一个碳原子（称螺原子）的多环系统，其环内可以含有一个或多个双键，或其环内可以含有一个或多个选自氮、氧和硫的杂原子（所述的氮可任选被氧化，即形成氮氧化物；所述的硫可任选被氧化，即形成亚砷或砷，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-），条件是至少含有一个全碳环且连接点在该全碳环上，其具有 5 至 20 个（例如 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）环原子（即 5 至 20 元螺环烷基）。所述螺环烷基优选具有 6 至 14 个环原子的螺环烷基（即 6 至 14 元螺环烷基），更优选具有 7 至 10 个环原子的螺环烷基（即 7 至 10 元螺环烷基）。所述螺环烷基包括单螺环烷基和

多螺环烷基(如双螺环烷基等),优选单螺环烷基或双螺环烷基,更优选 3 元/4 元、3 元/5 元、3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/3 元、5 元/4 元、5 元/5 元、5 元/6 元、5 元/7 元、6 元/3 元、6 元/4 元、6 元/5 元、6 元/6 元、6 元/7 元、7 元/5 元或 7 元/6 元单螺环烷基。非限制性的实例包括:



术语“稠环烷基”指环之间共享毗邻的两个碳原子的多环系统,其为单环环烷基与一个或多个单环环烷基稠合,或者单环环烷基与杂环基、芳基或杂芳基中的一个或多个稠合,其中连接点在单环环烷基上,其环内可以含有一个或多个双键,且具有 5 至 20 个(例如 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个)环原子(即 5 至 20 元稠环烷基)。所述稠环烷基优选具有 6 至 14 个环原子的稠环烷基(即 6 至 14 元稠环烷基),更优选具有 7 至 10 个环原子的稠环烷基(即 7 至 10 元稠环烷基)。所述稠环烷基包括双环稠环烷基和多环稠环烷基(如三环稠环烷基、四环稠环烷基等),优选双环稠环烷基或三环稠环烷基,更优选 3 元/4 元、3 元/5 元、3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/3 元、5 元/4 元、5 元/5 元、5 元/6 元、5 元/7 元、6 元/3 元、6 元/4 元、6 元/5 元、6 元/6 元、6 元/7 元、7 元/5 元或 7 元/6 元双环稠环烷基。非限制性的实例包括:



20 术语“桥环烷基”指环之间共用两个不直接连接的碳原子的全碳多环系统,其环内可以含有一个或多个双键,且具有 5 至 20 个(例如 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个)碳原子(即 5 至 20 元桥环烷基)。所述桥环烷基优选具有 6 至 14 个碳原子的桥环烷基(即 6 至 14 元桥环烷基),更优选具有 7 至 10 个碳原子的桥环烷基(即 7 至 10 元桥环烷基)。所述桥环烷基包括双环桥环烷基和多环桥环烷基(如三环桥环烷基、四环桥环烷基等),优选双环桥环烷基或三环桥环烷基。非限制性的实例包括:

25



，其连接点可在任意位置。

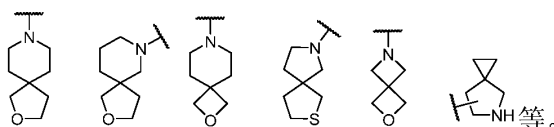
- 环烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，其可以在任何可使用的连接点被取代，取代基优选选自 D 原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基氧基、杂环基氧基、羟基、羟烷基、氧代基、氰基、氨基、硝基、环烷基、
- 5 杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个。

- 术语“杂环基”指饱和或部分不饱和的单环杂环（即单环杂环基）或多环杂环系统（即多环杂环基），其环内至少含有一个（例如 1、2、3 或 4 个）选自氮、氧和硫的杂原子（所述的氮可任选被氧化，即形成氮氧化物；所述的硫可任选被氧化，即形成亚砷或砷，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-），且具有 3 至 20 个（例如 3、4、
- 10 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）环原子（即 3 至 20 元杂环基）。所述杂环基优选具有 3 至 12 个环原子的杂环基（即 3 至 12 元杂环基），例如至少含有一个氮原子的 4 至 12 元杂环基；进一步优选具有 3 至 8 个环原子的杂环基（即 3 至 8 元杂环基）；更优选具有 3 至 6 个环原子的杂环基（即 3 至 6 元杂环基）；最优选具有 5 或 6 个环原子的杂环基（即 5 或 6 元杂环基）。

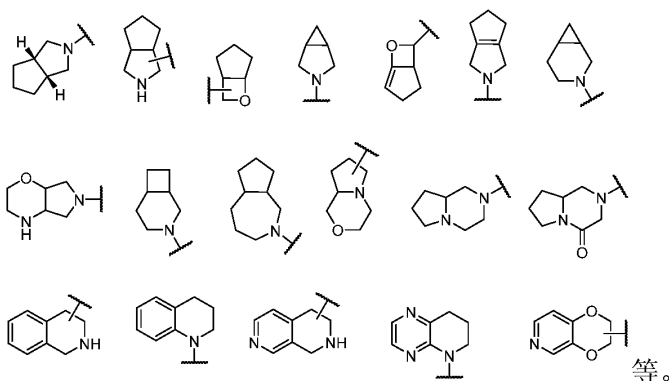
- 15 所述的单环杂环基，非限制性的实例包括：吡咯烷基、四氢吡喃基、1,2,3,6-四氢吡啶基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基和高哌嗪基等。

所述的多环杂环基包括螺杂环基、稠杂环基和桥杂环基。

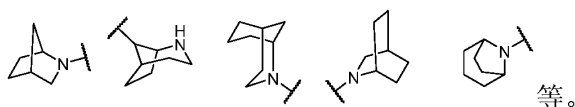
- 术语“螺杂环基”指环之间共用一个原子（称螺原子）的多环杂环系统，其环内可以含有一个或多个双键，且其环内至少含有一个（例如 1、2、3 或 4 个）选自氮、氧和硫的杂原子（所述的氮可任选被氧化，即形成氮氧化物；所述的硫可任选被氧化，即形成亚砷或砷，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-），条件是至少含有一个单环杂环基且连接点在该单环杂环基上，其具有 5 至 20 个（例如 5、6、7、8、9、
- 20 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）环原子（即 5 至 20 元螺杂环基）。所述螺杂环基优选具有 6 至 14 个环原子的螺杂环基（即 6 至 14 元螺杂环基），更优选具有 7 至 10 个环原子的螺杂环基（即 7 至 10 元螺杂环基）。所述螺杂环基包括单螺杂环基和多螺杂环基（如双螺杂环基等），优选单螺杂环基或双螺杂环基，更优选 3 元/4 元、3 元/5 元、3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/3 元、5 元/4 元、5 元/5 元、5 元/6 元、5 元/7 元、6 元/3 元、6 元/4 元、6 元/5 元、6 元/6 元、6 元/7 元、7 元/5 元或 7 元/6 元单螺杂环基。非限制性的实例包括：
- 30



术语“稠杂环基”指环之间共享毗邻的两个原子的多环杂环系统，其环内可以含有一个或多个双键，且其环内至少含有一个（例如 1、2、3 或 4 个）选自氮、氧和硫的杂原子（所述的氮可任选被氧化，即形成氮氧化物；所述的硫可任选被氧化，即形成亚砷或砷，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-），其为单环杂环基与一个或多个单环杂环基稠合，或者单环杂环基与环烷基、芳基或杂芳基中的一个或多个稠合，其中连接点在单环杂环基上，且具有 5 至 20 个（例如 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）环原子（即 5 至 20 元稠杂环基）。所述稠杂环基优选具有 6 至 14 个环原子的稠杂环基（即 6 至 14 元稠杂环基），更优选具有 7 至 10 个环原子的稠杂环基（即 7 至 10 元稠杂环基）。所述稠杂环基包括双环和多环稠杂环基（如三环稠杂环基、四环稠杂环基等），优选双环稠杂环基或三环稠杂环基，更优选 3 元/4 元、3 元/5 元、3 元/6 元、4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/3 元、5 元/4 元、5 元/5 元、5 元/6 元、5 元/7 元、6 元/3 元、6 元/4 元、6 元/5 元、6 元/6 元、6 元/7 元、7 元/5 元或 7 元/6 元双环稠杂环基。非限制性的实例包括：



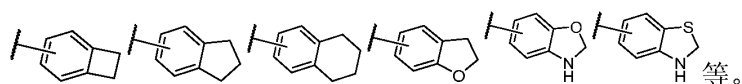
术语“桥杂环基”指环之间共用两个不直接连接的原子的多环杂环系统，其环内可以含有一个或多个双键，并且其环内至少含有一个（例如 1、2、3 或 4 个）选自氮、氧和硫的杂原子（所述的氮可任选被氧化，即形成氮氧化物；所述的硫可任选被氧代，即形成亚砷或砷，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-），其具有 5 至 20 个（例如 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20 个）环原子（即 5 至 20 元桥杂环基）。所述桥杂环基优选具有 6 至 14 个环原子的桥杂环基（即 6 至 14 元桥杂环基），更优选具有 7 至 10 个环原子的桥杂环基（即 7 至 10 元桥杂环基）。根据组成环的数目可以分为双环桥杂环基和多环桥杂环基（如三环桥杂环基、四环桥杂环基等），优选双环桥杂环基或三环桥杂环基。非限制性的实例包括：



杂环基可以是取代的或非取代的,当被取代时,其可以在任何可使用的连接点

被取代，取代基优选选自 D 原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基氧基、杂环基氧基、羟基、羟烷基、氧代基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个。

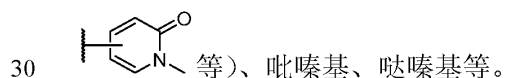
术语“芳基”指具有共轭的 π 电子体系的单环全碳芳环（即单环芳基）或多环芳环系统（即多环芳基），其具有6至14个（例如6、7、8、9、10、11、12、13或14个）环原子（即6至14元芳基）。所述芳基优选具有6至10个环原子的芳基（即6至10元芳基）。所述的单环芳基，例如苯基。所述的多环芳基，非限制性的实例包括：萘基、蒽基、菲基等。所述多环芳基还包括苯基与杂环基或环烷基中的一个或多个耦合，或萘基与杂环基或环烷基中的一个或多个耦合，其中连接点在苯基或萘基上，并且在这种情况下，环原子个数继续表示多环芳环系统中的环原子个数，非限制性的实例包括：



芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，其可以在任何可使用的连接点被取代，取代基优选选自 D 原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环15 烷基氧基、杂环基氧基、羟基、羟烷基、氧代基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个。

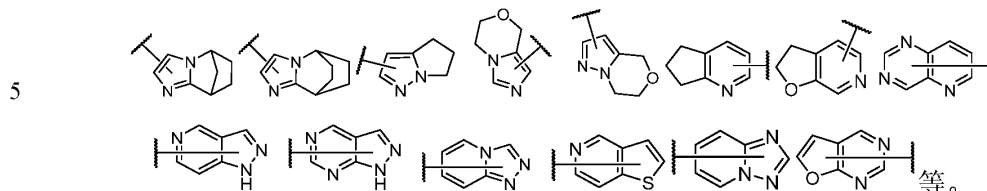
术语“杂芳基”指具有共轭的 π 电子体系的单环杂芳环（即单环杂芳基）或多环杂芳环系统（即多环杂芳基），其环内至少含有一个（例如 1、2、3 或 4 个）选自氮、氧和硫的杂原子（所述的氮可任选被氧化，即形成氮氧化物；所述的硫可
20 任选被氧代，即形成亚砷或砷，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-），其具有 5 至 14 个（例如 5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 个）环原子（即 5 至 14 元杂芳基）。所述杂芳基优选具有 5 至 10 个环原子的杂芳基（即 5 至 10 元杂芳基），更优选具有 5 或 6 个环原子的单环杂芳基（即 5 或 6 元单环杂芳基）或具有 8 至 10 个环原子的双环杂芳基（即 8 至 10 元双环杂芳基），最优选环内含有 1、2 或 3 个选自氮、
25 氧和硫的杂原子的 5 或 6 元单环杂芳基或环内含有 1、2 或 3 个选自氮、氧和硫的杂原子的 8 至 10 元双环杂芳基。

所述的单环杂芳基，非限制性的实例包括：呋喃基、噻吩基、噻唑基、异噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻二唑基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、呋咱基、吡咯基、N-烷基吡咯基、吡啶基、嘧啶基、吡啶酮基、N-烷基吡啶酮（如



所述的多环杂芳基，非限制性的实例包括：吡啶基、吡唑基、喹啉基、异喹啉基、喹喔啉基、酞嗪基、苯并咪唑基、苯并噻吩基、喹唑啉基、苯并噻唑基、咪唑基等。所述多环杂芳基还包括单环杂芳基与一个或多个芳基稠合，其中连接点在芳

香环上,并且在这种情况下,环原子个数继续表示多环杂芳环系统中的环原子个数。所述多环杂芳基还包括单环杂芳基与环烷基或杂环基中的一个或多个稠合,其中连接点在单环杂芳环上,并且在这种情况下,环原子个数继续表示多环杂芳环系统中的环原子个数。非限制性的实例包括:



杂芳基可以是取代的或非取代的,当被取代时,其可以在任何可使用的连接点被取代,取代基优选选自 D 原子、卤素、烷基、烷氧基、卤代烷基、卤代烷氧基、环烷基氧基、杂环基氧基、羟基、羟烷基、氰基、氨基、硝基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基中的一个或多个。

上述环烷基、杂环基、芳基和杂芳基包括从母体环原子上除去一个氢原子所衍生的残基,或从母体的相同环原子或两个不同的环原子上除去两个氢原子所衍生的残基即“二价环烷基”、“二价杂环基”、“亚芳基”和“亚杂芳基”。

本公开所述化合物的化学结构中,键“/”表示未指定构型,即如果化学结构中
15 存在手性异构体,键“/”可以为“.....”或“/”,或者同时包含“.....”和“/”两种构型。

本公开的化合物包括其化合物的所有合适的同位素衍生物。术语“同位素衍生物”是指至少一个原子被具有相同原子序数但原子质量不同的原子替代的化合物。可引入到本公开化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、硫、氟、氯、
20 溴和碘等的稳定和放射性的同位素,例如分别为 ^2H (氘, D)、 ^3H (氚, T)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{33}S 、 ^{34}S 、 ^{35}S 、 ^{36}S 、 ^{18}F 、 ^{36}Cl 、 ^{82}Br 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{129}I 和 ^{131}I 等,优选氘。

相比于未氘代药物,氘代药物有降低毒副作用、增加药物稳定性、增强疗效、延长药物生物半衰期等优势。本公开的化合物的所有同位素组成的变换,无论放射性
25 与否,都包括在本公开的范围之内。与碳原子连接的各个可用的氢原子可独立地被氘原子替换,其中氘的替换可以是部分或完全的,部分氘的替换是指至少一个氢被至少一个氘替换。

“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。

术语“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述的抗体-药物偶联物或其药
30 学上可接受的盐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。

术语“药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”指药学配制剂中与活性成分不同的,且对受试者无毒的成分。药学可接受载剂包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

5 术语“受试者”或“个体”包括人类和非人类动物。非人动物包括所有脊椎动物（例如哺乳动物和非哺乳动物）例如非人灵长类、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物和爬行动物。除非指出时，否则所述术语“患者”或“受试者”在本文中可互换地使用。在某些实施方案中，个体或受试者是人。

“施用”或“给予”，当其应用于动物、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、10 细胞、组织、器官或生物流体的接触。

术语“样本”是指从受试者分离的类似流体、细胞、或组织的采集物，以及存在于受试者体内的流体、细胞或组织。示例性样本为生物流体，诸如血液、血清和浆膜液、血浆、淋巴液、尿液、唾液、囊液、泪液、排泄物、痰、分泌组织和器官的粘膜分泌物、阴道分泌物、腹水、胸膜、心包、腹膜、腹腔和其它体腔的流体、15 由支气管灌洗液收集的流体、滑液、与受试者或生物来源接触的液体溶液，例如细胞和器官培养基（包括细胞或器官条件培养基）、灌洗液等，组织活检样本、细针穿刺、手术切除的组织、器官培养物或细胞培养物。

“治疗（treatment 或 treat）”和“处理”（及其语法变型）指试图改变所治疗个体的天然过程的临床干预，并且可以为了预防或者在临床病理学的过程期间实施。20 治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或再发生，减轻症状，减轻/减少疾病的任何直接或间接病理后果，预防转移，降低疾病进展速率，改善或减轻疾病状态，和消退或改善的预后。在一些实施方案中，使用本披露的抗体来延迟疾病的形成或减缓疾病的进展。

“有效量”一般是足以降低症状的严重程度及/或频率、消除这些症状及/或潜在病因、25 预防症状及/或其潜在病因出现及/或改良或改善由疾病状态引起或与其相关的损伤的量。在一些实施例，有效量是治疗有效量或预防有效量。“治疗有效量”是足以治疗疾病状态或症状、尤其与该疾病状态相关的状态或症状，或者以其他方式预防、阻碍、延迟或逆转该疾病状态或以任何方式与该疾病相关的任何其他不理想症状的进展的量。“预防有效量”是当给予受试者时将具有预定预防效应，30 例如预防或延迟该疾病状态的发作（或复发），或者降低该疾病状态或相关症状的发作（或复发）可能性的量。完全治疗或预防未必在给予一个剂量之后便发生，可能在给予一系列剂量之后发生。因而，治疗或预防有效量可以一次或多次给予的方式给予。“治疗有效量”和“预防有效量”可取决于多种因素变化：诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重，以及治疗剂或治疗剂组合在个体中引发期望的应答的能力。有效治疗剂或治疗剂组合的示例性指标包括例如患者改善的健康状况。35

“药学上可接受的盐”是指药物活性成分（如细胞毒性剂）与适当的酸或碱反

应形成的盐。这些盐在保持药物活性成分的药理活性的同时，还具有更好的物理化学性质，例如改善药物的溶解性、稳定性和生物利用度等。这种盐在被受试者摄入后，能够在生理条件下释放出活性药物成分，发挥治疗作用。药学上可接受的盐的示例包括但不限于：钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、
5 醋酸盐、枸橼酸盐、酒石酸盐、马来酸盐。“重构的糖链”是指对生物分子（例如抗体等）上原本的糖链结构进行修饰或改造后得到的糖链。在生物体内，抗体会发生糖基化修饰，这些糖链结构对于蛋白质的折叠、稳定性、定位、活性以及与其他分子的相互作用等方面都有着至关重要的作用。重构的糖链则是通过化学或生物技术手段，改变了原有的糖链结构，赋予了新的特性。

10 示例性的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐

本披露的实施例涉及一种抗 CLDN6 抗体，其包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区的 HCDR1 具有 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 具有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 具有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，
15 和所述轻链可变区的 LCDR1 具有 SEQ ID NO: 26 的氨基酸序列，LCDR2 具有 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 具有 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示，和所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 32 所示。

20 在一些实施方案中，如前所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示。

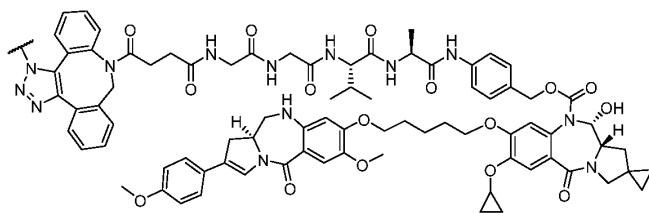
另一方面，本披露的实施例涉及一种抗 CLDN6 抗体，其包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区的 HCDR1 具有 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 具有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 具有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和所述轻链可变区的 LCDR1 具有 SEQ ID NO: 25 的氨基酸序列，
25 LCDR2 具有 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 具有 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，如前所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示，和所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 31 所示。

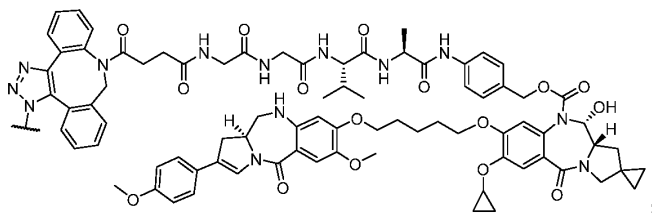
30 在一些实施方案中，如前所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 37 所示。

另一方面，本披露涉及一种抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其为通式 (II) 所示：

R=



或



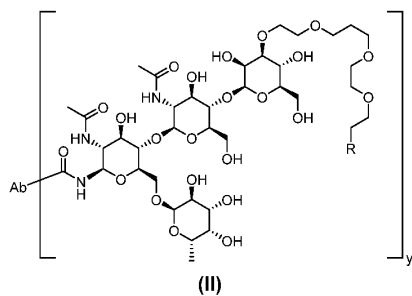
或

Ab 为如前任一所述的抗 CLDN6 抗体；

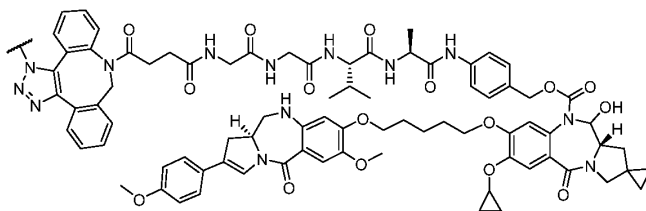
y 为 1 至 2；优选地，y 为 2。

在一些实施方案中，如前所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其

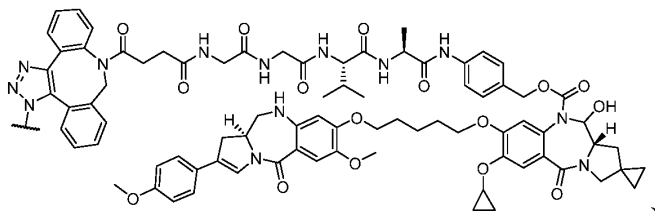
5 为通式 (II) 所示：

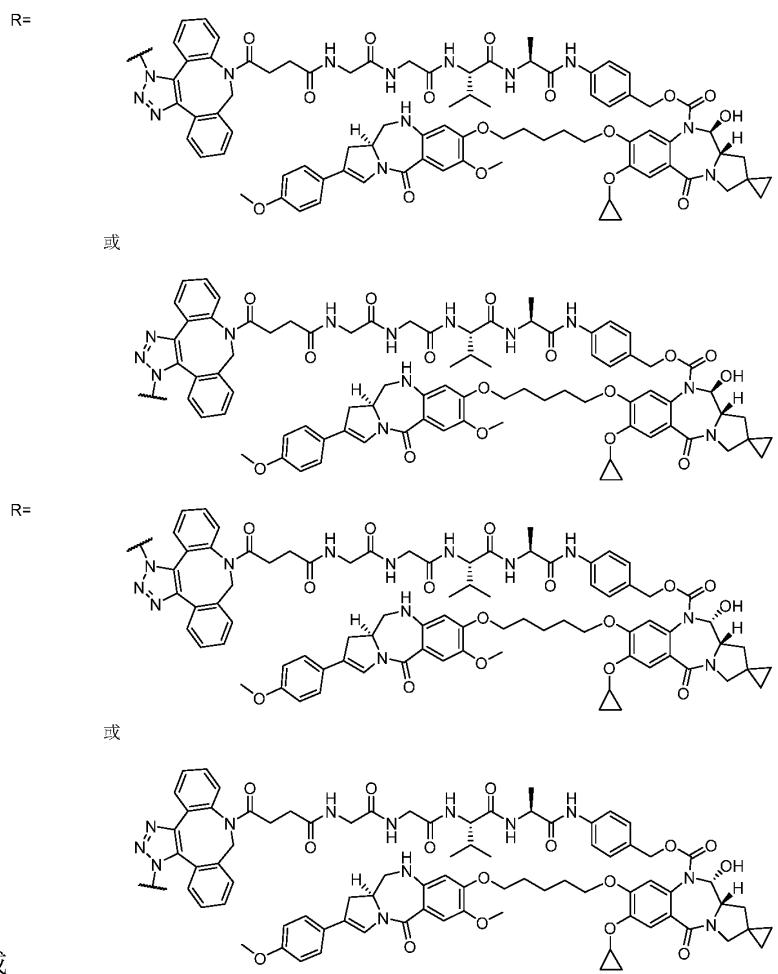


R=



或





其中：

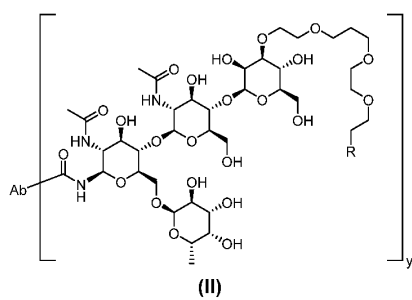
Ab 的重链可变区的 HCDR1 具有 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 具有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 具有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和 Ab 的轻链可变区的 LCDR1 具有 SEQ ID NO: 26 的氨基酸序列，LCDR2 具有 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 具有 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列；

优选地，Ab 的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示，和 Ab 的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 32 所示；

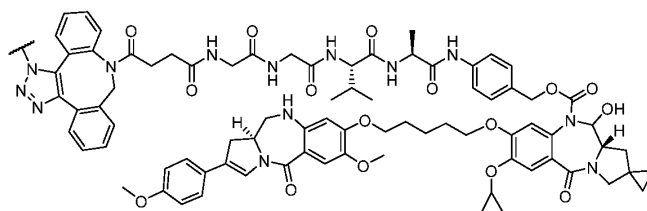
更优选地，Ab 的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示；

且 y 为 2。

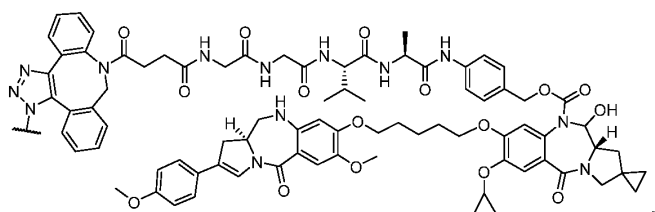
在一些实施方案中，如前任一項所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其为通式 (II) 所示：



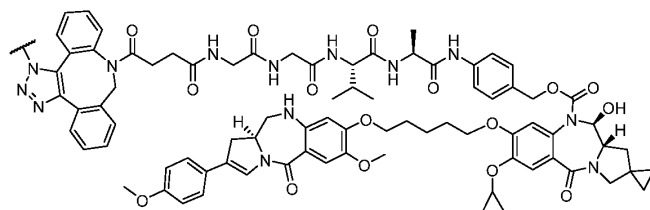
R=



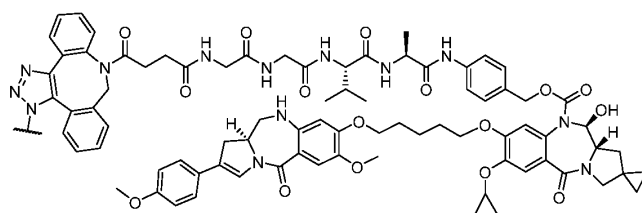
或

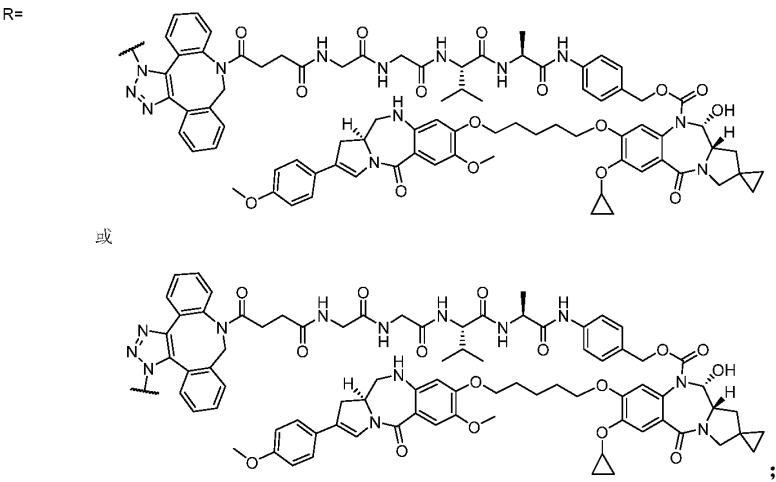


R=



或





其中:

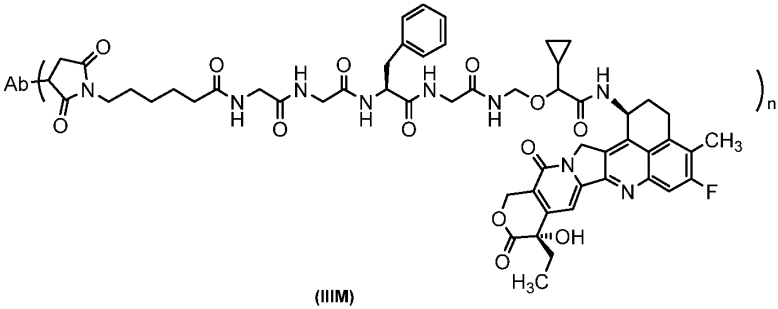
Ab 的重链可变区的 HCDR1 具有 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列, HCDR2 具有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列, 和 HCDR3 具有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列, 5 和 Ab 的轻链可变区的 LCDR1 具有 SEQ ID NO: 25 的氨基酸序列, LCDR2 具有 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列, 和 LCDR3 具有 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列;

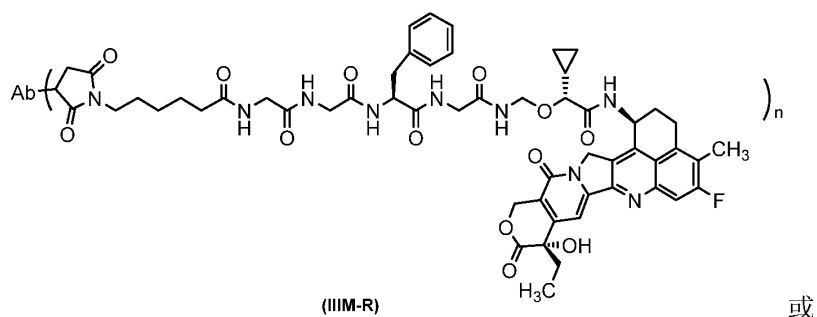
优选地, Ab 的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示, 和 Ab 的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 31 所示;

更优选地, Ab 的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示, 和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 37 所示; 10

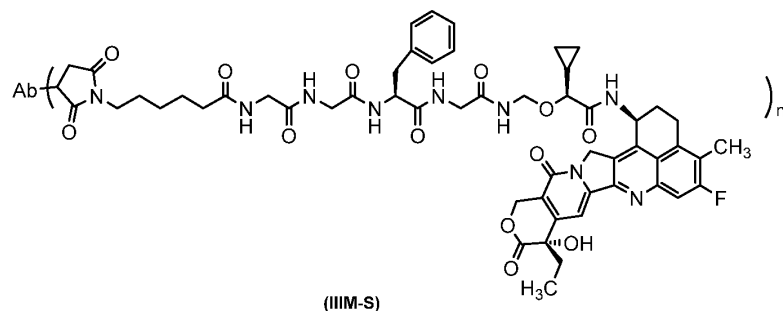
且 y 为 2。

另一方面, 本披露涉及一种抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其为通式(IIIM)、通式(IIIM-R)或通式(IIIM-S)所示:





或

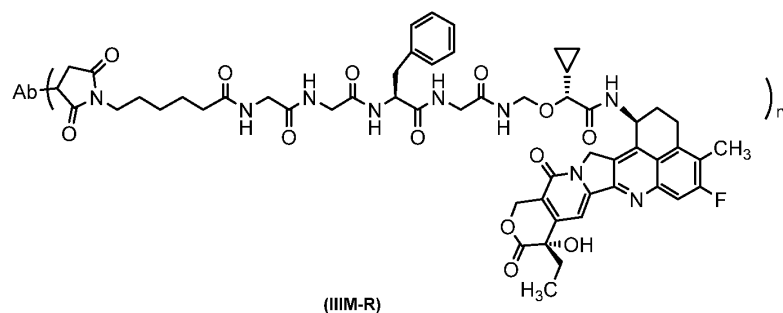


;

其中 Ab 为如前一项所述的抗 CLDN6 抗体;

n 为 4 至 8; 优选地, n 为 8。

- 5 在一些实施方案中, 如前所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其为通式(IIIM-R)所示:

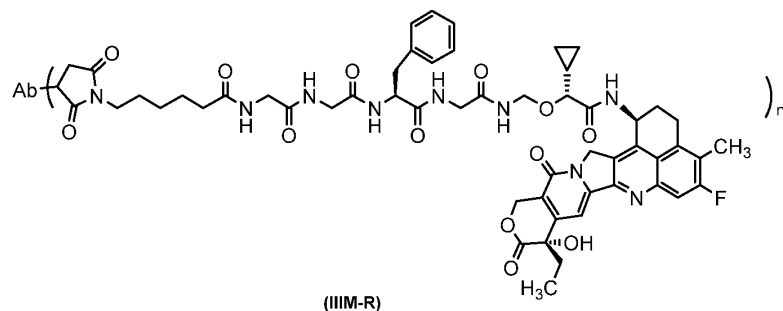


;

其中 Ab 为如前一项所述的抗 CLDN6 抗体;

n 为 4 至 8; 优选地, n 为 8。

- 10 在一些实施方案中, 如前所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其为通式(IIIM-R)所示:



;

其中：

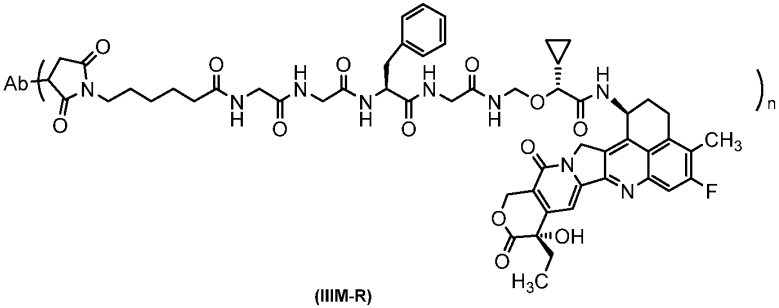
Ab 的重链可变区的 HCDR1 具有 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 具有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 具有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和 Ab 的轻链可变区的 LCDR1 具有 SEQ ID NO: 26 的氨基酸序列，LCDR2 具有 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 具有 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列；

优选地，Ab 的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示，和 Ab 的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 32 所示；

更优选地，Ab 的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示；

且 n 为 8。

在一些实施方案中，如前所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其为通式(IIIM-R)所示：



其中：

Ab 的重链可变区的 HCDR1 具有 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 具有 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 具有 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，和 Ab 的轻链可变区的 LCDR1 具有 SEQ ID NO: 25 的氨基酸序列，LCDR2 具有 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 具有 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列；

优选地，Ab 的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示，和 Ab 的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 31 所示；

更优选地，Ab 的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 22 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 37 所示；

且 n 为 8。

实施例

以下结合实施例和测试例进一步描述本公开，但这些实施例和测试例并非限制着本公开的范围。本公开实施例或测试例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，如冷泉港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材料，为市场购买获得。

一、抗体的制备

实施例 1：CLDN6 稳转细胞株的制备

将不同种属的 CLDN6 和 CLDN9 基因，以及人 CLDN3、CLDN4 基因转染人胚肾细胞 293T，构建表达不同种属的 CLDN6、CLDN9 细胞株及人 CLDN3、CLDN4 细胞株，用于后续抗体的筛选和鉴定。相关蛋白氨基酸序列如下：

>人 CLDN6 全长蛋白(Uniprot: P56747):

5 MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLW
MSCVVQSTGQMQCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAK
CTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHAIIRDFYNPLVAEAQKR
ELGASLYLGWAASGLLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPSHYMARYSTSAPISRGPS
EYPTKNYV

10 SEQ ID NO: 1

>食蟹猴 CLDN6 全长蛋白(Uniprot: G7Q0B0):

MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLW
MSCVVQSTGQMQCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAK
CTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHAIIRDFYNPLVAEAQKR
15 ELGASLYLGWAASGLLLLLGGGLLCCTCPSGGSRGPSHYMARYSTSAPISRGPS
EYPTKNYV

SEQ ID NO: 2

>人 CLDN9 全长蛋白(Uniprot: O95484):

MASTGLELLGMTLAVLGWLGTLVSCALPLWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLW
20 MSCVVQSTGQMQCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLLALLGLLVAITGAQC
TTCVEDEGAKARIVLTAGVILLLAGILVLIPVCWTAHAIIQDFYNPLVAEALKRE
LGASLYLGWAAAALLMLGGGLLCCTCPPPQVERPRGPRLGYSIPSRSGASGLD
KRDYV

SEQ ID NO: 3

25 >食蟹猴 CLDN9 全长蛋白(Uniprot: A0A2K5UCC0):

MASTGLELLGMTLAVLGWLGTLVSCALPLWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLW
MSCVVQSTGQMQCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLLALLGLLVAITGAQC
TTCVEDEGAKARIMLTAGVILLLAGILVLIPVCWTAHAIIQDFYNPLVAEALKRE
LGASLYLGWAAAALLMLGGGLLCCTCPPPQVERPRGPRLGYSIPSRSGASGLD
30 KRDYV

SEQ ID NO: 4

>人 CLDN6 全长蛋白变体 (Uniprot: P56747 Variant p.Ile143Val):

MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLW
MSCVVQSTGQMQCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAK
35 CTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHAVIRDFYNPLVAEAQK

RELGASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPHYMARYSTSAPAI SRGP
SEYPTKNYV

SEQ ID NO: 5

>小鼠 CLDN6 全长蛋白(Uniprot: Q9Z262):

5 MASTGLQILGIVLTLLGWVNALVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQMVWEG
SCVVQSTGQMOCCKVYDSLLALPQDLQAARALCVVTL
LIVLLGLLVYLAGAKC
TTCVEDRNSKSRLVLISGIIFVISGVLTLIPVCWTAHSIIQDFYNPLVADAQKREL
GASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCACSSGGTQGPRHYMACYSTSVPHSRGPSEY
PTKNYV

10 SEQ ID NO: 6

>小鼠 CLDN9 全长蛋白(Uniprot: Q9Z0S7):

MASTGLELLGMTLAVLGWLGTLVSCALPLWKVTAFIGNSIVVAQVWEG
LMSCVVQSTGQMOCCKVYDSLLALPQDLQAARALCVVALLLALLG
LLVAITGAQ
CTTCVEDEGAKARIVLTAGVLLLLSGILVLIPVCWTAHAIIQDFYNPLVAEALKR
15 ELGASLYLGWAAAALLMLGGGLLCCTCPPSHFERPRGPRLGYSIPSRSGASGLD
KRDYV

SEQ ID NO: 7

>大鼠 CLDN6 全长蛋白(Uniprot: B4F7F0):

MASTGLQILGIVLTLLGWVNALVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQMVWEG
LWMS
20 SCVVQSTGQMOCCKVYDSLLALPQDLQAARALCVITLLIVLLG
LLLYLAGAKCT
TCVEDKNSKSRLVLISGVIFVISGVLTLIPICWTAHAIIQDFYNPLVADAQKREL
GASLYLGWAASGLLLIGGGLLCCACSSGGTQGPHYVARYSSPVPHSRGPSEYPS
KNYV

SEQ ID NO: 8

25 >大鼠 CLDN9 全长蛋白(Uniprot: Q5PPJ3):

MASTGLELLGMTLAVLGWLGTLVSCALPLWKVTAFIGNSIVVAQVWEG
LWMS
25 SCVVQSTGQMOCCKVYDSLLALPQDLQAARALCVVALLLALLG
LLVAITGAQ
CTTCVEDEGAKARIVLTAGVLLLLSGILVLIPVCWTAHAIIQDFYNPLVAEALKR
ELGASLYLGWAAAALLMLGGGLLCCTCPPSHFERPRGPRLGYSIPSRSGASGLD
30 KRDYV

SEQ ID NO: 9

>人 CLDN3 全长蛋白(Uniprot: O15551):

MSMGLEITGTALAVLGWLGTVCCALPMWRVSAFIGSNIITSQNIWEG
LMNC
35 VVQSTGQMOCCKVYDSLLALPQDLQAARALIVVAILLAAFGLLVALVGAQCTN
CVQDDTAKAKITIVAGVLFLLAALLTLVPVSWSANTIIRDFYNPVVPEAQKREM

GAGLYVGWAAAALQLLGGALLCCSCPPREKKYTATKVVYSAPRSTGPGASLG
TGYDRKDYV

SEQ ID NO: 10

>人 CLDN4 全长蛋白(Uniprot: O14493):

5 MASMGLQVMGIALAVLGWLAVMLCCALPMWRVTAFIGSNIVTSQTIWEGLW
MNCVVQSTGQMCKVYDSLALPQDLQAARALVIISIIVAALGVLLSVVGGKC
TNCLEDESAKAKTMIVAGVVFLLAGLMVIVPVSMTAHNIIQDFYNPLVASGQK
REMGASLYVGWAASGLLLLGGGLLCCNCPPRTDKPYSAKYSAARSAAASNYV

SEQ ID NO: 11

10 注：下划线部分为蛋白胞外域（以下简称“ECD”）。

高表达 CLDN6、CLDN9、CLDN3 和 CLDN4 细胞株的构建

将包含 SEQ ID NO: 1-11 的 pCDH 慢病毒表达载体质粒（由 GENEWIZ 公司合成），pCDH 质粒分别与 pVSVG，pCMV 慢病毒包装载体用 Lipofectamine 3000（Invitrogen，L3000015）转染试剂转染至 293T 细胞（中科院细胞库，GNHu17）
15 中，收集含有病毒的培养基上清，过滤并进行超高速离心，弃去上清后，用 0.2mL 无菌 PBS 重悬。使用浓缩后的病毒分别感染至 293T 细胞（中科院细胞库，GNHu17），经嘌呤霉素筛选两至三周，再进行 FACS 单细胞分选。将挑选出的单克隆细胞株扩大培养，冻存。

说明：SEQ ID NO: 1 和 SEQ ID NO: 2 的 ECD 序列相同，SEQ ID NO: 3 和 SEQ
20 ID NO: 4 的 ECD 序列相同，SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 9 的 ECD 序列相同。因此构建其中一个序列即可，即结合人 CLDN6 可以认为同样结合食蟹猴 CLDN6，结合人 CLDN9 可以认为同样结合食蟹猴 CLDN9。结合小鼠 CLDN9 可以认为同样结合大鼠 CLDN9。

25 **实施例 2：抗人 CLDN6 单克隆抗体的制备**

从专利 WO2021006328A1 获得 CLDN6 的重链可变区序列 VH45 和轻链可变区序列 VL43 进行人源化组合。将其分别克隆到包含 SEQ ID NO: 20 所示的人 IgG1 重链恒定区和 SEQ ID NO: 21 所示的 κ 轻链恒定区的 pTT 5 载体质粒，然后转染 HEK293 细胞，得到了抗 CLDN6 的抗体 Ab-1。

30 >VH45

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYVGSWVRQAPGQGLEWMGTISS
GVGRTYYPDVVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDFRYDG
FAYWGQGT LTVSS

SEQ ID NO: 12

35 >VL43

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYNIDSYLA^{WYQQKPGKAPKLLIYYSTLL}
^{VDGVPSRFS}SGRS^{GTDF}TLTISSLQPEDFATYYCQHYY^{SIPYTF}GGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 13

表 2. 抗体 Ab-1 的 CDR 序列

抗体	名称	序列	编号
Ab-1	HCDR1	SYVGS	SEQ ID NO: 14
	HCDR2	TISSGVGR ^{TYYP} PDVVK ^G	SEQ ID NO: 15
	HCDR3	GDFRYDGFAY	SEQ ID NO: 16
	LCDR1	RASYNIDSYLA	SEQ ID NO: 17
	LCDR2	YSTLLVD	SEQ ID NO: 18
	LCDR3	QHYY ^{SIPY} T	SEQ ID NO: 19

5 注：VH/VL 的 CDR 的氨基酸残基由 Kabat 编号系统确定并用下划线标注，下同。

>人 IgG1 (LALA) 重链恒定区：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
10 PPCAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDS^{DSG}SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV^{FSC}SVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

15 SEQ ID NO: 20

>人 κ 轻链恒定区：

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSK^{STYS}LSSTLTLSKADY^EKKH^KVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 21

20 >抗体 Ab-1 的重链：

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSS^{YVGS}WVRQAPGQGLEWMGTI
^{SSGVGR}^{TYYP}PDVVK^GRFTISRDN^{SKNT}LYLQMNSLRAEDTAVYYCARG^DFR
^{YDGFAY}WGQGT^{LVTVSS}ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV
25 DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS^{DSG}SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV^{FSC}SVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

30 SEQ ID NO: 22

>抗体 Ab-1 的轻链：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYNIDSYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTL
LVDGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

SEQ ID NO: 23。

实施例 3：抗 CLDN6 单克隆抗体的 hotspot 去除改造
通过对 VL43 的 CDR 进行点突变改造，以去除 hotspot。

表 3. VL43 hotspot 去除后的 CDR 序列

可变区的氨基酸改造	CDR	序列	SEQ ID NO
D56E	LCDR2	YSTLLVE	24
S31R	LCDR1	RASYNIDRYLA	25
S31Q	LCDR1	RASYNIDQYLA	26
S31I	LCDR1	RASYNIDIYLA	27
S31L	LCDR1	RASYNIDLILA	28
S31V	LCDR1	RASYNIDVYLA	29

10

采用表 3 中的 CDR 重新构建抗体的轻链可变区，具体序列如下：

>VL43+D56E
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYNIDSYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTLLV
EGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK
15

SEQ ID NO: 30

>VL43+D56E+S31R
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYNIDRYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTLLV
EGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK
20

SEQ ID

NO: 31

>VL43+D56E+S31Q
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYNIDQYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTLL
VEGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK
25

SEQ ID NO: 32

>VL43+D56E+S31I
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASYNIDIYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTLLV
EGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK
30

SEQ ID NO: 33

>VL43+D56E+S31L

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASYNIDLYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTLLV
EGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 34

>VL43+D56E+S31V

5 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASYNIDVYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTLL
VEGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 35

注：VL43+D56E 表示将 VL43 的第 56 位氨基酸 D 突变为 E 得到的轻链可变
区序列；VL43+D56E+S31R 表示将 VL43 的第 56 位氨基酸 D 突变为 E，第 31 位
10 氨基酸 S 突变为 R 得到的轻链可变区序列。其它以此类推。

单下划线为 CDR 区，双下划线为突变位点。

将 SEQ ID NO: 30-35 分别克隆到包含 SEQ ID NO: 21 所示的 κ 轻链恒定区的
pTT 5 载体质粒，并分别与 SEQ ID NO: 12 克隆到包含 SEQ ID NO: 20 所示的
人 IgG1 重链恒定区的 pTT 5 载体质粒，一起转染 HEK293 细胞，得到了抗 CLDN6
15 的抗体 Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6 和 Ab-7。

>抗体 Ab-2、Ab-3、Ab-4、Ab-5、Ab-6 和 Ab-7 的重链：SEQ ID NO: 22，同抗体
Ab-1 的重链。

20 >抗体 Ab-2 的轻链：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASYNIDSYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTL
LVEGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

25 SEQ ID NO: 36

>抗体 Ab-3 的轻链：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASYNIDRYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTL
LVEGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIKR
30 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 37

>抗体 Ab-4 的轻链：

35 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASYNIDQYLAWYQQKPGKAPKLLIYYSTL
LVEGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYSSIPYTFGQGTKLEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 38

>抗体 Ab-5 的轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASYNID~~I~~YLA~~W~~YQQKPGKAPKLLIYYSTLL
 5 ~~V~~EGVPSRFS~~G~~SRSGTDFLT~~I~~SS~~L~~QPEDFATYYC~~Q~~HYY~~S~~IPYTFGQGTKLEIKRT
 VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLN~~N~~FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
 QDSKDYSLSS~~T~~LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 39

>抗体 Ab-6 的轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASYNID~~L~~YLA~~W~~YQQKPGKAPKLLIYYSTL
 10 ~~L~~VEGVPSRFS~~G~~SRSGTDFLT~~I~~SS~~L~~QPEDFATYYC~~Q~~HYY~~S~~IPYTFGQGTKLEIKR
 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLN~~N~~FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
 EQDSKDYSLSS~~T~~LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 40

15 >抗体 Ab-7 的轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASYNID~~V~~YLA~~W~~YQQKPGKAPKLLIYYSTL
~~L~~VEGVPSRFS~~G~~SRSGTDFLT~~I~~SS~~L~~QPEDFATYYC~~Q~~HYY~~S~~IPYTFGQGTKLEIKR
 TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV~~V~~CLLN~~N~~FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
 EQDSKDYSLSS~~T~~LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

20

SEQ ID NO: 41

本披露中使用的阴性对照抗体 Isotype 的 VH/VL 序列来自专利 US6114143A，
 重链恒定区和轻链恒定区序列分别为 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 21，其全长
 序列如下:

25 Isotype 重链:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNSWIGWFRQAPGQGLEWIGDIYP
 GGGYTNYNEIFK~~G~~KATMTADTSTNTAYMELSSLRSEDTAVYYCSR~~G~~IPGYAMDY
 WGQGT~~L~~VT~~V~~SS~~A~~STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV~~V~~TPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK
 30 THTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV
 DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI
 SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
 TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV~~F~~SCSV~~M~~HEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 42

35 Isotype 轻链:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITMSCKSSQSL~~L~~NSGDQKNYLTWYQQKPGKAPKLLI
 YWASTGESGVPSRFS~~G~~SGSGTDFLT~~I~~SS~~L~~QPED~~I~~ATYYCQNDYSYPWTFGQGTK

VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 43

注：序列中下划线部分为可变区，斜体部分为恒定区。

5 二、ADC 的制备

 ADC 原液药物载药量分析

ADC 是一种抗体-药物偶联物，其治疗疾病的机理是依赖抗体的靶向性将药物运送到细胞中，进而将细胞杀死或抑制细胞生长。药物的载药量对药效起着决定性的作用。

10 本披露采用 RP-HPLC 法分析药物载药量，过程基本如下：

 试剂和仪器：

三氟乙酸（TFA）：sigma 生产，100 mL/瓶；乙腈：LC 级，4 L/瓶，Thermo Fisher 生产；DTT：sigma 生产，1g/瓶。

 高效液相色谱仪：Agilent 1200。

15 溶液配制：

 1) 0.25M DTT 溶液：

 配制示例：取 DTT 5.78 mg，加入 150μL 纯化水充分溶解后，配得 0.25M DTT 溶液，-20℃保存。

 2) 流动相 A（0.1% TFA 水溶液）：

20 配制示例：量筒量取 1000 mL 纯化水，加入 1 mL TFA，充分混匀后使用，2-8℃保存 14 天。

 3) 流动相 B（0.1% TFA 乙腈溶液）：

 配制示例：量筒量取 1000 mL 乙腈，加入 1 mL TFA，充分混匀后使用，2-8℃保存 14 天。

25 裸抗体和供测试样品（浓度为 1 mg/mL，约 200μL），加入 4μL DTT 还原，37 度水浴 1 小时，结束后取出到内插管中，待进样使用。

 色谱条件：

 色谱柱：Agilent PLRP-S 1000A 8μm 4.6*250 mm；柱温：80℃；

 DAD 检测器：检测波长 280 nm；样品室温度：4℃；流速：1 mL/分钟；

30 进样量为：40 μL；

 色谱梯度见表 4：

表 4

时间（分钟）	流动相 A %	流动相 B %
0	80.0	20.0
5.00	64.0	36.0

32.00	40.0	60.0
32.10	80.0	20.0
45.00	80.0	20.0

数据分析：

通过样品与裸抗体的谱图比对，区分出轻重链的位置，然后对检测样品的谱图进行积分，计算出 DAR 值。计算公式如下所示：

5

表 5

名称	连接药物数
LC	0
LC+1	2
HC	0
HC+1	2
HC+2	4
HC+3	6

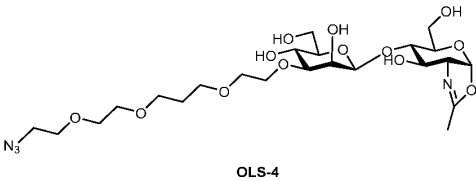
LC 峰面积总和=LC 峰面积+LC+1 峰面积；
HC 峰面积总和=HC 峰面积+HC+1 峰面积+ HC+2 峰面积+ HC+3 峰面积；
LC DAR=Σ(连接药物数*峰面积百分比)/ LC 峰面积总和；
HC DAR=Σ(连接药物数*峰面积百分比)/ HC 峰面积总和；
DAR= LC DAR+ HC DAR。

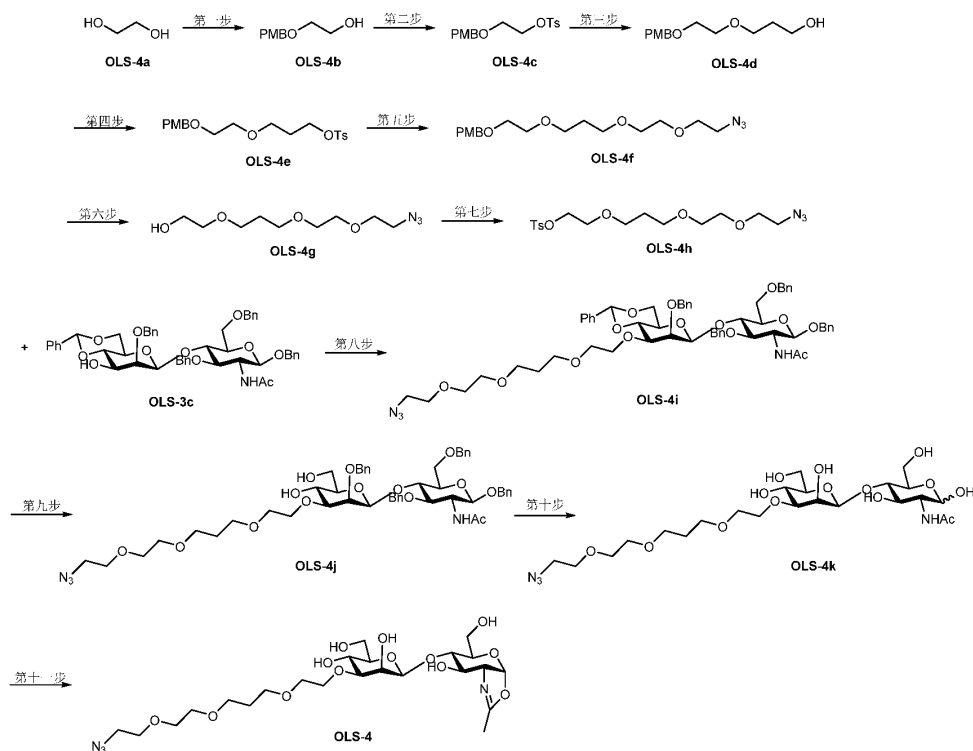
10

实施例 4-1 糖链 OLS-4 的合成

(2S,3S,4S,5R,6R)-4-(2-(3-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)丙氧基)乙氧基)-2-
(((3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-羟基-5-(羟甲基)-2-甲基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噁
唑-6-基)氧基)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-3,5-二醇 OLS-4

15





第一步

2-((4-甲氧基苄基)氧基)乙-1-醇 OLS-4b

将乙二醇 OLS-4a (50.00 g, 805.57 mmol)溶解于无水四氢呋喃(300 mL)中, 依次加入钠氢(4.93 g, 128.89 mmol, 含量 60%)、四丁基碘化铵(5.37 g, 16.11 mmol), 氮气保护, 在 0°C下搅拌反应 30 分钟, 随后缓慢滴加对甲氧基苄氯(20.19 g, 128.89 mmol), 约 30 分钟滴加完毕, 升温至 80°C搅拌反应 16 小时, 将反应液倒入冰水中搅拌淬灭, 加入乙酸乙酯(500 mL)搅拌, 分液, 所得水相用乙酸乙酯(150 mL×3)萃取, 合并有机相, 有机相用水(250 mL×3), 饱和氯化钠溶液(250 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4b (22.00 g, 产率: 14.9%)。

MS m/z (ESI): 205.2 [M+23]。

第二步

2-((4-甲氧基苄基)氧基)乙基 4-甲基苯磺酸酯 OLS-4c

将 OLS-4b(22.00 g, 120.74 mmol)溶解于吡啶(98 mL)中, 在 0°C下加入对甲苯磺酰氯(27.62 g, 144.88 mmol), 氮气保护, 0°C下搅拌反应并缓慢恢复至室温反应 16 小时。加入乙酸乙酯(300 mL)稀释反应液, 用盐酸(10%, 150 mL×3)洗涤, 有机相依次用水(150 mL×3)、饱和氯化钠溶液(250 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥 30 分钟, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4c (36.40 g, 产率: 89.6%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.81 (d, 2H), 7.33 (d, 2H), 7.21 (d, 2H), 6.88 (d, 2H), 4.43 (s, 2H), 4.23-4.17 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.68-3.61 (m, 2H), 2.45 (s, 3H)。

第三步

3-(2-((4-甲氧基苄基)氧基)乙氧基)丙-1-醇 OLS-4d

5 将 OLS-4c (36.40 g, 108.20 mmol)、1,3-丙二醇(82.34 g, 1.08 mol)溶解于甲苯(100 mL)中, 室温下加入粉状氢氧化钾(15.18 g, 270.51 mmol), 将混合物在氮气保护下加热至 50°C, 搅拌反应 72 小时。反应液倒入冰水(200 mL)中, 滴加浓盐酸至反应液 pH 为 3~4, 加入乙酸乙酯(300 mL)萃取, 分液, 水相用乙酸乙酯(100 mL×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥 30 分钟, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 10 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4d (15.60 g, 产率: 60.0%)。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.28 (d, 2H), 6.89 (d, 2H), 4.51 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (t, 2H), 3.68 (t, 2H), 3.65-3.59 (m, 4H), 2.51 (br.s, 1H), 1.88-1.82 (m, 2H)。

第四步

15 3-(2-((4-甲氧基苄基)氧基)乙氧基)丙基 4-甲基苯磺酸酯 OLS-4e

将 OLS-4d (15.60 g, 64.92 mmol)溶解于吡啶(52 mL)和二氯甲烷(52 mL)的混合溶液中, 在 0°C 下加入对甲苯磺酰氯(18.56 g, 97.38 mmol), 氮气保护, 0°C 下搅拌反应并缓慢恢复至室温反应 16 小时。加入乙酸乙酯(300 mL)稀释反应液, 依次用盐酸(10%, 150 mL×3)、水(150 mL×3)和饱和氯化钠溶液(250 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥 30 分钟, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4e (18.00 g, 产率: 70.3%)。

MS m/z (ESI): 417.3 [M+23]。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.80 (d, 2H), 7.34 (d, 2H), 7.27 (d, 2H), 6.90 (d, 2H), 4.48 (s, 2H), 4.16 (t, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.53-3.49 (m, 6H), 2.45 (s, 3H), 1.96-1.91 (m, 2H)。

25

第五步

14-叠氮基-1-(4-甲氧基苄基)-2,5,9,12-四氧杂十四烷 OLS-4f

将 OLS-4e (8.00 g, 20.28 mmol)、叠氮-二聚乙二醇(3.72 g, 28.39 mol, 爱玛特)溶解于甲苯(33 mL)中, 室温下加入粉状氢氧化钾(2.84 g, 50.70 mmol), 将混合物在氮气保护下加热至 60°C, 搅拌反应 16 小时。反应液倒入冰水(100 mL)中, 滴加浓盐酸至反应液 pH 为 3~4, 加入乙酸乙酯(100 mL)萃取, 分液, 水相用乙酸乙酯(50 mL×3)萃取, 合并有机相, 无水硫酸钠干燥 30 分钟, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4f (6.3 g, 产率: 87.9%)。

MS m/z (ESI): 376.3 [M+23]。

35 ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (d, 2H), 6.89 (d, 2H), 4.52 (s, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.70-3.56 (m, 14H), 3.40 (t, 2H), 1.93-1.87 (m, 2H)。

第六步

2-(3-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)丙氧基)乙-1-醇 OLS-4g

将 OLS-4f (6.30 g, 17.83 mmol) 溶解于二氯甲烷(31 mL)和水(3.1 mL)中, 室温下加入二氯二氰苯醌(4.45 g, 19.61 mmol, 阿拉丁), 氮气保护, 25°C 搅拌反应 1.5 小时。反应液用硅藻土过滤, 滤液加入二氯甲烷(150 mL)稀释, 依次用饱和碳酸氢钠溶液(100 mL×2)、饱和亚硫酸氢钠溶液(100 mL×2)、水(100 mL)和饱和氯化钠溶液(100 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥 30 分钟, 抽滤, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4g (3.2 g, 产率: 76.9%)。

第七步

2-(3-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)丙氧基)乙基 4-甲基苯磺酸酯 OLS-4h

将 OLS-4g (3.20 g, 13.72 mmol) 溶解于吡啶(11 mL)和二氯甲烷(11 mL)中, 冷却至 0°C, 加入对甲苯磺酰氯(3.14 g, 16.46 mmol), 氮气保护, 0°C 搅拌反应并缓慢恢复至室温反应 16 小时。加入乙酸乙酯(200 mL)稀释反应液, 依次用盐酸(10%, 150 mL×3)、水(150 mL×3)、饱和氯化钠溶液(250 mL×2)洗涤, 无水硫酸钠干燥 30 分钟, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用硅胶柱色谱法以洗脱剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4h (4.80 g, 产率: 90.3%)。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.79 (d, 2H), 7.34 (d, 2H), 4.14 (t, 2H), 3.67-3.57 (m, 8H), 3.51-3.46 (m, 4H), 3.38 (t, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.81-1.75 (m, 2H)。

第八步

N-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-(((2R,4aR,6S,7S,8S,8aR)-8-(2-(3-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)丙氧基)乙氧基)-7-(苄氧基)-2-苯基六氢吡喃并[3,2-d][1,3]二氧杂己环-6-基)氧基)-2,4-双(苄氧基)-6-((苄氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-3-基)乙酰胺 OLS-4i

依次将 OLS-3c (340 mg, 0.41 mmol)、N,N-二甲基甲酰胺(4.8 mL)和 2 mL OLS-4h (398 mg, 1.03 mmol) 的 N,N-二甲基甲酰胺溶液加入反应瓶中, 冷却至 0°C。加入氢化钠(86 mg, 2.15 mmol, 含量 60%), 0°C 反应约 0.5 小时, 然后升温至 20~30°C 反应约 0.5 小时。将反应液倒入饱和氯化铵溶液(10 mL)及水(10 mL)的混合溶液中, 乙酸乙酯(10 mL×3)萃取。合并有机相, 依次用水(10 mL)和饱和氯化钠溶液(10 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4i (362 mg, 产率: 84.6%)。

MS m/z (ESI): 1047.4 $[\text{M}+1]$ 。

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.16 (m, 25H), 5.70 (d, 1H), 5.44 (s, 1H), 4.87 (d, 1H), 4.84-4.78 (m, 3H), 4.71-4.68 (m, 1H), 4.57-4.50 (m, 4H), 4.41-4.38 (m, 1H), 4.04-4.01 (m, 1H), 3.97 (t, 1H), 3.93-3.84 (m, 2H), 3.76-3.68 (m, 3H), 3.61-3.40 (m, 16H), 3.34-3.27 (m, 3H), 3.11-3.05 (m, 2H), 1.78-1.72 (m, 2H), 1.51 (s, 3H)。

第九步

N-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-(((2S,3S,4S,5R,6R)-4-(2-(3-(2-(2-叠氨基乙氧基)乙氧基)丙氧基)丙氧基)乙氧基)-7-(苄氧基)-2-苯基六氢吡喃并[3,2-d][1,3]二氧杂己环-6-基)氧基)-2,4-双(苄氧基)-6-((苄氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-3-基)乙酰胺 OLS-4j

基)乙氧基)-3-(苄氧基)-5-羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,4-双(苄氧基)-6-((苄氧基)甲基)四氢-2H-吡喃-3-基)乙酰胺 OLS-4j

依次将化合物 OLS-4i (360 mg, 0.34 mmol)和二氯甲烷(26 mL)加入反应瓶中, 氮气保护下冷却至-30~-20°C, 滴加三氟乙酸(3.6 mL), 滴加完毕, 升温至-5~5°C搅拌反应约 1.5 小时。加入甲醇(5.1 mL)淬灭反应, 加入二氯甲烷(12.3 mL)稀释, 依次用饱和碳酸氢钠溶液(26 mL×2)和饱和氯化钠溶液(13 mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤除去干燥剂, 滤液减压浓缩, 用薄层色谱法以展开剂体系 C 纯化所得残余物, 得到标题产物 OLS-4j (234 mg, 产率: 71.0%)。

MS m/z (ESI): 959.7[M+1]。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31-7.17 (m, 20H), 5.64 (d, 1H), 4.87 (d, 1H), 4.84-4.79 (m, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.58-4.50 (m, 3H), 4.43-4.39 (m, 2H), 4.05 (t, 1H), 3.82 (t, 1H), 3.74-3.36 (m, 23H), 3.30 (t, 2H), 3.10-3.07 (m, 1H), 3.00-2.97 (m, 1H), 2.21 (br.s, 1H), 1.81-1.75 (m, 2H), 1.66 (s, 3H)。

第十步

N-(((3R,4R,5S,6R)-5-(((2S,3S,4S,5R,6R)-4-(2-(3-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)丙氧基)乙氧基)-3,5-二羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)-2,4-二羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-3-基)乙酰胺 OLS-4k (非对映异构体混合物)

将 OLS-4j (150 mg, 158.72 μmol)溶解于四氢呋喃(8 mL)和水(2 mL)中, 加入氢氧化钡(50.0 mg, 含量 15%), 钡碳(61 mg, 含量 10%)和盐酸(1 滴)。氢气置换三次, 室温搅拌反应 12 小时。过滤除去催化剂, 滤液减压浓缩, 所得残余物溶解于甲醇(7 mL)中, 加入咪唑-1-磺酰基叠氮盐酸盐(6 mg, 220.41 μmol), 碳酸钾(68 mg, 492.00 μmol)和硫酸铜(5.7 mg, 22.83 μmol), 室温搅拌反应 12 小时。过滤除去无机盐, 用甲醇(3 mL)淋洗固体, 合并有机相, 滤液减压浓缩, 得到粗品标题产物 OLS-4k (161 mg)。产物不经纯化直接进行下一步反应。

MS m/z (ESI): 599.3 [M+1]。

第十一步

(2S,3S,4S,5R,6R)-4-(2-(3-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)丙氧基)乙氧基)-2-(((3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-羟基-5-(羟甲基)-2-甲基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噁唑-6-基)氧基)-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-3,5-二醇 OLS-4

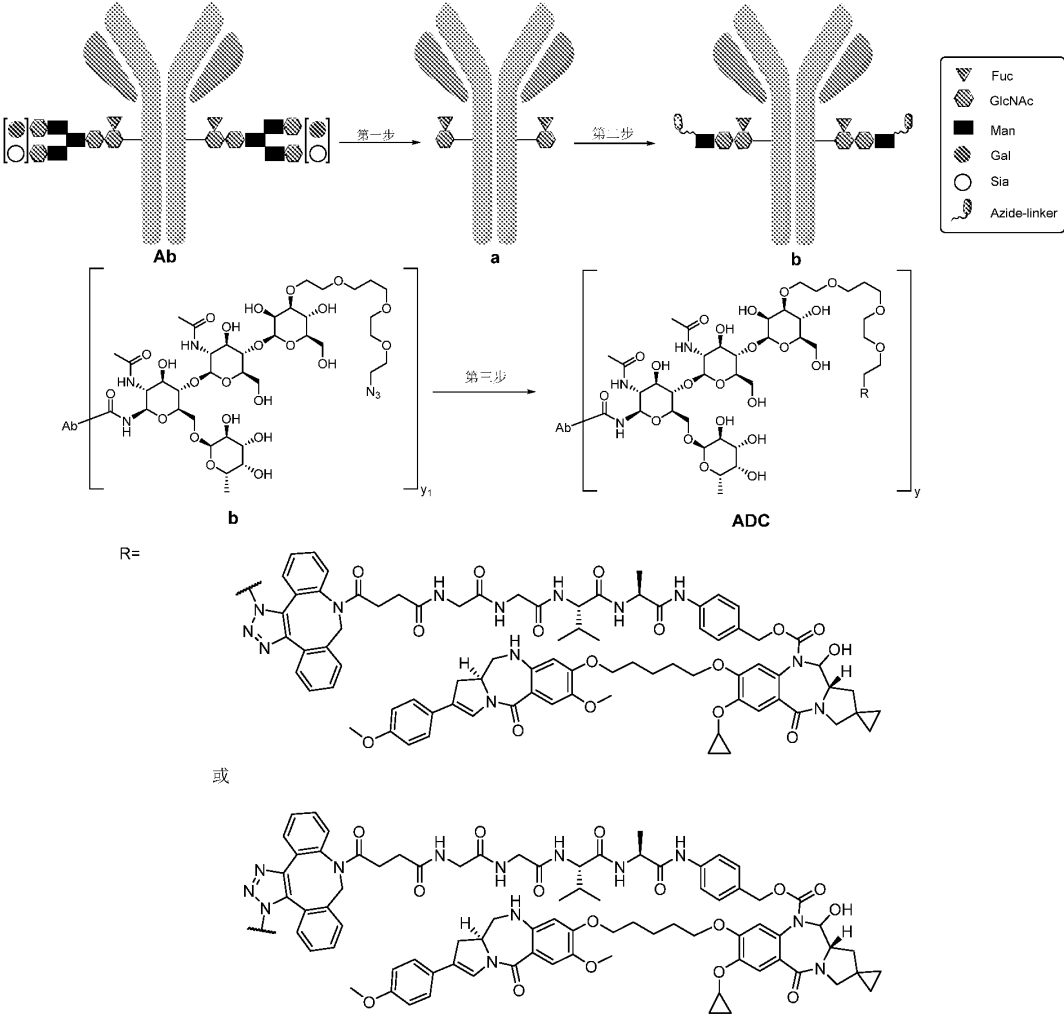
冰浴下, 将粗品化合物 OLS-4k (161 mg, 148.01 μmol)溶解于纯水(8 mL)中, 加入 2-氯-1,3-二甲基-1H-苯并咪唑-3-氯化物(557 mg, 3.07 mmol)和碳酸铯(3.00 g, 9.20 mmol), 0°C下搅拌反应 12 小时。用高效液相色谱法(色谱柱: Phenomenex C18, 150*25 mm, 10 μm; 流动相: 水(0.01%氨水)和乙腈, 梯度配比: 乙腈 0%-30%, 流速: 25 mL/min)纯化反应液, 5 mol%氢氧化钠溶液中冻干得到标题产物 OLS-4 (35 mg, 第十步和十一步两步总产率: 38.2%)。

MS m/z (ESI): 581.3 [M+1]。

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.02 (d, 1H), 4.65 (s, 2H), 4.30 (s, 2H), 4.09-3.93(m, 5H), 3.86-3.77 (m, 4H), 3.73-3.51 (m, 16H), 3.40-3.28 (m, 5H), 2.01 (s, 3H), 1.88-1.81 (m, 2H)。

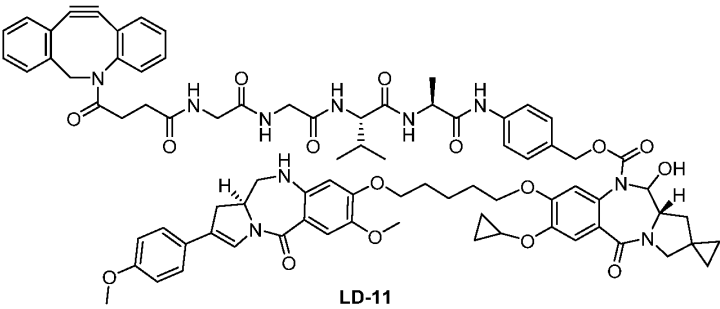
5 **实施例 4-2 ADC-1, ADC-2, ADC-3 的合成**

以下反应通式适用于 ADC-1, ADC-2, ADC-3 的制备:

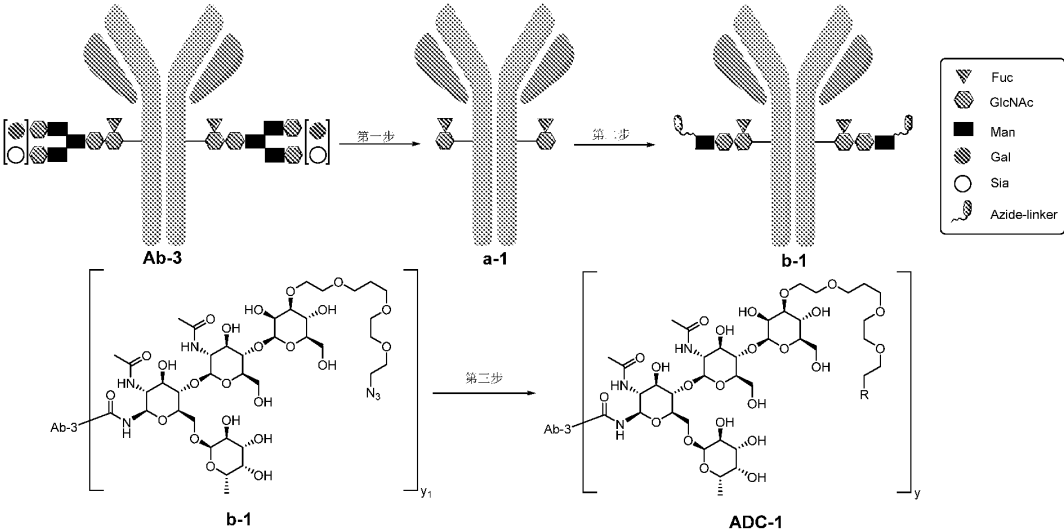


10 (该步中形成的三唑环具有几何结构, 所得到的化合物包含 R 所示的两种结构。)

其中, 第三步反应中的连接子-毒素采用化合物 LD-11 (采用专利申请“WO2023051814A1 中说明书第 142-146 页”实施例 3-11 公开的方法制备而得), 具体结构如下所示:



实施例 4-2-1 ADC-1



5

第一步

在 37°C 条件下，向抗体 Ab-3 的 PBS 缓冲水溶液(pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10 mg/mL，2 mL)加入 Endo S 酶(19.16 mg/mL，10.4 μ L)，置于水浴振荡器，于 37°C 振荡反应 12 小时，停止反应。将反应液用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，得到 a-1 的亲亲和洗脱液，换液至 pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲液中，于 4°C 冷藏储存。

第二步

在 37°C 条件下，向 a-1 的 PBS 缓冲水溶液(pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10.0 mg/mL，2 mL)加入 Endo S 酶(19.16 mg/mL，10.4 μ L)和 OLS-4 (2.32 mg)，置于水浴振荡器，于 37°C 振荡反应 1 小时，停止反应。将反应液用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，得到 b-1 的亲亲和洗脱液，换液至 pH=7.4 的 PBS 缓冲水溶液中，于 4°C 冷藏储存。y1 表示糖链重构至抗体重链 N297 位的平均数量，抗体重链的 2 个 N297 位点可以重构 2 个糖链，或 1 个糖链。

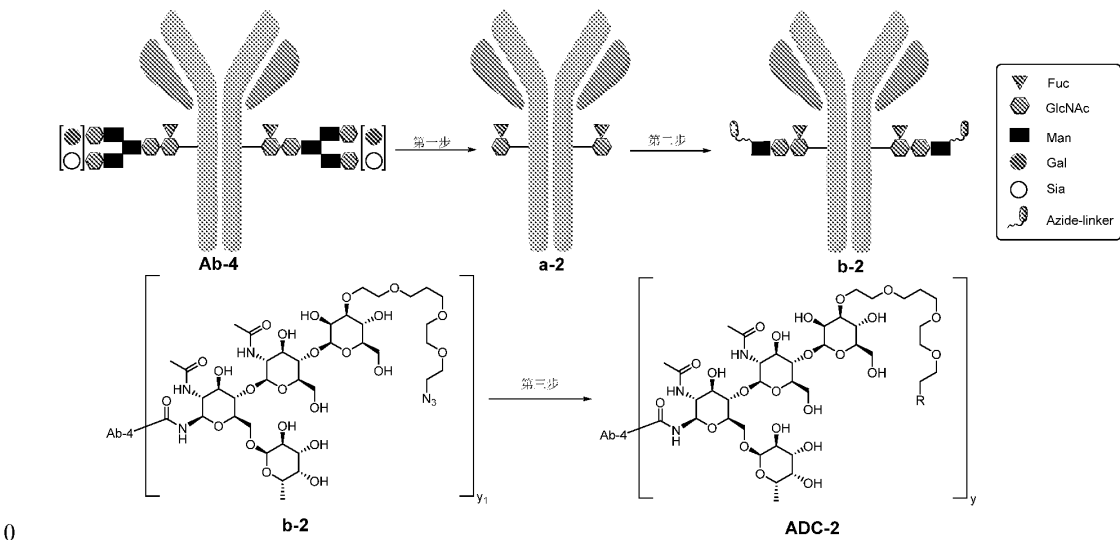
第三步

在 25°C 条件下，取 b-1 的 PBS 缓冲水溶液(pH=7.4 PBS 缓冲水溶液；8.0 mg/mL，

1.0 mL)，然后向其中加入 0.8 mL 1,2-丙二醇，摇匀后加入 LD-11 溶液(0.388 mg，266 nmol，溶于 100 μ L 二甲基亚砜与 100 μ L 1,2-丙二醇混合溶剂中)；置于室温摇床上反应 12 小时。将反应液离心并取上清液，用 15 mL pH=7.4 PBS 缓冲溶液稀释后，用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，所得溶液用三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(1M，pH=8.0)调节至 pH 值约为 5.0，得到标题产物 ADC-1 的亲洗脱液，于 4℃冷藏储存。

MS 计算每一分子抗体的平均药物结合数： $y=1.7$ 。

实施例 4-2-2 ADC-2



第一步

在 37℃条件下，向抗体 Ab-4 的 PBS 缓冲水溶液(pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10 mg/mL，3 mL)加入 Endo S 酶(19.16 mg/mL，15.6 μ L)，置于水浴振荡器，于 37℃振荡反应 12 小时，停止反应。将反应液用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，得到 a-2 的亲洗脱液，换液至 pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲液中，于 4℃冷藏储存。

第二步

在 37℃条件下，向 a-2 的 PBS 缓冲水溶液(pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10.0 mg/mL，2 mL)加入 Endo S 酶(19.16 mg/mL，10.4 μ L)和 OLS-4 (2.32 mg)，置于水浴振荡器，于 37℃振荡反应 1 小时，停止反应。将反应液用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，得到 b-2 的亲洗脱液，换液至 pH=7.4 的 PBS 缓冲水溶液中，于 4℃冷藏储存。 y_1 表示糖链重构至抗体重链 N297 位的平均数量，抗体重链的 2 个 N297 位点可以重构 2 个糖链，或 1 个糖链。

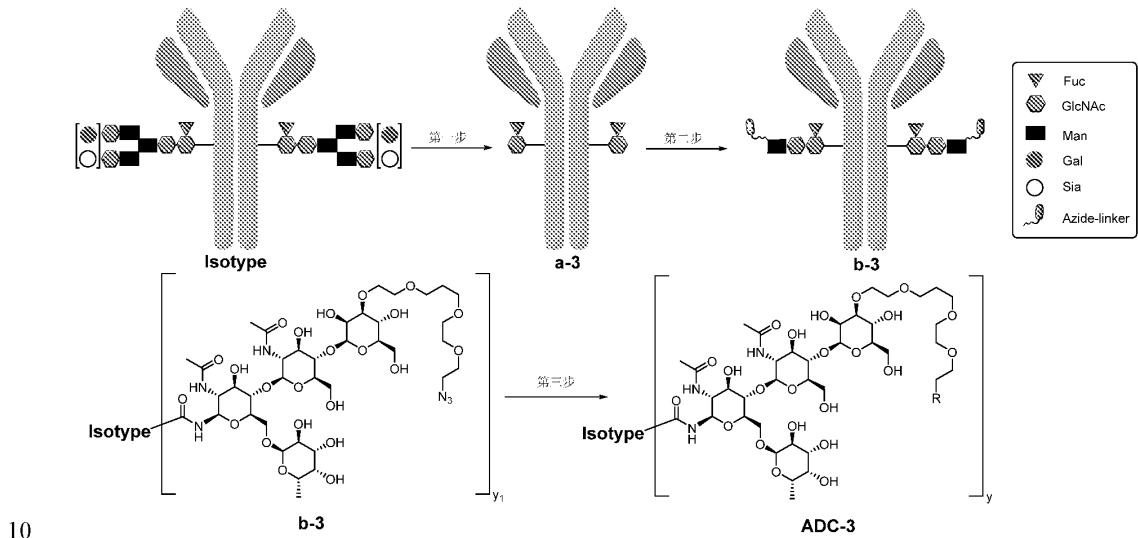
第三步

在 25℃条件下，取 b-2 的 PBS 缓冲水溶液(pH=7.4 PBS 缓冲水溶液；8.0 mg/mL，

1.0 mL)，然后向其中加入 0.8 mL 1,2-丙二醇，摇匀后加入 LD-11 溶液(0.388 mg，266 nmol，溶于 100 μ L 二甲基亚砜与 100 μ L 1,2-丙二醇混合溶剂中)；置于室温摇床上反应 12 小时。将反应液离心并取上清液，用 15 mL pH=7.4 PBS 缓冲溶液稀释后，用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，所得溶液用三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(1M，pH=8.0)调节至 pH 值约为 5.0，得到标题产物 ADC-2 的亲亲和洗脱液，于 4℃冷藏储存。

MS 计算每一分子抗体的平均药物结合数：y=1.7。

实施例 4-2-3 ADC-3



第一步

在 37℃条件下，向抗体 Isotype 的 PBS 缓冲水溶液(pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10 mg/mL，3.23 mL)加入 Endo S 酶(19.16 mg/mL，16.8 μ L)，置于水浴振荡器，于 37℃振荡反应 12 小时，停止反应。将反应液用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，得到 a-3 的亲亲和洗脱液，换液至 pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲液中，于 4℃冷藏储存。

第二步

在 37℃条件下，向 a-3 的 PBS 缓冲水溶液(pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10.0 mg/mL，3.0 mL)加入 Endo S 酶(19.16 mg/mL，15.6 μ L)和 OLS-4 (3.48 mg)，置于水浴振荡器，于 37℃振荡反应 1 小时，停止反应。将反应液用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，得到 b-3 的亲亲和洗脱液，换液至 pH=7.4 的 PBS 缓冲水溶液中，于 4℃冷藏储存。y1 表示糖链重构至抗体重链 N297 位的平均数量，抗体重链的 2 个 N297 位点可以重构 2 个糖链，或 1 个糖链。

第三步

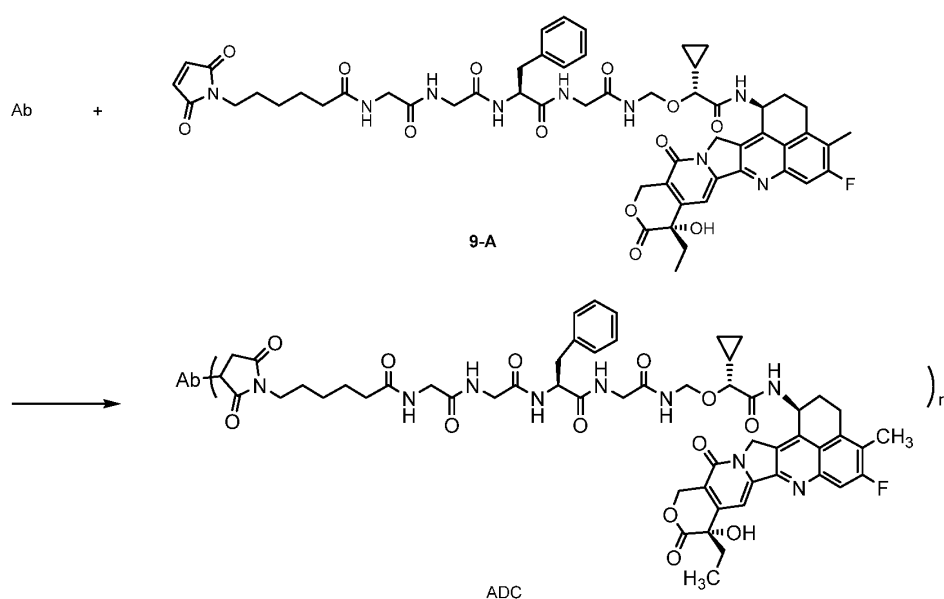
在 25℃条件下，取 b-3 的 PBS 缓冲水溶液(pH=7.4 PBS 缓冲水溶液；8.0 mg/mL，

3.5 mL)，然后向其中加入 2.8 mL 1,2-丙二醇，摇匀后加入 LD-11 溶液(1.36 mg，931 nmol，溶于 350 μ L 二甲基亚砜与 350 μ L 1,2-丙二醇混合溶剂中)；置于室温摇床上反应 12 小时。将反应液离心并取上清液，用 30 mL pH=7.4 PBS 缓冲溶液稀释后，用 Protein A 蛋白纯化柱纯化(洗脱相：pH 为 3.0 的醋酸缓冲水溶液)，所得溶液用三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(1M，pH=8.0)调节至 pH 值约为 5.0，得到标题产物 ADC-3 的亲亲和洗脱液，于 4°C 冷藏储存。

MS 计算每一分子抗体的平均药物结合数： $y=1.71$ 。

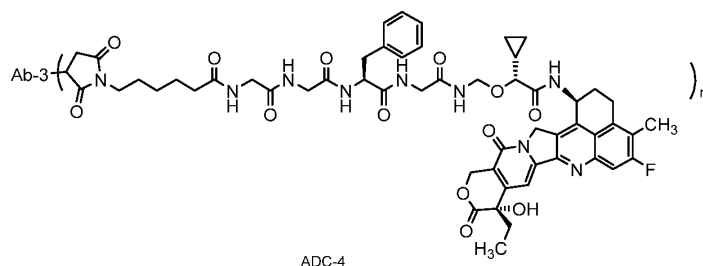
实施例 4-3 ADC-4，ADC-5，ADC-6 的合成

以下反应通式适用于 ADC-4，ADC-5，ADC-6 的制备：



其中，化合物 9-A 采用专利申请“WO2020063676A1 中说明书第 58-61 页”实施例 9 公开的方法制备而得。

实施例 4-3-1 ADC-4



在 37 °C 条件下，向抗体 Ab-3 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液；10.0 mg/mL，2.0 mL，133.3 nmol) 加入配置好的三(2-羧乙基)膦盐酸

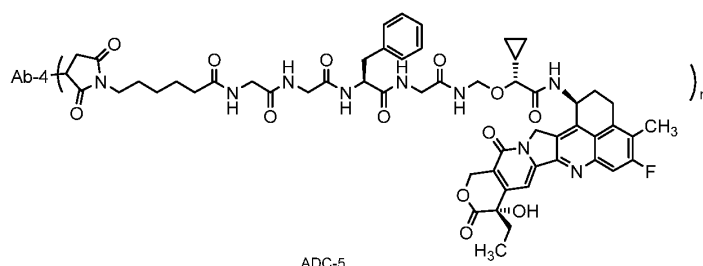
盐(TCEP.HCl)的水溶液(10 mM, 73.3 μ L, 733 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液降温至 25 °C, 再将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱换液至 pH5.0 30 mM 组氨酸-醋酸缓冲液中, 并浓缩至 10mg/mL。

将化合物 9-A (2.15 mg, 2.0 μ mol) 溶解于适量 100 μ L 二甲亚砜中, 加入到上述反应液中, 置于恒温振荡器, 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=5.5 的 0.01M 的 His 缓冲水溶液, 含 8% 蔗糖), 得到标题产物 ADC-4 的 His 缓冲液, 于 4 °C 冷藏储存。

RP-HPLC 计算平均值: $n=7.44$ 。

10

实施例 4-3-2 ADC-5



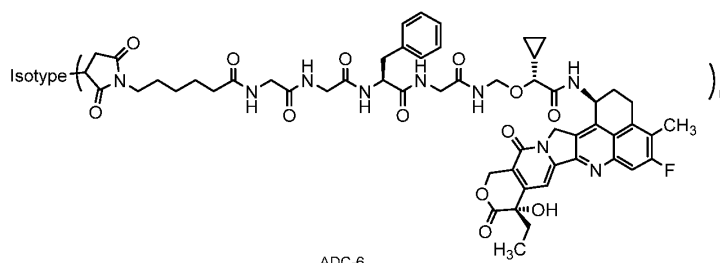
ADC-5

在 37 °C 条件下, 向抗体 Ab-4 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 10.0 mL, 666.7 nmol) 加入配置好的三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP.HCl)的水溶液(10 mM, 366.7 μ L, 3667 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液降温至 25 °C, 再将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱换液至 pH5.0 30 mM 组氨酸-醋酸缓冲液中, 并浓缩至 10mg/mL。

将化合物 9-A (10.74 mg, 10.0 μ mol) 溶解于适量 500 μ L 二甲亚砜中, 加入到上述反应液中, 置于恒温振荡器, 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=5.5 的 0.01M 的 His 缓冲水溶液, 含 8% 蔗糖), 得到标题产物 ADC-5 的 His 缓冲液, 于 4 °C 冷藏储存。

RP-HPLC 计算平均值: $n=7.56$ 。

实施例 4-3-3 ADC-6



ADC-6

在 37 °C 条件下, 向抗体 Isotype 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.3 的 0.05 M 的 PBS

缓冲水溶液；10.0 mg/mL，2.2 mL，146.7 nmol)加入配置好的三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP.HCl)的水溶液(10 mM，81.8 μL，818 nmol)，置于水浴振荡器，于 37 °C 下振荡反应 3 小时，停止反应。将反应液降温至 25 °C。

5 将化合物 9-A (2.39mg，2.23 μmol)溶解于适量 110 μL 二甲亚砜中，加入到上述反应液中，置于恒温振荡器，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=5.5 的 0.01M 的 His 缓冲水溶液，含 8%蔗糖)，得到标题产物 ADC-6 的 His 缓冲液，于 4 °C 冷藏储存。

RP-HPLC 计算平均值：n=7.6。

10

测试例

测试例 1：FACS 检测抗体细胞水平的结合实验

将表达 CLDN6 的肿瘤细胞 PA-1(人卵巢畸胎瘤细胞，ATCC，货号 CRL-1572)，OVCAR3(人卵巢癌细胞，ATCC，HTB-161)，OV90(人卵巢癌细胞，上海中乔新舟，ZQ0073)，293T/人 CLDN9 细胞用 FACS 缓冲液（1%BSA + pH 7.4 PBS）制备成
15 1×10⁶/mL 的细胞悬液，100μL/孔加入 96 孔圆底板（Corning，3795）中。300g 离心 5 分钟，去除上清。加入不同浓度待测抗体，100 μL/孔。放于 4°C 冰箱中避光孵育 1 小时。300g 离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 APC 抗人 IgG Fc (BioLegend，410712)，放于 4°C 冰箱中避光孵育 40 分钟。300g 离心洗涤 3 次后，在 Invitrogen 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度，计算抗体对这些细胞的结合 EC₅₀ 值。结果见表 6-1 至表 6-2。
20

表 6-1. 抗体与细胞的结合活性

细胞 抗体	PA-1		OV90		293T/人 CLDN9	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)	E _{max}	EC ₅₀ (nM)	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
Ab-1	40816	2.49	776	5.36	159	/
Ab-2	45895	2.25	756	4.27	164	/
Isotype	111	/	296	/	116	/

注：/代表不结合。

表 6-2. 抗体与细胞的结合活性

细胞 抗体	PA-1		OVCAR3		OV90		293T/人 CLDN9	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)	E _{max}	EC ₅₀ (nM)	E _{max}	EC ₅₀ (nM)	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
Ab-2	48556	3.36	18927	8.67	880	2.70	106	/
Ab-3	49818	3.32	18032	4.04	1093	1.88	98	/
Ab-4	49340	3.07	16843	7.89	825	2.26	115	/
Ab-5	47547	2.84	16470	7.69	942	3.41	76	/
Ab-6	47654	3.06	16793	8.16	1046	3.18	101	/
Ab-7	49374	3.80	15086	12.94	876	2.54	83	/
Isotype	146	/	128	/	N.A	N.A	84	/

注：/代表不结合；N.A 代表没有测试。

结果显示：本披露的抗体均能与细胞表达的 CLDN6 特异性结合，且不与 CLDN9 结合。

测试例 2：FACS 检测抗体对 293T/人 CLDN3、CLDN4 细胞的结合实验

5 将 293T/人 CLDN3、CLDN4 的细胞用 FACS 缓冲液（包含 1%BSA 和 pH7.4 PBS）制备成 1×10^6 /mL 的细胞悬液，100μL/孔加入 96 孔圆底板（Corning，3795）中。300g 离心 5 分钟，去除上清。加入待 100 ug/mL 检测的抗体，100μL/孔，放于 4℃冰箱中避光孵育 1 小时。300g 离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 APC F(ab')2-羊抗人 IgG Fc (BioLegend，410712)，放于 4℃冰箱中避光孵育 40 分钟。300g 离心
10 洗涤 3 次后，在 Invitrogen 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度。结果详见图 1 至图 7。

结果显示：本披露的抗体与阴性对照抗体 Isotype 相同，与人 CLDN3 和 CLDN4 均不结合。

15 测试例 3：FACS 检测抗体对 293T/人/大小鼠 CLDN6/9 细胞的结合实验

将 293T/小鼠（mouse）/大鼠（rat）CLDN6、293T/人（human）CLDN6-I143V 和 293T/小鼠（mouse）CLDN9 细胞以及用 FACS 缓冲液（1%BSA + pH 7.4 PBS）制备成 1×10^6 /mL 的细胞悬液，100μL/孔加入 96 孔圆底板（Corning，3795）中。300g 离心 5 分钟，去除上清。加入不同浓度待测抗体，100 μL/孔。放于 4℃冰箱
20 中避光孵育 1 小时。300g 离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 APC 抗人 IgG Fc (BioLegend，410712)，放于 4℃冰箱中避光孵育 40 分钟。300g 离心洗涤 3 次后，在 Invitrogen 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度，计算抗体对这些细胞的结合 EC₅₀ 值。结果见表 7-1 至表 7-4。

25 表 7-1 抗体与细胞的结合活性

细胞 抗体	293T/小鼠 CLDN6	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
Ab-2	12754	0.39
Ab-3	16021	0.29
Ab-4	14463	0.34
Ab-5	5601	0.03
Ab-6	13810	0.93
Ab-7	9375	0.41

表 7-2 抗体与细胞的结合活性

细胞 抗体	293T/大鼠 CLDN6	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
Ab-3	24401	0.55
Ab-4	16293	1.02
Isotype	157	/

表 7-3 抗体与细胞的结合活性

细胞 抗体	293T/人 CLDN6-I143V	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
Ab-3	12076	0.49
Ab-4	12125	0.35
Isotype	191	/

5

表 7-4 抗体与细胞的结合活性

细胞 抗体	293T/小鼠 CLDN9	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
Ab-3	253	/
Ab-4	213	/
Isotype	200	/

注：/代表不结合。

结果显示：本披露的抗体与小鼠 CLDN6 和大鼠 CLDN6 均有种属交叉活性，且与小鼠 CLDN9 不存在结合。此外，本披露的抗体与人 CLDN6 变体 I143V 也存在结合活性。

10

测试例 4：抗 CLDN6 抗体的内吞活性检测

DT3C 是重组表达的融合蛋白，由白喉毒素的 Fragment 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 Fc 结构高度亲和，在抗体发生内吞时一同进入细胞。活化的白喉毒素（DT）对细胞进行杀伤，间接反映了抗体的内吞情况。根据 IC₅₀ 和 I_{max} 评价抗体的体外内吞活性。

15

用含 20% low IgG FBS(博升生物，BS-0007-500)的新鲜细胞培养基，制取 PA-1 细胞悬液，细胞密度为 4×10⁴ 个细胞/mL，以 50μL/孔加入细胞培养板中，即每孔细胞数为 2000 个，5%二氧化碳 37℃培养 16 小时。

用无血清 MEM 培养基配制成 4×浓度的 DT3C（2400nM 或 600nM），0.22μm 滤器过滤除菌。用无血清 MEM 培养基配制 4×浓度的抗体（400nM 或 100nM），将 75μL DT3C（约 70KD）和 75μL 抗体（约 150KD）按照 1:1 的体积混匀，室温下静置孵育 30 分钟，然后用不含 FBS 的 MEM 培养基 5 倍梯度稀释该混合物，共 9

20

个 Dose，第 10 个点为纯培养基。只加培养基的孔作为杀伤率计算的零点。取 50μL 稀释好的抗体加入 50μL 的细胞中，37℃，5%CO₂ 孵育 1-3 天。每孔加入 50μL CellTiter-Glo™（CTG）（Promega，G7573），室温下避光孵育 10 分钟，多标记检测仪 VICTOR3 (PerkinElmer)上读取化学发光，结果见表 8-1 和表 8-2。结果显示，本披露的抗体具有较好的内吞活性。

表 8-1 抗体的内吞活性

抗体	PA-1	
	IC ₅₀ (nM)	Imax(%)
Ab-1	0.35	71.60
Ab-2	0.47	72.71
Isotype	>400	0.00

表 8-2 抗体的内吞活性

抗体	PA-1	
	IC ₅₀ (nM)	Imax(%)
Ab-3	0.2983	69.31
Ab-4	0.2556	70.44
Ab-5	0.3322	67.47
Ab-6	0.1695	71.02
Ab-7	0.2375	67.63
Isotype	>400	11.03

10 **测试例 5：FACS 检测 ADC 的细胞水平的结合实验**

将表达 CLDN6 的肿瘤细胞 PA-1(ATCC，货号 CRL-1572)用 FACS 缓冲液（1%BSA + pH 7.4 PBS）制备成 1×10⁶/mL 的细胞悬液，100μL/孔加入 96 孔圆底板（Corning，3795）中。300g 离心 5 分钟，去除上清。加入不同浓度的待测 ADC，100μL/孔。放于 4℃冰箱中避光孵育 1 小时。300g 离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 APC 抗人 IgG Fc(BioLegend，410712)，放于 4℃冰箱中避光孵育 40 分钟。300g 离心洗涤 3 次后，在 Invitrogen 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度，计算抗体对表达 CLDN6 的细胞的结合 EC₅₀ 值。结果见表 9-1 至表 9-2。

表 9-1. ADC 与细胞的结合活性

细胞 ADC	PA-1	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
ADC-1	52098	0.44
ADC-2	59842	0.89
ADC-3	175	/

表 9-2. ADC 与细胞的结合活性

细胞 ADC	PA-1	
	E _{max}	EC ₅₀ (nM)
ADC-4	53833	0.32
ADC-5	44326	0.25
ADC-6	398	/

注：/代表不结合。

结果显示：本披露的 ADC-1、ADC-2、ADC-4 和 ADC-5 均能与 PA-1 细胞有较好的结合。

5

测试例 6：ADC 对不同 CLDN6 表达水平细胞杀伤活性实验

将表达 CLDN6 的肿瘤细胞 PA-1(ATCC, 货号 CRL-1572), OVCAR3(ATCC, HTB-161), OV90(上海中乔新舟, ZQ0073), 用胰酶消化, 新鲜培养基中和, 1000rpm 离心后用培养液重悬, 计数后将细胞悬液密度分别调整为: PA-1 细胞 3700 个/mL、

10 OVCAR3 细胞 7400 个/mL 和 OV90 细胞 7400 个/mL 取 135μL 细胞悬液加入到 96 孔细胞培养板中。其中 OV90 细胞是种到圆底 96 孔板 (CLS7007-24EA, Corning), 其他细胞是种到平底 96 孔板 (62096, 欣友)。即 PA-1 细胞每孔 500 个、OVCAR3 细胞每孔 1000 个和 OV90 细胞每孔 1000 个, 96 孔板周围孔不铺细胞只加入 135μL 的培养基, 5%二氧化碳 37℃ 16 小时培养。

15 ADC 样品用 PBS 稀释成 5μM (10×浓度), 以此为首浓度, 用 PBS 进行连续五倍梯度稀释, 共 9 个浓度, 第 10 个浓度点为不加药对照孔。对于 OV90 细胞单独配药, ADC 样品用 PBS 稀释成 10μM (10×浓度), 以此为首浓度, 用 PBS 进行连续三倍梯度稀释, 共 9 个浓度, 第 10 个浓度点为不加药对照孔。药物稀释后, 每孔加入 15μL 的 10×梯度稀释溶液, 其中第 10 孔为培养基, 每个浓度点做复孔,

20 5%二氧化碳 37℃培养 6 天。

当培养完成后, PA-1, OVCAR3 这些细胞的 96 孔板每孔加入 75μL CTG (G7573, Promega), 室温下避光孵育 10 分钟, 将白色底膜贴在细胞培养板底部, 置于 ENVISION 上读取化学发光。对于 OV90 细胞板, 每孔加入 75μL 3D CTG (G9683, Promega), 室温震荡裂解 20 分钟后, 用排枪取 100μL 液体转移到白色底部贴膜的

25 96 孔板, 置于 ENVISION 上读取化学发光。

体外细胞杀伤活性结果见表 10-1 至表 10-3。

表 10-1 ADC 的体外细胞杀伤活性

ADC	PA-1		OVCAR3		OV90	
	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)
ADC-1	0.014	100.00	2.07	94.36	265.9	87.22

ADC-2	0.011	100.00	4.16	96.34	242.5	87.15
ADC-3	1.56	99.97	28.46	96.56	294.00	83.09

表 10-2 ADC 的体外细胞杀伤活性

ADC	PA-1		OVCAR3		OV90	
	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)
ADC-4	0.059	98.83	0.25	86.01	41.12	97.25
ADC-6	379.1	93.46	42.70	86.30	198.00	94.47

表 10-3 ADC 的体外细胞杀伤活性

ADC	PA-1		OVCAR3		OV90	
	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)	IC ₅₀ (nM)	I _{max} (%)
ADC-5	0.25	99.22	1.75	93.63	36.02	94.07
ADC-6	309.20	95.10	60.89	94.32	194	86.96

5 结果显示：本披露的 ADC-1、ADC-2、ADC-4 和 ADC-5 对 PA-1、OVCAR3 和 OV90 细胞均有较好的杀伤活性。

体内活性生物学评价

测试例 7-1：PA-1 细胞 CDX 小鼠模型体内药效评价

10 将人卵巢癌细胞PA-1细胞(ATCC, 货号CRL-1572)(4~5×10⁶个, 含50%基质胶, #356234)200μL/只, 接种NOD SCID小鼠右肋部皮下。接种10~12天后, 待肿瘤体积在~175至~190mm³后去除体重、肿瘤过大和过小的, 按肿瘤体积将小鼠随机分组, 每组8只, 当天开始给药。通过尾静脉注射ADC, 剂量为0.3-0.1或0.3-0.15mg/kg, 共给药1次, 观察肿瘤生长情况。每周测量2次瘤体积和体重, 记录数据。使用Excel
15 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×L_长×L_短²。

 相对肿瘤增殖率 T/C(%)=(T-T₀)/(C-C₀)×100%，其中 T、C 为实验结束时治疗组
20 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 11-1 和 11-2、图 8A 和图 8B（vehicle 是指 Isotype-ADC）。

表 11-1. ADC 对 NOD SCID 鼠 PA-1 移植瘤的疗效

ADC	剂量 (mg/kg)	第 18 天 TGI(%)	P 值 (vs Isotype-ADC)
ADC-1	0.3	112%	p<0.001
	0.1	74%	p<0.01
ADC-3	0.3	21%	ns

表 11-2. ADC 对 NOD SCID 鼠 PA-1 移植瘤的疗效

ADC	剂量 (mg/kg)	第 22 天 TGI(%)	P 值 (vs Isotype-ADC)
ADC-2	0.3	109%	p<0.001
	0.15	83%	p<0.001
ADC-3	0.3	22%	ns

注：ns 表示没有统计学意义。

结果显示 ADC-1 在 0.3 mpk 剂量下能显著抑制 PA-1 细胞皮下移植肿瘤的生长。
5 ADC-2 在 0.3 mpk 和 0.15mpk 剂量下能显著抑制 PA-1 细胞皮下移植肿瘤的生长。

测试例 7-2：OVCAR3 细胞 CDX 小鼠模型体内药效评价

将人卵巢癌 OVCAR3 细胞(ATCC, HTB-161)(1×10^7 个，含 50% 基质胶/只，
10 #356234) 200 μ L/只，接种 NDG 小鼠右肋部皮下。接种 18 天后，待肿瘤体积在
~185mm³ 后去除体重、肿瘤过大和过小的，按肿瘤体积将小鼠随机分组，每组 8 只，
当天开始给药。通过尾静脉注射 ADC，剂量为 1-0.3 mg/kg，共给药 2 次，观察肿瘤
生长情况。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
15 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 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times 100\%$ ，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。

20 抑瘤率 $TGI(\%)=1-T/C(\%)$ 。

结果见表 11-3 和图 8C（vehicle 是指 Isotype-ADC）。

表 11-3. ADC 对 NDG 鼠 OVCAR3 移植瘤的疗效

ADC	剂量 (mg/kg)	第 30 天 TGI(%)	P 值 (vs Isotype-ADC)
ADC-2	1	106%	P<0.001
	0.3	103%	P<0.001
ADC-3	1	47%	ns

结果显示在 ADC-2 在 0.3mpk 和 1mpk 剂量下能显著抑制 OVCAR3 细胞皮下
移植肿瘤的生长。

25

测试例 7-3：OV90 细胞 CDX 小鼠模型体内药效评价

将OV90细胞(上海中乔新舟, ZQ0073)(3×10^6 个, 含50%基质胶/只, #356234) 200 μ L/只, 接种于NOD SCID鼠右肋部皮下, 接种7天后, 待肿瘤体积平均在~185 mm³后去除体重、肿瘤过大和过小的, 按肿瘤体积将小鼠随机分组, 每组8只, 当天开始给药。通过尾静脉注射ADC, 剂量为1-0.3 mg/kg, 共给药1次。每周测2次瘤
5 体积, 称体重, 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 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times 100\%$, 其中 T、C 为实验结束时治疗组
10 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 11-4 和图 8D (vehicle 是指 Isotype-ADC)。

表 11-4. ADC 对 NOD SCID 鼠 OV90 移植瘤的疗效

ADC	剂量 (mg/kg)	第 21 天 TGI(%)	P 值 (vs Isotype-ADC)
ADC-2	1	108%	P<0.001
	0.3	107%	P<0.001
ADC-3	1	28%	/

结果显示, ADC-2 在 1mpk 和 0.3mpk 下能显著抑制 OV90 肿瘤的生长。

权利要求书

1. 一种抗 CLDN6 抗体，其包含重链可变区和轻链可变区，其中：
所述重链可变区的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别包含 SEQ ID NO: 12 中的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 的氨基酸序列，和
所述轻链可变区的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NO: 32、31、30、33、34 或 35 中的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列；
优选地，
所述重链可变区的 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，
和
所述轻链可变区的 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 26、25、17、27、28 或 29 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列；
更优选地，
所述重链可变区的 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 的氨基酸序列，和 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 的氨基酸序列，
和
所述轻链可变区的 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 26 或 25 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 24 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 19 的氨基酸序列。
2. 根据权利要求 1 所述的抗 CLDN6 抗体，其为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或全人源抗体；优选为人源化抗体。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗 CLDN6 抗体，其中：
所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 32、31、30、33、34 或 35 的氨基酸序列；
优选地，所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 的氨基酸序列，和所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 32 或 31 的氨基酸序列。
4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述的抗 CLDN6 抗体是抗体片段；优选地，所述的抗体片段为 Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、scFv、dsFv 或 dAb。
5. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述的抗 CLDN6

抗体包含重链恒定区和轻链恒定区；

优选地，所述重链恒定区为人 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 或其变体的重链恒定区，所述轻链恒定区为人 κ、λ 或其变体的轻链恒定区；

更优选地，所述重链恒定区包含 SEQ ID NO: 20 的氨基酸序列，所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 21 的氨基酸序列。

6. 根据权利要求 5 所述的抗 CLDN6 抗体，其中所述的抗 CLDN6 抗体包含重链和轻链，其中：

所述重链包含 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO: 38、37、36、39、40 或 41 的氨基酸序列；

优选地，所述重链包含 SEQ ID NO: 22 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO: 38 或 37 的氨基酸序列。

7. 一种抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其为通式 (I) 所示：



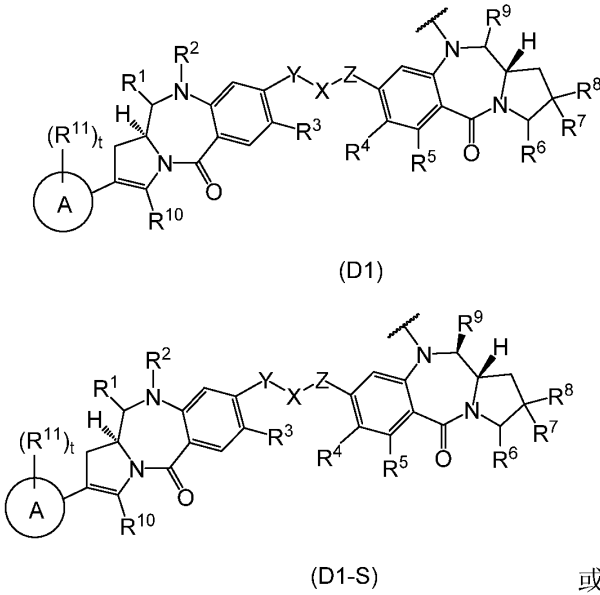
其中 Ab 为如权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

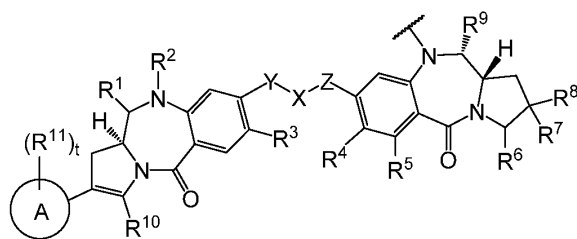
L 为连接 Ab 和 D 的连接子；

Ab 从其氨基酸处直接与 L 结合，或 Ab 从其糖链或重构的糖链与 L 结合；优选地，Ab 从其 297 位的氨基酸残基直接与 L 结合，或 Ab 从其 297 位的糖链或重构的糖链与 L 结合；更优选地，Ab 从其 Asn297 处重构的糖链与 L 结合；

y 为 1 至 10；

D 如通式(D1)、式(D1-S)或式(D1-R)所示：





(D1-R)

其中:

X 为 $(CR^aR^b)_s$;

Y 和 Z 相同或不同, 且各自独立地选自氧原子、硫原子和 NR^c ;

5 R^1 选自氢原子、卤素和烷基; 或者 R^1 与它相连的碳原子一起形成 $C=O$;

R^2 为氢原子或烷基;

或者 R^1 和 R^2 与它们相连的碳原子和氮原子一起形成 $C=N$;

R^3 和 R^4 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、 OR^d 、卤素、卤代烷基、羟烷基、 SH 、 S -烷基和 NR^eR^f ;

10 R^5 选自氢原子、卤素、烷基和卤代烷基;

R^6 选自氢原子、卤素、烷基和卤代烷基; 或者 R^6 与它相连的碳原子一起形成 $C=O$;

R^7 和 R^8 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基和卤代烷基; 或者 R^7 和 R^8 与其相连接的碳原子一起形成 $C=O$; 或者 R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, 其中所述的环境基或杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、氰基、 NR^gR^h 和 OR^i 中的一个或多个取代基所取代;

R^9 为羟基或烷氧基;

R^{10} 选自氢原子、羟基、烷基、卤代烷基、羟烷基和烷氧基;

20 环 A 选自环烷基、杂环基、芳基和杂芳基;

R^{11} 选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、 OR^j 、 $C(O)R^k$ 、 $C(O)OR^k$ 、环烷基、杂环基、环烷基烷基、杂环基烷基、芳基、杂芳基、芳基烷基和杂芳基烷基;

R^a 和 R^b 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟基、氰基、氨基和羟烷基;

25 R^c 、 R^e 、 R^f 、 R^g 和 R^h 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基和卤代烷基;

R^d 、 R^i 和 R^j 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基, 所述的环境基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、氰基、氨基、羟基、烷氧基和羟烷基中的一个或多个取代基所取代;

R^k 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟基和羟烷基;

s 为 1、2、3、4、5 或 6;

t 为 1、2、3、4 或 5。

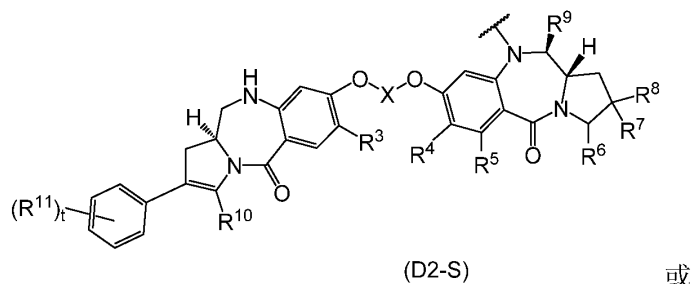
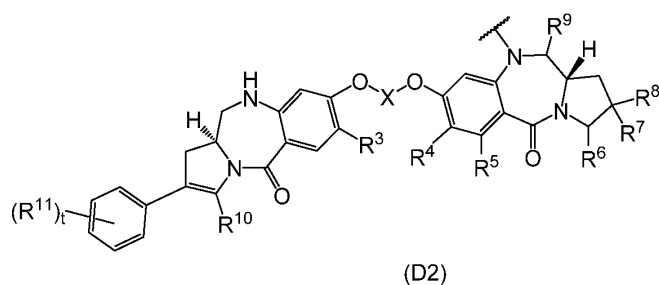
5 8. 根据权利要求 7 所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 Y 和 Z 均为氧原子。

9. 根据权利要求 7 或 8 所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 R^1 和 R^2 均为氢原子。

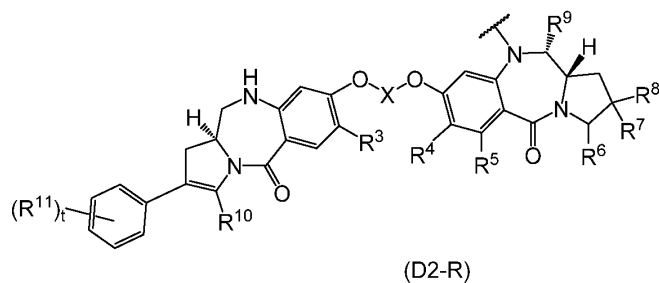
10

10. 根据权利要求 7 至 9 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中环 A 为 6 至 10 元芳基; 优选地, 环 A 为苯基。

11. 根据权利要求 7 至 10 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 D 如通式(D2)、式(D2-S)或式(D2-R)所示:



或



其中 X 、 R^3 至 R^{11} 和 t 如权利要求 7 中所定义。

20

12. 根据权利要求 7 至 11 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中：

X 为 $(CR^aR^b)_s$ ， R^a 和 R^b 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、羟基和 C_{1-6} 羟烷基；

5 优选地，X 为 $(CH_2)_s$ ；其中 s 如权利要求 7 中所定义。

13. 根据权利要求 7 至 12 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中：

R^3 和 R^4 均为 OR^d ，且 R^d 选自氢原子、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 羟烷基、
10 3 至 6 元环烷基和 3 至 6 元杂环基，所述的 3 至 6 元环烷基或 3 至 6 元杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、氰基、氨基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基和 C_{1-6} 羟烷基中的一个或多个取代基所取代；

优选地， R^3 和 R^4 均为 OR^d ，且 R^d 为 C_{1-6} 烷基或 3 至 6 元环烷基；更优选地，
15 R^3 为 C_{1-6} 烷氧基，且 R^4 为 3 至 6 元环烷基氧基；最优选地， R^3 为甲氧基，且 R^4 为环丙基氧基。

14. 根据权利要求 7 至 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，其中 R^5 和 R^6 均为氢原子。

15. 根据权利要求 7 至 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，其中 R^7 和 R^8 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基和 C_{1-6} 卤代烷基；或者 R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基或 3 至 6 元杂环基，其中所述的 3 至 6 元环烷基或 3 至 6 元杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、羟基和氨基中的一个或多个取代基所取代；
20 优选地， R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基，其中所述的 3 至 6 元环烷基任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、羟基、 C_{1-6} 羟烷基和氨基中的一个或多个取代基所取代；更优选地， R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成 3 至 6 元环烷基；最优选地， R^7 和 R^8 与它们相连的碳原子一起形成环丙基。
25

30

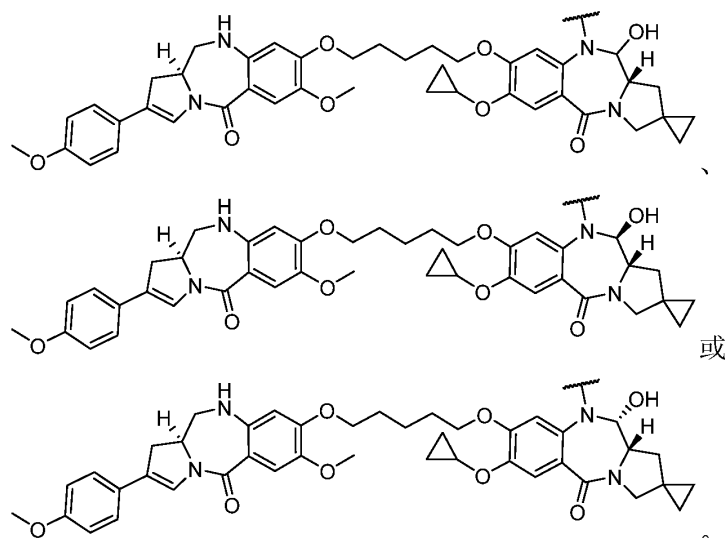
16. 根据权利要求 7 至 15 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^9 为羟基。

17. 根据权利要求 7 至 16 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 R^{10} 选自氢原子、羟基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 羟烷基和 C_{1-6} 烷氧基；
35 优选地， R^{10} 为氢原子。

18. 根据权利要求 7 至 17 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 R^{11} 选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、羟基和 C_{1-6} 烷氧基; 优选地, R^{11} 为氢原子或 C_{1-6} 烷氧基。

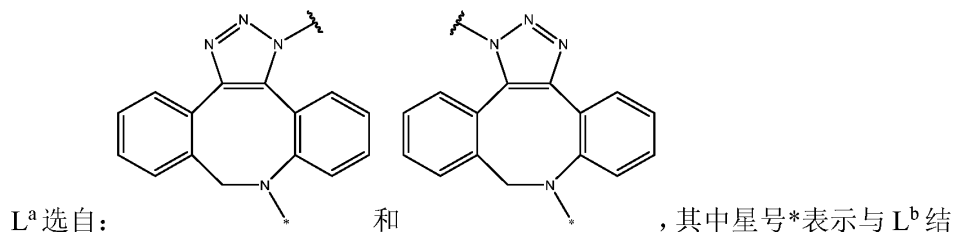
5

19. 根据权利要求 7 至 18 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 D 选自以下结构:



10

20. 根据权利要求 7 至 19 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其中 L 是 $-L^a-L^b-L^c-L^d-$,



15 合, 波浪线~表示与 Ab 的糖链或重构的糖链结合;

L^b 选自 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-C(O)-NR^s-$ 、 $(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t2}-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-C(O)-NR^s-(CR^mR^n-CR^pR^q-O)_{t2}-$ 、 $CR^uR^v-C(O)-$ 、 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t1}-NR^s-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q-O)_{t2}-(CR^mR^n-CR^pR^q)_{t3}-C(O)-$ 和 $-(CR^uR^v)_{t4}-O-C(O)-$;

20 L^c 为由 2 至 7 个氨基酸构成的肽残基;

L^d 为 $-NR^w-W-CR^xR^yO-C(O)-$ 、 $-NR^w-CR^xR^yO-R^z-C(O)-$ 或化学键;

R^m 、 R^n 、 R^p 、 R^q 、 R^u 、 R^v 、 R^x 和 R^y 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基、氨基、环烷基、杂环基、

芳基和杂芳基,所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

或者 R^m 和 R^n 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, R^p 和 R^q 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, R^u 和 R^v 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基, R^x 和 R^y 与它们相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基,所述的环烷基或杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

或者 R^m 和 R^p 与它们各自相连的碳原子一起形成环烷基或杂环基,所述的环烷基或杂环基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

R^s 、 R^w 和 R^z 相同或不同,且各自独立地选自氢原子、烷基、卤代烷基、羟烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基,所述的环烷基、杂环基、芳基和杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、烷基、卤代烷基、烷氧基、羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代;

W 为芳基或杂芳基,所述芳基或杂芳基各自独立地任选被选自卤素、羟基、氰基、氨基、烷基、卤代烷基和烷氧基中的一个或多个取代基所取代;优选地, W 为苯基或 5 或 6 元杂芳基,所述苯基或 5 或 6 元杂芳基各自独立地任选被选自卤素、氧代基、羟基、氰基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基和 C_{1-6} 烷氧基中的一个或多个取代基所取代;

t_1 、 t_2 、 t_3 和 t_4 相同或不同,且各自独立地为 1、2、3、4、5 或 6。

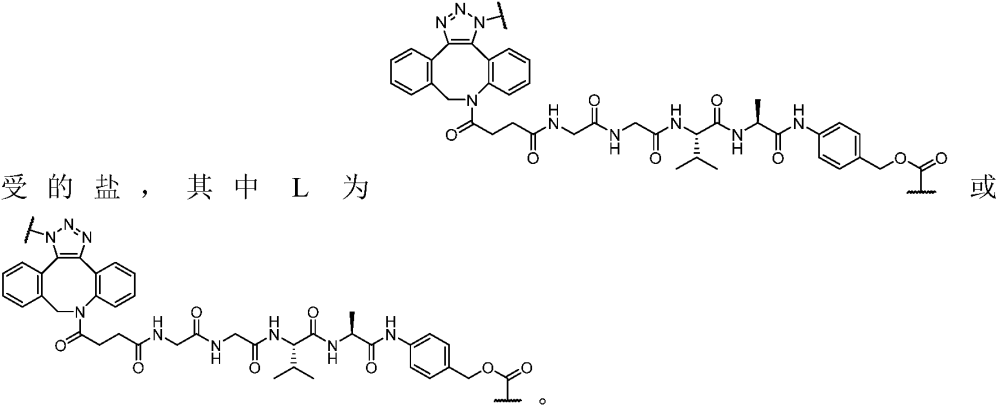
21. 根据权利要求 20 所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐,其中 L^b 为 $-C(O)-(CR^mR^n-CR^pR^q)_n-C(O)-$,且 R^m 、 R^n 、 R^p 和 R^q 相同或不同,且各自独立地为氢原子或 C_{1-6} 烷基, t_1 为 1、2、3、4、5 或 6;优选地, L^b 为 $-C(O)-CH_2-CH_2-C(O)-$ 。

22. 根据权利要求 20 或 21 所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐,其中 L^c 选自苯丙氨酸(F)、丙氨酸(A)、脯氨酸(P)、异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甘氨酸(G)、缬氨酸(V)、赖氨酸(K)、瓜氨酸(Cit)、丝氨酸(S)、谷氨酸(E)和天冬氨酸(D)中的氨基酸形成的肽残基,所述肽残基各自独立地任选被选自卤素、羟基、氰基、氨基、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、3 至 6 元环烷基、3 至 6 元杂环基、6 至 10 元芳基和 5 至 10 元杂芳基中的一个或多个取代基所取代;优选地, L^c 选自 $-GGVA-$ 、 $-GG-(D)-VA-$ 、 $-VA-$ 、 $-GGFG-$ 、 $-GGPI-$ 、 $-GGVCit-$ 、 $-GGVK-$ 、 $-GG(D)-PI-$ 和 $-GGPL-$;更优选地, L^c 为 $-GGVA-$ 。

23. 根据权利要求 20 至 22 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 L^d 为 $-NR^w-W-CR^xR^yO-C(O)-$ ， R^w 、 R^x 和 R^y 相同或不同，且各自独立地为氢原子或 C_{1-6} 烷基，且 W 选自 1,4-苯基、2,5-吡啶基、3,6-吡啶基、2,5-噻吩基和 2,5-噻吩基；

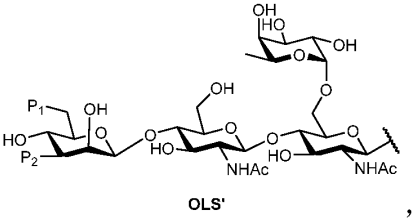
5 优选地， L^d 为 $-NH-W-CH_2-O-C(O)-$ ，且 W 为 1,4-苯基。

24. 根据权利要求 20 至 23 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中 L 为



10

25. 根据权利要求 20 至 24 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐，其中所述重构的糖链结构为：



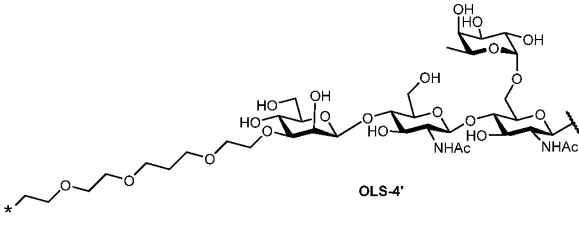
式中，波浪线 $\sim$ 表示与 Ab 重链第 297 位的 Asn 结合；

15 P_1 和 P_2 相同或不同，且各自独立地选自羟基、 $-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)s^1-$ 和 $-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)s^2-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-CR^{X1}R^{Y1}-O)s^3-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)s^4-$ ，其中 R^{P1} 、 R^{Q1} 、 R^{S1} 、 R^{T1} 、 R^{X1} 和 R^{Y1} 相同或不同，且各自独立地选自氢原子、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 羟烷基、羟基、氰基、氨基、3 至 6 元环烷基、3 至 6 元杂环基、6 至 10 元芳基和 5 至 10 元杂芳基，所述的 3 至 6 元环烷基、3 至 6 元杂环基、6 至 10 元芳基和 5 至 10 元杂芳基各自独立地任选被选自氧代基、卤素、 C_{1-6} 烷基、 C_{1-6} 卤代烷基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{1-6} 羟烷基、羟基、氰基和氨基中的一个或多个取代基所取代；星号 $*$ 表示与所述连接子 L 结合；

s^1 为 1-10，优选为 1-5； s^2 为 0-10，优选为 1-5； s^3 为 1-10，优选为 1-5； s^4 为 0-10，优选为 1-5；

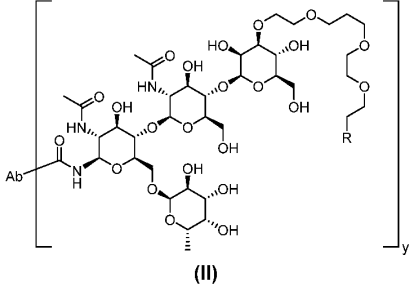
25 条件是， P_1 、 P_2 不同时为羟基或 $-(CH_2CH_2O)s^1-$ ；

优选地, P₁ 为羟基、P₂ 为 $-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_{S2}-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-CR^{X1}R^{Y1}-O)_{S3}-(CR^{P1}R^{Q1}-CR^{S1}R^{T1}-O)_{S4}-$, 其中 R^{P1}、R^{Q1}、R^{S1}、R^{T1}、R^{X1} 和 R^{Y1} 相同或不同, 且各自独立地选自氢原子、卤素、C₁₋₆ 烷基和 C₁₋₆ 卤代烷基, s₂ 为 1, s₃ 为 1, s₄ 为 1;
更优选地, 所述重构的糖链结构为:

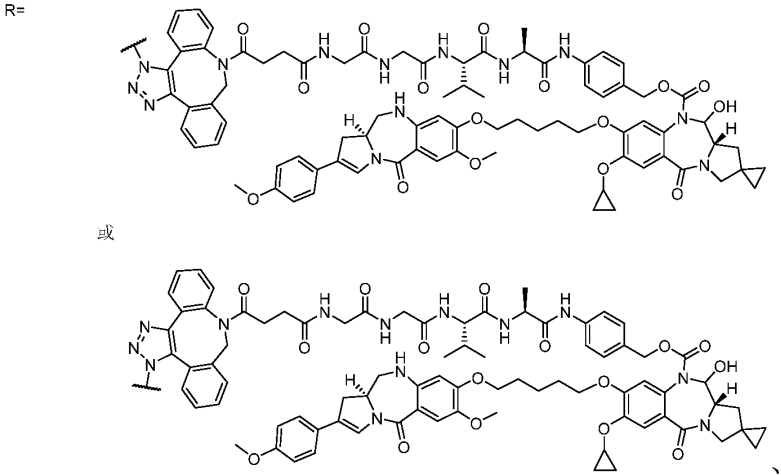


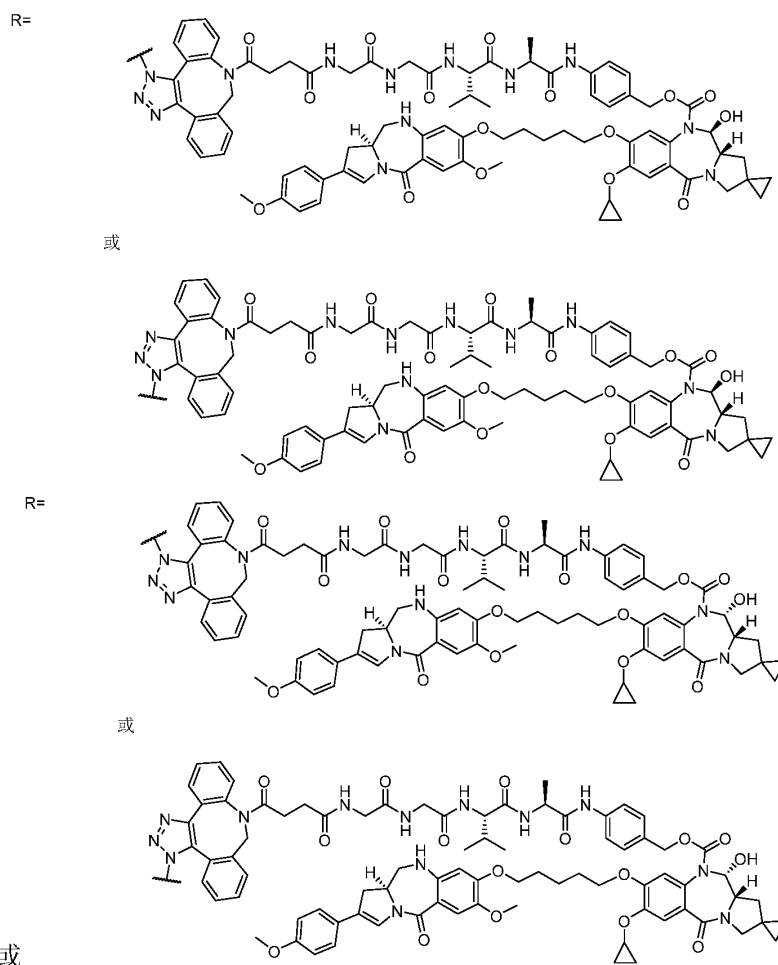
5

26. 根据权利要求 7 至 25 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐, 其如通式 (II) 所示:



10 其中:



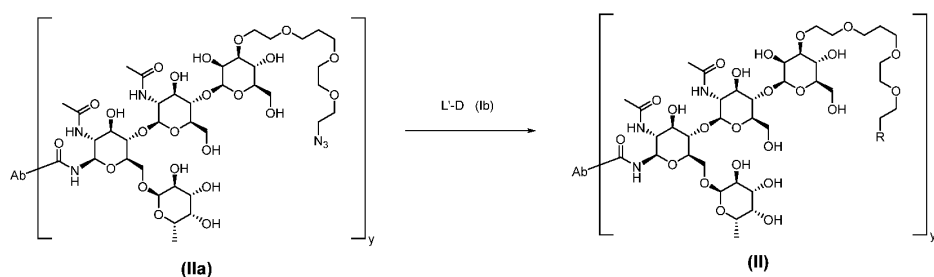


Ab 为如权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

y 为 1 至 10；优选地，y 为 1 至 4；更优选地，y 为 1 至 2；最优选地，y 为 2。

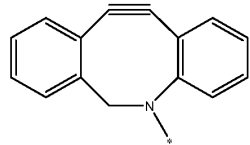
5

27. 一种制备如通式 (II) 所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐的方法，其包括以下步骤：



通式(IIa)所示的化合物或其盐与通式(Ib)所示的化合物或其盐反应，得到通式
10 (II) 所示的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐；
其中：

L'是 L^{aa}-L^b-L^c-L^d-,



L^{aa}选自：，其中星号*表示与 L^b 结合；

Ab 为如权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体；

y 为 1 至 10；

5 L^b、L^c、L^d的定义如权利要求 20 至 26 中任一项所定义；

R 的定义如权利要求 26 中所定义；

D 的定义如权利要求 7 至 19 中任一项所定义。

28. 一种药物组合物，其包含：如权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗 CLDN6
10 抗体、权利要求 7 至 26 中任一项所述的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐；
以及一种或多种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

29. 分离的核酸，其编码如权利要求 1 至 6 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体。

15 30. 一种宿主细胞，其包含如权利要求 29 所述的分离的核酸。

31. 一种预防或治疗肿瘤的方法，所述方法包括向受试者施用如权利要求 1 至
6 中任一项所述的抗 CLDN6 抗体、权利要求 7 至 26 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根据权利要求 28 所述的药物组合物；

20 优选地，所述肿瘤选自卵巢癌、肺癌、子宫内膜癌、胃癌、宫颈癌、睾丸癌、
胎盘绒毛膜癌、肾癌、尿路上皮癌、大肠癌、前列腺癌、多形性神经胶质母细胞瘤、
脑肿瘤、胰腺癌、乳腺癌、黑色素瘤、肝癌、膀胱癌和食管癌；

更优选地，所述肿瘤选自卵巢癌、肺癌、子宫内膜癌和睾丸癌；

最优选地，所述肿瘤为卵巢癌。