

抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物及其药物组合物和用途

相关申请的交叉引用

本申请要求于 2022 年 11 月 30 日提交的申请号为 CN 202211521035.0 的中国专利申请的优先权和权益，其全部内容通过引用结合在本申请中。

技术领域

本公开属于生物技术领域，涉及抗体药物偶联物，其包含相连接的抗体或其抗原结合片段、接头(linker)和有效载荷(payload，例如细胞毒药物)。本公开还涉及所述抗体药物偶联物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

背景技术

紧密连接蛋白 18 (CLDN18 或 Claudin 18) 属于细胞紧密连接蛋白家族，参与形成细胞间的紧密连接，控制细胞间分子的流动，对维持细胞极性、通透性和细胞间信号转递具有重要作用。CLDN18 是一个四次跨膜蛋白，N 端和 C 端都在胞内，并在胞外形成了两个 Loop 区，由于 RNA 的选择性剪接，组织中存在 2 种不同的亚型：紧密连接蛋白 18.1 (CLDN18.1，例如人 CLDN18.1 的 Uniprot 登录号为 P56856-1) 和紧密连接蛋白 18.2 (CLDN18.2，例如人 CLDN18.2 的 Uniprot 登录号为 P56856-2)。

CLDN18.1 (Claudin 18.1) 和 CLDN18.2 (Claudin 18.2) 蛋白序列的相似度高，但表达分布不同，CLDN18.1 在正常肺组织中选择性表达，而 CLDN18.2 在正常组织的表达非常有限，仅特异性表达于胃黏膜分化上皮细胞。但研究发现，CLDN18.2 在 70% 的原发性胃癌及其转移灶中呈现出高表达，此外，还发现 CLDN18.2 在多种恶性肿瘤中被频繁异位激活，包括胰腺癌、食道癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌和耳鼻喉肿瘤 (Niimi *et al.*, (2001) Mol Cell Biol 21 (21): 7380-7390; Sahin, U. *et al.*, (2008) Clin Cancer Res. 14, 7624-34; Tanaka *et al.*, (2011) J Histochem Cytochem 59(10): 942-952; Micke *et al.*, (2014) Int J Cancer 135(9): 2206-2214; Shimobaba *et al.*, (2016) Biochim Biophys Acta 1863(6Pt A): 1170-1178; Singh *et al.*, (2017) J Hematol Oncol 10 (1): 105; Tokumitsu *et al.*, (2017) Cytopathology 28(2): 116-121)。

抗体药物偶联物 (Antibody-Drug Conjugate, ADC) 是结合了治疗性抗体的高特异性和细胞毒药物的高杀伤活性的一类药物，其中治疗性抗体部分与细胞毒药物部分通过中间的接头部分连接。针对 CLDN18.2 靶点，已有文献报道开发抗体药物偶联物进行抗肿瘤的研究，但是目前的研究是有限的，更多可用的选择仍然是需要的。

发明内容

抗体药物偶联物 (ADC)

本公开提供了一种抗体药物偶联物，其中，抗体或其抗原结合片段与细胞毒药物相偶联，所述抗体或其抗原结合片段特异性结合 CLDN18.2。

在一个方面，本公开提供了一种通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 为抗体或其抗原结合片段，L 为接头，U 为细胞毒药物。在一些实施方案中，所述 n 为选自 1-10 的整数。

在一些实施方案中，抗体或其抗原结合片段 Ab 与接头 L 通过特定官能团连接，该抗体或其抗原结合片段可以与抗原特异性结合。在一些实施方案中，Ab 与接头 L 通过共价键连接。

在一些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段结合人 CLDN18.2。

在一些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段是鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。在一些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段是单克隆抗体、单特异性抗体、多特异性抗体、Fab 片段、F(ab')₂ 片段、Fd 片段、Fv 片段、dAb、单链 Fv (scFv) 分子或纳米抗体。

在一些实施方案中，所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含重链 CDR (HCDR) 1、HCDR2、HCDR3、轻链 CDR (LCDR) 1、LCDR2 和 LCDR3，其中，

(1) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR1 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR2 的氨基酸序列，HCDR3 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR3 的氨基酸序列，LCDR1 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR1

(13) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 32 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 32 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 32 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 35 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 35 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(14) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 33 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 33 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 35 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 35 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 35 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(15) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 30 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 30 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 30 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(16) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 31 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 31 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 31 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(17) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 32 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 32 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 32 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(18) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 33 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 33 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 33 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 36 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(19) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 43 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 43 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 43 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 44 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 44 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 44 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(20) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 51 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 51 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 51 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 52 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 52 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 52 中 LCDR3 的氨基酸序列; 或

(21) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 59 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 59 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 59 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 60 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 60 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 60 中 LCDR3 的氨基酸序列。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3, 其中,

(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列;

(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列;

(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、

91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(4) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(5) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(6) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(7) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(8) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(9) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(10) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(11) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(12) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41 和 42 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(13) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49 和 50 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；或

(14) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含与 SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57 和 58 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，

(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、69、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列；

(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、70、24、25、26 和 71 所示的氨基酸序列；

(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41 和 42 所示的氨基酸序列；

(4) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49 和 50 所示的氨基酸序列；或

(5) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57 和 58 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中,所述抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中,

(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9和10所示的氨基酸序列;

(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9和10所示的氨基酸序列;

(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9和10所示的氨基酸序列;

(4) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26和27所示的氨基酸序列;

(5) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26和27所示的氨基酸序列;

(6) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26和27所示的氨基酸序列;

(7) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26和27所示的氨基酸序列;

(8) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26和28所示的氨基酸序列;

(9) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26和28所示的氨基酸序列;

(10) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26和28所示的氨基酸序列;

(11) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26和28所示的氨基酸序列;

(12) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41和42所示的氨基酸序列;

(13) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49和50所示的氨基酸序列;或

(14) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57和58所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中,所述抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,其中,

(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9和10所示;

(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9和10所示;

(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9和10所示;

(4) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26和27所示;

(5) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26和27所示;

(6) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26和27所示;

(7) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别如SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26和27所示;

(8) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 28 所示；

(9) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 28 所示；

(10) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 28 所示；

(11) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 28 所示；

(12) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41 和 42 所示；

(13) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49 和 50 所示；或

(14) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57 和 58 所示。

在一些实施方案中，所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，

(1) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 11 和 16 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(2) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(3) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(4) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(5) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(6) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(7) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(8) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(9) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(10) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 29 和 34 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列；

(11) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、

82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(12) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(13) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(14) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(15) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(16) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(17) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(18) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(19) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 43 和 44 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；

(20) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 51 和 52 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；或

(21) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 59 和 60 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，与 SEQ ID NOs: 11-18、29-36、43-44、51-52、59-60 中的任一者所示的氨基酸序列相比，具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列中的差异的氨基酸主要存在（或全部存在）于 FR 区（骨架区）。

在一些实施方案中，所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，

- (1) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 11 和 16 所示的氨基酸序列；
- (2) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 12 和 17 所示的氨基酸序列；
- (3) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 13 和 17 所示的氨基酸序列；
- (4) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 14 和 17 所示的氨基酸序列；
- (5) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 15 和 17 所示的氨基酸序列；
- (6) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 12 和 18 所示的氨基酸序列；
- (7) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 13 和 18 所示的氨基酸序列；
- (8) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 14 和 18 所示的氨基酸序列；
- (9) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 15 和 18 所示的氨基酸序列；

- (10) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 29 和 34 所示的氨基酸序列;
- (11) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 30 和 35 所示的氨基酸序列;
- (12) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 31 和 35 所示的氨基酸序列;
- (13) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 32 和 35 所示的氨基酸序列;
- (14) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 33 和 35 所示的氨基酸序列;
- (15) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 30 和 36 所示的氨基酸序列;
- (16) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 31 和 36 所示的氨基酸序列;
- (17) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 32 和 36 所示的氨基酸序列;
- (18) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 33 和 36 所示的氨基酸序列;
- (19) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 43 和 44 所示的氨基酸序列;
- (20) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 51 和 52 所示的氨基酸序列; 或
- (21) 重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 59 和 60 所示的氨基酸序列。

在本文中, 上述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段的各种变体保留了与抗原 CLDN18.2 特异性结合的能力。

表 S1 提供了一些示例性的抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段的 CDR 序列和可变区序列。其中, 一些抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段具有相同的 CDR, 一些抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段具有相同的 VH 或 VL。

表 S1 可变区和 CDR 的氨基酸序列 ID (SEQ ID NO.)

抗体	HCDR1	HCDR2	HCDR3	VH	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VL
小鼠和嵌合 28G3	3	4	7	11	8	9	10	16
hz28G3-1.1		5		12				17
hz28G3-1.2		6		13				
hz28G3-1.3		5		14				
hz28G3-1.4		6		15				
hz28G3-2.1		5		12				18
hz28G3-2.2		6		13				
hz28G3-2.3		5		14				
hz28G3-2.4		6		15				
小鼠和嵌合 40F6	19	20	24	29	25	26	27	34
hz40F6-1.1		21		30				35
hz40F6-1.2		20		31				
hz40F6-1.3		22		32				
hz40F6-1.4		23		33				
hz40F6-2.1		21		30			28	36
hz40F6-2.2		20		31				
hz40F6-2.3		22		32				
hz40F6-2.4		23		33				
小鼠和嵌合 34G6	37	38	39	43	40	41	42	44
小鼠和嵌合 10D8	45	46	47	51	48	49	50	52
小鼠和嵌合 22F12	53	54	55	59	56	57	58	60

对于抗体可变区的氨基酸序列, 本领域技术人员可以通过常规的方法确定哪些残基构成特定的 CDR。如本领域技术人员公知, 可以通过多种方法来定义抗体的 CDR, 例如用 Kabat、Chothia、IMGT、AbM 或 Contact 等编号系统/方法定义; 或用 Kabat、Chothia、IMGT、AbM 和 Contact 等编号系统/方法中的两种或多种组合定义; 还可以用包含了 Kabat 和 Chothia 的 Combined 编号系统来定义, 其中 Combined 编号系统是将 Kabat 和 Chothia 定义的范围相结合, 基于此取了一个更大的范围 (例如, Kabat 定义的 HCDR1 为 H31-H35, Chothia 定义的 HCDR1 为 H26-H32, 则 Combined 定义的 HCDR1 为 H26-H35)。在不同的编号系统中, CDR 的精确编号和位置有所不同。本领域技术人员应当理解的是, 除非另有规定, 否则术语给

定抗体或其区（例如可变区）的“CDR”及“互补决定区”应理解为涵盖通过任何已知方案界定的互补决定区。虽然本公开中请求保护的 CDR 是基于表 S1 示出的序列（一种定义方式），但是根据其它 CDR 的定义规则所对应的氨基酸序列也应当落在本公开的保护范围内。

在一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段选自 28G3 抗体或其抗原结合片段、40F6 抗体或其抗原结合片段、34G6 抗体或其抗原结合片段、10D8 抗体或其抗原结合片段、或者 22F12 抗体或其抗原结合片段，其中，

所述 28G3 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其包含分别以 SEQ ID NOs: 3、69、7、8、9 和 10 示出的氨基酸序列；优选地，所述 28G3 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9 和 10 所示；(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9 和 10 所示；或(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9 和 10 所示；

所述 40F6 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其包含分别以 SEQ ID NOs: 19、70、24、25、26 和 71 示出的氨基酸序列；优选地，所述 40F6 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 27 所示；(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 27 所示；(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 27 所示；(4) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 27 所示；(5) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 28 所示；(6) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 28 所示；(7) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 28 所示；或(8) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 的氨基酸序列分别如 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 28 所示；

所述 34G6 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其包含分别以 37、38、39、40、41 和 42 示出的氨基酸序列；

所述 10D8 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其包含分别以 45、46、47、48、49 和 50 示出的氨基酸序列；或者

所述 22F12 抗体或其抗原结合片段包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其包含分别以 53、54、55、56、57 和 58 示出的氨基酸序列；

在一些优选的实施方案中，所述 28G3 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，所述重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 11 和 16、SEQ ID NOs: 12 和 17、SEQ ID NOs: 13 和 17、SEQ ID NOs: 14 和 17、SEQ ID NOs: 15 和 17、SEQ ID NOs: 12 和 18、SEQ ID NOs: 13 和 18、SEQ ID NOs: 14 和 18、或者 SEQ ID NOs: 15 和 18 所示的氨基酸序列；

所述 40F6 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，所述重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 29 和 34、SEQ ID NOs: 30 和 35、SEQ ID NOs: 31 和 35、SEQ ID NOs: 32 和 35、SEQ ID NOs: 33 和 35、SEQ ID NOs: 30 和 36、SEQ ID NOs: 31 和 36、SEQ ID NOs: 32 和 36、或者 SEQ ID NOs: 33 和 36 所示的氨基酸序列；

所述 34G6 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，所述重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 43 和 44 所示的氨基酸序列；

所述 10D8 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，所述重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 51 和 52 所示的氨基酸序列；或

所述 22F12 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，所述重链可变区和轻链可变区分别包含 SEQ ID NOs: 59 和 60 所示的氨基酸序列。

与 CLDN18.2 结合的其他抗体的 VH 和/或 VL 序列（或 CDR 序列）可以与本公开的抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段的 VH 和/或 VL 序列（或 CDR 序列）“混合并配对”。优选地，当 VH 和 VL 链（或其 CDR）混合并配对时，特定 VH/VL 对中的 VH 序列可以由结构相似的 VH 序列取代。同样，优选地将特定 VH/VL 对中的 VL 序列取代为结构相似的 VL 序列。

因此，在一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段包括：

- (a) 重链可变区，其包含列于表 S1 中的氨基酸序列；和
- (b) 轻链可变区，其包含列于表 S1 中的氨基酸序列，或另一种抗 CLDN18.2 抗体的 VL，其中该抗体或其抗原结合片段特异性结合 CLDN18.2。

在另一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段包括：

- (a) 列于表 S1 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和
- (b) 列于表 S1 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，或另一种抗 CLDN18.2 抗体的轻链可变区 CDR，其中该抗体或其抗原结合片段特异性结合 CLDN18.2。

在另一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段包括列于表 S1 的 HCDR2 以及其他抗 CLDN18.2 抗体的 CDR(s)，例如其他抗 CLDN18.2 抗体的 HCDR1 和/或 HCDR3，和/或其他抗 CLDN18.2 抗体 LCDR1、LCDR2 和/或 LCDR3。

此外，本领域内公知，CDR3 结构域独立于 CDR1 和/或 CDR2 结构域，可以单独确定抗体对同种抗原的结合特异性，并且可以预测到基于该 CDR3 序列可产生具有相同结合特异性的多种抗体。

在另一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段包含列于表 S1 的 HCDR2，以及列于表 S1 的 HCDR3 和/或列于表 S1 的 LCDR3，以及其他抗 CLDN18.2 抗体的 CDR(s)，其中该抗体或其抗原结合片段特异性结合 CLDN18.2。在另一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段还包含列于表 S1 的 LCDR2，以及其他抗 CLDN18.2 抗体的 CDR(s)，其中该抗体或其抗原结合片段特异性结合 CLDN18.2。在另一个实施方案中，本公开的抗体或其抗原结合片段还包括列于表 S1 的 HCDR1 或列于表 S1 的 LCDR1，以及其他抗 CLDN18.2 抗体的 CDR(s)，其中该抗体或其抗原结合片段特异性结合 CLDN18.2。这些抗体优选与本公开的抗 CLDN18.2 抗体(a)竞争结合 CLDN18.2；(b)保留相同的功能特征；(c)结合相同的表位；和/或(d)具有相似的结合亲和力。

在一些实施方案中，所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段进一步包含重链恒定区和轻链恒定区；其中，重链恒定区包含人 IgG1、IgG2、IgG4 恒定区或其变体，优选人 IgG1 恒定区或其变体，轻链恒定区包含人 κ 恒定区、人 λ 恒定区或其变体，优选人 κ 恒定区或其变体。示例性变体包括对重链恒定区进行定点改造和氨基酸替换的 IgG1、IgG2 或 IgG4 重链恒定区变体，例如现有技术已知的 AAA 突变、DLE 突变 (Shields *et al.*, 2002; Lazar *et al.*, 2006)、YTE 突变和 LS 突变 (Ghetie *et al.*, 1997; Zalevsky *et al.*, 2010)。重链恒定区的 C 末端赖氨酸可以是存在或缺失的。

在一些实施方案中，所述重链恒定区包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列或者与 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列，所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列或者与 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列。

在本文中，所述氨基酸取代可以是保守氨基酸取代，即，采用同类（具有类似的化学性质或者功能）的另一种氨基酸进行取代。作为示例，可根据氨基酸的侧链性质将其分为：(1) 非极性氨基酸：Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile (I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M)；(2) 不带电荷的极性氨基酸：Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)；(3) 酸性氨基酸：Asp (D)、Glu (E)；(4) 碱性氨基酸：Lys (K)、Arg (R)、His (H)。或者，可基于共同的侧链特性将氨基酸分为：(1) 疏水氨基酸：Met、Ala、Val、Leu、Ile；(2) 中性亲水氨基酸：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；(3) 酸性氨基酸：Asp、Glu；(4) 碱性氨基酸：His、Lys、Arg；(5) 影响链取向的氨基酸：Gly、Pro；(6) 芳香族氨基酸：Trp、Tyr、Phe。

在一些实施方案中，所述抗 CLDN18.2 抗体是全长抗体，例如 IgG1 同种型的全长抗体。在另一个实施方案中，所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段是 Fab 片段、F(ab')₂ 片段、Fd 片段、Fv 片段、dAb、

单链 Fv (scFv) 分子或纳米抗体。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 所述重链包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 所述重链包含与 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 所述重链包含 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列, 所述轻链包含 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 所述重链包含 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列, 所述轻链包含 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列。

应理解, 还提供了一些重链 C 末端赖氨酸缺失的抗 CLDN18.2 抗体。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含与 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列。进一步地, 在这些具体的实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在另一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含与 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链可变区包含与 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列。进一步地, 在这些具体的实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。在另一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选

自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列, 所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示, 所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 17 所示。在另一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 14 所示, 所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 17 所示。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体, 其包含重链和轻链, 所述重链包含 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列, 所述轻链包含 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列。在另一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体, 其包含重链和轻链, 所述重链包含 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列, 所述轻链包含 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体, 其包含重链和轻链, 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 61 所示, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 62 所示。在另一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, L 为接头, U 为细胞毒药物, n 为选自 1-10 的整数, 所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体, 其包含重链和轻链, 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 63 所示, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 64 所示。在另一些具体的实施方案中, 所述重链 (例如 SEQ ID NO: 63 或 SEQ ID NO: 61) 的 C 末端 Lys 不存在。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体包含两条重链 (H) 和两条轻链 (L), 或由两条重链和两条轻链组成, 重链和轻链通过二硫键相互连接, 其中每条重链包含上述的重链可变区 (VH) 和重链恒定区, 其中重链可变区 (VH) 包含骨架区 (FR) 和上述的重链互补决定区 (HCDR), 每条轻链包含上述的轻链可变区 (VL) 和轻链恒定区, 其中轻链可变区 (VL) 包含 FR 和上述的轻链互补决定区 (LCDR), 其中重链可变区的 C 末端连接至重链恒定区的 N 末端, 轻链可变区的 C 末端连接至轻链恒定区的 N 末端。

在一些实施方案中, 所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段是可以修饰的, 例如包括一个或多个氨基酸的改变、增加或减少。在本文中, 修饰后的抗体或其抗原结合片段仍然保留了特异性地结合至其相应抗原的活性。

本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, 所述抗体或其抗原结合片段结合 CLDN18.2, 从而诱导针对表达 CLDN18.2 的细胞的抗体依赖的细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 和/或补体依赖的细胞毒性 (CDC)。在一些实施方案中, 通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 所述抗体或其抗原结合片段结合人 CLDN18.2, 从而诱导针对表达人 CLDN18.2 的细胞的 ADCC 和 CDC。在一些实施方案中, 通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 所述抗体或其抗原结合片段不结合 CLDN18.1。在一些实施方案中, 通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 所述抗体或其抗原结合片段不结合人 CLDN18.1。在一些实施方案中, 所述通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物不会诱导针对表达 CLDN18.1 的细胞的 ADCC 和/或 CDC。在一些实施方案中, 所述通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物不会诱导针对表达人 CLDN18.1 的细胞的 ADCC 和/或 CDC。

本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 细胞毒药物

U 与抗体或其抗原结合片段 Ab 通过接头 L 偶联。在一些具体的实施方案中, 本公开提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 每一个细胞毒药物 U 与抗体或其抗原结合片段 Ab 通过一个接头 L 偶联。本公开的接头 L 可以通过本领域已知的任何方法与抗体或其抗原结合片段连接。在一些优选的实施方案中, 所述接头 L 通过巯基和/或氨基与抗体或其抗原结合片段 Ab 连接。在一些更优选的实施方案中, 所述接头 L 通过巯基与抗体或其抗原结合片段 Ab 连接。

在一些实施方案中, 所述接头 L 为可切割的接头或者不可切割的接头。在一些实施方案中, 所述接头为可切割的接头, 例如可以是依赖低 pH 值降解型 (包括酰胺键、碳酸酯键等)、蛋白酶解型 (包括肽基键) 或者依赖高谷胱甘肽浓度降解型 (包括二硫键) 等。可切割接头可以在靶细胞内断裂, 从而释放细胞毒药物。在另一些实施方案中, 所述接头 L 为不可切割的接头, 例如可以是马来酰亚胺基己酰基等。

在一个方面, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 抗体或其抗原结合片段 Ab 与一个或多个细胞毒药物 U 偶联, 细胞毒药物例如可以是生物碱类、抗代谢类、抗肿瘤抗生素类、烷化剂类及铂类等。在一些实施方案中, 所述细胞毒药物 U 为微管蛋白抑制剂类细胞毒药物或者作用于 DNA 的细胞毒药物。在一些实施方案中, 所述微管蛋白抑制剂类细胞毒药物包括但不限于美登素 (maytansine) 类 (例如 DM1、DM4)、奥瑞他汀 (auristatin; 例如 MMAE 或 MMAF) 类和海兔毒素 (dolastatin)。在一些实施方案中, 所述作用于 DNA 的细胞毒药物包括但不限于卡奇霉素 (calicheamicin) 类、阿霉素 (doxorubicin)、倍癌霉素 (duocarmycin) 类、安曲霉素类衍生物 PBD (pyrrolobenzodiazepine)、拓扑异构酶 I 抑制剂类。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 细胞毒药物 U 为拓扑异构酶 I 抑制剂。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 细胞毒药物 U 为喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 细胞毒药物 U 为 SN-38、SN-38 衍生物、依沙替康或者依沙替康衍生物。在一些具体的实施方案中, 所述细胞毒药物 U 存在氘代修饰。在一些具体的实施方案中, 所述细胞毒药物 U 为依沙替康衍生物且存在氘代修饰。

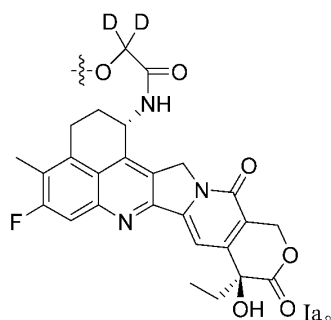
在一些实施方案中, 所述细胞毒药物 U 与接头 L 通过官能团连接, 在肿瘤细胞内, 会游离出细胞毒药物分子, 从而发挥抗肿瘤效果。

在一个方面, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, L 为接头, U 为喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂, n 为选自 1-10 的整数。在一些实施方案中, 所述 L 和/或 U 存在氘代修饰。

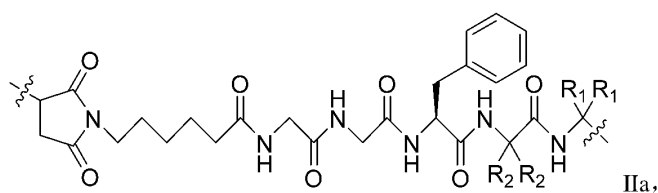
在一些实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, L 为接头, U 为喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂, n 为选自 1-10 的整数, 其中 L 和/或 U 存在氘代修饰, 并且细胞毒药物 U 为 SN-38、SN-38 衍生物、依沙替康或者依沙替康衍生物。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, L 为接头, U 为喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂, n 为选自 1-10 的整数, 其中 U 存在氘代修饰, 并且细胞毒药物 U 为依沙替康衍生物。

在一些实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, -U 为下式 Ia 所示的结构:



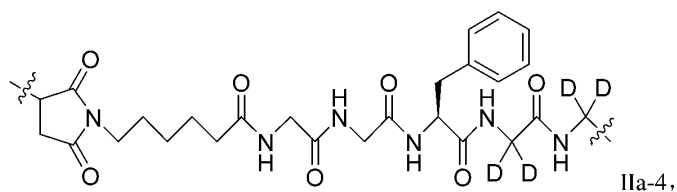
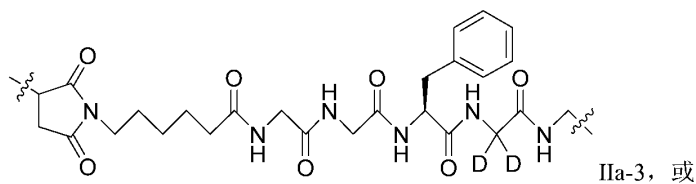
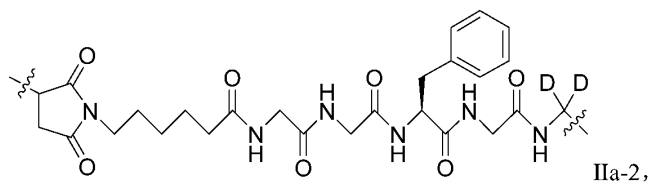
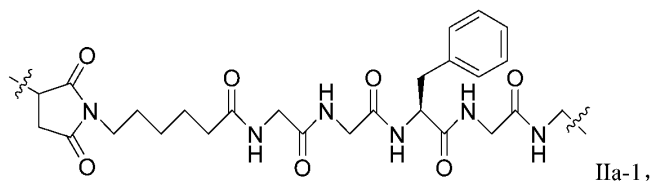
在一些实施方案中，本公开提供的通式为 $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中，-L-为下式IIa所示的结构：



其中， R_1 和 R_2 分别独立地选自氢 (H) 或氘 (D)；

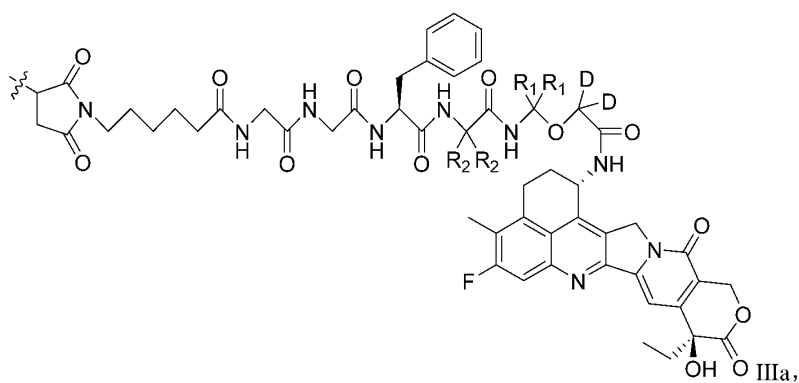
并且，所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的 3 位与抗体或其抗原结合片段 Ab 连接，另一端的亚甲基与细胞毒药物 U 连接。

在一些实施方案中，所述-L-为下式IIa-1、IIa-2、IIa-3 或IIa-4 所示的结构：



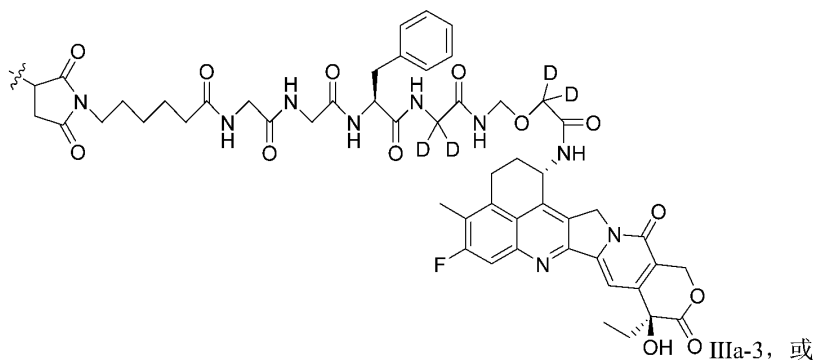
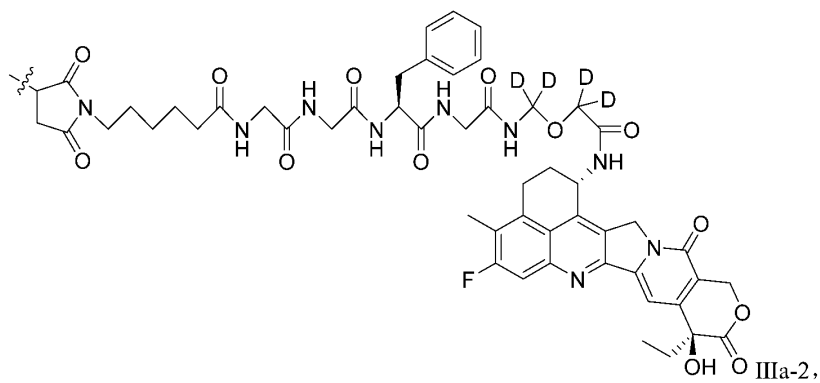
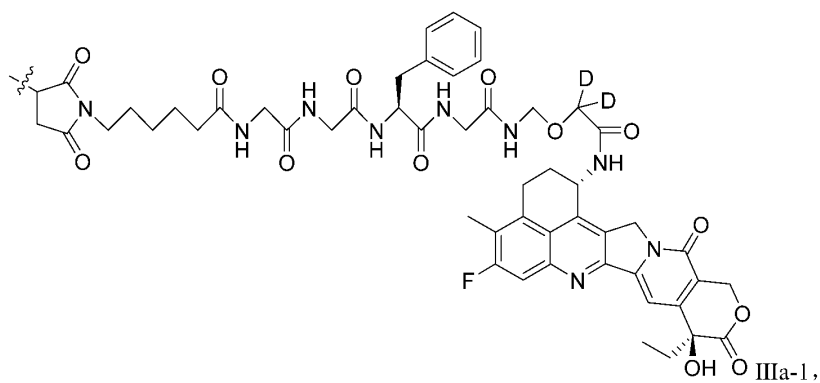
其中，所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的 3 位与抗体或其抗原结合片段 Ab 连接，另一端的亚甲基与细胞毒药物 U 连接。

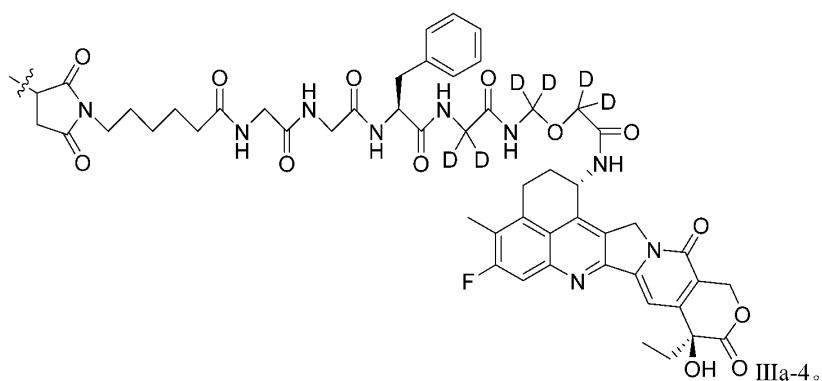
在一些实施方案中，本公开提供的通式为 $\text{Ab}-(\text{L}-\text{U})_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中，所述-L-U 为下式IIIa 所示的结构：



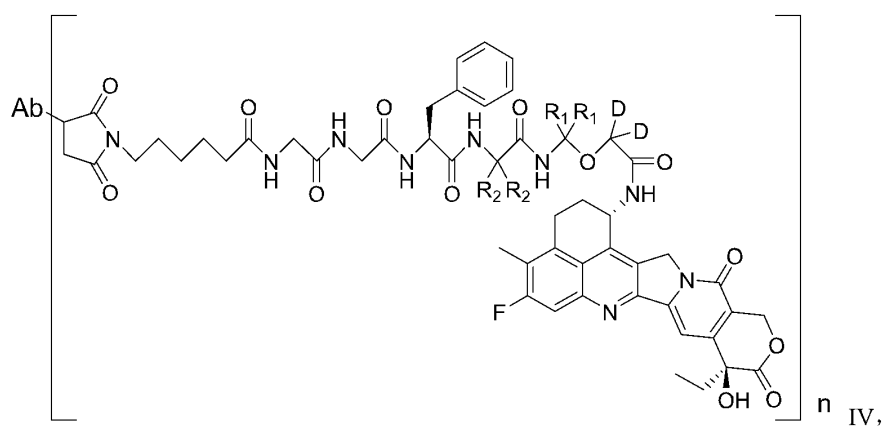
其中， R_1 和 R_2 分别独立地选自氢（H）或氘（D）。

在一些实施方案中，所述-L-U 为下式IIIa-1、IIIa-2、IIIa-3 或IIIa-4 所示的结构：



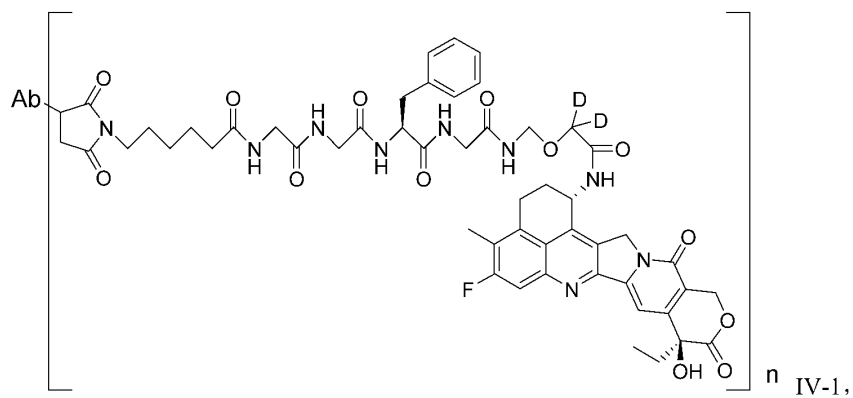


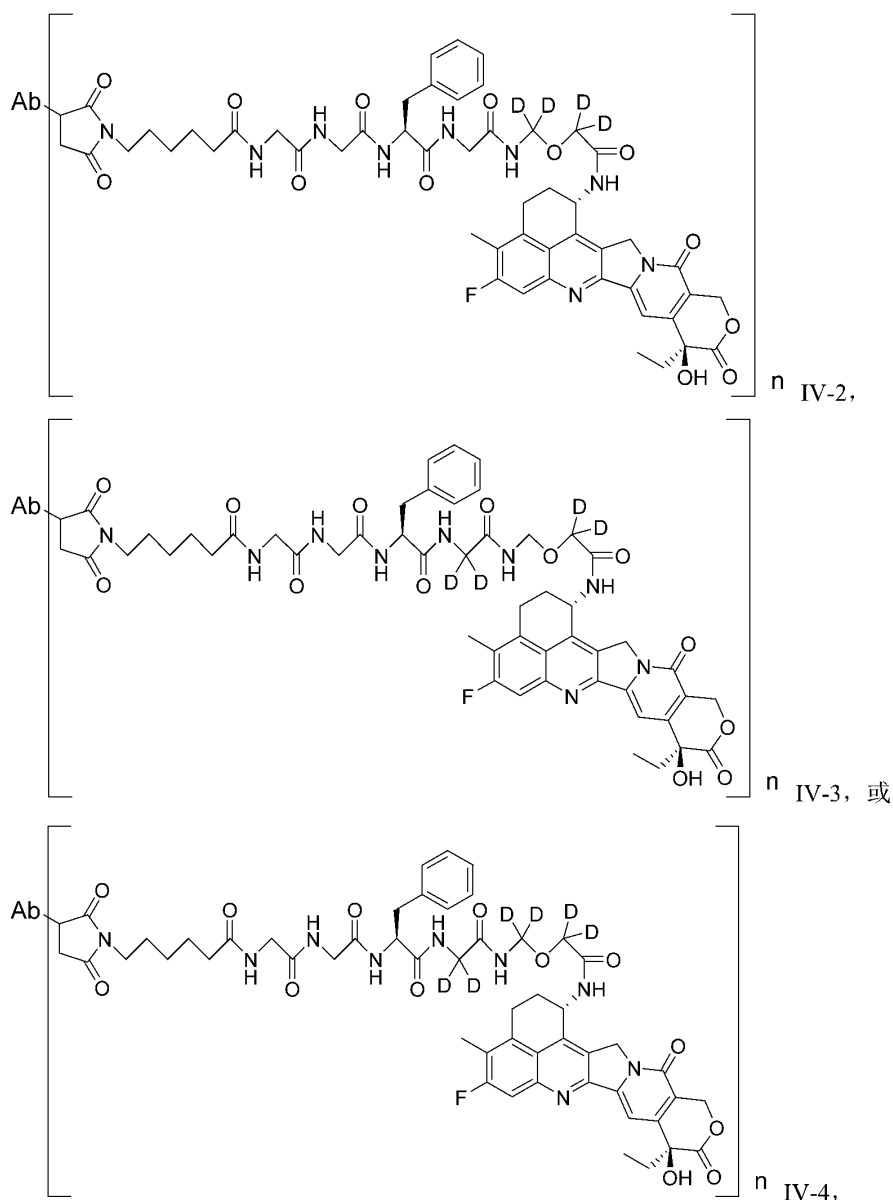
在一些实施方案中, 本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中, 所述抗体药物偶联物的结构如下式IV所示:



其中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, n 为选自 1-10 的整数, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢(H)或氘(D)。

在一些具体的实施方案中, 所述抗体药物偶联物的结构如下式IV-1、IV-2、IV-3 或IV-4 所示:





其中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, n 为选自 1-10 的整数。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $\text{Ab}-(\text{L-U})_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中,在上述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数。在一些实施方案中,所述 n 为选自 2-8、3-8、4-8、5-8、6-8 或 7-8 的整数。

在一些实施方案中,所述 n 为选自 2-8 的整数。在一些实施方案中,所述 n 为选自 4-8 的整数。在一些实施方案中,所述 n 为选自 6-8 的整数。在一些实施方案中,所述 n 为 6、7 或 8。在一些实施方案中,所述 n 为 2、4、6 或 8。在一些实施方案中,所述 n 为 2、4 或 8。在一些实施方案中,所述 n 为 4、6 或 8。在一些实施方案中,所述 n 为 4 或 8。在一些实施方案中,所述 n 为 6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $\text{Ab}-(\text{L-U})_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,所

述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地,n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地,n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地,n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地,n 为 4、6 或 8。进一步地,在一些这些实施方案中,所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地,n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地,n 为 4、6 或 8。进一步地,在一些这些实施方案中,所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 12 所示的氨基酸序列,所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地,n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地,n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列,所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地,n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地,n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 12 所示,所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 17 所示。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地,n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地,n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,其

包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 14 所示,所述轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 17 所示。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地, n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地, n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体,其包含重链和轻链,所述重链包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列,所述轻链包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地, n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地, n 为 4、6 或 8。进一步地,在一些这些实施方案中,所述抗 CLDN18.2 抗体包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体,其包含重链和轻链,所述重链包含与 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列,所述轻链包含与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地, n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地, n 为 4、6 或 8。进一步地,在一些这些实施方案中,所述抗 CLDN18.2 抗体包含 SEQ ID NO: 3 所示的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR2、SEQ ID NO: 7 所示的 HCDR3、SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、SEQ ID NO: 9 所示的 LCDR2、和 SEQ ID NO: 10 所示的 LCDR3。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体,其包含重链和轻链,所述重链包含 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列,所述轻链包含 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地, n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地, n 为 4、6 或 8。

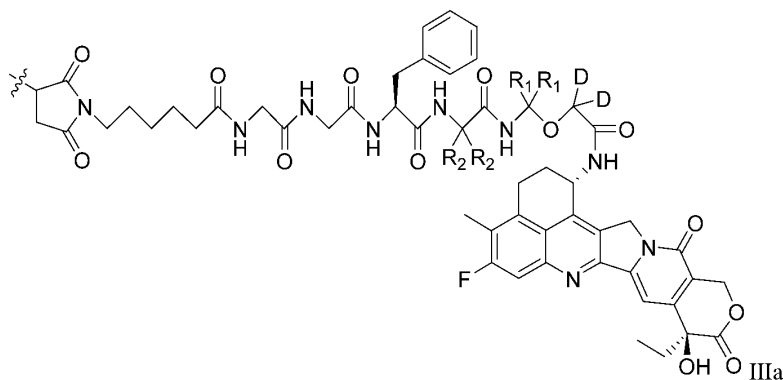
在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体,其包含重链和轻链,所述重链包含 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列,所述轻链包含 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地, n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地, n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中,所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1 所示,其中 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体,其包含重链和轻链,所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 61 所示,所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 62 所示。在一些这种实施方案中,所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数;优选地, n 为选自 4-8 或 6-8 的整数;更优选地, n 为 4、6 或 8。

在一些实施方案中,本公开提供的通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂

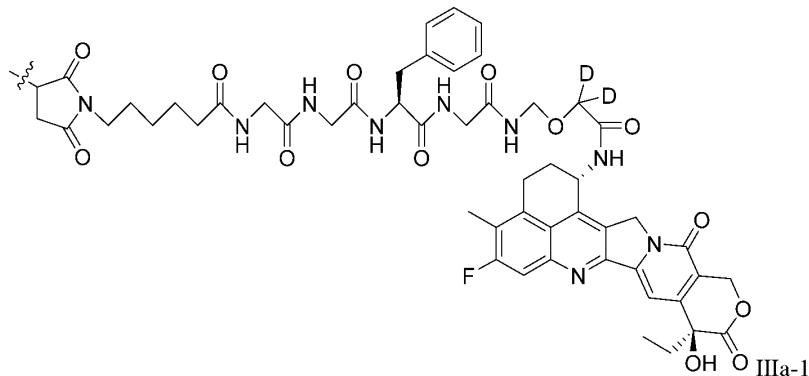
化物中, 所述抗体药物偶联物的结构如式IV-1所示, 其中Ab为抗CLDN18.2抗体, 其包含重链和轻链, 所述重链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63所示, 所述轻链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 64所示。在一些这种实施方案中, 所述n为选自1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7或7-8的整数; 优选地, n为选自4-8或6-8的整数; 更优选地, n为4、6或8。

在一些实施方案中, 本公开提供了抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 所述抗体药物偶联物是由下式IIIa所示的结构与抗体或其抗原结合片段连接而成的,



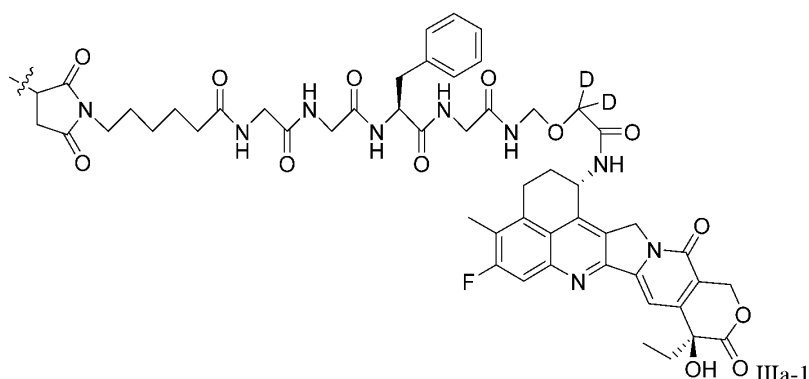
其中, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢(H)或氘(D), 式IIIa所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的3位与抗体或其抗原结合片段连接。在一些具体的实施方案中, 所述抗体药物偶联物由式IIIa所示的结构经由硫醚键与抗体或其抗原结合片段连接而成。在一些具体的实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段为本公开的抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中, 本公开提供了抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 所述抗体药物偶联物是由下式IIIa-1所示的结构与抗体或其抗原结合片段连接而成的,



其中, 式IIIa-1所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的3位与抗体或其抗原结合片段连接。在一些具体的实施方案中, 所述抗体药物偶联物由式IIIa-1所示的结构经由硫醚键与抗体或其抗原结合片段连接而成。在一些具体的实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段为本公开的抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段。

在一些具体的实施方案中, 本公开提供了抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 所述抗体药物偶联物是由下式IIIa-1所示的结构与抗体或其抗原结合片段连接而成的,



其中，式IIIa-1所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的3位与抗体或其抗原结合片段连接；所述抗体或其抗原结合片段为抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段，其包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3分别包含SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9和10所示的氨基酸序列。进一步地，在一些具体的实施方案中，所述抗CLDN18.2抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中：(1)所述重链可变区包含与SEQ ID NO: 12所示氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列，所述轻链可变区包含与SEQ ID NO: 17所示氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列；或(2)所述重链可变区包含与SEQ ID NO: 14所示氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列，所述轻链可变区包含与SEQ ID NO: 17所示氨基酸序列具有至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述抗体药物偶联物由式IIIa-1所示的结构经由硫醚键与抗体或其抗原结合片段连接而成。

在一个方面，本公开提供的通式为 $\text{Ab}-(\text{L-U})_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，展现出下述性质中的一种或多种的组合：

- (a) 结合CLDN18.2；
- (b) 阻断CLDN18.2与配体的结合；
- (c) 在表达CLDN18.2的细胞中显示内吞作用；
- (d) 对表达CLDN18.2的肿瘤细胞具有杀伤活性；
- (e) 具有旁观者效应；
- (f) 具有ADCC活性；
- (g) 具有CDC活性；
- (h) 不结合CLDN18.1；
- (i) 不结合不表达CLDN18.2的细胞；
- (j) 对表达CLDN18.1的细胞无ADCC和/或CDC活性。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有性质(a)-(j)。在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有性质(a)和(c)-(j)。

在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物结合人CLDN18.2。在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物不结合人CLDN18.1。

在一些实施方案中，本公开提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在不同CLDN18.2表达量细胞中显示了较强的内吞作用，同时能随着内吞时间的增加不断累积内吞的ADC的量。

药物组合物

在一个方面，本公开提供了一种药物组合物，其包含本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在一些实施方案中，本公开提供了一种药物组合物，其包含根据本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，以及药学上可接受的载体。药学上可接受的载体包括例如赋形剂、稀释剂、封装材料、填充剂、缓冲剂或其它试剂。

与本公开的抗体药物偶联物中抗体或其抗原结合片段偶联的细胞毒药物的数量可以变化，使得在本公开提供的药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物可以是异质的，也可以是同质的，所述异质的是指所述药物组合物包括含有不同数量细胞毒药物的抗体药物偶联物，例如 1 分子抗体或其抗原结合片段偶联有 0 个（即不含细胞毒药物）、1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或其它更多个分子细胞毒药物的抗体药物偶联物。其中 1 分子抗体或其抗原结合片段连接 0 个、1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个或 9 个分子细胞毒药物的抗体药物偶联物分别称为 D0、D1、D2、D3、D4、D5、D6、D7、D8、D9。

通过控制上述药物组合物中含有不同数量（n）细胞毒药物的抗体药物偶联物的比例，可以产生包含不同药物抗体比率（DAR）的 ADC 的药物组合物。应理解，所述 DAR 是药物组合物中每一分子抗体或其抗原结合片段的细胞毒药物平均偶联数。例如，“DAR 为约 4”是指如下药物组合物：包含每一分子抗体或其抗原结合片段偶联有相同或不同数量的细胞毒药物（例如，每个抗体或其抗原结合片段偶联有 0、1、2、3、4、5、6、7 或 8 个细胞毒药物）的 ADC 的异质混合物，但每一分子抗体或其抗原结合片段的细胞毒药物平均偶联数为约 4。类似地，“DAR 为约 8”是指该药物组合物中每一分子抗体或其抗原结合片段的细胞毒药物平均偶联数为约 8。

在一些实施方案中，所述药物组合物的 DAR 为 0-10、0-9、0-8、1-10、1-9、1-8、2-10、2-9、2-8、3-8、4-8、5-8、6-8、7-8、7.2-8、7.4-8、7.5-8、7.6-8、7.7-8、7.8-8、7.8-7.9 或 7.9-8。在一些实施方案中，所述药物组合物的 DAR 为约 1、约 2、约 3、约 4、约 5、约 6、约 7、约 7.1、约 7.2、约 7.3、约 7.4、约 7.5、约 7.6、约 7.7、约 7.8、约 7.9 或约 8.0。

在一些实施方案中，所述药物组合物的 DAR 为 7-8、7.2-8、7.4-8、7.6-8 或 7.7-8。在一些实施方案中，所述药物组合物的 DAR 为约 7.1、约 7.2、约 7.4、约 7.6、约 7.7 或约 8。

在一些实施方案中，所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的，连接有不同数量的细胞毒药物的各抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的分布如下：D0-D7 占比为 0%-30%，D8 为 60%-100%，D9 以上为 0%-15%；在一些替代性的实施方案中，D0-D3 为 0%至 10%，D4-D7 为 0%-30%，D8 为 60%-100%，D9 以上为 0%-15%；在一些替代性的实施方案中，D0-D6 为 0%至 30%，D7-D8 为 60%-100%，D9 以上为 0%-15%；在一些替代性的实施方案中，D0-D5 为 0%至 30%，D6-D8 为 70%-100%，D9 以上为 0%-15%；在一些替代性的实施方案中，D0 为 0%至 10%，D1 为 0%至 10%，D2 为 0%至 10%，D3 为 0%至 10%，D4 为 0%-20%，D5 为 0%至 10%，D6 为 0%至 20%，D7 为 0%-10%，D8 为 60%-100%，D9 以上为 0%-10%；在一些替代性的实施方案中，D0 为 0%至 6%，D1 为 0%至 6%，D2 为 0%至 6%，D3 为 0%至 6%，D4 为 0%-15%，D5 为 0%至 6%，D6 为 0%至 20%，D7 为 0%-6%，D8 为 60%-100%，D9 以上为 0%-10%；在一些替代性的实施方案中，D0 为 0%至 6%，D1-D3 为 0%至 6%，D4 为 0%-15%，D5-D7 为 0%-20%，D8 为 60%-100%，D9 以上为 0%-10%；在一些替代性的实施方案中，D0 为 0%至 5%，D1-D3 为 0%至 5%，D4 为 0%-15%，D5-D7 为 0%-20%，D8 为 85%-100%，D9 以上为 0%-5%；所述的各抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的分布比基于摩尔量。

用途

本公开提供了本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者本公开的药物组合物的用途。

在一个方面，本公开提供了本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。在一个方面，本公开提供了本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物治疗肿瘤的用途。在一个方面，本公开提供了本公开的药物组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。在一个方面，本公开提供了本公开的药物组合物治疗肿瘤的用途。

在一个方面，本公开提供了本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物与第二或另外

的治疗剂在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。在一个方面，本公开提供了本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物与第二或另外的治疗剂治疗肿瘤的用途。在一个方面，本公开提供了本公开的药物组合物与第二或另外的治疗剂在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。在一个方面，本公开提供了本公开的药物组合物与第二或另外的治疗剂治疗肿瘤的用途。

在一个方面，本公开提供了用于治疗肿瘤的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者上述的药物组合物。在一个方面，本公开提供了用于治疗肿瘤的与第二或另外的治疗剂组合的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者上述的药物组合物。

在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向受试者施用本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向受试者施用本公开的药物组合物。在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本公开的药物组合物。在一些实施方案中，所述方法包括使肿瘤细胞与所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述药物组合物接触，从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向受试者施用本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、以及第二或另外的治疗剂。在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、以及第二或另外的治疗剂。在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向受试者施用本公开的药物组合物以及第二或另外的治疗剂。在一个方面，本公开提供了一种治疗肿瘤的方法，该方法包括向有需要的受试者施用治疗有效量的本公开的药物组合物以及第二或另外的治疗剂。在一些实施方案中，所述方法包括使肿瘤细胞与所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述药物组合物接触，且同时或依序使肿瘤细胞与第二或另外的治疗剂接触，从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

在一些实施方案中，向受试者施用本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。在一些实施方案中，向受试者施用治疗有效量的本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。在一些实施方案中，向受试者施用本公开的药物组合物，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。在一些实施方案中，向受试者施用治疗有效量的本公开的药物组合物，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

在一些实施方案中，向受试者施用本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、以及第二或另外的治疗剂，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。在一些实施方案中，向受试者施用治疗有效量的本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、以及第二或另外的治疗剂，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。在一些实施方案中，向受试者施用本公开的药物组合物以及第二或另外的治疗剂，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。在一些实施方案中，向受试者施用治疗有效量的本公开的药物组合物以及第二或另外的治疗剂，可以杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

在上述的方法或用途中，所述药物组合物包括本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物；任选地，还包括药学上可接受的载体。

在一些实施方案中，上述的方法或用途中，所述肿瘤为 CLDN18.2 阳性肿瘤。在一些实施方案中，向受试者施用治疗有效量的本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者本公开的药物组合物，可以杀伤表达 CLDN18.2 的肿瘤细胞或抑制表达 CLDN18.2 的肿瘤细胞生长。肿瘤的实例包括但不限于：胃癌、食道癌、胃肠道癌（包括结肠癌和直肠癌）、胰腺癌、肝癌、肺癌（包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌）、支气管癌、间皮瘤、肾癌、卵巢癌（包括库肯勃氏瘤）、乳腺癌、膀胱癌、子宫癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、肛门癌、阴道癌、胆管癌、胆囊癌、头颈癌、脊柱肿瘤、耳鼻咽喉肿瘤、甲状腺癌、间皮瘤、骨癌、皮肤癌、黑色素瘤、腺癌、肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脑癌、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。

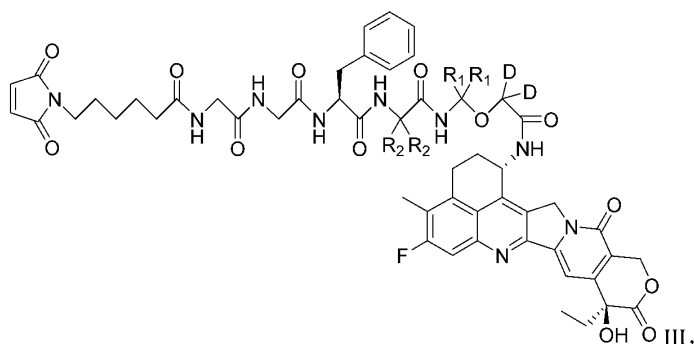
试剂盒

本公开提供了一种试剂盒，其包含本公开的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者本公开的药物组合物。

本公开描述了包括所述的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述的药物组合物的试剂盒。所述试剂盒可用于实施本公开提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者本公开提供的药物组合物的用途或其他用途。在一些实施方案中，所述试剂盒可包括所述的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者所述的药物组合物。所述试剂盒还可以包括使用说明书。所述试剂盒还可以包括从商业和用户的角度所需要的其它材料，例如可以包括其它缓冲液、稀释剂、针、注射器等。

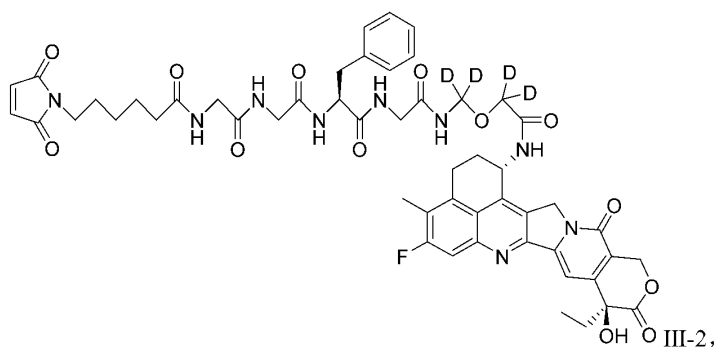
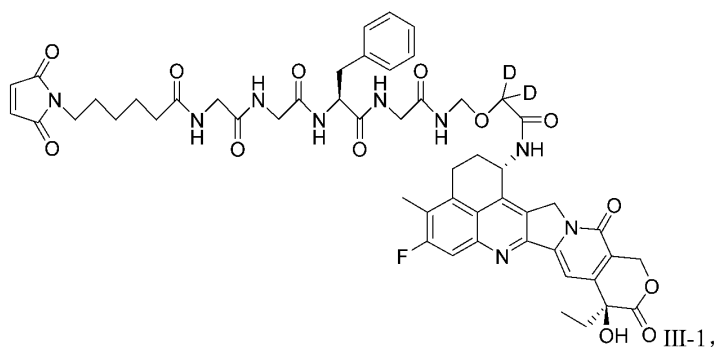
细胞毒药物和接头-有效载荷

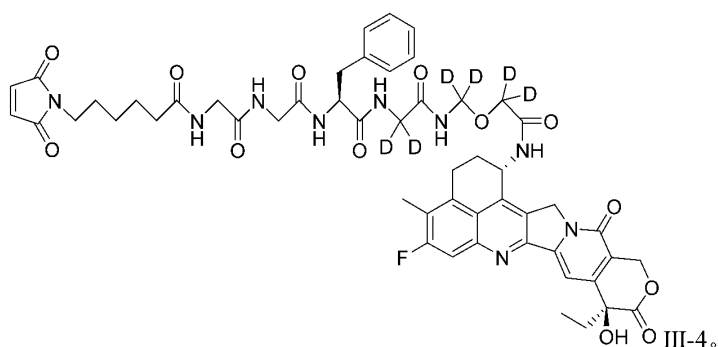
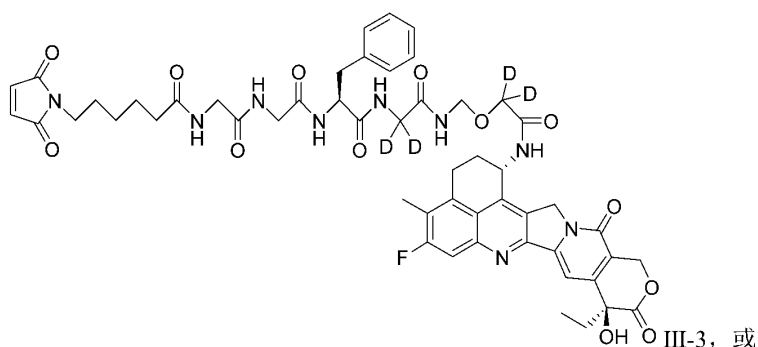
在一些方面，本公开提供下式III所示结构的接头-有效载荷（Linker-payload），



其中， R_1 、 R_2 分别独立地选自氢（H）或氘（D）。

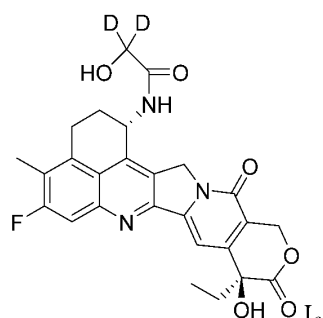
在一些具体的实施方案中，本公开提供下式III-1、III-2、III-3 或III-4 所示结构的接头-有效载荷，





所述接头-有效载荷用于得到将抗体或其抗原结合片段与该接头-有效载荷连接而成的抗体药物偶联物。

在一些方面，本公开提供了下式I所示结构的化合物，



本公开提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物实现了优异的抗肿瘤效果及/或安全性。在一些实施方案中，提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对多种表达 CLDN18.2 的肿瘤细胞表现了良好的杀伤活性。在一些实施方案中，提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对表达 CLDN18.1 的细胞无杀伤活性。在一些实施方案中，提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物有效结合表达 CLDN18.2 的细胞，并在表达 CLDN18.2 的细胞中有效发挥内吞作用。在一些实施方案中，提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物具有良好的体内抗肿瘤活性。在一些实施方案中，提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物具有优异的安全性。在一些实施方案中，提供的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物不易聚集。

本公开提供的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物具有优异的药代动力学性质。优异的药代动力学性质可以带来较低的毒性、较高的安全性和/或耐受性、较高的疗效以及较宽的治疗窗口。

制备方法

本公开提供了一种制备本公开的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，其包括在还原条件下处理抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段，之后将抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段与选自式III所示结构的接头-有效载荷反应，其中， R_1 、 R_2 分别独立地选自氢或氘。在一些实施方案中，所述 R_1 和 R_2 为氢。

在一些实施方案中,所述方法包括在还原条件下处理抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段,之后将抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段与式III-1 所示结构的接头-有效载荷反应。在一些实施方案中,所述方法包括在 TCEP 的存在下使抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段还原,之后将抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段与式III-1 所示结构的接头-有效载荷混合以进行偶联反应,得到所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物。

附图说明

图 1A-1C 为 hz28G3-1.1-DDDXd (DAR 为 7.4)、hz28G3-1.3-DDDXd (DAR 为 7.6)、hz28G3-1.1 和 hz28G3-1.3 与 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3、BxPC-3 和 NCI-N87 细胞的结合活性;

图 2A-2D 为 hz28G3-1.1-DDDXd (DAR 为 7.4)、hz28G3-1.3-DDDXd (DAR 为 7.6)、hz28G3-1.1 和 hz28G3-1.3 在 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3、BxPC-3、NCI-N87 细胞和 CLDN18.2 阳性的天然细胞系 NUGC-4 中的内吞作用;

图 3A-3C 为 hz28G3-1.1-DDDXd (DAR 为 7.4) 和 hz28G3-1.3-DDDXd (DAR 为 7.6) 对 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3、BxPC-3 和 NCI-N87 细胞的杀伤;

图 4 为 hz28G3-1.1-DDDXd (DAR 为 7.4) 和 hz28G3-1.3-DDDXd (DAR 为 7.6) 对 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3 细胞的 CDC 活性;

图 5 为 hz28G3-1.1-DDDXd (DAR 为 7.4) 和 hz28G3-1.3-DDDXd (DAR 为 7.6) 对 NIH-3T3-CLDN18.1 细胞的非特异性杀伤;

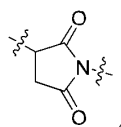
图 6 为 hz28G3-1.1-DDDXd (DAR 为 7.4) 和 hz28G3-1.3-DDDXd (DAR 为 7.6) 的旁观者效应,其中 CLDN18.2 过表达的 BxPC-3 作为阳性细胞, U2OS-Luciferase 作为阴性细胞。

解释和定义

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

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

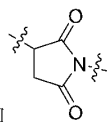
当任何变量(例如 R)在化合物的组成或结构中出现一次以上时,其在每一种情况下的定义都是独立的。因此,例如,如果一个基团被 2 个 R 所取代,则每个 R 都有独立的选项。



如本文所用,“-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-”的结构如下式:

除非另有说明,用楔形实线键(▲)和楔形虚线键(▲)表示一个立体中心的绝对构型。

除非另有规定,当某一基团具有可连接位点时,该位点与其他基团连接的化学键可以用波浪线(~~~~~)



表示。例如 表示该-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的 1 位氮原子和 3 位碳原子与其他基团相连。

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

本公开的化合物和中间体还可以以不同的互变异构体形式存在,并且所有这样的形式包含于本公开的范围内。术语“互变异构体”或“互变异构体形式”是指可经由低能垒互变的不同能量的结构异构体。例

如，质子互变异构体（也称为质子转移互变异构体）包括经由质子迁移的互变，如酮-烯醇及亚胺-烯胺异构化。质子互变异构体的具体实例是咪唑部分，其中质子可在两个环氮间迁移。价互变异构体包括通过一些成键电子的重组的互变。

本公开化合物可以是不对称的，例如，具有一个或多个立体异构体。本公开的化合物还可以存在特定的几何异构体。除非另有说明，所有几何异构体和立体异构体都包括，如顺式和反式异构体、左旋体和右旋体、对映异构体、非对映异构体(D)-异构体和(L)-异构体。上述异构体的外消旋混合物和其他混合物，例如对映异构体或非对映体富集的混合物，也都属于本公开的范围之内。本公开的含有不对称碳原子的化合物可以以光学活性纯的形式或外消旋形式被分离出来。光学活性纯的形式可以从外消旋混合物拆分，或通过使用手性原料或手性试剂合成。

除非另有说明，术语“顺反异构体”或者“几何异构体”系由因双键或者成环碳原子单键不能自由旋转而引起。除非另有说明，术语“对映异构体”是指互为镜像关系的立体异构体。除非另有说明，术语“非对映异构体”是指分子具有两个或多个手性中心，并且分子间为非镜像的关系的立体异构体。

如无特殊说明，本领域技术人员可以理解，本公开所涉结构式中的 D 同氕。

术语“旁观者效应”（Bystander effect），如本文所用，指代这样的效应，其中通过可断裂或不可断裂接头偶联至抗体或其抗原结合片段的细胞毒药物在从抗体或其抗原结合片段释放后有能力扩散穿过细胞膜，并从而引起对相邻细胞的杀伤。扩散穿过细胞膜的能力与细胞毒药物或细胞毒药物和接头的组合的疏水性有关。此类细胞毒药物可以例如是依沙替康衍生物或 MMAE。尤其是在具有异质靶表达的肿瘤和其中抗体穿透可能受限的实体瘤中，旁观者效应可能是期望的。

术语“治疗”意为将本公开所述化合物或药物组合物进行给药以预防、改善或消除疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状，且包括但不限于：(i) 预防疾病或疾病状态在哺乳动物中出现，特别是当这类哺乳动物易患有该疾病状态，但尚未被诊断为已患有该疾病状态时；(ii) 抑制疾病或疾病状态，即遏制其发展；(iii) 缓解疾病或疾病状态，即使该疾病或疾病状态消退；(iv) 降低疾病或疾病状态的任何直接或间接病理学后果。

术语“治疗有效量”意指(i) 治疗或预防特定疾病、病况或障碍，(ii) 减轻、改善或消除特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状，或(iii) 预防或延迟本文中所述的特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状发作的本公开化合物的用量。构成“治疗有效量”的本公开化合物或药物组合物的量可根据一些因素而变化，例如取决于该化合物或药物组合物及其在个体中引发所需应答的能力、疾病状态及其严重性、给药方式以及待被治疗的哺乳动物的年龄、性别和体重。

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

术语“药学上可接受的盐”是指化合物（例如本公开的抗体药物偶联物）的盐，这类盐用于哺乳动物体内时具有安全性和有效性，且具有应有的生物活性，例如，可以是金属盐、铵盐、与有机碱形成的盐、与无机酸形成的盐、与有机酸形成的盐、与碱性或者酸性氨基酸形成的盐等。

术语“溶剂化物”是指化合物与溶剂分子缔合形成的物质。

术语“抗体”以最广泛的含义使用，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体和多特异性抗体（例如双特异性抗体、三特异性抗体）的多种抗体结构，只要它们显示希望的抗原结合活性。

抗体的“抗原结合片段”是指抗体的一个或多个片段，其保留特异性结合抗原（例如，CLDN18.2 蛋白）的功能。已证实，抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段来实施。涵盖在术语抗体的“抗原结合片段”中的实例包括：(i) Fab 片段：由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段；(ii) F(ab')₂ 片段，包含在铰链区通过二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段；(iii) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段；(iv) 由抗体单臂的 VL 和 VH 结构域组成的 Fv 片段；(v) 由 VH 结构域组成的 dAb 片段（参见 Ward *et al.*, *Nature*, 341:544-546(1989)）；以及(vi) 纳米抗体，一种包含单个可变结构域和两个恒定结构域的抗体。此外，尽管 Fv 片段的两个结构域 VL 和 VH 由不同基因编码，但可以采用重组的方法通过接头将 VH 和 VL 连接成单

蛋白链，其中 VL 和 VH 配对形成单价分子称单链 Fv (scFv) (参见 Bird *et al.*, Science.242:423-426(1988); Huston *et al.*, Proc.Natl.Acad.Sci.85:5879-5883(1988))，这些单链抗体也涵盖在术语抗原结合片段中。这些抗体片段可以由本领域技术人员通过已知的常规技术获得，且片段可以通过与全长抗体相同的方法进行功能筛选。

本公开的抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段可以是 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 同种型。术语“同种型”是指由重链恒定区基因编码的抗体种类。在一些实施方案中，本公开的抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段是 IgG1 同种型。本公开的抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段可以衍生自任何物种，包括但不限于小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物(如黑猩猩、食蟹猴、蜘蛛猴、猕猴)、美洲驼和人。本公开的抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段可以是鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。

术语“小鼠抗体”或“鼠源抗体”是指可变区中骨架区和 CDR 区均来自小鼠种系免疫球蛋白序列的抗体。此外，如果抗体包含恒定区，则恒定区也来自小鼠种系免疫球蛋白序列。本公开的鼠源抗体可包括不由小鼠种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如，通过体外随机突变或点突变或通过体内体细胞突变引入的突变)，但“小鼠抗体”或“鼠源抗体”不包括在小鼠骨架序列中插入源自其他哺乳动物种系 CDR 序列的抗体。

“嵌合抗体”是将鼠源抗体的可变区与人抗体的恒定区融合而成的抗体，可以减轻鼠源抗体诱发的免疫应答反应。建立嵌合抗体，首先要建立分泌鼠源特异性单抗的杂交瘤，然后从杂交瘤细胞中克隆可变区基因，再根据需要克隆人抗体的恒定区基因，将鼠可变区基因与人恒定区基因连接成嵌合基因后插入表达载体中，最后在真核系统或原核系统中表达嵌合抗体。

“人源化抗体”是下述抗体：所述抗体含有衍生自非人抗体的互补决定区(CDR)和衍生自人抗体的骨架区以及恒定区。例如，本文提供的抗体药物偶联物中结合 CLDN18.2 的人源化抗体可以包含衍生自一种或多种鼠源抗体的 CDR 以及人骨架区和人恒定区。因此，在一些实施方案中，本文提供的抗体药物偶联物中的人源化抗体与所述抗体的 CDR 所衍生自的鼠源抗体结合 CLDN18.2 上的相同表位。本文提供了示例性人源化抗体。包含本文提供的重链 CDR 和轻链 CDR 的另外的结合 CLDN18.2 的人源化抗体或其变体可以使用任何人骨架序列产生，并且也包括在本公开中。在一些实施方案中，适用于在本公开中使用的骨架序列包括在结构上与本文提供的骨架序列类似的那些骨架序列。可以在骨架区中进行另外修饰以改变本文提供的抗体的特性。此类另外的骨架修饰可以包括化学修饰、点突变以降低免疫原性或去除 T 细胞表位、或回复突变为原始种系序列中的残基。在一些实施方案中，此类另外的修饰包括对应于本文示例的突变的那些修饰，包括对种系序列的回复突变。例如，在一些实施方案中，本文提供的人源化抗体的 VH 和 /或 VL 的人骨架区中的一个或多个氨基酸被回复突变为亲本鼠源抗体中对应的氨基酸。在本公开中，人源化抗体也被表示为“hz”。

术语“CDR”(互补决定区)，也称为“高变区”。天然四链抗体通常包含六个 CDR，三个在重链可变区中，三个在轻链可变区中。

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

如本文所用，术语“EC₅₀”是指有效浓度，引起抗体或其抗原结合片段、或者 ADC 的 50%最大应答；术语“IC₅₀”是指抑制浓度，引起抗体或其抗原结合片段、或者 ADC 的 50%最大应答。EC₅₀ 和 IC₅₀ 可以通过 ELISA 或 FACS 分析或本领域已知的任何其它方法进行测量。

“K_D”指平衡解离常数，其获自 K_d 比 K_a (即，K_d/K_a) 的比率并且表示为摩尔浓度(M)。抗体的 K_D 值可以使用本领域充分建立的方法来测定。用于测定抗体的 K_D 的优选方法是通过使用表面等离子共振技术，优选使用生物传感器系统诸如 BIACORE®表面等离子共振系统分析。

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

括在比较序列的全长里获得最大比对需要的任何算法。

本文中的术语“X”和“Xaa”等同，是指未指定的氨基酸（Unspecified Amino Acid），通过相关表述中的定义来指定其涵盖的范围，为了区别同一氨基酸序列中的多个“X”，对先后出现的多个 X 分别进行编号（即，撰写成 X_n）并分别对其涵盖的范围进行定义。

术语“受试者”包括任何人类或非人动物。术语“非人动物”包括所有的脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，诸如非人灵长类、绵羊、山羊、犬、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。优选地，根据本公开的受试者是人。除非标明，术语“患者”或“受试者”可以互换使用。“有需要的受试者”包括那些已经患有疾病或病状的受试者，处于发展出疾病或病状的风险中的受试者，以及可能患疾病或病状并且其目的是预防、延迟或减弱疾病或病状的受试者。

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

术语“包括”、“含有”和“包含”（comprise、comprises 或 comprising）及其等同物（例如，contain、contains、containing、include、includes 和 including）应理解为“包括但不限于”，意味着除所列出的要素、组分和步骤外，还可涵盖其它未指明的要素、组分和步骤。

在本文中，除非上下文另有明确规定，否则单数术语涵盖复数指代物，反之亦然。类似地，除非上下文另有明确指示，词语“或”意在包含“和”。

具体实施方式

本公开还提供了以下一些具体的实施方案，但本公开的保护范围不限于此：

实施方案1. 一种通式为 Ab-(L-U)_n 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 为抗体或其抗原结合片段，L 为接头，U 为细胞毒药物，n 为选自 1-10 的整数，其中，所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段，其包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，

(1) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR1 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR2 的氨基酸序列，HCDR3 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR3 的氨基酸序列，LCDR1 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR1 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR2 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR3 的氨基酸序列；

(2) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR1 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR2 的氨基酸序列，HCDR3 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR3 的氨基酸序列，LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列；

(3) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR1 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR2 的氨基酸序列，HCDR3 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR3 的氨基酸序列，LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列；

(4) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 中 HCDR1 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 14 中 HCDR2 的氨基酸序列，HCDR3 包含 SEQ ID NO: 14 中 HCDR3 的氨基酸序列，LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列；

(5) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 15 中 HCDR1 的氨基酸序列，HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 中 HCDR2 的氨基酸序列，HCDR3 包含 SEQ ID NO: 15 中 HCDR3 的氨基酸序列，LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列，LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列，和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列；

的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 36 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 36 中 Lcdr3 的氨基酸序列;

(18) Hcdr1 包含 SEQ ID NO: 33 中 Hcdr1 的氨基酸序列, Hcdr2 包含 SEQ ID NO: 33 中 Hcdr2 的氨基酸序列, Hcdr3 包含 SEQ ID NO: 33 中 Hcdr3 的氨基酸序列, Lcdr1 包含 SEQ ID NO: 36 中 Lcdr1 的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 36 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 36 中 Lcdr3 的氨基酸序列;

(19) Hcdr1 包含 SEQ ID NO: 43 中 Hcdr1 的氨基酸序列, Hcdr2 包含 SEQ ID NO: 43 中 Hcdr2 的氨基酸序列, Hcdr3 包含 SEQ ID NO: 43 中 Hcdr3 的氨基酸序列, Lcdr1 包含 SEQ ID NO: 44 中 Lcdr1 的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 44 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 44 中 Lcdr3 的氨基酸序列;

(20) Hcdr1 包含 SEQ ID NO: 51 中 Hcdr1 的氨基酸序列, Hcdr2 包含 SEQ ID NO: 51 中 Hcdr2 的氨基酸序列, Hcdr3 包含 SEQ ID NO: 51 中 Hcdr3 的氨基酸序列, Lcdr1 包含 SEQ ID NO: 52 中 Lcdr1 的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 52 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 52 中 Lcdr3 的氨基酸序列; 或

(21) Hcdr1 包含 SEQ ID NO: 59 中 Hcdr1 的氨基酸序列, Hcdr2 包含 SEQ ID NO: 59 中 Hcdr2 的氨基酸序列, Hcdr3 包含 SEQ ID NO: 59 中 Hcdr3 的氨基酸序列, Lcdr1 包含 SEQ ID NO: 60 中 Lcdr1 的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 60 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 60 中 Lcdr3 的氨基酸序列。

实施方案2. 根据实施方案1所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中,

(1) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列;

(2) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列;

(3) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列;

(4) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(5) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(6) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(7) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(8) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(9) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(10) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(11) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(12) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41 和 42 所示的氨基酸序列;

(13) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49 和 50 所示的氨基酸序列; 或

(14) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57 和 58 所示的氨基酸序列。

实施方案3. 根据实施方案 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，

(1) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 11 和 16 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(2) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(3) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(4) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(5) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(6) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(7) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(8) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(9) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(10) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 29 和 34 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(11) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(12) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(13) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(14) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(15) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(16) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(17) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(18) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(19) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 43 和 44 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；

(20) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 51 和 52 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列；或

(21) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 59 和 60 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列。

实施方案4. 根据实施方案 1-3 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段是 IgG1、IgG2 或 IgG4 同种型。

实施方案5. 根据实施方案 1-4 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体进一步包含重链恒定区和轻链恒定区, 所述重链恒定区包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列, 所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列或者与 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列。

实施方案6. 根据实施方案 1-5 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 其中

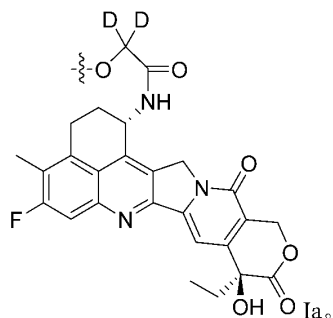
(1) 所述重链包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列; 或

(2) 所述重链包含与 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列。

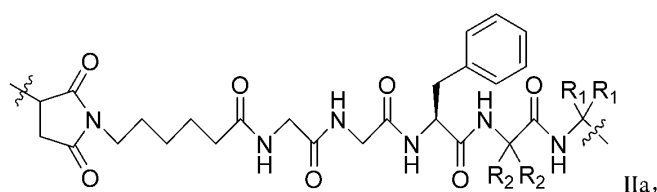
实施方案7. 根据实施方案 1-6 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中 U 为喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂, 并且 L 和/或 U 具有氙代修饰。

实施方案8. 根据实施方案 7 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中 U 为 SN-38、SN-38 衍生物、依沙替康或者依沙替康衍生物, 优选为依沙替康衍生物。

实施方案9. 根据实施方案 8 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-U 为下式 Ia 所示的结构:



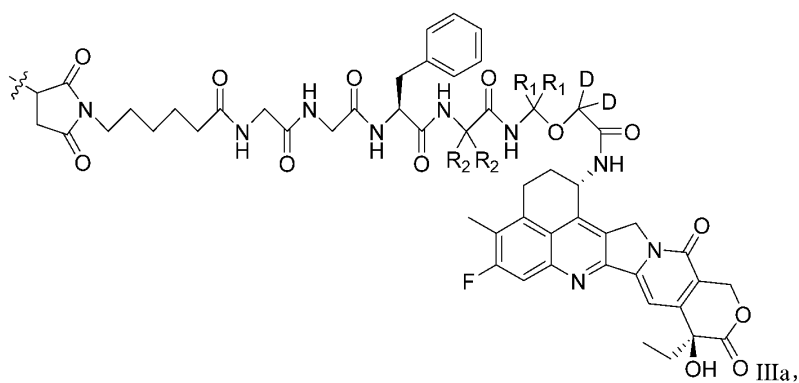
实施方案10. 根据实施方案 7-9 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-L-为下式 IIa 所示的结构:



其中, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氙;

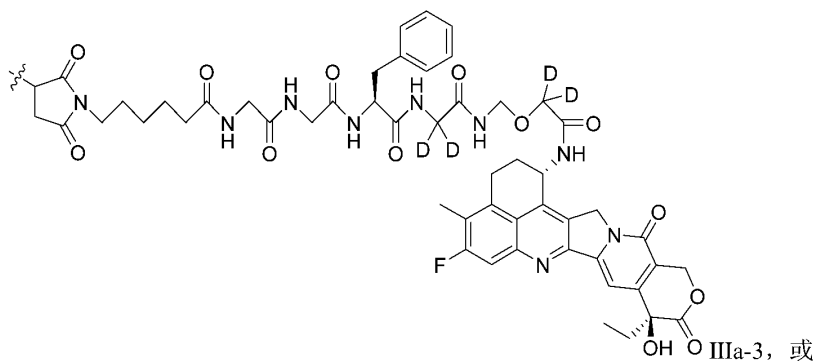
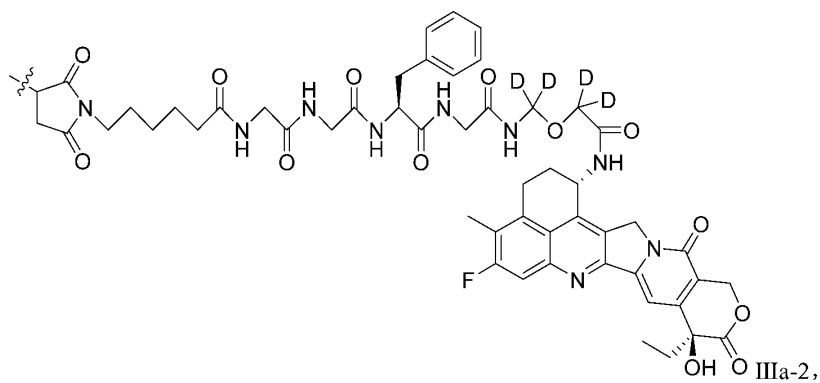
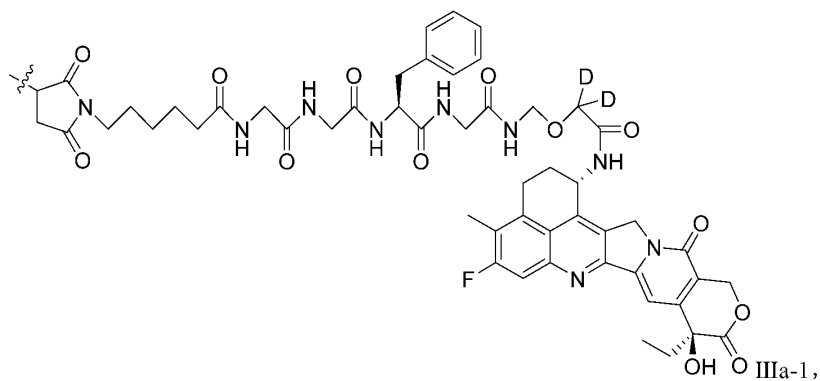
并且, 所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的 3 位与所述 Ab 连接, 另一端的亚甲基与所述 U 连接。

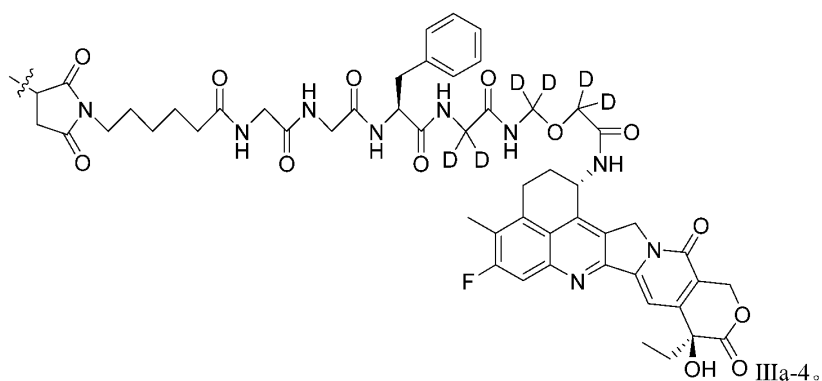
实施方案11. 根据实施方案 7 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-L-U 为下式 IIIa 所示的结构:



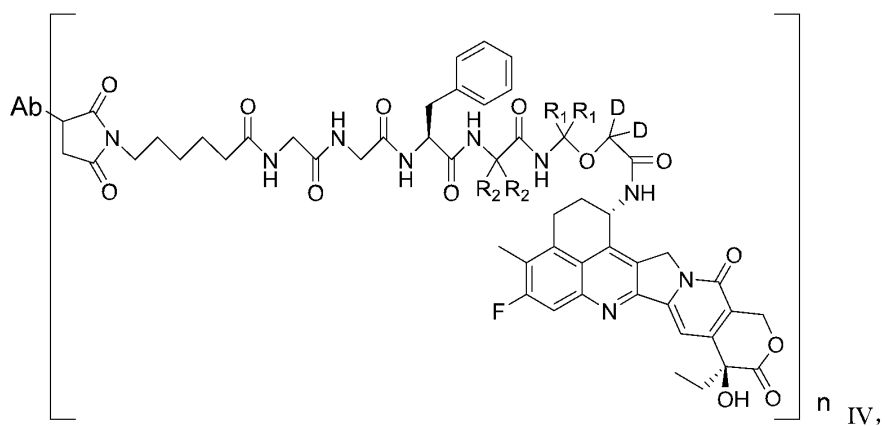
其中， R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氘。

实施方案12. 根据实施方案 11 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中-L-U 为下式IIIa-1、IIIa-2、IIIa-3 或IIIa-4 所示的结构：



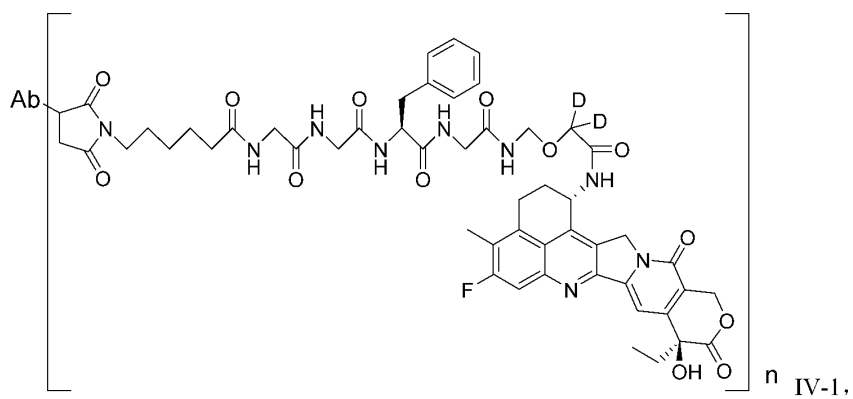


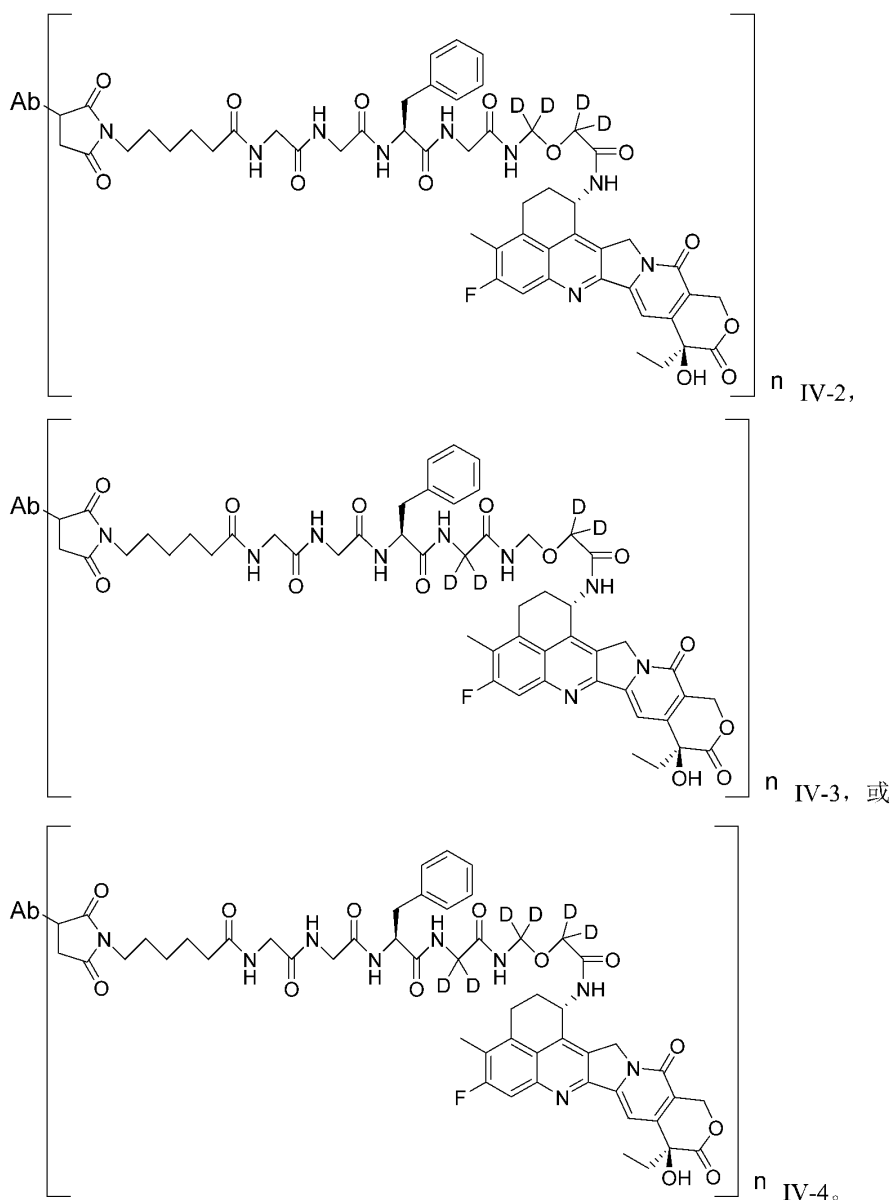
实施方案13. 根据实施方案7所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗体药物偶联物的结构如下式IV所示:



其中, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氘。

实施方案14. 根据实施方案13所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗体药物偶联物的结构如下式IV-1、IV-2、IV-3或IV-4所示:





实施方案15. 根据实施方案 1-14 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数; 优选为选自 2-8、3-8、4-8、5-8、6-8 或 7-8 的整数; 更优选为选自 6-8 的整数。

实施方案16. 根据实施方案 1-15 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物展现出下述性质中的一种或几种的组合:

- (a) 结合 CLDN18.2;
- (b) 阻断 CLDN18.2 与配体的结合;
- (c) 在表达 CLDN18.2 的细胞中显示内吞作用;
- (d) 对表达 CLDN18.2 的肿瘤细胞具有杀伤活性;
- (e) 具有旁观者效应;
- (f) 具有 ADCC 活性;
- (g) 具有 CDC 活性;

- (h) 不结合 CLDN18.1;
 (i) 不结合不表达 CLDN18.2 的细胞; 和
 (j) 对表达 CLDN18.1 的细胞无 ADCC 和/或 CDC 活性。

实施方案17. 一种药物组合物, 其包含实施方案 1-16 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物; 优选地, 所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的或同质的; 任选地, 所述药物组合物还包括药学上可接受的载体。

实施方案18. 根据实施方案 17 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的, 所述药物组合物的 DAR 为 0-10、0-9、0-8、1-10、1-9、1-8、2-10、2-9、2-8、3-8、4-8、5-8、6-8、7-8、7.2-8、7.4-8、7.5-8、7.6-8、7.7-8、7.8-8、7.8-7.9 或 7.9-8; 优选为 7-8、7.2-8、7.4-8、7.6-8、7.7-8; 更优选地为约 7.1、约 7.2、约 7.4、约 7.6、约 7.7 或约 8。

实施方案19. 实施方案 1-16 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 17 或 18 所述的药物组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

实施方案20. 实施方案 1-16 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 17 或 18 所述的药物组合物与第二治疗剂在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

实施方案21. 根据实施方案 19 或 20 所述的用途, 其中, 所述肿瘤为 CLDN18.2 阳性肿瘤; 优选地, 所述肿瘤为胃癌、食道癌、胃肠道癌、胰腺癌、肝癌、肺癌、支气管癌、间皮瘤、肾癌、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、子宫癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、肛门癌、阴道癌、胆管癌、胆囊癌、头颈癌、脊柱肿瘤、耳鼻咽喉肿瘤、甲状腺癌、间皮瘤、骨癌、皮肤癌、黑色素瘤、腺癌、肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脑癌、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、白血病、淋巴瘤和/或骨髓瘤。

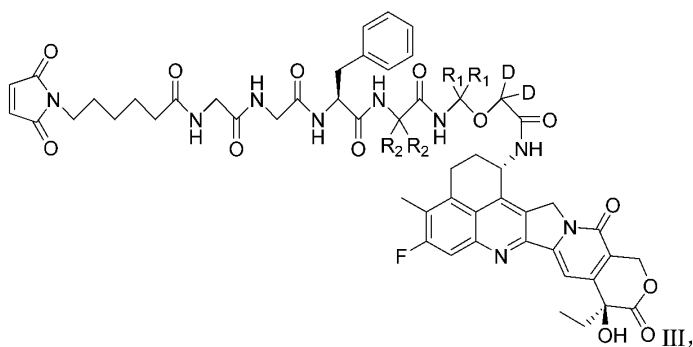
实施方案22. 一种治疗肿瘤的方法, 其包括向有需要的患者施用治疗有效量的实施方案 1-16 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 17 或 18 所述的药物组合物。

实施方案23. 根据实施方案 22 所述的方法, 所述方法包括使肿瘤细胞与实施方案 1-16 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者实施方案 17 或 18 所述的药物组合物接触, 从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

实施方案24. 根据实施方案 22 或 23 所述的方法, 其中所述方法还包括施用第二治疗剂。

实施方案25. 根据实施方案 22-24 中任一项所述的方法, 其中, 所述肿瘤为 CLDN18.2 阳性肿瘤; 优选地, 所述肿瘤为胃癌、食道癌、胃肠道癌、胰腺癌、肝癌、肺癌、支气管癌、间皮瘤、肾癌、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、子宫癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、肛门癌、阴道癌、胆管癌、胆囊癌、头颈癌、脊柱肿瘤、耳鼻咽喉肿瘤、甲状腺癌、间皮瘤、骨癌、皮肤癌、黑色素瘤、腺癌、肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脑癌、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、白血病、淋巴瘤和/或骨髓瘤。

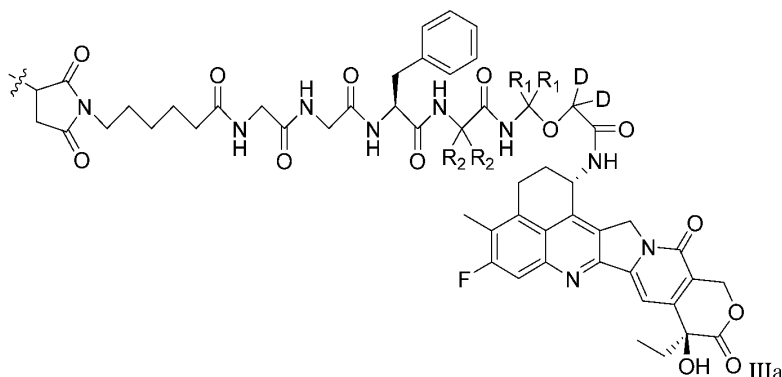
实施方案26. 一种制备实施方案 11-16 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法, 其包括在还原条件下处理抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 之后将抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段与选自式 III 所示结构的接头-有效载荷反应, 其中, 式 III 所示结构如下:



其中, R_1 、 R_2 分别独立地选自氢或氘。

实施方案27. 根据实施方案 26 所述的方法, 其中, R_1 和 R_2 为氢。

实施方案28. 一种抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 所述抗体药物偶联物是由下式 IIIa 所示的结构与抗体或其抗原结合片段连接而成的,



其中, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氟, 式 IIIa 所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的 3 位与抗体或其抗原结合片段连接;

所述抗体或其抗原结合片段是抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3, 其中,

(1) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 11 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 16 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(2) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(3) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(4) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 14 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 14 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 14 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(5) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 15 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 15 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 15 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 17 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(6) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 12 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 18 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 18 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 18 中 LCDR3 的氨基酸序列;

(7) HCDR1 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR1 的氨基酸序列, HCDR2 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR2 的氨基酸序列, HCDR3 包含 SEQ ID NO: 13 中 HCDR3 的氨基酸序列, LCDR1 包含 SEQ ID NO: 18 中 LCDR1 的氨基酸序列, LCDR2 包含 SEQ ID NO: 18 中 LCDR2 的氨基酸序列, 和 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 18 中 LCDR3 的氨基酸序列;

的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 44 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 44 中 Lcdr3 的氨基酸序列;

(20) Hcdr1 包含 SEQ ID NO: 51 中 Hcdr1 的氨基酸序列, Hcdr2 包含 SEQ ID NO: 51 中 Hcdr2 的氨基酸序列, Hcdr3 包含 SEQ ID NO: 51 中 Hcdr3 的氨基酸序列, Lcdr1 包含 SEQ ID NO: 52 中 Lcdr1 的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 52 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 52 中 Lcdr3 的氨基酸序列; 或

(21) Hcdr1 包含 SEQ ID NO: 59 中 Hcdr1 的氨基酸序列, Hcdr2 包含 SEQ ID NO: 59 中 Hcdr2 的氨基酸序列, Hcdr3 包含 SEQ ID NO: 59 中 Hcdr3 的氨基酸序列, Lcdr1 包含 SEQ ID NO: 60 中 Lcdr1 的氨基酸序列, Lcdr2 包含 SEQ ID NO: 60 中 Lcdr2 的氨基酸序列, 和 Lcdr3 包含 SEQ ID NO: 60 中 Lcdr3 的氨基酸序列。

实施方案29. 根据实施方案 28 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中,

(1) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列;

(2) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列;

(3) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列;

(4) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(5) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(6) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(7) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列;

(8) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(9) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(10) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(11) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列;

(12) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41 和 42 所示的氨基酸序列;

(13) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49 和 50 所示的氨基酸序列; 或

(14) Hcdr1、Hcdr2、Hcdr3、Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别包含 SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57 和 58 所示的氨基酸序列。

实施方案30. 根据实施方案 28 或 29 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区, 其中,

(1) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 11 和 16 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(2) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(3) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(4) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(5) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(6) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(7) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(8) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(9) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(10) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 29 和 34 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(11) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(12) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(13) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(14) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(15) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(16) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(17) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(18) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(19) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 43 和 44 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;

(20) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 51 和 52 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列; 或

(21) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 59 和 60 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列。

实施方案31. 根据实施方案 28-30 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段是 IgG1、IgG2 或 IgG4 同种型。

实施方案32. 根据实施方案 28-31 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体进一步包含重链恒定区和轻链恒定区, 所述重链恒定区包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列, 所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列或者与 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列。

实施方案33. 根据实施方案 28-32 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 其中

(1) 所述重链包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列; 或

(2) 所述重链包含与 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列。

实施方案34. 根据实施方案 28-33 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述 R_1 和 R_2 均为氢。

实施方案35. 根据实施方案 28-34 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物由式 IIIa 所示的结构经由硫醚键与所述抗体或其抗原结合片段连接而成。

实施方案36. 根据实施方案 28-35 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中, 所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物展现出下述性质中的一种或几种的组合:

- (a) 结合 CLDN18.2;
- (b) 阻断 CLDN18.2 与配体的结合;
- (c) 在表达 CLDN18.2 的细胞中显示内吞作用;
- (d) 对表达 CLDN18.2 的肿瘤细胞具有杀伤活性;
- (e) 具有旁观者效应;
- (f) 具有 ADCC 活性;
- (g) 具有 CDC 活性;
- (h) 不结合 CLDN18.1;
- (i) 不结合不表达 CLDN18.2 的细胞; 和
- (j) 对表达 CLDN18.1 的细胞无 ADCC 和/或 CDC 活性。

实施方案37. 一种药物组合物, 其包含实施方案 28-36 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物; 优选地, 所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的或同质的; 任选地, 所述药物组合物还包括药学上可接受的载体。

实施方案38. 根据实施方案 37 所述的药物组合物, 其中, 所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的, 所述药物组合物的 DAR 为 0-10、0-9、0-8、1-10、1-9、1-8、2-10、2-9、2-8、3-8、4-8、5-8、6-8、7-8、7.2-8、7.4-8、7.5-8、7.6-8、7.7-8、7.8-8、7.8-7.9 或 7.9-8; 优选为 7-8、7.2-8、7.4-8、7.6-8、7.7-8; 更优选地为约 7.1、约 7.2、约 7.4、约 7.6、约 7.7 或约 8。

实施方案39. 实施方案 28-36 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 37 或 38 所述的药物组合物在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

实施方案40. 实施方案 28-36 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 37 或 38 所述的药物组合物与第二治疗剂在制备用于治疗肿瘤的药物中的用途。

实施方案41. 根据实施方案 39 或 40 所述的用途, 其中, 所述肿瘤为 CLDN18.2 阳性肿瘤; 优选地, 所述肿瘤为胃癌、食道癌、胃肠道癌、胰腺癌、肝癌、肺癌、支气管癌、间皮瘤、肾癌、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、子宫癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、肛门癌、阴道癌、胆管癌、胆囊癌、头颈癌、脊柱肿瘤、耳鼻咽喉肿瘤、甲状腺癌、间皮瘤、骨癌、皮肤癌、黑色素瘤、腺癌、肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脑癌、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、白血病、淋巴瘤和/或骨髓瘤。

实施方案42. 一种治疗肿瘤的方法, 其包括向有需要的患者施用治疗有效量的实施方案 28-36 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物或者实施方案 37 或 38 所述的药物组合物。

实施方案43. 根据实施方案 42 所述的方法, 所述方法包括使肿瘤细胞与实施方案 28-36 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者实施方案 37 或 38 所述的药物组合物接触, 从而杀伤肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞生长。

实施方案44. 根据实施方案 42 或 43 所述的方法, 其中所述方法还包括施用第二治疗剂。

实施方案45. 根据实施方案 42-44 中任一项所述的方法, 其中, 所述肿瘤为 CLDN18.2 阳性肿瘤; 优选地, 所述肿瘤为胃癌、食道癌、胃肠道癌、胰腺癌、肝癌、肺癌、支气管癌、间皮瘤、肾癌、卵巢癌、

乳腺癌、膀胱癌、子宫癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、肛门癌、阴道癌、胆管癌、胆囊癌、头颈癌、脊柱肿瘤、耳鼻咽喉肿瘤、甲状腺癌、间皮瘤、骨癌、皮肤癌、黑色素瘤、腺癌、肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脑癌、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、白血病、淋巴瘤和/或骨髓瘤。

实施例

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

本公开实施例中涉及的细胞及其来源如下表所示：

细胞	种类	来源
KATOIII	人胃癌细胞	中国科学院细胞库
NUGC-4	人胃癌细胞	中国科学院细胞库
NCI-N87	人胃癌细胞	康源博创
BxPC-3	人胰腺癌细胞	康源博创
NIH-3T3	小鼠胚胎成纤维细胞	中国科学院细胞库
U2OS	人骨肉瘤细胞	中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心

实施例 1 抗 CLDN18.2 单克隆抗体的产生

稳定细胞系的构建

将编码人 CLDN18.2 (SEQ ID NO: 65) 的 cDNA 通过基因合成获得，然后亚克隆到表达载体 pcDNA3.1 中。按照 Lipofectamine 2000 转染试剂 (Thermo, 目录号 11668019) 的说明书，将表达载体分别转染到 U2OS 细胞和 NIH-3T3 细胞中，获得稳定细胞系 U2OS-CLDN18.2 和 NIH-3T3-CLDN18.2。

小鼠免疫

用免疫原 NIH-3T3-CLDN18.2 细胞免疫 Balb/c 小鼠，每只小鼠腹腔注射 5×10^6 - 10×10^6 个 NIH-3T3-CLDN18.2 细胞，每 2 周免疫一次，免疫 5 次。融合前 3 天，每只小鼠腹腔注射 1×10^7 个 NIH-3T3-CLDN18.2 细胞来冲刺免疫。免疫结束后，采集每只小鼠的血清进行抗 CLDN18.2 特异性抗体滴度检测。选取抗体滴度较高的小鼠进行后续的脾细胞融合。

细胞融合

采用电融合技术，使用电融合仪 (BTX, ECM2001) 将来自免疫小鼠的脾细胞 (1×10^8 个) 与 SP2/0 骨髓瘤细胞 (5×10^7 个) 进行融合得到杂交瘤细胞。融合后，将细胞用 HAT 完全培养基重悬，以 0.2 mL/孔分配到 96 孔板中，并在 37°C、含 5% CO₂ 的培养箱中进行培养，7-10 天后，取杂交瘤细胞培养上清进行检测。

杂交瘤的筛选

通过 ELISA 检测抗体与 CLDN18.2 的结合活性。将 U2OS-CLDN18.2 细胞以 10000 个/孔分配到 96 孔板中，于 37°C、含 5% CO₂ 的培养箱中过夜培养。弃去细胞培养上清，用 PBS 缓冲液洗涤 96 孔板 3 次，加入 2%多聚甲醛于室温固定 30 分钟。用 PBS 缓冲液洗涤 96 孔板 3 次，每孔加入 100 μL 杂交瘤细胞培养上清，于室温孵育 1 小时。用 PBS 缓冲液洗涤 96 孔板 3 次，每孔加入 100 μL HRP-Goat Anti-Mouse IgG Fcγ (Jackson immunoresearch, 目录号 115-035-071)，于室温孵育 1 小时。用 PBS 缓冲液洗涤 96 孔板 3 次，每孔加入 100 μL TMB (Thermo, 目录号 00-4201-56)，孵育 10 分钟，然后每孔加入 50 μL 终止溶液 (1 M H₂SO₄) 以停止反应。使用酶标仪 (Thermo, Varioskan Flash) 在 450 nm 波长下读取 OD 值。

选取经 ELISA 检测呈阳性的杂交瘤细胞，通过 FACS 方法检测所述杂交瘤细胞培养上清中的抗体与天然表达 CLDN18.2 的细胞系 KATOIII 和 NUGC-4 的结合活性。

cDNA 的获取

选取经 ELISA 和 FACS 检测呈阳性的杂交瘤细胞，使用总 RNA 提取试剂盒 (Takara, 目录号 9767) 从细胞中分离出总 RNA 作为模板，按照试剂盒 (Thermo, 目录号 18080051) 说明书使用 superscript III 逆转录酶合成第一链 cDNA。以第一链 cDNA 作为模板，然后使用小鼠 IgG 引物和 Kappa 引物通过 PCR

反应扩增抗体的重链可变区和轻链可变区序列。将 PCR 混合物在含有 0.5 µg/mL 溴化乙锭的 1% 琼脂糖/Tris-硼酸盐凝胶中进行电泳分离。从凝胶上切下具有预期大小的 DNA 片段并且对其进行纯化。将纯化的 PCR 产物克隆到 pMD-19T 载体 (Takara, 目录号 6013) 中, 并转入到 DH5α 感受态大肠杆菌细胞 (Takara, 目录号 9057) 中进行培养。从 LB 固体培养平板上挑取单菌落进行 DNA 测序。得到抗体 (鼠源抗体 28G3、40F6、22F12、34G6 和 10D8) 的重链可变区序列和轻链可变区序列。

人源化抗体的构建和表达

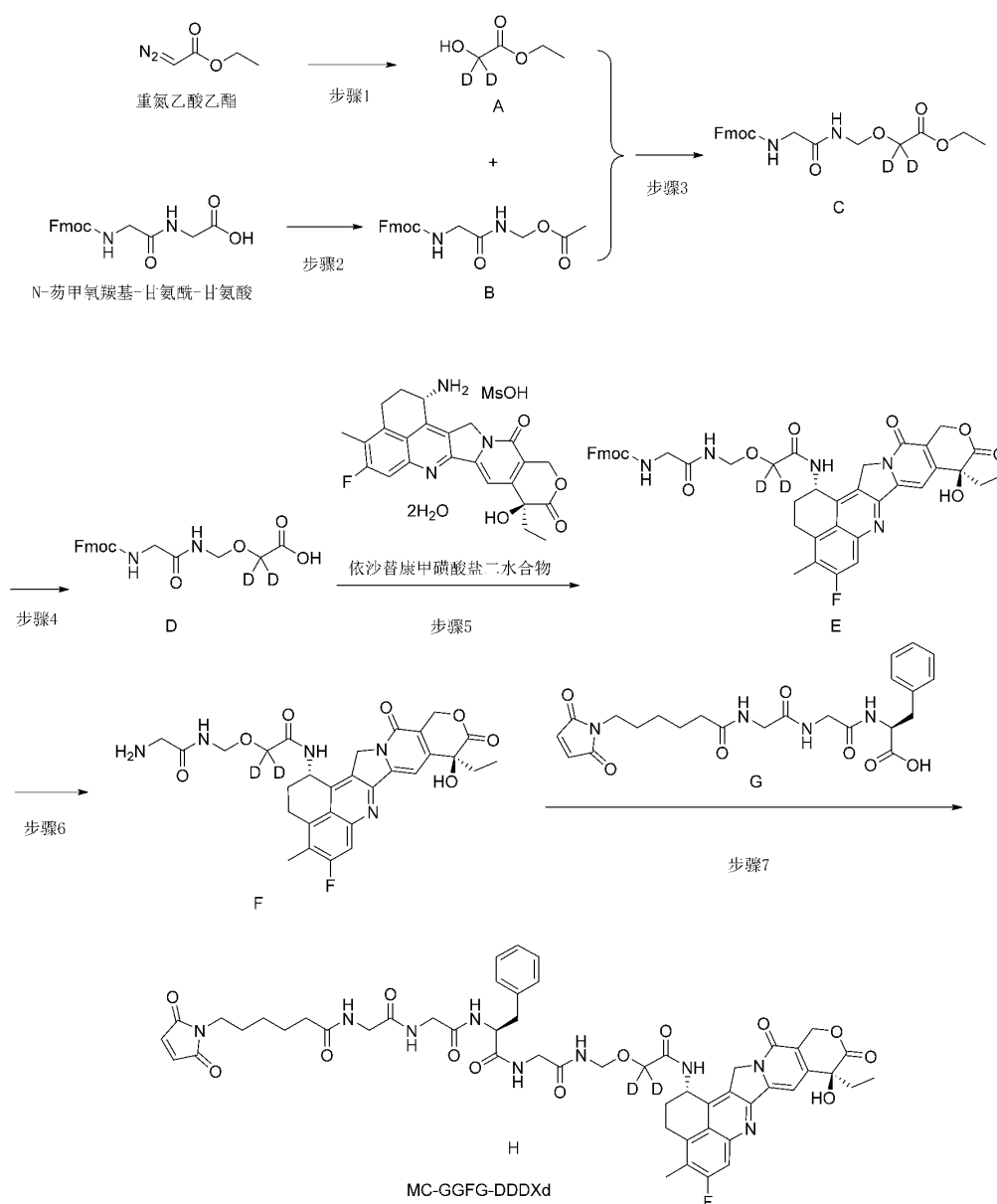
选取鼠源抗体 28G3 (重链可变区序列 SEQ ID NO: 11, 轻链可变区序列 SEQ ID NO: 16) 和 40F6 (重链可变区序列 SEQ ID NO: 29, 轻链可变区序列 SEQ ID NO: 34) 进行人源化设计。

采用 CDR-graft 方法结合计算机辅助设计对鼠源抗体 28G3 和 40F6 进行人源化设计, 对鼠源抗体的重链可变区序列和轻链可变区序列经蛋白质数据库比对分析, 筛选出具有最高序列同源性的人胚系抗体序列。将鼠源抗体 28G3 和 40F6 的 CDR 嫁接到筛选出的人胚系抗体序列的骨架中, 并进一步突变 CDR 和/或骨架中的氨基酸残基以获得更多候选的可变区序列。

将上述人源化 VL 区基因片段连接到人 κ 链恒定区 (氨基酸序列如 SEQ ID NO: 2 所示) 来构建人源化轻链, 将上述人源化 VH 区基因片段连接到人 IgG1 恒定区 (氨基酸序列如 SEQ ID NO: 1 所示) 来构建人源化重链。将人源化重链表达质粒和人源化轻链表达质粒共转染至 CHO 细胞中进行蛋白表达。转染后的细胞在 37°C、含 8% CO₂ 条件下培养。培养 7-10 天后, 离心得到细胞培养上清, 用 Protein A 柱 (GE healthcare) 纯化细胞培养上清中的人源化抗体。

其中, 人源化抗体 hz28G3-1.1 的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 61 所示, 轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 62 所示; 人源化抗体 hz28G3-1.3 的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 63 所示, 轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 64 所示。其他人源化抗体的可变区氨基酸序列见表 S1。

实施例 2 MC-GGFG-氘代 DXd (MC-GGFG-DDDXd) 的制备



步骤1 中间体 A 的合成

在氮气保护下将 80 g 重氮乙酸乙酯加入到 3 L 单口瓶中，并加入 800 mL 二氯甲烷和 800 mL 1%氘代乙酸溶液（8 g 氘代乙酸溶于 800 mL 氘水），将单口瓶置于遮光条件下室温下搅拌 75 小时。分液收集有机相，水相用二氯甲烷萃取 2 次（200 mL × 2），合并有机相。用 200 mL 氘水洗有机相，得到的有机相用无水硫酸钠干燥，过滤除掉硫酸钠，将滤液 20°C 减压浓缩至干，得到 49.25 g 中间体 A，产率 66%；该中间体 A 的 CAS：1356471-71-0。

步骤2 中间体 B 的合成

称取 50 g N-苄氧羰基-甘氨酸-甘氨酸加入到 2 L 的圆底烧瓶中，并加入 750 mL 四氢呋喃和 150 mL 冰醋酸，于 40°C 下搅拌 20 分钟，加入 100 g 四乙酸铅，升温到 80°C 后继续反应 3 小时。降温到室温，抽滤，滤饼用 250 mL 乙酸乙酯洗涤。将滤液浓缩至干，加入 330 mL 二氯甲烷和 670 mL 乙酸乙酯溶解得到有机相。有机相用 30% 碳酸氢钾水溶液洗 3 次（500 mL × 3），再用无水硫酸钠干燥，过滤。将滤液减压浓缩至干，加入 100 mL 二氯甲烷溶解，再加入 100 mL 正己烷，室温搅拌至析出固体，然后加入 300 mL 正己烷和二氯甲烷的混合溶液（正己烷:二氯甲烷=1:1），搅拌过夜。过滤，滤饼于 40°C 真空烘箱中干燥 4 小

时,得到 37.3 g 中间体 B,产率 72%,LC-MS (ESI) m/z: 391.09 [M+Na]⁺;该中间体 B 的 CAS: 1599440-06-8。

步骤 3 中间体 C 的合成

称取 78 g 中间体 B 加入 3000 mL 单口烧瓶中,向其中加入 800 mL 二氯甲烷和 45 g 中间体 A,将 3000 mL 单口烧瓶放入冰水浴降温到 0°C。将 16 g 叔丁醇锂溶于 400 mL 二氯甲烷中配成叔丁醇锂溶液,将叔丁醇锂溶液加入到 3000 mL 单口烧瓶中,0°C 下反应 3 小时。移至室温,加入 800 mL 水搅拌。分液,收集有机相,水相用 400 mL 二氯甲烷萃取,合并有机相。有机相用 800 mL 饱和食盐水洗 1 次,无水硫酸钠干燥,抽滤,滤液减压浓缩,采用硅胶柱进行层析(石油醚:乙酸乙酯 = 3:1),得到 61 g 中间体 C,产率 70%,LC-MS (ESI) m/z: 437.34 [M+Na]⁺;该中间体 C 的 CAS: 2760715-83-9。

步骤 4 化合物 D 的合成

将 31.2 g 中间体 C 加入到 270 mL 氘代甲醇和 70 mL 重水中,冰浴下搅拌,随后加入 5.5 g NaOH,移至室温搅拌过夜。向反应液中加入 300 mL 乙酸乙酯和 300 mL 水萃取,水层加入 20 mL 冰醋酸调节 pH 至 2-3,有固体析出,抽滤得 20.3 g 化合物 D,收率 69.8%,¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.70 (1H, t, J = 6.6), 7.89 (2H, d, J = 7.5), 7.72 (2H, d, J = 7.5), 7.57 (1H, t, J = 6.0), 7.42 (2H, t, J = 7.5), 7.34 (2H, t, J = 7.5), 4.61 (2H, d, J = 6.6), 4.30 (2H, d, J = 7.1), 4.23 (1H, m), 3.64 (2H, d, J = 6.0); LC-MS (ESI) m/z: 409.08 [M+Na]⁺。

步骤 5 化合物 E 的合成

称取 2.0 g 依沙替康甲磺酸盐二水合物和 1.63 g 化合物 D,加入到 100 mL 圆底烧瓶中。加入 40 mL N,N-二甲基甲酰胺,搅拌。降温到 0°C。依次加入 2.0 g 2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯和 1.82 g N,N-二异丙基乙基胺,0°C 反应 3 h。将反应液倒入 120 mL 冰水中,搅拌 1 h。过滤,将滤饼用二氯甲烷溶解。采用硅胶柱进行层析(100-200 目硅胶 100 g, 二氯甲烷:甲醇 = 30:1, 2 L),得到 2.6 g 化合物 E。产率 92%,¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.78 (1H, t, J = 6.6), 8.47 (1H, d, J = 9.0), 7.86 (2H, d, J = 7.5), 7.73 (1H, d, J = 11.0), 7.68 (2H, d, J = 7.5), 7.53 (1H, t, J = 6.0), 7.39 (2H, t, J = 7.5), 7.30 (2H, m), 7.29 (1H, s), 6.50 (1H, brs), 5.56 (1H, m), 5.39 (2H, m), 5.14 (2H, m), 4.64 (2H, m), 4.25 (2H, d, J = 6.8), 4.19 (1H, m), 3.62 (2H, d, J = 6.0), 3.15 (2H, m), 2.35 (3H, s), 2.17 (2H, m), 1.83 (2H, m), 0.85 (3H, t, J = 7.3); LC-MS (ESI) m/z: 804.84 [M+H]⁺。

步骤 6 化合物 F 的制备

称取 0.38 g 1,8-二氮杂二环[5.4.0]十一碳-7-烯加入到 100 mL 圆底烧瓶中,再将 20 mL 四氢呋喃加入到圆底烧瓶中,搅拌。降温到 0°C。称取 2.0 g 化合物 E,用 20 mL 四氢呋喃配成溶液。将配好的化合物 E 的溶液缓慢加入到 100 mL 圆底烧瓶中,自然升温到室温,反应 3 h。氮气保护下过滤,得到 1.45 g 化合物 F。产率 98%,¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.76 (1H, m), 7.72 (1H, m), 7.28 (1H, s), 5.48 (3H, m), 5.16 (2H, m), 4.61 (2H, m), 3.40 (2H, m), 3.20 (2H, m), 2.35 (3H, s), 2.17 (2H, m), 1.83 (2H, m), 0.86 (3H, t, J = 7.1); LC-MS (ESI) m/z: 582.39 [M+H]⁺。

步骤 7 化合物 H 的制备

称取 1.00 g 化合物 F 和 0.97 g 化合物 G 加入到 100 mL 圆底烧瓶中,加入 10 mL N,N-二甲基甲酰胺。降温到 -20°C,加入 0.34 g 1-羟基苯并三唑与 0.49 g 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐, -20°C 下反应 3 h。向反应液中加入 20 mL 二氯甲烷与 20 mL 水搅拌 0.5 h,静置,分液,收集有机相。有机相用无水硫酸钠干燥,过滤。将滤液减压浓缩至干。采用硅胶柱层析(二氯甲烷:甲醇 = 15:1),得到 400 mg 化合物 H,收率约 22%,MS m/z: 1037.08 [M+H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 8.62 (1H, t, J=6.5), 8.49 (1H, d, J=8.5), 8.29 (1H, t, J=5.5), 8.12 (1H, d, J=8.0), 8.06 (1H, t, J=5.5), 8.00 (1H, t, J=5.5), 7.74 (1H, d, J=10.5), 7.30 (1H, s), 7.27~7.12 (5H, m), 6.98 (2H, s), 6.51 (1H, brs), 5.61~5.58 (1H, m), 5.45~5.37 (2H, m), 5.22~5.13 (2H, m), 4.64 (2H, d, J=6.5), 4.49~4.45 (1H, m), 3.76~3.57 (6H, m), 3.37~3.32 (2H, m), 3.24~3.09 (2H, m), 3.02 (1H, dd, J=4.5,14.0), 2.77 (1H, dd, J=9.5,13.5), 2.36 (3H, s), 2.23~2.14 (2H, m), 2.09 (2H, t, J=7.5), 1.91~1.79 (2H, m), 1.49~1.42 (4H, m), 1.20~1.14 (2H, m), 0.87 (3H, t, J=7.5); HR-MS m/z: 1036.4194 [M+H]⁺。

实施例 3 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的制备

试剂:

抗体: 实施例 1 制备的抗 CLDN18.2 抗体 hz28G3-1.1 和 hz28G3-1.3, 15F9 (内部制备,重链和轻链氨基酸序列如本公开 SEQ ID NOs: 67 和 68 所示);

Linker-payload (接头-有效载荷): 实施例 2 制备的化合物 H (MC-GGFG-DDDXd)。

实验流程:

1、抗体的还原: 将抗体置换到 pH 6.0 的组氨酸缓冲液 (L-组氨酸 1.43 mg/mL、盐酸 L-组氨酸一水合物 2.27 mg/mL) 中, 并用组氨酸缓冲液 (pH 6.0) 调整抗体浓度至 10 mg/mL; 将本溶液装入到避光玻璃瓶中, 向其中添加 10 mM TCEP (三(2-羧基乙基)膦盐酸盐) 溶液, 使抗体与 TCEP 物质的量之比为 1:8; 于 35°C 避光孵育 1 小时, 轻柔搅拌, 将抗体链间二硫键还原, 得到反应溶液 1。

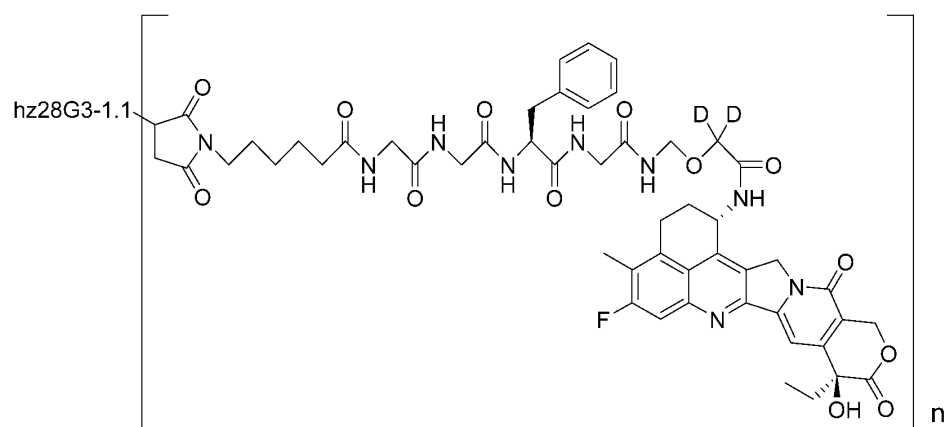
2、抗体与接头-有效载荷的偶联: 反应溶液 1 于 22°C 孵育 10 分钟后, 加入 DMSO 溶液 (DMSO 溶液: 反应溶液 1 (v/v) = 1:20), 混匀; 加入用 DMSO 溶解的、浓度为 10 mg/mL 的 Linker-payload 溶液, 使抗体与 Linker-payload 的物质的量之比为 1:10; 于 22°C 避光孵育 2 小时, 轻柔搅拌, 将抗体与接头-有效载荷连接, 得到反应溶液 2。

3、偶联终止及纯化: 用 pH 6.0 组氨酸缓冲液对反应溶液 2 进行超滤, 得到抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物 hz28G3-1.1-DDDXd、hz28G3-1.3-DDDXd 和 15F9-DDDXd。

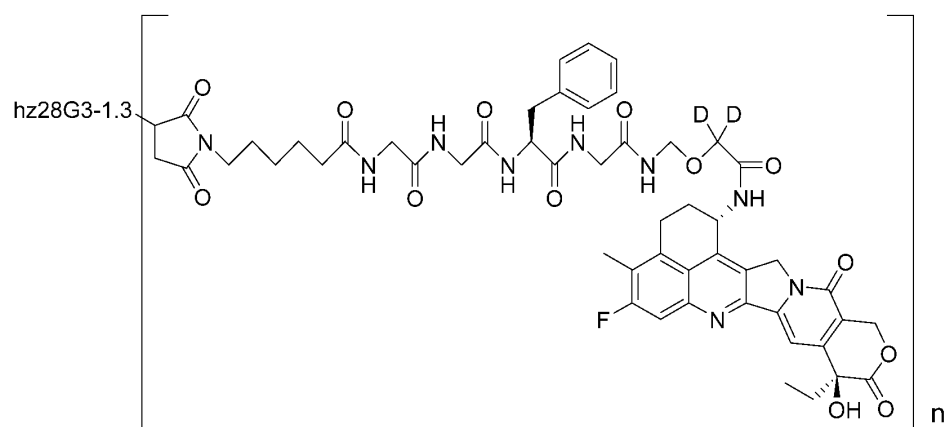
实施例 4 抗体药物偶联物的 DAR 值测定

采用 LC-MS 方法测定 DAR 值。取适量实施例 3 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物, 加入适量糖苷酶 PNGase F (瑞安生物, 中国), 在 37°C 过夜反应。使用高分辨质谱仪 Xevo G2-XS (Waters, 美国) 进行质谱分析, 使用 Native、正离子模式采集数据。采用软件 UNIFI 1.8.2.169 (Waters, 美国) 进行数据处理。

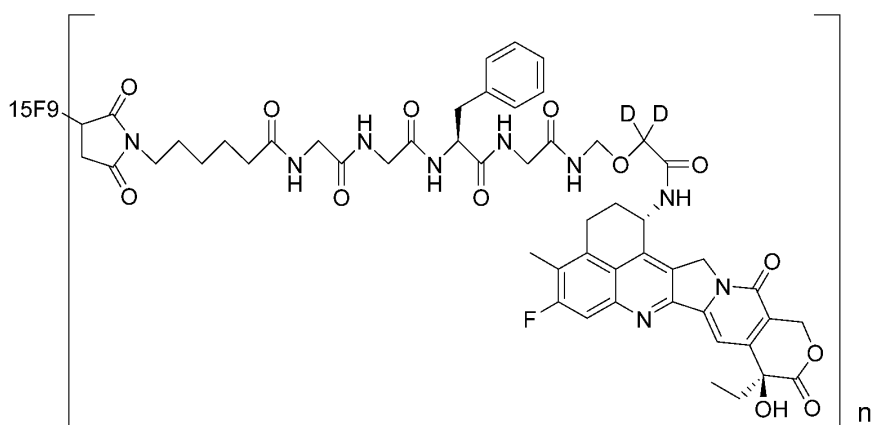
通过实施例 3 方法制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物, 包括:



hz28G3-1.1-DDDXd, 其测得的 DAR 值为 7.2;



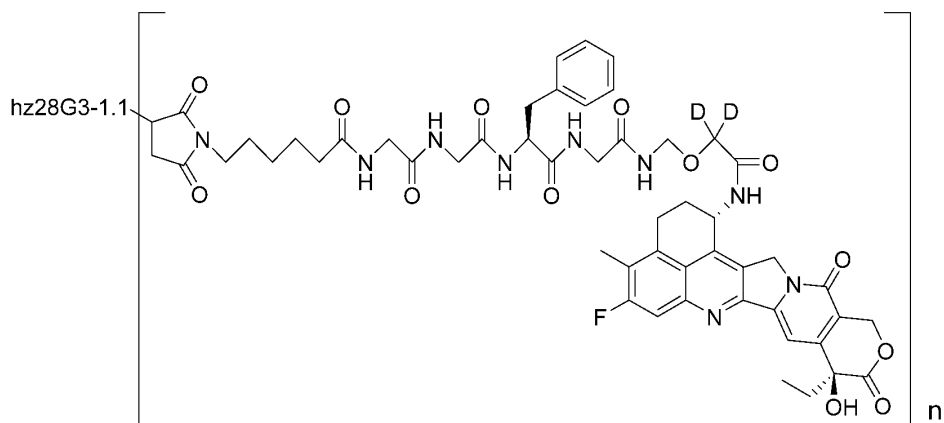
hz28G3-1.3-DDDXd, 其测得的 DAR 值为 7.4;



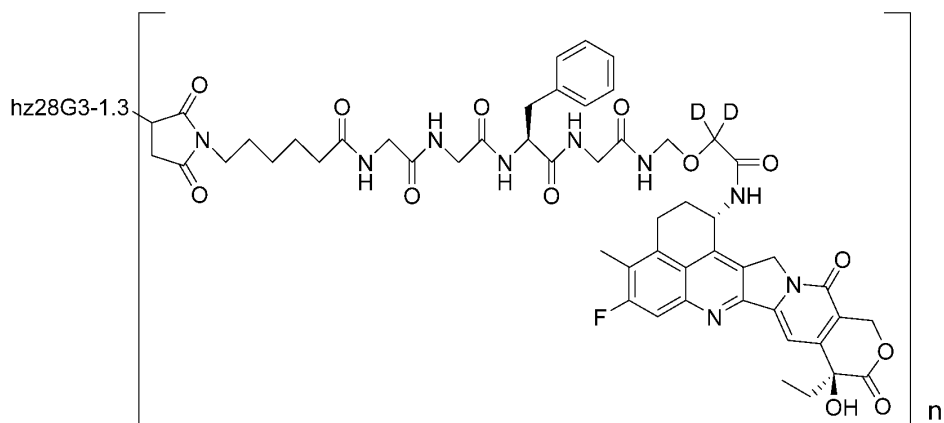
15F9-DDDXd, 其测得的 DAR 值为 7.7。

实施例 5 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的制备及 DAR 值测定

参考实施例 3 方法制备并参考实施例 4 方法进行 DAR 值测定, 得到如下的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物:



hz28G3-1.1-DDDXd, 其测得的 DAR 值为 7.4;



hz28G3-1.3-DDDXd, 其测得的 DAR 值为 7.6。

实施例 6 抗体药物偶联物的聚集体验证

采用凝胶色谱柱对实施例 3 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物各组分进行分离。利用添加 10% 异丙醇的中性 pH 缓冲液作为流动相进行洗脱, 各组分按照分子量由大到小的顺序依次被洗出。色谱柱为 ACQUITY UPLC Protein BEH SEC Column 200Å、1.7 μm、4.6 × 300 mm 规格的凝胶色谱柱, 柱温 25°C。

流动相为 50 mM 磷酸盐缓冲液-200 mM 氯化钠-10%异丙醇, pH 7.0 (称取十二水合磷酸氢二钠 12.53 g、二水合磷酸二氢钠 2.33 g、氯化钠 11.69 g, 加入约 800 mL 超纯水, 搅拌至充分溶解, 加入异丙醇 100 mL, 并加超纯水至 1000 mL, 混匀后经 0.22 μm 滤膜过滤)。精密取 20 μg 抗 CLDN18.2 抗体偶联物注入液相色谱仪, 在 280 nm 波长处检测。流速为 0.3 mL/min, 等度洗脱 15 min。

数据处理, 采用面积归一化法对结果进行定量分析。分别计算抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的聚集体、单体和低分子量杂质的峰面积百分比, 其中主峰前为聚集体, 主峰为单体, 主峰后为低分子量杂质。抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的单体、聚集体及低分子量杂质含量比例见表 1。

表 1 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的单体、聚集体及低分子量杂质含量

名称	hz28G3-1.1-DDDXd	hz28G3-1.3-DDDXd	15F9-DDDXd
聚集体	0.80%	0.54%	1.62%
单体	99.10%	99.36%	98.11%
低分子量杂质	0.10%	0.10%	0.27%

实施例 7 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的细胞结合活性

采用流式细胞术, 以 hz28G3-1.1 和 hz28G3-1.3 为对照, 对实施例 5 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的细胞结合活性进行检测。将 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3、BxPC-3 和 NCI-N87 细胞系稀释至 1×10^6 个/mL, 以 100 μL/孔加入 96 孔板中, 并加入 FACS buffer (Miltenyi Biotec, 目录号 130-091-221) 梯度稀释的抗 CLDN 18.2 抗体药物偶联物 (针对 BxPC-3 细胞, 以其在孔中的终浓度为 300 nM 的量作为梯度稀释的起始浓度, 4 倍梯度稀释, 共 10 个浓度; 针对 NIH-3T3 和 BxPC-3, 以其在孔中的终浓度为 333.33 nM 的量作为梯度稀释的起始浓度, 4 倍梯度稀释, 共 10 个浓度), 于 4℃孵育 60 分钟后, 1000 rpm 离心 5 min, 弃上清, 用预冷 PBS (pH 7.4) 洗涤 3 次, 加入按照 1:200 (v/v) 稀释的 goat-anti-human IgG Fcy-PE 二抗 (Jackson immunoresearch, 目录号 109-116-170), 100 μL/孔, 4℃孵育 30 分钟。用预冷 PBS (pH 7.4) 洗涤 3 次, 用 100 μL PBS (pH 7.4) 重悬, 然后使用流式细胞仪 (Sartorius, iQUE) 分析检测荧光信号。通过染色的平均荧光强度 (MFI) 来表示抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物与细胞表面 CLDN18.2 的结合活性。使用 GraphPad Prism 5 进行数据分析, 结果如图 1A-1C 所示, 计算的 EC₅₀ 在下表 2 中示出。结果表明, hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd 与 CLDN18.2 过表达的细胞均能有效结合。

表 2 抗体或抗体药物偶联物与 CLDN18.2 过表达细胞的结合活性

	EC ₅₀ (nM)		
	NIH-3T3	BxPC-3	NCI-N87
hz28G3-1.1-DDDXd	0.8959	1.129	1.166
hz28G3-1.3-DDDXd	0.5928	0.9462	1.020
hz28G3-1.1	2.273	2.631	2.614
hz28G3-1.3	1.756	3.425	2.731

实施例 8 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的内吞实验

采用流式细胞术, 以 hz28G3-1.1 和 hz28G3-1.3 为对照, 对实施例 5 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物在 CLDN18.2 过表达的细胞中的内吞情况进行检测。将 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3、BxPC-3 和 NCI-N87 细胞系以及 CLDN18.2 阳性的天然细胞系 NUGC-4 的细胞浓度调至 2×10^6 个/mL, 以 20 μL/孔加入 96 孔板; 将标记抗体 (Sartorius, 90564) 与 FACS buffer (Miltenyi Biotec, 货号: 130-091-221) 梯度稀释的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物 (标记抗体与 ADC 的体积比为 1:1) 于 37℃共孵育 15 min 后, 将该共孵育体系以 20 μL/孔加入 96 孔板, 其中抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物以其在孔中的终浓度为 20 nM 的量作为梯度稀释的起始浓度, 3 倍梯度稀释, 共 8 个浓度。孵育 2 h 后置于流式细胞仪 (Sartorius, iQUE), 测定 RL1 通道的荧光读值。使用 GraphPad Prism 5 进行数据分析, 结果如图 2A-2D 所示, 计算的 EC₅₀ 在下表 3 中示出。结果表明, hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd 在 CLDN18.2 过表达的细胞中能够有效发挥内吞作用。

表 3 抗体或抗体药物偶联物在 CLDN18.2 过表达细胞中的内吞作用

	EC ₅₀ (nM)	
	NIH-3T3	NCI-N87
hz28G3-1.1-DDDXd	3.685	4.409

hz28G3-1.3-DDDXd	1.846	3.241
hz28G3-1.1	2.570	7.842
hz28G3-1.3	4.262	6.681

实施例 9 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对肿瘤细胞的杀伤

为检测实施例 5 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对 CLDN18.2 阳性肿瘤细胞的杀伤，分别用 CLDN18.2 过表达的 NIH-3T3、BxPC-3 和 NCI-N87 细胞进行了杀伤活性检测。

取对数生长期的细胞，调整 NIH-3T3、BxPC-3 和 NCI-N87 细胞的细胞密度分别至 1×10^4 个/mL、 2×10^4 /mL 和 2×10^4 /mL，以 100 μ L/孔加入 96 孔板，于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 贴壁过夜培养。抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物用含 10% FBS 的 DMEM 培养基配制，针对 NIH-3T3 细胞，以 3 μ g/mL 为起始浓度，3 倍梯度稀释、共 9 个浓度；针对 BxPC-3 和 NCI-N87 细胞，以 5 μ g/mL 为起始浓度，5 倍梯度稀释、共 9 个浓度。取出过夜贴壁培养的细胞，实验组加入 50 μ L/孔稀释好的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物，对照组加入 50 μ L/孔含 10% FBS 的 DMEM 培养基，继续培养 96 h 或 120 h 后用 CellTiter-Glo Luminescent Cell 试剂盒(Promega, 货号: G7572) 检测，具体为：取出 96 孔板，在每孔中加入 75 μ L CTG 检测液 (Promega, 货号: G7572)，震荡混匀，室温避光孵育 10 min 后每孔各吸取 180 μ L 转移至不透明白板，去除气泡，读取化学发光值，并计算细胞的存活率。

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{实验组发光值}}{\text{对照组发光值}} \times 100\%$$

使用 Graphpad Prism 5 进行数据分析，结果如图 3A-3C 所示，计算的 IC₅₀在下表 4 中示出。结果表明，hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd 对 CLDN18.2 过表达的肿瘤细胞均能有效发挥杀伤活性。

表 4 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对 CLDN18.2 阳性肿瘤细胞的杀伤活性

	IC ₅₀ (nM)		
	NIH-3T3	BxPC-3	NCI-N87
hz28G3-1.1-DDDXd	0.4395	0.1246	0.03811
hz28G3-1.3-DDDXd	0.2812	0.08861	0.03367

实施例 10 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的 CDC 活性

选择 NIH-3T3 作为靶细胞，利用人补体 (quidel corporation, 目录号 A112)，检测实施例 5 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的 CDC 活性。

使用含 0.1% BSA 的细胞基础培养基将靶细胞 NIH-3T3 的细胞密度调整为 8×10^5 个/mL，以 50 μ L/孔接种到 96 孔板。将梯度稀释的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物以 50 μ L/孔接种到 96 孔板，其中抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物以其在孔中的终浓度为 100 nM 的量作为梯度稀释的起始浓度，4 倍梯度稀释，共 8 个浓度。用含 0.1% BSA 的细胞基础培养基稀释人补体，以 50 μ L/孔加入到 96 孔板，使人补体终浓度为 10%。200 g 离心 1 min，然后将 96 孔板在 37 $^{\circ}$ C 震板机上震荡孵育 30 min，使补体和靶细胞充分混匀接触。最后放入 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱孵育 2 小时。孵育结束后，每孔加入 110 μ L CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega, G7570)，避光室温孵育 10 $\pm$ 5 min，使用酶标仪 (Thermo) 测定荧光值，并计算杀伤率。使用 GraphPad Prism 5 进行数据分析，结果如图 4 所示，计算的 IC₅₀在下表 5 中示出。结果表明，hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd 对 CLDN18.2 阳性肿瘤细胞均能诱导较强的 CDC 效应。

$$\text{杀伤率}(\%) = 1 - \frac{\text{实验组荧光值} - \text{空白对照组荧光值}}{\text{靶细胞对照组荧光值} - \text{空白对照组荧光值}} \times 100\%$$

表 5 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对 NIH-3T3 细胞的 CDC 活性

	IC ₅₀ (nM)
hz28G3-1.1-DDDXd	~0.3517
hz28G3-1.3-DDDXd	~0.3524

实施例 11 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的非特异性杀伤

检测实施例 5 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对 CLDN18.2 阴性细胞的非特异性杀伤作用，使用 CLDN18.1 过表达的 NIH-3T3 进行了杀伤活性检测。

将编码人 CLDN18.1 (SEQ ID NO: 66) 的 cDNA 通过基因合成获得, 然后亚克隆到表达载体 pcDNA3.1 中。按照 Lipofectamine 2000 转染试剂 (Thermo, 目录号 11668019) 的说明书, 将表达载体转染到 NIH-3T3 细胞中, 获得 CLDN18.1 过表达的 NIH-3T3-CLDN18.1。

取对数生长期的 NIH-3T3-CLDN18.1 细胞, 调整细胞密度分别为 1×10^4 个/mL, 以 100 μ L/孔加入 96 孔板, 放置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中贴壁过夜培养。抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物用含 10% FBS 的 DMEM 培养基配制。取出过夜贴壁培养的细胞, 实验组加入 50 μ L/孔稀释好的抗 CLDN18.2 抗体-药物偶联物, 以其在孔中的终浓度为 20 nM 的量作为梯度稀释的起始浓度、3 倍梯度稀释、共 9 个浓度; 对照组加入 50 μ L/孔含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 继续培养 96 h 后用 CellTiter-Glo Luminescent Cell 试剂盒 (Promega, 货号: G7572) 检测, 具体为: 取出 96 孔板, 在每孔中加入 75 μ L CTG 检测液 (Promega, 货号: G7572), 震荡混匀, 室温避光孵育 10 min 后每孔各吸取 180 μ L 转移至不透明白板, 去除气泡, 读取化学发光值, 并计算细胞的存活率。

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{实验组发光值}}{\text{对照组发光值}} \times 100\%$$

使用 Graphpad Prism 5 进行数据分析, 结果如图 5 所示。结果表明, hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd 对 NIH-3T3-CLDN18.1 细胞无杀伤活性。

实施例 12 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的旁观者效应

选择 CLDN18.2 过表达的 BxPC-3 作为阳性细胞, 稳定表达荧光素酶的 U2OS (U2OS-Luciferase) 作为阴性细胞, 混合培养检测实施例 5 制备的抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的旁观者效应。

取对数生长期的阳性细胞和阴性细胞, 细胞密度均调至 4×10^4 个/mL, 分别以 50 μ L/孔加入 96 孔板。用含 10% FBS 的 McCoy's 5A 完全培养基 (GIBCO, 目录号 16600-082) 梯度稀释抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物, 并以 50 μ L/孔加入 96 孔板, 其中抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的起始浓度为 33.3 nM, 5 倍梯度稀释, 共 8 个浓度。将 96 孔板放入 37°C、5% CO₂ 培养箱培养 120 h。孵育结束后每孔加入 20 μ L IL-31 因子 (R&D Systems, 目录号 2824-IL-010/CF) 刺激 (终浓度 10 ng/mL), 于 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱孵育 4-6 h。孵育结束后, 每孔加入 120 μ L 的 Luciferase Assay Substrate (Vazyme, 目录号 DD1201-02), 使用酶标仪检测化学发光数值, 并计算 U2OS-Luciferase 细胞的存活率。

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{实验组发光值}}{\text{对照组发光值}} \times 100\%$$

使用 GraphPad Prism 5 进行数据分析, 结果如图 6 所示。结果表明, hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd 均具有明显的旁观者效应, 在阳性细胞存在的情况下, 对阴性细胞的杀伤活性相当。

实施例 13 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物在大鼠体内的药代动力学评价

将 SD 大鼠 (160-180 g) (来源: 上海市计划生育科学研究所实验动物经营部) 随机分组, 分成 3 组, 每组 4 只, 按 10 mg/kg 的剂量分别静脉注射实施例 3 制备的 15F9-DDDXd、hz28G3-1.1-DDDXd 和 hz28G3-1.3-DDDXd; 给药前和给药后, SD 大鼠均不禁食, 均自由饮水。

分别于给药后 30 min、2 h (± 1 min)、8 h (± 1 min)、24 h (± 5 min)、48 h (± 5 min)、4 d (± 10 min)、7 d (± 10 min)、10 d (± 10 min)、14 d (± 20 min)、21 d (± 20 min)、或 28 d (± 20 min) 于颈静脉采血约 0.2 mL, 用 EDTA-K2 抗凝, 4°C、4000 rpm、10 min 条件下离心分离血浆。

吸取适量体积上述分离的血浆, 用样品稀释液 (含 1% BSA 的 PBST) 进行最小稀释倍数 (20 倍) 稀释, 对于需要高稀释的样品再用含 5% 空白大鼠血浆的样品稀释液进行进一步稀释, 涡旋振荡至混合均匀, 得到待测样品。检测方法的定量范围为: 19.53125 ng/mL-2500 ng/mL。用 PBS 缓冲液 (pH 7.4) 稀释 AffiniPure Goat Anti-Human IgG, F(ab')₂ fragment specific (Jackson ImmunoResearch, 109-005-097) 至浓度为 1 μ g/mL, 并按 100 μ L/孔包被于 96 孔板, 4°C 孵育过夜。用 PBST (含 0.5% Tween-20 的 PBS) 洗涤 96 孔板, 然后加入 200 μ L/孔的封闭液 (含 1% BSA 的 PBST), 于室温封闭 2-3 小时。弃去封闭液, 加入 100 μ L/孔的稀释好的标准曲线样品、质控样品及上述待测样品, 于室温孵育 2 小时。PBST 洗涤 96 孔板后, 加入按体积比 1:10000 稀释的 Goat anti-Human Kappa Light Chain Cross-Adsorbed Secondary Antibody, HRP

(ThermoFisher, A18859), 室温孵育 1 小时。PBST 洗涤 96 孔板后, 加入 100 μ L/孔的 TMB 溶液 (Tiangen, 目录号 PA107-01), 室温避光孵育 14 分钟, 并用 1 M H₂SO₄ 终止反应。使用 Tecan Spark 酶标仪在 450 nm/630 nm 波长处读取光度值, 曲线拟合采用 4 parameter logistic fit。

通过大鼠体内药物动力学评估抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的静脉注射暴露量, 并计算每组 SD 大鼠体内总抗 (包括偶联和未偶联细胞毒药物的抗体) 的平均药代动力学参数, 包括药峰浓度 (C_{max})、达峰时间 (T_{max})、药时曲线下面积 (AUC_(0-t))、消除半衰期 (t_{1/2})、平均驻留时间 (MRT_(0-t)) 和清除率 (CL), 如下表 6 所示。

对于大鼠体内暴露量、平均滞留时间和清除率, hz28G3-1.1-DDDXd 与 hz28G3-1.3-DDDXd 与参照品 15F9-DDDXd 相当; hz28G3-1.3-DDDXd 的半衰期则优于 hz28G3-1.1-DDDXd。

表 6 总抗药代动力学参数 (Mean±SD)

药物 药代参数	15F9-DDDXd	hz28G3-1.3-DDDXd	hz28G3-1.1-DDDXd
T _{max} (d)	0.0364±0	0.0208±0	0.0208±0
C _{max} (μg/mL)	184±18.9	190±8.13	193±6.67
AUC _(0-21d) (d × μg/mL)	621±50.7	578±14.0	573±9.4
t _{1/2} (d)	7.3±2.86	7.8±0.578	6.8±1.49
MRT _(0-21d) (d)	5.9±0.482	5.6±0.0529	5.7±0.258
CL (mL/d/kg)	14.4±2.35	15.4±0.378	15.8±0.879

实施例 14 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物在 NUGC-4 人胃癌 CB-17 SCID 小鼠异种移植瘤模型中的药效学评价

在 SPF 级雌性 CB-17 SCID 小鼠 (来源: 上海灵畅生物科技有限公司) 右侧腋窝皮下接种 NUGC-4 人胃癌细胞, 5 × 10⁶ 个/只。待肿瘤平均体积达 150 mm³ 左右时, 将动物分成 3 组, 每组 6 只, 具体分组和给药剂量在表 7 中所示, 其中 hz28G3-1.3-DDDXd 和 15F9-DDDXd 均为实施例 3 所制备, 并经实施例 4 的 DAR 值测定, hz28G3-1.3-DDDXd 的 DAR 值为 7.4, 15F9-DDDXd 的 DAR 值为 7.7。

表 7 分组和给药剂量

组别	药物	剂量 (mg/kg)
1	溶媒对照	N/A
2	hz28G3-1.3-DDDXd	10
3	15F9-DDDXd	10

分组当天为第 0 天, 分组第 2 天尾静脉给药一次。每周测 2-3 次瘤体积, 同时称小鼠体重, 记录数据; 每日观察与记录小鼠一般表现。实验结束后剥取肿瘤并称重、拍照。

检测指标及计算公式如下:

肿瘤体积, TV (mm³) = 1/2 × (a × b²); 其中, a 为肿瘤长径, b 为肿瘤短径。

相对肿瘤体积, RTV = TV_t/TV₀; 其中, TV₀ 为第 0 天肿瘤体积, TV_t 为每一次测量时的肿瘤体积。

相对肿瘤增殖率, T/C (%) = T_{RTV}/C_{RTV} × 100%; 其中, T_{RTV} 为治疗组 RTV, C_{RTV} 为溶媒对照组 RTV。

肿瘤生长抑制率, TGI (%) = (1 - TW/TW₀) × 100%; 其中, TW 为治疗组瘤重, TW₀ 为溶媒对照组瘤重。

体重变化率, WCR (%) = (W_t-W₀)/ W₀ × 100%; 其中, W₀ 为第 0 天小鼠体重, W_t 为每一次测量时的小鼠体重。

第 33 天时各检测指标结果如下表 8 所示, hz28G3-1.3-DDDXd 无明显毒性, 对小鼠 NUGC-4 人胃癌异种移植瘤具有抑制活性, 与参照品 15F9-DDDXd 相当。

表 8 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对 NUGC-4 人胃癌小鼠皮下移植瘤模型中各指标的影响

组别	TV (mm ³) (mean±SD)	RTV (mean±SD)	T/C (%)	TGI (%)	体重变化率 (%) (mean±SD)
溶媒对照	1740±522	10.1±2.3	N/A	N/A	9.1±3.0
hz28G3-1.3-DDDXd (10 mg/kg)	260±131	1.5±0.6**	14.7%	86.7%	11.1±2.7

15F9-DDDXd (10 mg/kg)	293±84	1.7±0.4**	16.8%	82.1%	10.6±4.8
--------------------------	--------	-----------	-------	-------	----------

注：与溶媒对照组比较，**p<0.01

实施例 15 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物在 BxPC-3 人胰腺癌 CD-17 SCID 小鼠异种移植瘤模型中的药效学评价

在 SPF 级雌性 CB-17 SCID 小鼠（来源：上海斯莱克实验动物有限责任公司）右侧腋窝皮下插块接种 CLDN18.2 高表达的 BxPC-3 人胰腺癌瘤块。待肿瘤平均体积达 200 mm³ 左右时，将动物分成 3 组，每组 4 只，具体分组和给药剂量在表 9 中所示，其中 hz28G3-1.3-DDDXd 和 15F9-DDDXd 均为实施例 3 所制备，并经实施例 4 的 DAR 值测定，hz28G3-1.3-DDDXd 的 DAR 值为 7.4，15F9-DDDXd 的 DAR 值为 7.7。

表 9 分组和给药剂量

组别	剂量 (mg/kg)
溶媒对照	N/A
hz28G3-1.3-DDDXd	5
15F9-DDDXd	5

分组当天为第 0 天，分组当天尾静脉给药一次。每周测 2-3 次瘤体积，同时称小鼠体重，记录数据；每日观察与记录小鼠一般表现。实验结束后剥取肿瘤并称重、拍照。

检测指标及计算公式如下：

肿瘤体积，TV (mm³) = 1/2 × (a × b²)；其中，a 为肿瘤长径，b 为肿瘤短径。

相对肿瘤体积，RTV = TV_t/TV₀；其中，TV₀ 为第 0 天肿瘤体积，TV_t 为每一次测量时的肿瘤体积。

相对肿瘤增殖率，T/C (%) = RTV_t/C_{RTV} × 100%；其中，T_{RTV} 为治疗组 RTV，C_{RTV} 为溶媒对照组 RTV。

肿瘤生长抑制率，TGI (%) = (1 - TW/TW₀) × 100%；其中，TW 为治疗组瘤重，TW₀ 为溶媒对照组瘤重。

体重变化率，WCR (%) = (W_t-W₀)/ W₀ × 100%；其中，W₀ 为第 0 天动物体重，W_t 为每一次测量时的动物体重。

第 21 天时各指标检测结果如下表 10 所示，hz28G3-1.3-DDDXd 无明显毒性，对 CLDN18.2 高表达的 BxPC-3 人胰腺癌 CB-17 SCID 小鼠异种移植瘤有明显抑制作用，优于参照品 15F9-DDDXd。

表 10 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物对 BxPC-3 人胰腺癌小鼠皮下移植瘤模型中各指标的影响

组别	TV (mm ³) (mean±SD)	RTV (mean±SD)	T/C (%)	TGI (%)	体重变化率 (%) (mean±SD)
溶媒对照	1779±457	7.9±1.8	N/A	N/A	3.6±3.5
hz28G3-1.3-DDDXd	694±572	2.7±1.1**	33.8%	69.7%	4.8±5.2
15F9-DDDXd	847±602	3.4±1.0**	43.4%	57.2%	6.1±1.7

注：与溶媒对照组比较，**p<0.01

实施例 16 抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物的制备

试剂：

抗体：实施例 1 制备的抗 CLDN18.2 抗体 hz28G3-1.3；

Linker-payload（接头-有效载荷）：实施例 2 制备的化合物 H（MC-GGFG-DDDXd）。

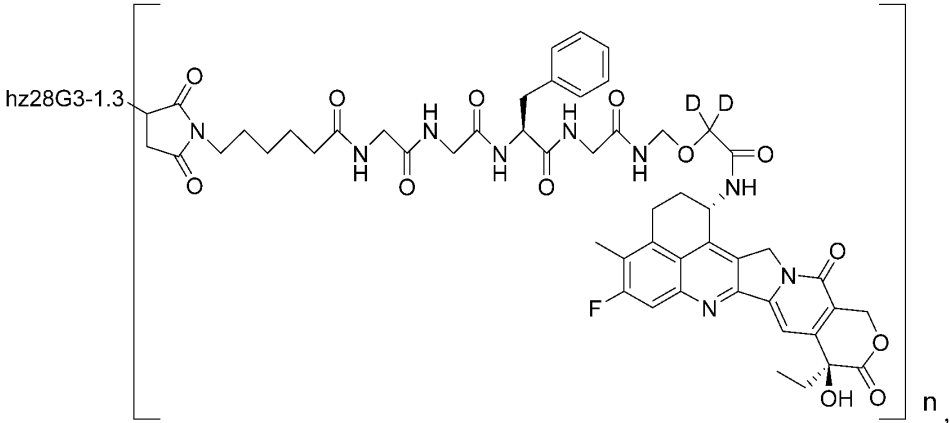
实验流程：

1、抗体的还原：将抗体置换到 pH 6.0 的组氨酸缓冲液（L-组氨酸 1.43 mg/mL、盐酸 L-组氨酸一水合物 2.27 mg/mL）中，并用组氨酸缓冲液（pH 6.0）调整抗体浓度至 10 mg/mL，调节 pH 至 6.3，加入乙二胺四乙酸二钠盐（EDTA·Na₂）母液，使其终浓度为 5 mM；将本溶液装入到避光玻璃瓶中，待溶液温度升高至 30℃时，向其中添加 10 mM TCEP 溶液，使抗体与 TCEP 物质的量之比为 1:8；于 30℃避光孵育 100 分钟，搅拌，将抗体链间二硫键还原，得到反应溶液 1。

2、抗体与接头-有效载荷的偶联：反应溶液 1 温度降低至 22℃后，加入 DMSO 溶液（DMSO 溶液:反应溶液 1 (v/v) =1:20），混匀；加入用 DMSO 溶解的、浓度为 10 mg/mL 的 Linker-payload 溶液，使抗体与 Linker-payload 的物质的量之比为 1:9.5；于 22℃避光孵育 2 小时，轻柔搅拌，将抗体与接头-有效载荷连接，得到反应溶液 2。

3、偶联终止及纯化：用 pH 6.0 组氨酸缓冲液对反应溶液 2 进行超滤，得到抗 CLDN18.2 抗体药物偶联物 hz28G3-1.3-DDDXd。

制备的 hz28G3-1.3-DDDXd 的结构为：



其测得的 DAR 值为 7.93，其中，D8 占比为 97.04%，D0 至 D7 占比为 2.96%；所述比例基于摩尔量。

本公开的序列信息总结于下表 S2 中。

表 S2 序列信息

描述
序列/SEQ ID NO:
嵌合和人源化抗体的重链恒定区 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K (SEQ ID NO: 1)
嵌合和人源化抗体的轻链恒定区 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 2)
小鼠、嵌合和人源化 28G3 的 HCDR1 DYLML (SEQ ID NO: 3)
小鼠和嵌合 28G3 的 HCDR2 NINPYYGRTTYNLKFKG (SEQ ID NO: 4)
hz28G3-1.1、hz28G3-1.3、hz28G3-2.1 和 hz28G3-2.3 的 HCDR2 NINPYYGRTTYALKFKG (SEQ ID NO: 5)
hz28G3-1.2、hz28G3-1.4、hz28G3-2.2 和 hz28G3-2.4 的 HCDR2 NINPYYGRTYYALKFQG (SEQ ID NO: 6)
小鼠、嵌合和人源化 28G3 的 HCDR3 DGYSLRNAMDY (SEQ ID NO: 7)
小鼠、嵌合和人源化 28G3 的 LCDR1 KSSQSLFNSGNQKNYLA (SEQ ID NO: 8)
小鼠、嵌合和人源化 28G3 的 LCDR2 GASTRES (SEQ ID NO: 9)
小鼠、嵌合和人源化 28G3 的 LCDR3 QNAHSYPYT (SEQ ID NO: 10)
小鼠和嵌合 28G3 的 VH: EIQLQQTGPELVKPGASVTISCKTSGYSFTDYLMLWVKQSHGKSLEWIGNINPYYGRTTYNLKFKG KATLTVDRSSSTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 11)

hz28G3-1.1 和 hz28G3-2.1 的 VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGYSFTDYLMWLWVRQAPQGQLEWMGNINPYYGRTTYALK FKGRVTMTVDRSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 12)
hz28G3-1.2 和 hz28G3-2.2 的 VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYLMWLWVRQAPQGQLEWMGNINPYYGRTTYALK FQGRVTMTVDRSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 13)
hz28G3-1.3 和 hz28G3-2.3 的 VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGYSFTDYLMWLWVRQAHGQSLEWMGNINPYYGRTTYALK FKGRVTMTVDRSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 14)
hz28G3-1.4 和 hz28G3-2.4 的 VH: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYLMWLWVRQAHGQSLEWMGNINPYYGRTTYALK FQGRVTMTVDRSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO: 15)
小鼠和嵌合 28G3 的 VL: DIVMTQSPYSLSVSTGEKVTMSCKSSQSLFNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVPD RFTGSGSGTDFLTITSSVQAEDLALYYCQNAHSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 16)
hz28G3-1.1、hz28G3-1.2、hz28G3-1.3 和 hz28G3-1.4 的 VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVPDR FSGSGSGTDFLTITSSLQAEDVAVYYCQNAHSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 17)
hz28G3-2.1、hz28G3-2.2、hz28G3-2.3 和 hz28G3-2.4 的 VL: DIVMTQSPYSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVPDR FTGSGSGTDFLTITSSLQAEDVAVYYCQNAHSYPYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 18)
小鼠、嵌合和人源化 40F6 的 HCDR1 SYGVY (SEQ ID NO: 19)
小鼠和嵌合 40F6、hz40F6-1.2 和 hz40F6-2.2 的 HCDR2 VWAGGNTNYNSALMS (SEQ ID NO: 20)
hz40F6-1.1 和 hz40F6-2.1 的 HCDR2 VWAGGNTNYADSVKG (SEQ ID NO: 21)
hz40F6-1.3 和 hz40F6-2.3 的 HCDR2 VWAGGNTNYADALKG (SEQ ID NO: 22)
hz40F6-1.4 和 hz40F6-2.4 的 HCDR2 VWAGGNTNYNSALKG (SEQ ID NO: 23)
小鼠、嵌合和人源化 40F6 的 HCDR3 DRGRLLAMDY (SEQ ID NO: 24)
小鼠、嵌合和人源化 40F6 的 LCDR1 KSSQSLNLSGNQKNYLA (SEQ ID NO: 25)
小鼠、嵌合和人源化 40F6 的 LCDR2 GASTRES (SEQ ID NO: 26)
小鼠和嵌合 40F6、hz40F6-1.1、hz40F6-1.2、hz40F6-1.3 和 hz40F6-1.4 的 LCDR3 QNDHFFPFT (SEQ ID NO: 27)
hz40F6-2.1、hz40F6-2.2、hz40F6-2.3 和 hz40F6-2.4 的 LCDR3 QNDYFFPFT (SEQ ID NO: 28)
小鼠和嵌合 40F6 的 VH: QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSYGVYWVRQSPGKGLEWLG VVWAGGNTNYNSALMS RLSISKDNSKSVFLKMNSLQTDDTAMYYCARDGRLLAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 29)
hz40F6-1.1 和 hz40F6-2.1 的 VH: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLT SYGVYWVRQAPGKGLEWVAVVWAGGNTNYADSV KGRFTISKDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGRLLAMDYWGQGTLLTVTVSS (SEQ ID NO: 30)
hz40F6-1.2 和 hz40F6-2.2 的 VH:

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLTSYGVYWVRQAPGKGLEWVAVVWAGGNTNYNSAL MSRFTISKDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGRLLAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 31)
hz40F6-1.3 和 hz40F6-2.3 的 VH: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTLTSYGVYWVRQAPGKGLEWVAVVWAGGNTNYADA LKGRFTISKDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGRLLAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 32)
hz40F6-1.4 和 hz40F6-2.4 的 VH: QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTVSGFTLTSYGVYWVRQAPGKGLEWVAVVWAGGNTNYNSAL KGRFTISKDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGRLLAMDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 33)
小鼠和嵌合 40F6 的 VL: DVVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPLLIYGASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDHFFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 34)
hz40F6-1.1、hz40F6-1.2、hz40F6-1.3 和 hz40F6-1.4 的 VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPLLIYGASTRESGVPD RFTGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDHFFPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 35)
hz40F6-2.1、hz40F6-2.2、hz40F6-2.3 和 hz40F6-2.4 的 VL: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPLLIYGASTRESGVPD RFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYFFPFTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 36)
小鼠和嵌合 34G6 的 HCDR1 SYGVH (SEQ ID NO: 37)
小鼠和嵌合 34G6 的 HCDR2 VIWSDGSTTYNSALKS (SEQ ID NO: 38)
小鼠和嵌合 34G6 的 HCDR3 HAYYGNSFDY (SEQ ID NO: 39)
小鼠和嵌合 34G6 的 LCDR1 KSSQSLLNSGNQKSYLT (SEQ ID NO: 40)
小鼠和嵌合 34G6 的 LCDR2 WASTRES (SEQ ID NO: 41)
小鼠和嵌合 34G6 的 LCDR3 QNVYIFPLT (SEQ ID NO: 42)
小鼠和嵌合 34G6 的 VH: QVQLKESGPDLVAPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLVVIWSDGSTTYNSALKSR LSISKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAIYYCARHAYYGNSFDYWGQGTTTLTVSS (SEQ ID NO: 43)
小鼠和嵌合 34G6 的 VL: DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKSYLTWYQQKPGQPPLLIYWASTRESGVPD RFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNVYIFPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 44)
小鼠和嵌合 10D8 的 HCDR1 NYGMN (SEQ ID NO: 45)
小鼠和嵌合 10D8 的 HCDR2 WININTGEPYAEFEKG (SEQ ID NO: 46)
小鼠和嵌合 10D8 的 HCDR3 YGYGNSFPY (SEQ ID NO: 47)
小鼠和嵌合 10D8 的 LCDR1 KSSQSLLNSGNQRNYLT (SEQ ID NO: 48)
小鼠和嵌合 10D8 的 LCDR2 WASTRES (SEQ ID NO: 49)
小鼠和嵌合 10D8 的 LCDR3 QNDYSYPLT (SEQ ID NO: 50)
小鼠和嵌合 10D8 的 VH: QIQLAQSGPELKKPGETVKVSKASGYTFKNYGMNWVKQAPGKGLKWMGININTGEPYAEFE KGRIAFSLETSASTAYLLINLNKEDTATYFCARYGYGNSFPYWGQGLTVTVSA (SEQ ID NO: 51)

小鼠和嵌合 10D8 的 VL: DIVMTQSPSSLTVTVGEKVTMSCKSSQSLNSGNQRNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDP RFTGSGSGTAFTLTIVSSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEMK (SEQ ID NO: 52)
小鼠和嵌合 22F12 的 HCDR1 SYGVY (SEQ ID NO: 53)
小鼠和嵌合 22F12 的 HCDR2 VIWAGGSTNYNSALMS (SEQ ID NO: 54)
小鼠和嵌合 22F12 的 HCDR3 DRGRLLSMDY (SEQ ID NO: 55)
小鼠和嵌合 22F12 的 LCDR1 RSSQSLNSGNQKNYLA (SEQ ID NO: 56)
小鼠和嵌合 22F12 的 LCDR2 GASTRES (SEQ ID NO: 57)
小鼠和嵌合 22F12 的 LCDR3 QNVHFFPFT (SEQ ID NO: 58)
小鼠和嵌合 22F12 的 VH: QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSYGVYWVRQPPGKGLEWLGVIWAGGSTNYNSALMSR LSINKDNSKSQVFLKMNSLQTDITAMYYCARDGRLLSMDYWGQTSVTVSS (SEQ ID NO: 59)
小鼠和嵌合 22F12 的 VL: DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCRSSQSLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVDP RFTGSGSGTDFLTIGSVQAEDLAVYYCQNVHFFPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO: 60)
hz28G3-1.1 的重链: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYSFTDYLMLWVRQAPGQGLEWMGNINPYYGRTTYALK FKGRVTMTVDRSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 61)
hz28G3-1.1 的轻链: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVDP RFTGSGSGTDFLTITSLQAEDVAVYYCQNAHSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 62)
hz28G3-1.3 的重链: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYSFTDYLMLWVRQAHGQSLEWMGNINPYYGRTTYALKF KGRVTMTVDRSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARDGYSLRNAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 63)
hz28G3-1.3 的轻链: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLFNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYGASTRESGVDPDR FSGSGSGTDFLTITSLQAEDVAVYYCQNAHSYPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSITLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 64)
人 CLDN18.2: MAVTACQGLGFVVSILIGIAGIIAATCMDQWSTQDLYNNPVTAVFNYQGLWRSCVRESSGFTECRGY FTLLGLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIGLLVSIFALKCIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIAG VSVFANMLVTNFWMSTANMYTGMGGMVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGLTLIGGVMMCIACR GLAPEETNYKAVSYHASGHSVAYKPGGFKASTGFGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPSKHDYV (SEQ ID NO: 65)

人 CLDN18.1: MSTTTCQVVAFLLSILGLAGCIAATGMDMWSTQDLYDNPVTSVFQYEGLRSCVRQSSGFTECRP YFTILGLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIGLLVSIFALKCIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIA GVSVFANMLVTNFWMSTANMYTGMGGMVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGLTLIGGVMMCIAC RGLAPEETNYKAVSYHASGHSVAYKPGGFKASTGFGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPSKHDYV (SEQ ID NO: 66)
15F9 的重链: QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGINWVRQAPQGQLEWMGWINPNTGETTYAEFF KGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARLYYGNRFDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 67)
15F9 的轻链: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQRNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTITSLQAEDVAVYYCQNAYYYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 68)
小鼠、嵌合和人源化 28G3 的 HCDR2 NINPYYGRTX ₁ YX ₂ LKFX ₃ G (SEQ ID NO: 69), 其中, X ₁ =T 或 Y; X ₂ =N 或 A; X ₃ =K 或 Q
小鼠、嵌合和人源化 40F6 的 HCDR2 VVWAGGNTNYX ₄ X ₅ X ₆ X ₇ X ₈ X ₉ (SEQ ID NO: 70), 其中, X ₄ =N 或 A; X ₅ =S 或 D; X ₆ =A 或 S; X ₇ =L 或 V; X ₈ =M 或 K; X ₉ =S 或 G
小鼠、嵌合和人源化 40F6 的 LCDR3 QNDX ₁₀ FFPFT (SEQ ID NO: 71), 其中, X ₁₀ =H 或 Y

为了描述和公开的目的,以引用的方式将所有的专利、专利申请和其它已确定的出版物在此明确地并入本文。这些出版物仅因为它们的公开早于本公开的申请日而提供。所有关于这些文件的日期的声明或这些文件的内容的表述是基于申请者可得的信息,并且不构成任何关于这些文件的日期或这些文件的内容的正确性的承认。而且,在任何国家,在本文中对这些出版物的任何引用并不构成关于该出版物成为本领域的公知常识的一部分的认可。

虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本公开作了详尽的描述,但在本公开基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本公开精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本公开要求保护的范围。

权利要求书

1. 一种通式为 $Ab-(L-U)_n$ 的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中 Ab 为抗体或其抗原结合片段，L 为接头，U 为细胞毒药物，n 为选自 1-10 的整数，其中，所述 Ab 为抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段，其包含 HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，

(1) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、5、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列；

(2) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、4、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列；

(3) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 3、6、7、8、9 和 10 所示的氨基酸序列；

(4) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列；

(5) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列；

(6) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列；

(7) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 27 所示的氨基酸序列；

(8) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、20、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列；

(9) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、21、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列；

(10) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、22、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列；

(11) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 19、23、24、25、26 和 28 所示的氨基酸序列；

(12) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 37、38、39、40、41 和 42 所示的氨基酸序列；

(13) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 45、46、47、48、49 和 50 所示的氨基酸序列；或

(14) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别包含 SEQ ID NOs: 53、54、55、56、57 和 58 所示的氨基酸序列。

2. 根据权利要求 1 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中，

(1) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；

(2) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；

(3) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；

(4) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 11 和 16 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；

(5) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 17 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；

(6) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 12 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；

(7) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 13 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(8) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 14 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(9) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 15 和 18 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(10) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 29 和 34 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(11) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(12) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(13) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(14) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 35 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(15) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 30 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(16) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 31 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(17) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 32 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(18) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 33 和 36 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(19) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 43 和 44 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列;

(20) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 51 和 52 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列; 或

(21) 重链可变区和轻链可变区分别包含与 SEQ ID NOs: 59 和 60 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段是 IgG1、IgG2 或 IgG4 同种型。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体进一步包含重链恒定区和轻链恒定区, 所述重链恒定区包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列, 所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列或者与 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列相比具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸取代、删除和添加的氨基酸序列。

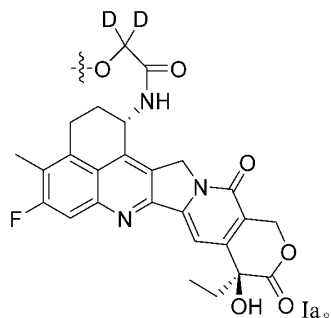
5. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗 CLDN18.2 抗体包含重链和轻链, 其中

(1) 所述重链包含与 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列; 或

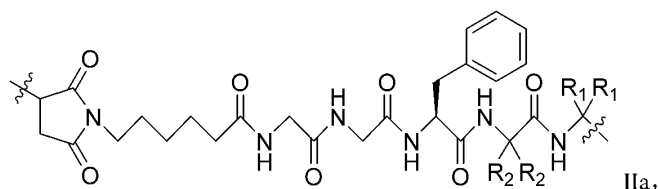
(2) 所述重链包含与 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列, 所述轻链包含与 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 80% 同一性的氨基酸序列。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中 U 为喜树碱类拓扑异构酶 I 抑制剂, 并且 L 和/或 U 具有氘代修饰; 优选地, 所述 U 为 SN-38、SN-38 衍生物、依沙替康或者依沙替康衍生物; 更优选地, 所述 U 为依沙替康衍生物。

7. 根据权利要求 6 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-U 为下式 Ia 所示的结构:



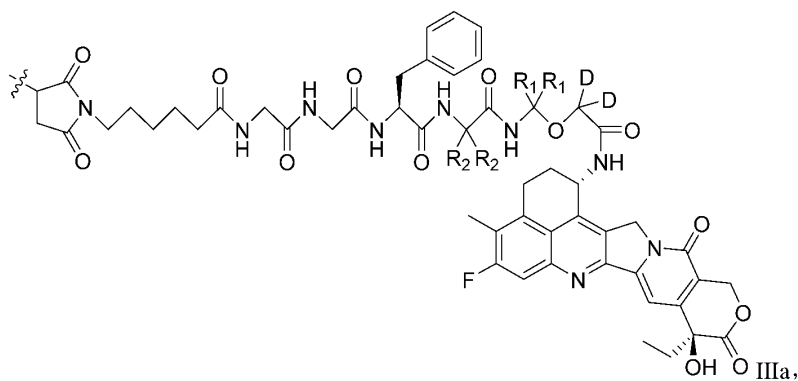
8. 根据权利要求 6 或 7 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-L-为下式 IIa 所示的结构:



其中, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氘;

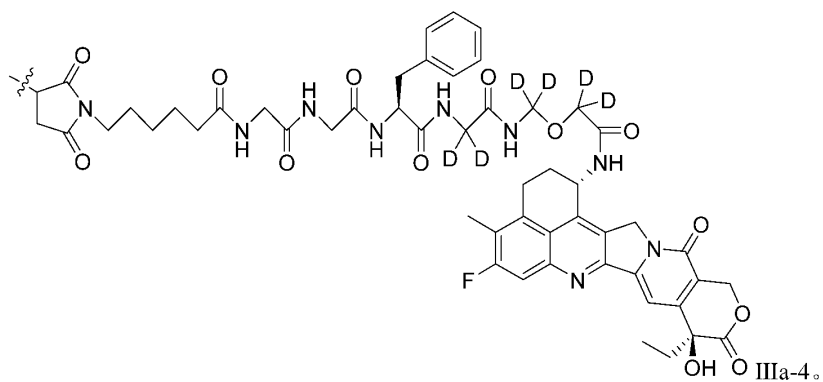
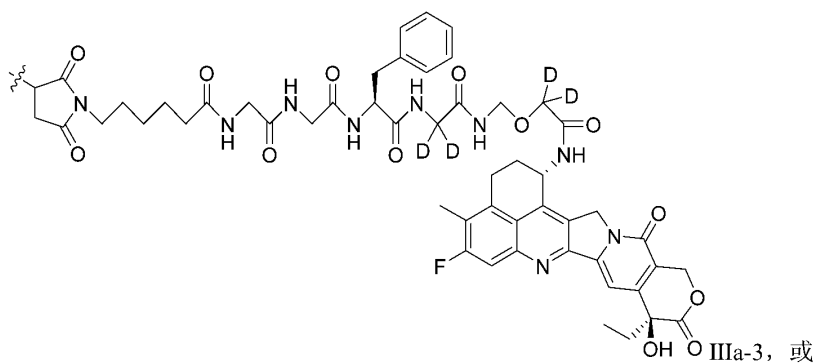
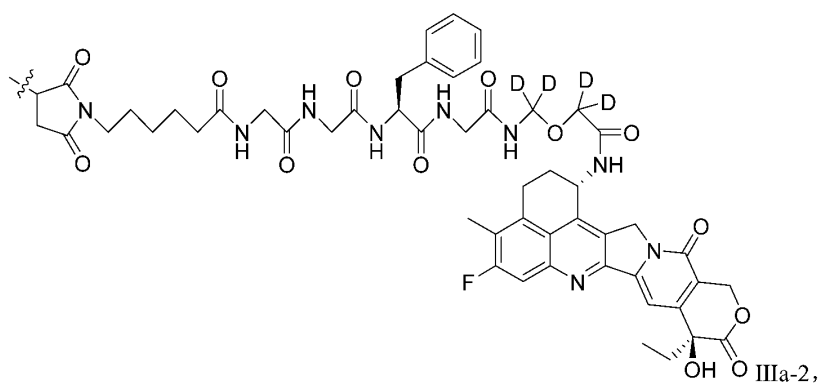
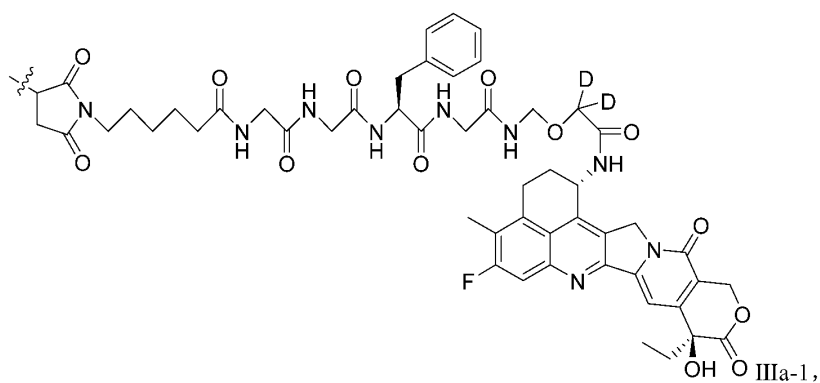
并且, 所示结构中的-(琥珀酰亚胺-3-基-N)-的 3 位与所述 Ab 连接, 另一端的亚甲基与所述 U 连接。

9. 根据权利要求 1 或 6 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-L-U 为下式 IIIa 所示的结构:

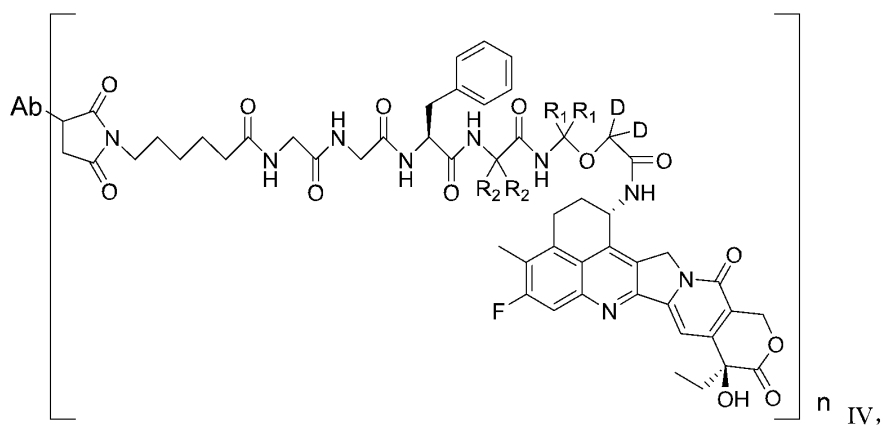


其中, R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氘。

10. 根据权利要求 9 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中-L-U 为下式 IIIa-1、IIIa-2、IIIa-3 或 IIIa-4 所示的结构:

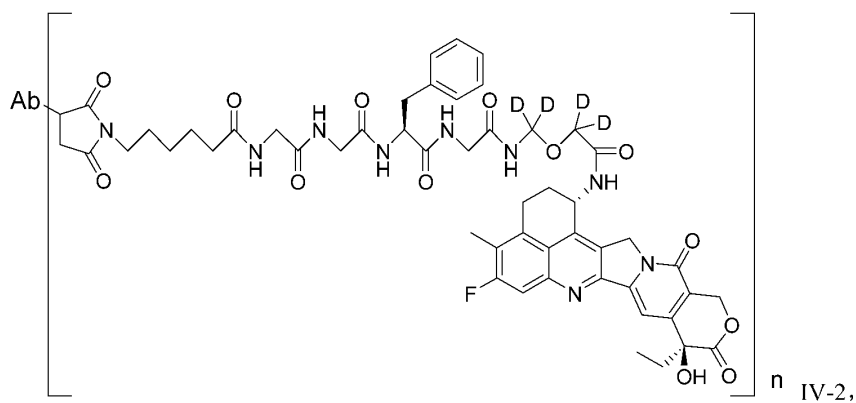
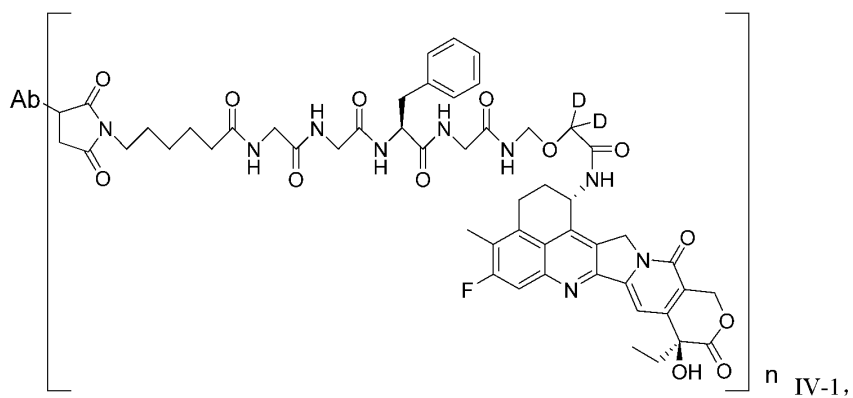


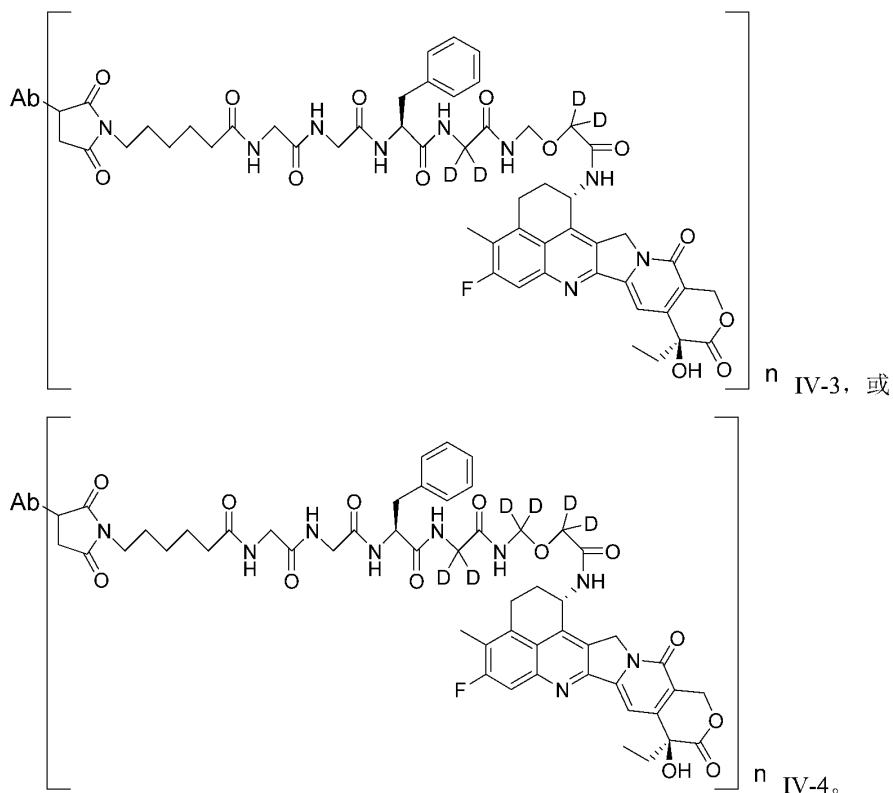
11. 根据权利要求 1 或 6 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物, 其中所述抗体药物偶联物的结构如下式IV所示:



其中， R_1 和 R_2 分别独立地选自氢或氘。

12. 根据权利要求 11 所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中所述抗体药物偶联物的结构如下式IV-1、IV-2、IV-3 或IV-4 所示：





13. 根据权利要求 1-12 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中，所述 n 为选自 1-10、1-9、1-8、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4、4-8、4-7、4-6、4-5、5-8、5-7、5-6、6-8、6-7 或 7-8 的整数，优选为选自 2-8、3-8、4-8、5-8、6-8 或 7-8 的整数，更优选为选自 6-8 的整数。

14. 根据权利要求 1-13 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物，其中，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物展现出下述性质中的一种或几种的组合：

- (a) 结合 CLDN18.2;
- (b) 阻断 CLDN18.2 与配体的结合;
- (c) 在表达 CLDN18.2 的细胞中显示内吞作用;
- (d) 对表达 CLDN18.2 的肿瘤细胞具有杀伤活性;
- (e) 具有旁观者效应;
- (f) 具有 ADCC 活性;
- (g) 具有 CDC 活性;
- (h) 不结合 CLDN18.1;
- (i) 不结合不表达 CLDN18.2 的细胞; 和
- (j) 对表达 CLDN18.1 的细胞无 ADCC 和/或 CDC 活性。

15. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-14 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物; 优选地，所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的或同质的; 任选地，所述药物组合物还包括药学上可接受的载体。

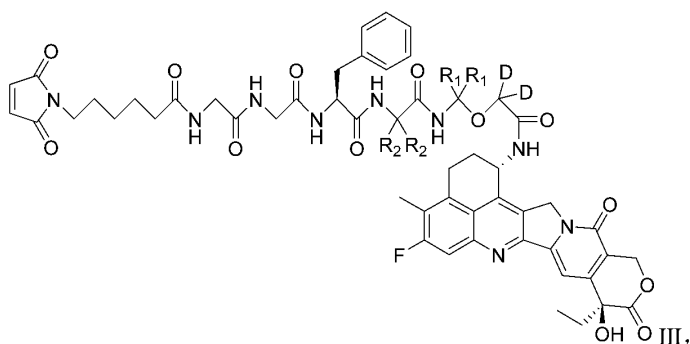
16. 根据权利要求 15 所述的药物组合物，其中，所述药物组合物中的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物是异质的，所述药物组合物的 DAR 为 0-10、0-9、0-8、1-10、1-9、1-8、2-10、2-9、2-8、3-8、4-8、5-8、6-8、7-8、7.2-8、7.4-8、7.5-8、7.6-8、7.7-8、7.8-8、7.8-7.9 或 7.9-8; 优选为 7-8、7.2-8、7.4-8、7.6-8、7.7-8; 更优选地为约 7.1、约 7.2、约 7.4、约 7.6、约 7.7 或约 8。

17. 用于治疗肿瘤的权利要求 1-14 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者权利要求 15 或 16 所述的药物组合物；

任选地，所述抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者药物组合物与第二或另外的治疗剂组合。

18. 根据权利要求 17 所述的用于所述用途的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物、或者药物组合物，其中，所述肿瘤为 CLDN18.2 阳性肿瘤；优选地，所述肿瘤为胃癌、食道癌、胃肠道癌、胰腺癌、肝癌、肺癌、支气管癌、间皮瘤、肾癌、卵巢癌、乳腺癌、膀胱癌、子宫癌、子宫内膜癌、前列腺癌、睾丸癌、肛门癌、阴道癌、胆管癌、胆囊癌、头颈癌、脊柱肿瘤、耳鼻咽喉肿瘤、甲状腺癌、间皮瘤、骨癌、皮肤癌、黑色素瘤、腺癌、肉瘤、神经母细胞瘤、胶质母细胞瘤、脑癌、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、白血病、淋巴瘤和骨髓瘤。

19. 一种制备权利要求 11-14 中任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物的方法，其包括在还原条件下处理抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段，之后将抗 CLDN18.2 抗体或其抗原结合片段与选自式 III 所示结构的接头-有效载荷反应，其中，式 III 所示结构如下：



其中， R_1 、 R_2 分别独立地选自氢或氟。

20. 根据权利要求 19 所述的方法，其中， R_1 和 R_2 为氢。