



(21) 申請案號：111135142 (22) 申請日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 16 日

(51) Int. Cl. : *A61K47/68 (2017.01)* *C07D493/22 (2006.01)*  
*C07K16/28 (2006.01)* *A61P35/00 (2006.01)*

(30) 優先權：2021/09/16 中國大陸 202111085308.7

(71) 申請人：大陸商正大天晴藥業集團股份有限公司 (中國大陸) CHIA TAI TIANQING  
 PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD. (CN)  
 中國大陸

(72) 發明人：陳天璽 CHEN, TIANXI (CN)；徐同傑 XU, TONGJIE (CN)；唐小齊 TANG, XIAOQI  
 (CN)；豐巍偉 FENG, WEIWEI (CN)；張正平 ZHANG, ZHENGPING (CN)

(74) 代理人：許世正

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：20 項 圖式數：6 共 96 頁

## (54) 名稱

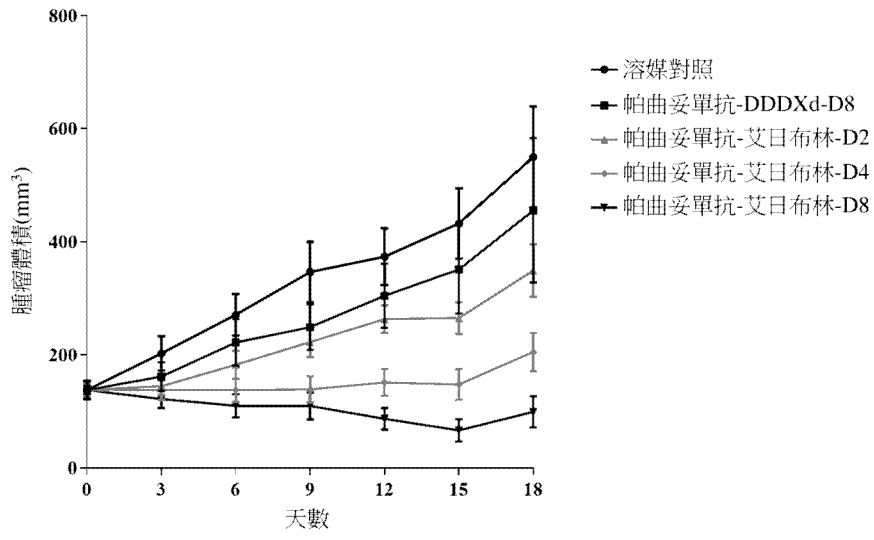
抗 HER3 抗體藥物偶聯物及其組合物和用途

## (57) 摘要

本文提供了一種抗 HER3 抗體藥物偶聯物，具體包含相連接的抗體部分、中間接頭部分和細胞毒性藥物部分。提供的抗體藥物偶聯物實現了優異的抗腫瘤活性或/和較好的安全性。提供的抗體藥物偶聯物可以用於癌症的治療。

Provided herein is an anti-HER3 antibody drug conjugate, which specifically comprises an antibody moiety, an intermediate linker moiety and a cytotoxic drug moiety linked with each other. The provided antibody drug conjugate achieves excellent anti-tumor activity or/and good safety. The provided antibody drug conjugate can be used for cancer treatment.

指定代表圖：



【圖4】

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗 HER3 抗體藥物偶聯物及其組合物和用途

【英文發明名稱】 ANTI-HER3 ANTIBODY DRUG  
CONJUGATE AND COMPOSITION AND USE  
THEREOF

### 【中文】

本文提供了一種抗 HER3 抗體藥物偶聯物，具體包含相連接的抗體部分、中間接頭部分和細胞毒性藥物部分。提供的抗體藥物偶聯物實現了優異的抗腫瘤活性或/和較好的安全性。提供的抗體藥物偶聯物可以用於癌症的治療。

### 【英文】

Provided herein is an anti-HER3 antibody drug conjugate, which specifically comprises an antibody moiety, an intermediate linker moiety and a cytotoxic drug moiety linked with each other. The provided antibody drug conjugate achieves excellent anti-tumor activity or/and good safety. The provided antibody drug conjugate can be used for cancer treatment.

【指定代表圖】 圖 4。

【代表圖之符號簡單說明】

無。

【特徵化學式】

無。

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗 HER3 抗體藥物偶聯物及其組合物和用途

【英文發明名稱】 ANTI-HER3 ANTIBODY DRUG  
CONJUGATE AND COMPOSITION AND USE  
THEREOF

### 【技術領域】

【0001】 本發明涉及抗體藥物偶聯物，其包含相連接的抗體部分、中間接頭部分和細胞毒性藥物部分。本發明還涉及所述抗體藥物偶聯物在製備用於治療癌症的藥物中的用途。

### 【先前技術】

【0002】 HER3 (human epidermal growth factor receptor 3, 人類表皮生長因子受體 3), 也稱為 ErbB-3(Receptor tyrosine-protein kinase erbB-3), 是人類表皮生長因子受體 (HER/EGFR/ERBB) 家族的成員, 該家族包括 EGFR (ErbB-1)、HER2/c-neu (ErbB-2)、HER3 (ErbB-3) 和 HER4 (ErbB-4)。HER3 具有細胞外配體結合結構域 (ECD)、ECD 內的二聚結構域、跨膜結構域、蛋白酪胺酸激酶結構域 (TKD) 和 C 端磷酸化結構域, 但缺乏胞內酪胺酸激酶活性。

【0003】 HER3 的配體——神經調節蛋白 (neuregulin, NRG; 又稱為 heregulin, HRG) 與 HER3 的胞外結構域相結合, 並通過促進與其它 HER 家族成員二聚化, 以及其胞內結構域的轉磷酸作用, 激活受體介導的訊號傳導通路。HER3 與其它 HER 家族成員

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

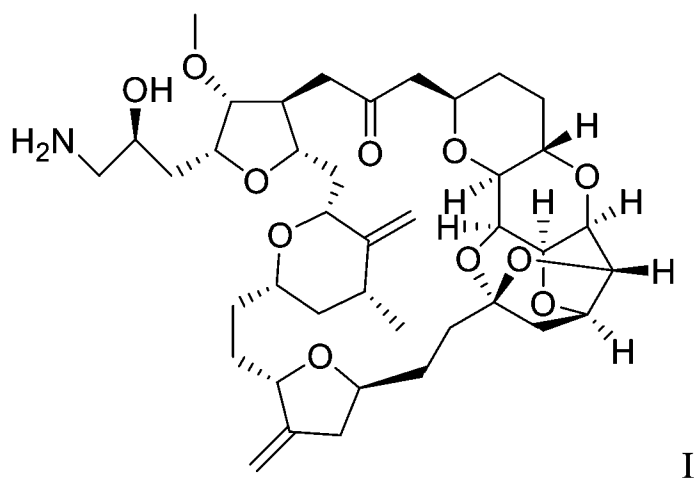
第 1 頁, 共 64 頁 (發明說明書)

的二聚體形成擴展 HER3 的訊號傳導潛力，而且不僅充當訊號多樣化的手段，還用作訊號放大的手段。例如，HER2/HER3 雜二聚體誘導 HER 家族成員中最重要促有絲分裂訊號之一。HER3 在各種癌症中普遍表達（expression），包括乳腺癌、卵巢癌、結腸癌、胃癌、肺癌、皮膚癌和胰腺癌。

**【0004】** 抗體藥物偶聯物（Antibody-Drug Conjugate，ADC）是結合了治療性抗體的高特異性和細胞毒性藥物的高殺傷活性的一類藥物，其中治療性抗體部分與細胞毒性藥物部分通過中間的接頭部分連接。目前全球範圍內已有至少十款 ADC 藥物上市，其中 brentuximab vedotin、polatuzumab vedotin 與 enfortumab vedotin 的抗體部分分別針對靶點 CD30、CD79b 與 Nectin-4，Trastuzumab emtansine 與 Trastuzumab deruxtecan 的抗體部分針對 HER2 靶點，gemtuzumab ozogamicin 與 inotuzumab ozogamicin 的抗體部分分別針對 CD33 和 CD22 靶點，sacituzumab govitecan 的抗體部分針對 TROP2 靶點，最新獲批的 belantamab mafodotin 和 loncastuximab tesirine 分別針對 BCMA 和 CD19 靶點。細胞毒性藥物部分：brentuximab vedotin、polatuzumab vedotin、enfortumab vedotin 和 belantamab mafodotin 均採用作用於微管的奧里斯他汀類（auristatins），Trastuzumab emtansine 採用作用於微管的美登素類（maytansinoid）毒素分子，gemtuzumab ozogamicin 與 inotuzumab ozogamicin 採用作用於 DNA 的卡奇黴素類

(calicheamicins) 毒素分子，Trastuzumab deruxtecan 和 sacituzumab govitecan 均採用喜樹鹼類毒素分子，loncastuximab tesirine 則採用作用於 DNA 的 PBD 二聚體。中間接頭部分：Trastuzumab emtansine、belantamab mafodotin 採用不可斷裂接頭，其餘八個分子都採用可斷裂的接頭。

【0005】 艾日布林 (Eribulin, 下式 I) 為天然海洋產物 halichondrin B 的一種合成類似物，其可抑制微管生長期，其通過基於微管蛋白的抗有絲分裂機制發揮作用，導致 G2 / M 細胞周期的停滯、有絲分裂紡錘體的破壞，並最終在長期的有絲分裂阻滯後導致細胞離亡。艾日布林目前已獲批用於轉移性乳腺癌和軟組織肉瘤的治療。



【0006】 ADC 類藥物結合了細胞毒性小分子的高效能和抗體對特定腫瘤細胞的高選擇性的雙重優點，當前仍然存在開發可以針對更多適應症的高效低毒的 ADC 藥物的需求。

### 【發明內容】

#### 【0007】 抗體藥物偶聯物 (ADC)

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

第 3 頁，共 64 頁 (發明說明書)

【0008】 本發明提供了一種抗體藥物偶聯物，其中，抗體或其抗原結合片段與細胞毒性藥物艾日布林或其衍生物相偶聯；優選地，所述抗體或其抗原結合片段特異性結合 HER3。

【0009】 在一個方面，本發明提供了一種具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 Ab 表示抗體部分，L 表示接頭部分，U 表示細胞毒性藥物部分，n 為選自 1 至 10 的整數或小數。在某些實施方案中，抗體部分 Ab 與接頭部分通過特定官能基連接，該抗體部分可以與抗原特異性結合。

【0010】 在一個方面，本發明提供了通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中細胞毒性藥物部分 U 與抗體部分 Ab 通過接頭部分 L 偶聯。在一些具體實施方案中，本發明提供的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中每一個細胞毒性藥物部分 U 與抗體部分 Ab 通過接頭部分 L 偶聯。本發明的接頭部分 L 可以通過本領域已知的任何方法與抗體部分連接，優選接頭部分與抗體部分通過巰基和/或胺基連接。在一些更優選的實施方案中，本發明的接頭部分通過巰基與抗體部分相連。

【0011】 在一個方面，本發明提供通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中細胞毒性藥物部分 U 與抗體部分 Ab 通過接頭部分 L 偶聯，所述接頭部分可以是可切割的接頭或者不可切割的接頭。在一些實施方案中，本發

明的接頭部分為可切割的接頭，例如可以是依賴低 pH 值降解型（包括胺鍵、碳酸酯鍵等）、蛋白酶解型（包括肽基鍵）或者依賴高麩胱甘肽濃度降解型（包括二硫鍵）等。可切割接頭可以在靶細胞內斷裂，從而釋放細胞毒性藥物。在另一些實施方案中，本發明的接頭部分為不可切割的接頭，例如可以是馬來醯亞胺基己醯基等。

**【0012】** 在一個方面，本發明提供了一種通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中抗體部分  $Ab$  與一個或更多個細胞毒性藥物部分  $U$  偶聯，細胞毒性藥物例如可以選自生物鹼類、抗代謝類、抗腫瘤抗生素類、烷化劑類及鉑類等，優選的細胞毒性藥物為微管抑制劑類細胞毒性藥物（包括美登素類、奧利斯他汀類、艾日布林類等）或者作用於 DNA 的細胞毒性藥物（包括卡奇黴素類、*duocarmycin* 類、PBD（*pyrrolobenzodiazepine*）類、拓撲異構酶 I 抑制劑類等）。

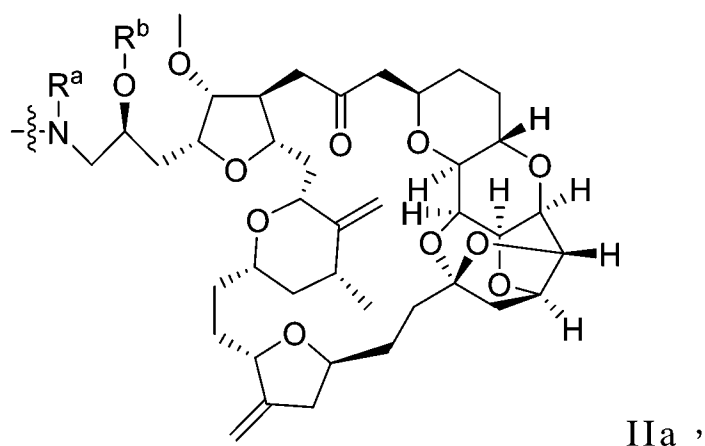
**【0013】** 在一些具體實施方案中，本發明提供的通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物的細胞毒性藥物部分  $U$  為微管抑制劑。

**【0014】** 在一些具體實施方案中，本發明提供的通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物的細胞毒性藥物部分  $U$  為艾日布林或其衍生物。

**【0015】** 在某些實施方案中，所述細胞毒性藥物部分與接頭

部分通過官能基連接，在腫瘤細胞內，會游離出細胞毒性藥物分子，從而發揮抗腫瘤效果。

【0016】 在一個方面，本發明提供了一種具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中  $Ab$  表示抗體部分， $L$  表示接頭部分， $U$  表示細胞毒性藥物部分， $n$  為選自 1 至 10 的整數或小數，其中所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIa 所示的結構：



其中，

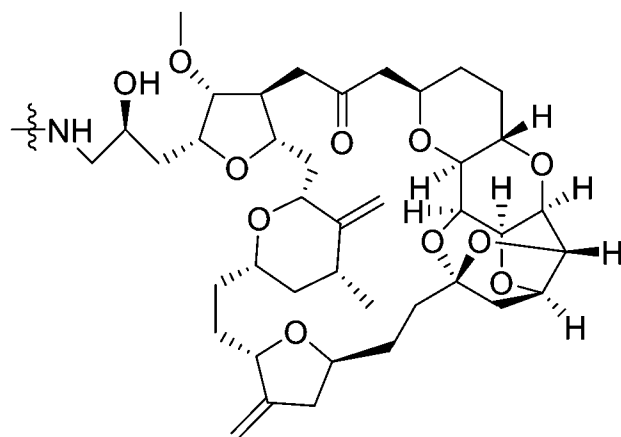
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

或者，

$R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。在一些實施方案中，所述  $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。在一些實施方案中，所述  $R^a$  和  $R^b$  為氫原子。

【0017】 在一些實施方案中，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIa-1 所述的結構：



IIa-1。

【0018】 在一些實施方案中，本發明提供了一種具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中  $Ab$  表示抗體部分， $L$  表示接頭部分， $U$  表示細胞毒性藥物部分， $n$  為選自 1 至 10 的整數或小數，其中所述  $-U$  為式 IIa 所示的結構，

其中，

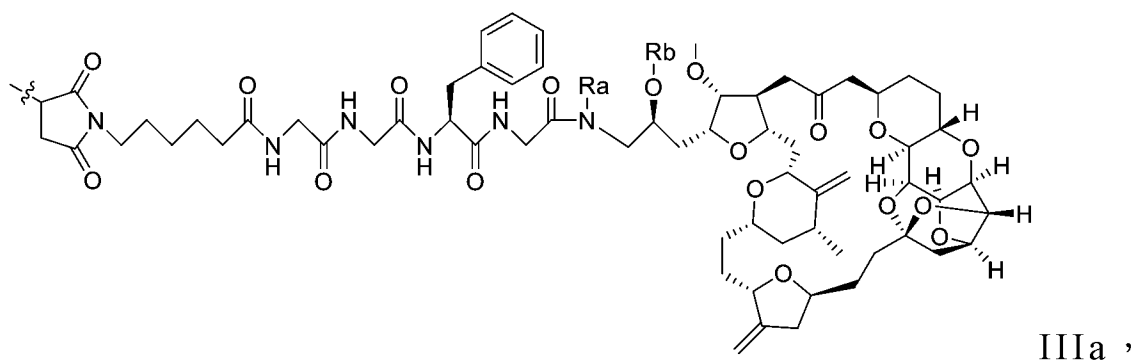
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

或者，

$R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。在一些實施方案中，所述  $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。在一些實施方案中，所述  $R^a$  和  $R^b$  為氫原子。在一些實施方案中，所述 -U 為式 IIa-1 所示的結構。

**【0019】** 在一些實施方案中，本發明提供的通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物包含以下式 IIIa 所示的結構：



其中，

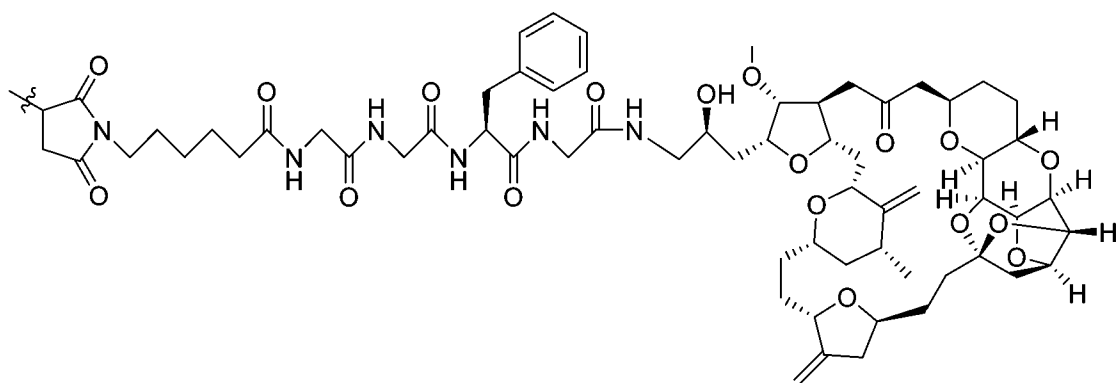
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

或者，

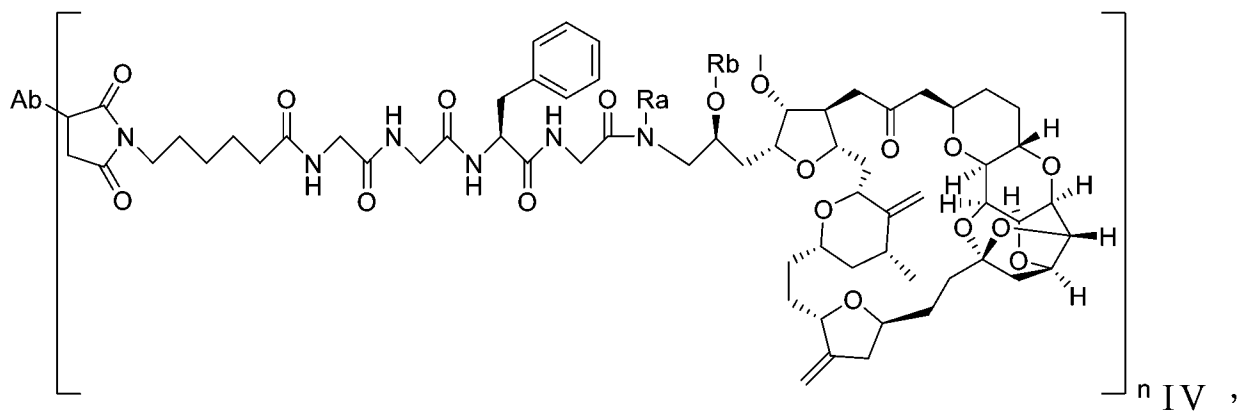
$R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。在一些實施方案中，所述  $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。在一些實施方案中，所述  $R^a$  和  $R^b$  為氫原子。

【0020】 在一些實施方案中，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIIa-1 所述的結構：



IIIa-1。

【0021】 在一些實施方案中，本發明提供的通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物為以下式 IV 所示的結構：



其中，Ab 表示抗體部分；

n 為選自 1-10 的整數或小數；

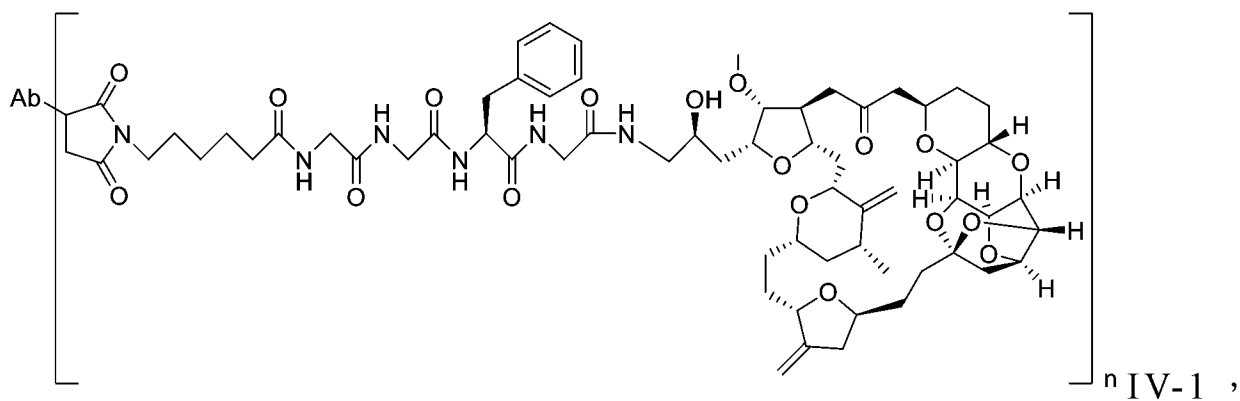
R<sup>a</sup> 選自氫原子、氬原子、任選被取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任選被取代的 C<sub>3-7</sub> 環烷基、任選被取代的 C<sub>3-7</sub> 雜環基、任選被取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任選被取代的 C<sub>5-12</sub> 雜芳基；

R<sup>b</sup> 選自氫原子、氬原子、任選被取代的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任選被取代的 C<sub>3-7</sub> 環烷基、任選被取代的 C<sub>3-7</sub> 雜環基、任選被取代的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任選被取代的 C<sub>5-12</sub> 雜芳基；

或者，

R<sup>a</sup> 與 R<sup>b</sup> 與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。在一些實施方案中，所述 R<sup>a</sup> 與 R<sup>b</sup> 各自獨立地選自氫原子或 C<sub>1-5</sub> 烷基（優選 C<sub>1-4</sub> 烷基，例如 C<sub>1-3</sub> 烷基）。在一些實施方案中，所述 R<sup>a</sup> 與 R<sup>b</sup> 各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。在一個實施方案中，所述 R<sup>a</sup> 和 R<sup>b</sup> 為氫原子。

**【0022】** 在一個具體實施方案中，本發明提供下式 IV-1 所示的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，



其中，

Ab 為抗體部分，

n 為選自 1 至 10 的整數或小數。

在一些實施方案中，在上述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物中，所述 n 為 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。

**【0023】** 在一些實施方案中，所述 n 為約 2.6、約 4、約 4.2、約 4.8、約 7、約 7.1、約 7.5、約 7.6、約 7.9 或約 8。

**【0024】** 與本發明的抗體藥物偶聯物 (ADC) 中抗體部分偶聯的細胞毒性藥物的數量可以變化，使得在本發明提供的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物可以是異質的 (heterogeneous)，即本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物包括偶聯有不同數量細胞毒性藥物的抗體或其抗原結合片段，例如 1 分子抗體或其抗原結合片段偶聯有 0 個 (即不含細胞毒性藥物)、1 個、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個、7 個、

8 個或其它更多個分子細胞毒性藥物。

**【0025】** 通過控制上述偶聯有不同數量細胞毒性藥物的抗體或其抗原結合片段的比例，可以產生具有不同藥物抗體比率（**DAR**）的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。在本文中，「**DAR**」與「**n**」可互換使用。應理解，所述 **DAR** 或 **n** 是 ADC 中細胞毒性藥物與抗體或其抗原結合片段的平均莫耳比值，即每一分子抗體或其抗原結合片段的細胞毒性藥物平均偶聯數。例如，「**DAR** 為約 4」或「**n** 為約 4」是指如下的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物：包含每一分子抗體或其抗原結合片段偶聯有不同數量細胞毒性藥物（例如，每個抗體或其抗原結合片段偶聯有 0、1、2、3、4、5、6、7 或 8 個細胞毒性藥物）的異質混合物，但細胞毒性藥物與抗體或其抗原結合片段的平均莫耳比為約 4。類似地，「**DAR** 為約 8」或「**n** 為約 8」是指該 ADC 中細胞毒性藥物與抗體或其抗原結合片段的平均莫耳比為約 8。

**【0026】** 在一個方面，本發明提供的一種具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 **Ab**（抗體部分）可以特異性結合腫瘤抗原，所述腫瘤抗原可以選自本領域已知的任何腫瘤治療的靶點，所述靶點的非限制性實例包括 **HER2**、**HER3**、**EGFR**、**CD20**、**CD30**、**CD33**、**CD47**、**CD79b**、**VEGF**、**VEGFR**、**MET**、**RET**、**PD-1** 或 **PD-L1**。在一些實施方案

中，本發明提供了一種式 IV-1 所示的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中 Ab（抗體部分）可以特異性結合腫瘤抗原，所述腫瘤抗原可以選自本領域已知的任何腫瘤治療的靶點，所述靶點的非限制性實例包括 HER2、HER3、EGFR、CD20、CD30、CD33、CD47、CD79b、VEGF、VEGFR、MET、RET、PD-1 或 PD-L1。

【0027】 在一些實施方案中，所述抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物中，Ab 為抗 HER3 抗體或其抗原結合片段。

【0028】 在一些實施方案中，所述 Ab 為抗 HER3 抗體或其抗原結合片段，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 1 所示胺基酸序列的重鏈 CDR（HCDR）1，包含 SEQ ID NO: 2 所示胺基酸序列的 HCDR2，包含 SEQ ID NO: 3 所示胺基酸序列的 HCDR3，包含 SEQ ID NO: 4 所示胺基酸序列的輕鏈 CDR（LCDR）1，包含 SEQ ID NO: 5 所示胺基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示胺基酸序列的 LCDR3。

【0029】 所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段的 CDR 胺基酸序列提供於下表 S1 中。

【0030】 在一些實施方案中，本發明提供的通式為  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物的抗體部分為帕曲妥單抗（Patritumab），其具有下表 S1 所示的序列。

【0031】 表 S1 帕曲妥單抗的 CDR 和可變區胺基酸序列

名稱	胺基酸序列	SEQ ID NO:
HCDR1	GGSFSGY	1
HCDR2	NHSGS	2
HCDR3	DKWTWYFDL	3
LCDR1	QSVLYSSSNRNYLA	4
LCDR2	WASTRES	5
LCDR3	QQYYSTPRT	6
重鏈可變區	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGG FSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGST NYNPSLKS RV TISVETS KNQFSLKLSSVT AADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTL VTVSS	7
輕鏈可變區	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSV LYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWA STRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAE DVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIK	8

【0032】 在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 7 所示胺基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的胺基酸序列，所述輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 8 所示胺基酸序列具有至少 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

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

第 14 頁，共 64 頁（發明說明書）

胺基酸序列。在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 7 所示的胺基酸序列，輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 8 所示的胺基酸序列。在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段的重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 7 所示，輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 8 所示。

**【0033】** 在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段還可包含免疫球蛋白的恆定區，或所述恆定區的片段、類似物、變體或衍生物。在一些實施方案中，所述恆定區來自人免疫球蛋白重鏈，例如 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 或其它類別免疫球蛋白的重鏈，優選為 IgG1 的重鏈。在一些實施方案中，所述恆定區可包含任何文本所述的修飾，例如胺基酸的插入、缺失、取代或化學修飾。在一些實施方案中，所述恆定區包含改變效應功能的突變。在一些實施方案中，所述恆定區的任意胺基酸殘基可用任意同種異型（allotype）的胺基酸殘基取代。

**【0034】** 在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，所述重鏈包含與 SEQ ID NO: 9 所示胺基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的胺基酸序列，所述輕鏈包含與 SEQ ID NO: 10 所示胺基酸序列具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、

86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的胺基酸序列。在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，所述重鏈包含 SEQ ID NO: 9 所示的胺基酸序列，所述輕鏈包含 SEQ ID NO: 10 所示的胺基酸序列。在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段的重鏈的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 9 所示，輕鏈的胺基酸序列如 SEQ ID NO: 10 所示。

**【0035】** QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYW  
SWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPSLKSRTISVETSKNQFSL  
KLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGP  
SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV  
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD  
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE  
VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR  
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE  
PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN  
NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH  
NHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 9) ;

**【0036】** DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNR  
NYLAWYQQNPGQPPLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTI  
SSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP  
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV  
TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTK  
SFNRGEC (SEQ ID NO: 10) 。

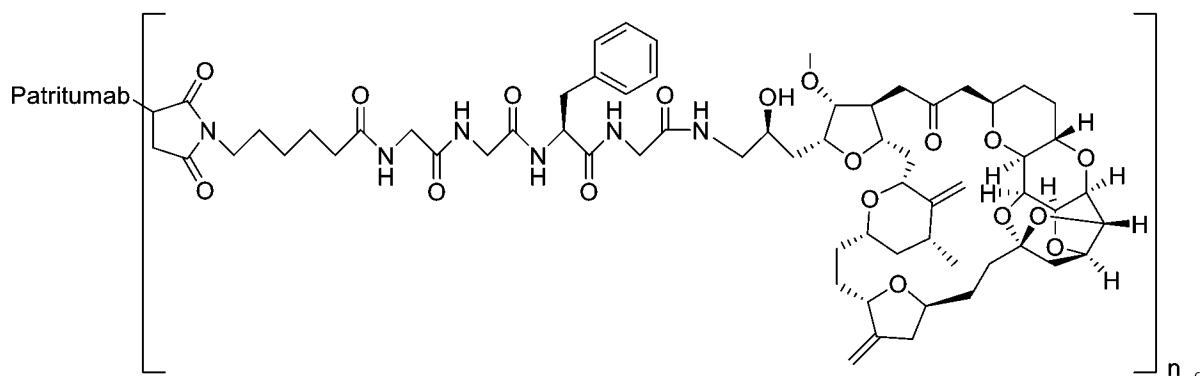
**【0037】** 在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體選自以下抗

體組成的組：帕曲妥單抗（Patritumab）、瑟瑞妥單抗（Seribantumab）、Elgemtumab、Duligotuzumab、CDX-3379、Lumretuzumab 或 GSK2849330。在一些具體的實施方案中，所述抗 HER3 抗體為帕曲妥單抗。

【0038】 在一些實施方案中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段選自單株抗體、多特異性抗體、Fab 片段、Fab' 片段、F(ab)'<sub>2</sub> 片段、Fd 片段、Fv 片段、dAb 片段、分離的 CDR 區、scFv、奈米抗體或融合蛋白。

【0039】 在一些實施方案中，本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其通式為 Ab-(L-U)<sub>n</sub>，其中 Ab 是可以修飾的，例如包括一個或多個胺基酸序列的改變、增加或減少。在本文中，修飾後的 Ab 仍然保留了特異性地結合至其相應抗原的活性。

【0040】 在一些實施方案中，本發明提供的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物為如下所示的結構：



【0041】 在一些這種實施方案中，所述 n 為 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。在一些具體的實施方案中，所述 n 為約 2.6、約 4、約 4.2、約 4.8、約 7、約 7.1、約 7.5、約 7.6、約 7.9 或約 8。

**【0042】** 在一個方面，本發明提供的具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，展現出下述性質中的一種或多種的組合：

- (a) 結合 HER3；
- (b) 阻斷 HER3 與配體的結合；
- (c) 在表達 HER3 的細胞中顯示內吞作用；
- (d) 對表達 HER3 的腫瘤細胞具有殺傷活性；
- (e) 具有旁觀者效應。

**【0043】** 在一些實施方案中，所述抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物結合人 HER3。

**【0044】** 在一些實施方案中，本發明提供的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物在不同 HER3 表達量細胞中顯示了較強的內吞作用，同時能隨著內吞時間的增加不斷累積內吞的 ADC 量。

**【0045】** 藥物組合物

**【0046】** 在一個方面，本發明提供了一種藥物組合物，其包含本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物。在

一些實施方案中，本發明提供了一種藥物組合物，其包含根據本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，以及可藥用載體。可藥用載體包括例如賦形劑、稀釋劑、包封材料、填充劑、緩衝劑或其它試劑。

**【0047】 用途**

**【0048】** 在一個方面，本發明提供了本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物在製備用於治療癌症的藥物中的用途。在一個方面，本發明提供了包含本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物及可藥用載體的藥物組合物在製備用於治療癌症的藥物中的用途。在一個方面，本發明提供了本發明的藥物組合物在製備用於治療癌症的藥物中的用途。

**【0049】** 在一個方面，本發明提供了用於治療癌症的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物、或上述的藥物組合物。

**【0050】** 在一個方面，本發明提供了一種治療癌症的方法，該方法包括向有需要的患者施用治療有效量的本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物或者包含本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物與可藥用載體的藥物組合物。在一個方面，本發明提供了一種治療癌症的方法，該方法包括向有需要的患者施用治療有效量的本發明的藥物組合物。在一些實施方案中，所述方法包括使腫瘤細胞與所述抗體藥物偶

聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物、或者所述藥物組合物接觸，從而殺傷腫瘤細胞或抑制腫瘤細胞生長。

**【0051】** 在一些實施方案中，向患者施用治療有效量的本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物、或者本發明的藥物組合物，可以殺傷腫瘤細胞或抑制腫瘤細胞生長。

**【0052】** 在一個方面，本發明提供了本申請的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物治療癌症的用途。在一個方面，本發明提供了本申請的包含本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物、可藥用載體的藥物組合物治療癌症的用途。在一個方面，本發明還提供了本發明的藥物組合物治療癌症的用途。

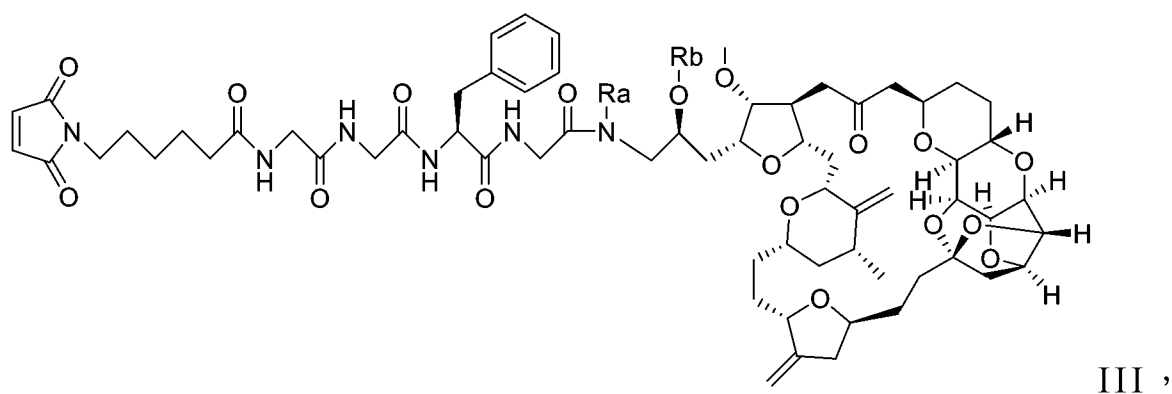
**【0053】** 在一些實施方案中，上述的方法或用途中，所述患者不適合用靶向 HER2 的藥物進行治療。在一些實施方案中，上述的方法或用途中，所述患者對靶向 HER2 的藥物有耐藥性。

**【0054】** 在一些實施方案中，上述的方法或用途中，所述癌症為 HER3 陽性癌症。在一些實施方案中，本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物可以用於治療表達 HER3 蛋白的癌症。在一些實施方案中，向患者施用治療有效量的本發明的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物、或者本發明的藥物組合物，可以殺傷 HER3 表達腫瘤細胞或抑制 HER3 表達腫瘤細胞生長。癌症的實例包括但不限於：膽道癌、癌肉瘤、

食管癌、胃食管結合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、頭頸癌、結直腸癌、腎癌、宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、子宮癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮膚癌、肺癌、多形膠質母細胞瘤、膠質母細胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、鱗狀細胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、睪丸癌、肛門癌或陰莖癌。

【0055】 接頭-藥物中間體化合物

【0056】 在一些方面，本發明提供以下式 III 所示結構的接頭-藥物中間體化合物：



其中，

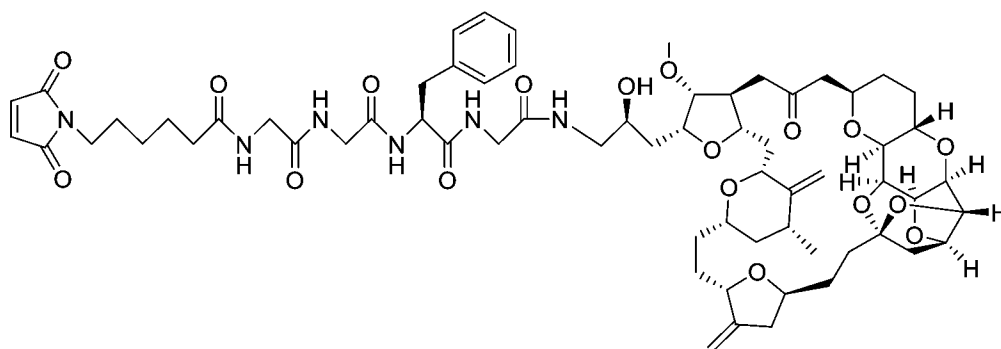
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

或者  $R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。

【0057】 在一些實施方案中，所述式 III 所示結構的接頭-藥物中間體化合物，其中， $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。

【0058】 在一個具體實施方案中，本發明提供以下式 III-1 所示結構的接頭-藥物中間體化合物，



III-1。

【0059】 本發明採用的接頭結構將接抗腫瘤化合物艾日布林或其衍生物與抗體或其抗原結合片段連接，所提供的抗體藥物偶聯物實現了優異的抗腫瘤效果及/或安全性。在一些實施方案中，抗體藥物偶聯物的抗腫瘤效果和/或安全性優於艾日布林。在一些實施方案中，抗體藥物偶聯物的抗腫瘤效果和/或安全性優於第一三共株式會社的抗 HER3 抗體藥物偶聯物 U3-1402 (Patritumab deruxtecan)。在一些實施方案中，提供的抗 HER3 抗體藥物偶聯物表現了對腫瘤細胞良好的殺傷活性，對多種腫瘤細胞和/或不同 HER3 表達程度 (expression level) (高和/或中和/或低) 的細胞表現了良好的殺傷活性。在一些實施方案中，提供的抗 HER3 抗

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

體藥物偶聯物對曲妥珠單抗耐藥腫瘤細胞表現了良好的殺傷活性。在一些實施方案中，提供的抗 HER3 抗體藥物偶聯物具有優異的安全性。在一些實施方案中，提供的抗體藥物偶聯物如抗 HER3 抗體藥物偶聯物不易聚集。在一些實驗中發現，採用本發明的接頭結構將抗腫瘤化合物艾日布林或其衍生物與抗體或其抗原結合片段連接可以提高抗體藥物偶聯物的抗聚集性。

### 【圖式簡單說明】

【0060】 圖 1A-1G 為不同 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物、帕曲妥單抗-DDDXd-D8 和帕曲妥單抗對不同 HER3 表達程度細胞的結合活性；

【0061】 圖 2A-2D 為不同 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物、帕曲妥單抗-DDDXd-D8 和帕曲妥單抗在不同 HER3 表達程度細胞中的內吞作用；

【0062】 圖 3A-3I 為不同 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物、以及帕曲妥單抗-DDDXd-D8 對不同 HER3 表達程度細胞的細胞殺傷率；

【0063】 圖 4 為不同 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物、帕曲妥單抗-DDDXd-D8 以及溶媒對照對 JIMT-1 人乳腺癌細胞裸小鼠皮下移植瘤模型中小鼠腫瘤體積變化的影響；

【0064】 圖 5 為不同 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物、帕曲妥單抗-DDDXd-D8 以及溶媒對照對 JIMT-1 人乳腺癌細胞裸

小鼠皮下移植瘤模型中小鼠體內瘤重的影響；

【0065】 圖 6 為不同 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物、帕曲妥單抗-DDDXd-D8 以及溶媒對照對 JIMT-1 人乳腺癌細胞裸小鼠皮下移植瘤模型中小鼠體重變化的影響。

#### 【實施方式】

【0066】 除非另有說明，本申請中所用的下列術語具有下列含義。一個特定的術語在沒有特別定義的情況下不應該被認為是不確定的或不清楚的，而應該按照本領域普通的含義去理解。當本文中出現商品名時，意在指代其對應的商品或其活性成分。

【0067】 術語「被取代」是指特定原子上的任意一個或多個氫原子被取代基取代，只要特定原子的價態是正常的並且取代後的化合物是穩定的。當取代基為氧代（即=O）時，意味著兩個氫原子被取代，氧代不會發生在芳香基上。

【0068】 術語「任選」或「任選地」是指隨後描述的事件或情況可以發生或不發生，該描述包括發生所述事件或情況和不發生所述事件或情況。術語「任選被取代的」表示被取代或未被取代的，例如，乙基「任選」被鹵素取代，指乙基可以是未被取代的（ $\text{CH}_2\text{CH}_3$ ）、單取代的（如  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$ ）、多取代的（如  $\text{CHFCH}_2\text{F}$ 、 $\text{CH}_2\text{CHF}_2$  等）或完全被取代的（ $\text{CF}_2\text{CF}_3$ ）。本領域具有通常知識者可理解，對於包含一個或多個取代基的任何基團，不會引入任何在空間上不可能存在和/或不能合成的取代或取代模式。

【0069】 本文中的  $C_{m-n}$ ，是該部分具有給定範圍中的整數或小數個碳原子。例如「 $C_{1-6}$ 」是指該基團可具有 1 個碳原子、2 個碳原子、3 個碳原子、4 個碳原子、5 個碳原子或 6 個碳原子。

【0070】 當任何變量（例如 R）在化合物的組成或結構中出現一次以上時，其在每一種情況下的定義都是獨立的。因此，例如，如果一個基團被 2 個 R 所取代，則每個 R 都有獨立的選項。

【0071】 當一個連接基團的數量為 0 時，比如  $-(CH_2)_0-$ ，表示該連接基團為共價鍵。

【0072】 當其中一個變量選自共價鍵時，表示其連接的兩個基團直接相連，比如 A-L-Z 中 L 代表共價鍵時表示該結構實際上是 A-Z。

【0073】 術語「鹵」或「鹵素」是指氟、氯、溴和碘。

【0074】 術語「羥基」指 -OH 基團。

【0075】 術語「氰基」指 -CN 基團。

【0076】 術語「巰基」指 -SH 基團。

【0077】 術語「胺基」指  $-NH_2$  基團。

【0078】 術語「硝基」指  $-NO_2$  基團。

【0079】 術語「烷基」是指通式為  $C_nH_{2n+1}$  的烴基。該烷基可以是直鏈或支鏈的。例如，術語「 $C_{1-6}$  烷基」指含有 1 至 6 個碳原子的烷基（例如甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、二級丁基、三級丁基、正戊基、1-甲基丁基、2-甲基丁基、3-

甲基丁基、新戊基、己基、2-甲基戊基等)。類似地，烷氧基、烷基胺基、二烷基胺基、烷基磺醯基和烷硫基的烷基部分(即烷基)具有上述相同定義。

**【0080】** 術語「烷氧基」指-O-烷基。

**【0081】** 術語「烷基胺基」指-NH-烷基。

**【0082】** 術語「二烷基胺基」指-N(烷基)<sub>2</sub>。

**【0083】** 術語「烷基磺醯基」指-SO<sub>2</sub>-烷基。

**【0084】** 術語「烷硫基」指-S-烷基。

**【0085】** 術語「烯基」是指由碳原子和氫原子組成的直鏈或支鏈的具有至少一個雙鍵的不飽和脂肪族烴基。烯基的非限制性實例包括但不限於乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基、1-丁烯基、異丁烯基、1,3-丁二烯基等。

**【0086】** 術語「炔基」是指由碳原子和氫原子組成的直鏈或支鏈的具有至少一個三鍵的不飽和脂肪族烴基。炔基的非限制性實例包括但不限於乙炔基(-C≡CH)、1-丙炔基(-C≡C-CH<sub>3</sub>)、2-丙炔基(-CH<sub>2</sub>-C≡CH)、1,3-丁二炔基(-C≡C-C≡CH)等。

**【0087】** 術語「環烷基」指完全飽和的並且可以以單環、橋環或螺環存在的碳環。除非另有指示，該碳環通常為3至10員環。環烷基非限制性實例包括但不限於環丙基、環丁基、環戊基、環己基、降萜烯基(雙環[2.2.1]庚基)、雙環[2.2.2]辛基、金剛烷基等。

【0088】 術語「環烯基」是指不完全飽和的並且可以以單環、橋環或螺環存在的非芳族碳環。除非另有指示，該碳環通常為 5 至 8 員環。環烯基的非限制性實例包括但不限於環戊烯基、環戊二烯基、環己烯基、環己二烯基、環庚烯基、環庚二烯基等。

【0089】 術語「雜環基」是指完全飽和的或部分不飽和的（但不是完全不飽和的雜芳族）並且可以以單環、橋環或螺環存在的非芳族環。除非另有指示，該雜環通常為含有 1 至 3 個獨立地選自硫、氧和/或氮的雜原子（優選 1 或 2 個雜原子）的 3 至 7 員環。雜環基的非限制性實例包括但不限於環氧乙烷基、四氫呋喃基、二氫呋喃基、吡咯烷基、N-甲基吡咯烷基、二氫吡咯基、哌啶基、哌啶基、吡啶基、4H-吡啶基、咪啉基、硫代咪啉基、四氫噁吩基等。

【0090】 術語「雜環烷基」是指完全飽和的並且可以以單環、橋環或螺環存在的環狀基團。除非另有指示，該雜環通常為含有 1 至 3 個獨立地選自硫、氧和/或氮的雜原子（優選 1 或 2 個雜原子）的 3 至 7 員環。3 員雜環烷基的實例包括但不限於環氧乙烷基、環硫乙烷基、環氮乙烷基，4 員雜環烷基的非限制性實例包括但不限於吡啶基、哌啶基、噁丁環基，5 員雜環烷基的實例包括但不限於四氫呋喃基、四氫噁吩基、吡咯烷基、異哌啶基、哌啶基、異噁啶基、噁啶基、咪啶基、四氫吡啶基，6 員雜環烷基的實例包括但不限於哌啶基、四氫吡喃基、四氫噁

喃基、咪啉基、哌啶基、1,4-噻吩烷基、1,4-二氧六環基、硫代咪啉基、1,3-二噻烷基、1,4-二噻烷基，7 員雜環烷基的實例包括但不限於氮雜環庚烷基、氧雜環庚烷基、硫雜環庚烷基。優選為具有 5 或 6 個環原子的單環雜環烷基。

**【0091】** 術語「芳基」是指具有共軛的  $\pi$  電子體系的全碳單環或稠合多環的芳香環基團。例如，芳基可以具有 6-20 個碳原子、6-14 個碳原子或 6-12 個碳原子。芳基的非限制性實例包括但不限於苯基、萘基、蒽基和 1,2,3,4-四氫化萘等。

**【0092】** 術語「雜芳基」是指單環或稠合多環體系，其中含有至少一個選自 N、O 或 S 的環原子，其餘環原子為 C，並且具有至少一個芳香環。優選的雜芳基具有單個 4 至 8 員環，尤其是 5 至 8 員環，或包含 6 至 14 個，尤其是 6 至 10 個環原子的多個稠合環。雜芳基的非限制性實例包括但不限於吡咯基、呋喃基、噻吩基、咪唑基、噁唑基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、喹啉基、異喹啉基、四唑基、三唑基、三嗪基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、吲哚基、異吲哚基等。

**【0093】** 「衍生物」：母體化合物分子中的原子或原子團被其它原子或原子團取代形成的化合物稱為母體化合物的衍生物。

**【0094】** 本申請的化合物和中間體還可以以不同的互變異構物形式存在，並且所有這樣的形式包含於本申請的範圍內。術語「互變異構物」或「互變異構物形式」是指可經由低能障互變的

不同能量的結構異構物。例如，質子互變異構物（也稱為質子轉移互變異構物）包括經由質子遷移的互變，如酮-烯醇及亞胺-烯胺異構化。質子互變異構物的具體實例是咪唑部分，其中質子可在兩個環氮間遷移。價互變異構物包括通過一些成鍵電子的重組的互變。

**【0095】** 本申請化合物可以是不對稱的，例如，具有一個或多個立體異構物。除非另有說明，所有立體異構物都包括，如鏡像異構物和非鏡像異構物。本申請的含有不對稱碳原子的化合物可以以光學活性純的形式或外消旋形式被分離出來。光學活性純的形式可以從外消旋混合物拆分，或通過使用手性原料或手性試劑合成。

**【0096】** 本發明中所標記合成的化合物的任何原子若沒有特別指定，可代表該原子的任何一種穩定的同位素。除非特別說明，當結構中某一位置被定義為 H 即氫（H-1）時，該位置僅含天然存在的同位素。同樣，除非特別說明，當結構中某一位置被定義為 D 即氘（H-2）時，該位置含同位素量至少比天然存在的同位素量（0.015%）大 3340 倍（即至少含 50.1% 氘同位素），當所標記合成的化合物的結構中某一個或多個位置被定義為 D 即氘（H-2）時，該結構所示的化合物的含量可至少為 52.5%、至少為 60%、至少為 67.5%、至少為 75%、至少為 82.5%、至少為 90%、至少為 95%、至少為 97%、至少為 98.5%、至少為 99%、至少為 99.5%。

本發明中所標記合成的化合物的氘代率是指標記合成的同位素含量與天然存在的同位素量的比值。本發明中所標記合成的化合物的每個指定氘原子的氘代率可至少為 3500 倍 (52.5%)、至少為 4000 倍 (60%)、至少為 4500 倍 (67.5%)、至少為 5000 倍 (75%)、至少為 5500 倍 (82.5%)、至少為 6000 倍 (90%)、至少為 6333.3 倍 (95%)、至少為 6466.7 倍 (97%)、至少為 6566.7 倍 (98.5%)、至少為 6600 倍 (99%)、至少為 6633.3 倍 (99.5%)。本發明中的同位素體 (isotopologues) 是指在化學結構方面僅有同位素組成上不同的化合物。本發明中所標記合成的化合物具有相同的化學結構、僅在其分子的原子組成中同位素的變化。因此，本發明中所標記合成的在特定位置含氘化合物也同樣會含非常少的該位置的氫同位素體，本發明中所標記合成的化合物中的某位置的氫同位素體的量取決許多因素，其中包括氘代試劑 ( $D_2O$ 、 $D_2$ 、 $NaBD_4$ 、 $LiAlD_4$  等) 的氘同位素純度以及引入氘同位素合成方法的有效性。然而，如前所述這種某位置的氫同位素體的量總數將少於 49.9%。本發明中所標記合成的化合物中的某位置的氫同位素體的量總數將少於 47.5%、40%、32.5%、25%、17.5%、10%、5%、3%、1% 或 0.5%。

**【0097】** 本發明中，任何未指定為氘的各原子以其天然同位素豐度存在。

**【0098】** 術語「旁觀者效應」 (Bystander effect)，如本文所

用，指代這樣的效應，其中通過可斷裂或不可斷裂接頭偶聯至抗體或其抗原結合片段的細胞毒性藥物在從抗體或其抗原結合片段釋放後有能力擴散穿過細胞膜，並從而引起對相鄰細胞的殺傷。擴散穿過細胞膜的能力與細胞毒性藥物或細胞毒性藥物和接頭的組合的疏水性有關。此類細胞毒性藥物可以例如是艾日布林或 MMAE。尤其是在具有異質靶表達的腫瘤和其中抗體穿透可能受限的實體瘤中，旁觀者效應可能是期望的。

**【0099】** 術語「治療」意為將本申請所述化合物或藥物組合物進行給藥以預防、改善或消除疾病或與所述疾病相關的一個或多個症狀，且包括但不限於：

(i) 預防疾病或疾病狀態在哺乳動物中出現，特別是當這類哺乳動物易患有該疾病狀態，但尚未被診斷為已患有該疾病狀態時；

(ii) 抑制疾病或疾病狀態，即遏制其發展；

(iii) 緩解疾病或疾病狀態，即使該疾病或疾病狀態消退；

(iv) 降低疾病或疾病狀態的任何直接或間接病理學後果。

**【0100】** 術語「治療有效量」意指(i) 治療或預防特定疾病、病況或障礙，(ii) 減輕、改善或消除特定疾病、病況或障礙的一種或多種症狀，或(iii) 預防或延遲本文中所述的特定疾病、病況或障礙的一種或多種症狀發作的本申請化合物的用量。構成「治療有效量」的本申請化合物或藥物組合物的量可根據一些因素而

變化，例如取決於該化合物或藥物組合物及其在個體中引發所需應答的能力，疾病狀態及其嚴重性，給藥方式以及待被治療的哺乳動物的年齡、性別和體重。有效量也可例行性地由本領域技術人員根據其自身的知識及本發明內容而確定。

**【0101】** 術語「藥學上可接受的」，是針對那些化合物、材料、組合物和/或劑型而言，它們在可靠的醫學判斷的範圍之內，適用於與人類和動物的組織接觸使用，而沒有過多的毒性、刺激性、過敏性反應或其它問題或併發症，與合理的利益/風險比相稱。

**【0102】** 作為藥學上可接受的鹽，例如，可以提及金屬鹽、銨鹽、與有機鹼形成的鹽、與無機酸形成的鹽、與有機酸形成的鹽、與鹼性或者酸性胺基酸形成的鹽等。

**【0103】** 術語「溶劑化物」是指化合物與溶劑分子締合形成的物質。

**【0104】** 術語「抗體」以其最廣義使用，特別涵蓋完整的單株抗體、多株抗體、至少由兩種完整抗體所形成的多特異性抗體（例如雙特異性抗體）、多功能抗體以及抗體片段，只要它們具有所需的生物學活性。

**【0105】** 術語「人源化抗體」是指一種抗體，包含來源於非人源抗體的 CDR 區，並且該抗體分子的其它部分來源於一種或多種人抗體。

**【0106】** 術語「突變體」用於指包含如下從肽的胺基酸序列衍

生出的胺基酸序列的肽：用不同於原始肽的胺基酸置換一個或兩個或更多個胺基酸，缺失一個或兩個或更多個野生型胺基酸，插入在野生型中不存在的一個或兩個或更多個胺基酸，和/或將在野生型中不存在的胺基酸添加至野生型的胺基端（N端）和/或羧基端（C端）（被統稱為「突變」）。在本發明中，「插入」也可以被包括在「添加」中。

**【0107】** 術語「**CDR**」（互補決定區），也稱為「高變區」，是指在序列上高度可變和/或形成結構限定的環的抗體可變結構域的每個區域。天然四鏈抗體通常包含六個**CDR**，三個在重鏈可變區中，三個在輕鏈可變區中。

**【0108】** 術語「可變區」是指抗體的輕鏈或重鏈的N端結構域限定的約100至110個或更多個胺基酸的主要負責抗原識別的結構域。術語輕鏈可變區（**VL**）和重鏈可變區（**VH**）分別指這些輕鏈和重鏈結構域。

**【0109】** 術語「**Fab**」是指含有輕鏈的恆定結構域（**CL**）和重鏈的第一恆定結構域（**CH1**）連同分別在輕鏈和重鏈上的可變結構域**VL**（輕鏈可變區）和**VH**（重鏈可變區）。可變結構域包含參與抗原結合的互補決定區（**CDR**）。

**【0110】** 術語「**scFv**」包括抗體的**VH**和**VL**結構域，其中這些結構域存在於單一多肽鏈中。在一些實施方案中，**scFv**還包含介於**VH**和**VL**結構域之間的多肽接頭，其使得**scFv**能夠形成抗

原結合所需的結構。

**【0111】** 術語「抗體部分」是指抗體藥物偶聯物中的抗體部分。在某些特定的方案中，其與中間接頭部分通過特定官能基連接，該抗體部分可以與抗原特異性結合。

**【0112】** 術語「接頭部分」是指抗體藥物偶聯物中將抗體部分與細胞毒性藥物部分相連接的部分，可以是可切割的或者不可切割的，可切割接頭可以在靶細胞內斷裂，從而釋放細胞毒性藥物。

**【0113】** 術語「細胞毒性藥物部分」是指抗體藥物偶聯物中的細胞毒性藥物部分。在某些特定的方案中，其與中間接頭部分通過官能基連接，在腫瘤細胞內，會游離出細胞毒性藥物分子，從而發揮抗腫瘤效果。

**【0114】** 術語「曲妥珠單抗」通用名 **Trastuzumab**，是一種重組的人源化單株抗體，選擇性地作用於人表皮生長因子受體-2（HER2）的 ECD4，可以用於治療 HER2 陽性的癌症，其一個實例是以商品名 **HERCEPTIN®** 上市的治療性單株抗體產品。

**【0115】** 術語「**Patritumab**」或「帕曲妥單抗」是一種全人源抗 HER3 的單株抗體，可以用於治療表達 HER3 蛋白的癌症。

**【0116】** 術語「HER2」是 EGFR 家族的第二個成員，具有酪胺酸激酶活性，其中 HER2 表達程度可以按照免疫組織化學檢測法進行檢測，HER2 陽性指 IHC3+，HER2 陰性指 IHC1+/0，對於 IHC2+ 的情況應該再進行 ISH 檢測以進一步明確。

**【0117】** 術語「HER3」(人表皮生長因子受體 3, 也稱為 ErbB3) 是受體蛋白酪胺酸激酶, 並且屬受體蛋白酪胺酸激酶的表皮生長因子受體 (EGFR) 亞家族, 其還包括 HER1 (也稱為 EGFR)、HER2 和 HER4。HER3 是跨膜受體, 並且由細胞外配體結合結構域 (ECD)、ECD 內的二聚結構域、跨膜結構域和胞內蛋白酪胺酸激酶結構域 (TKD) 及 C 末端磷酸化結構域構成。已發現 HER3 在若干類型的癌 (例如乳腺癌、腸胃癌和胰腺癌) 中過度表達。已示出 HER2/HER3 的表達與從非侵襲進展至侵襲階段之間的關聯。

**【0118】** 術語「三陰性乳腺癌」是指雌激素受體、孕激素受體和人表皮生長因子受體 2 表達都為陰性的乳腺癌。

**【0119】** 術語「EC<sub>50</sub>」是指有效濃度, 該濃度引起抗原結合構建體的 50% 最大應答。EC<sub>50</sub> 可以通過 ELISA 或 FACS 分析或本領域已知的任何其它方法進行測量。

**【0120】** 術語「同一性」, 也稱一致性。胺基酸序列的「同一性百分數 (%)」是指將待比對序列與本文中所示的具體胺基酸序列進行比對並且如有必要的話為達到最大序列同一性百分數而引入空位後, 並且不考慮任何保守置換作為序列同一性的一部分時, 待比對序列中與本文中所示的具體胺基酸序列的胺基酸殘基相同的胺基酸殘基百分數。同一性的胺基酸序列比對可以採用本領域範圍內的多種方式進行, 例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或

Megalign (DNASTAR) 軟體。本領域具有通常知識者可決定用於比對序列的適宜參數，包括在比較序列的全長裡獲得最大比對需要的任何算法。

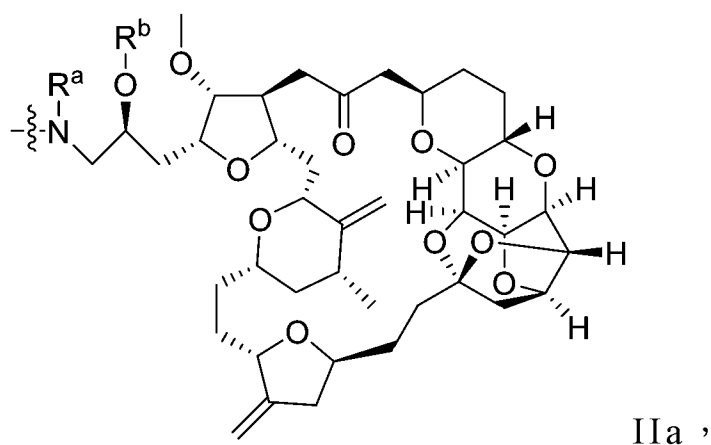
**【0121】** 在本文中，術語「受試者」、「患者」或「主體」可互換使用。在一些實施方案中，術語「受試者」、「患者」或「主體」是哺乳動物。在部分實施方案中，所述受試者、患者或主體是小鼠。在部分實施方案中，所述受試者、患者或主體是人。

**【0122】** 如本文所用，「約」表示在本領域具有通常知識者判定的對特定值可以接受的誤差範圍內，其部分取決於如何測量或測定該值，即測量系統的限制。例如，「約」按照本領域實踐可表示 1 倍或超過 1 倍標準差以內。或者，「約」可以表示多至  $\pm 5\%$  的範圍，例如在所給定的具體數值範圍  $\pm 2\%$  範圍內、 $\pm 1\%$  範圍內或  $\pm 0.5\%$  範圍內波動。當本申請或發明申請專利範圍中給出特定值時，除非另有說明，「約」的含義應認為是在該特定值的可接受的誤差範圍內。在本文中，除非另有說明，步驟參數或條件的值默認均由「約」修飾。

**【0123】** 本發明還提供了以下一些具體的實施方案，但本發明的保護範圍不限於此：

**【0124】** 實施方案 1. 具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中  $Ab$  表示抗體部分， $L$  表示接頭部分， $U$  表示細胞毒性藥物部分， $n$  為選自 1 至 10 的整數

或小數，其特徵在於，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIa 所示的結構：



其中，

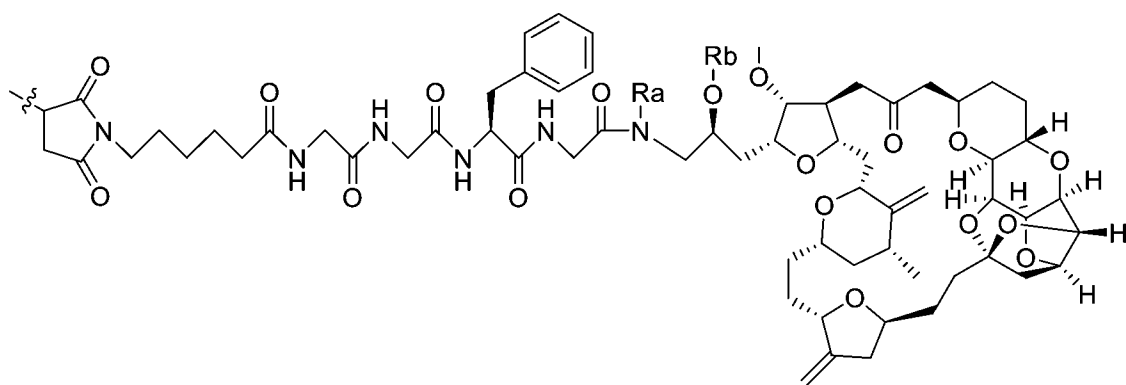
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

或者，

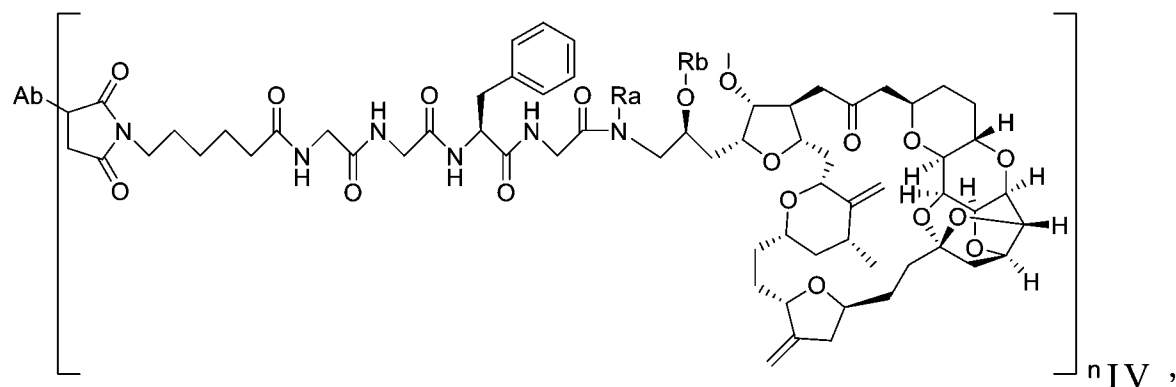
$R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。

**【0125】** 實施方案 2. 根據實施方案 1 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIIa 所示的結構：



IIIa。

【0126】 實施方案 3. 根據實施方案 1 或 2 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物為以下式 IV 所示結構：



其中，

Ab 表示抗體部分，

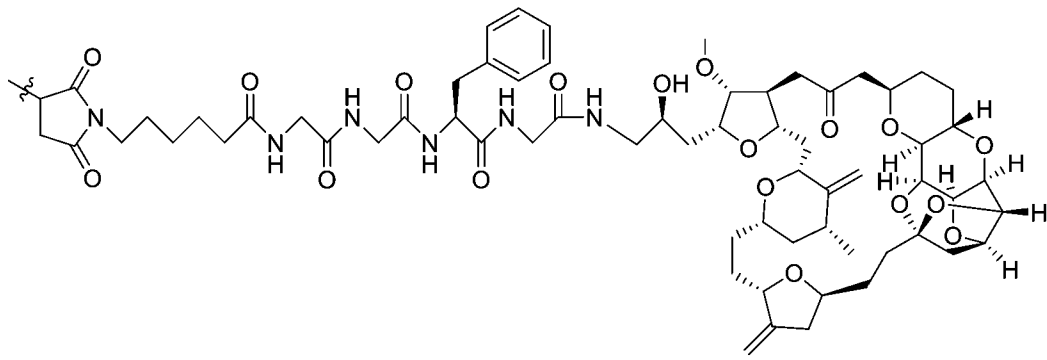
n 為選自 1-10 的整數或小數。

【0127】 實施方案 4. 根據實施方案 1-3 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中， $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。

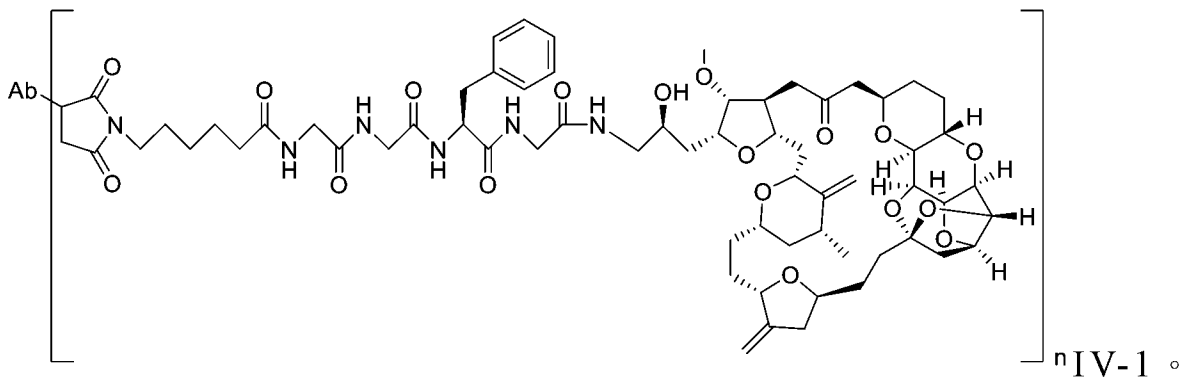
【0128】 實施方案 5. 根據實施方案 1 或 2 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIIa-1 所示的結構：

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

第 38 頁，共 64 頁（發明說明書）



【0129】 實施方案 6. 根據實施方案 3 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物為以下式 IV-1 所示結構：



【0130】 實施方案 7. 根據實施方案 1-6 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述 n 為 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。

【0131】 實施方案 8. 根據實施方案 7 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述 n 為約 2.6、約 4、約 4.2、約 4.8、約 7、約 7.1、約 7.5、約 7.6、約 7.9 或約 8。

【0132】 實施方案 9. 根據實施方案 1-8 中任一項所述的抗體

藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述 Ab 為抗 HER3 抗體或其抗原結合片段。

【0133】 實施方案 10. 根據實施方案 9 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 1 所示胺基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示胺基酸序列的 HCDR2，包含 SEQ ID NO: 3 所示胺基酸序列的 HCDR3，包含 SEQ ID NO: 4 所示胺基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示胺基酸序列的 LCDR2 和包含 SEQ ID NO: 6 所示胺基酸序列的 LCDR3。

【0134】 實施方案 11. 根據實施方案 10 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 7 所示胺基酸序列具有至少 80% 同一性的胺基酸序列，所述輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 8 所示胺基酸序列具有至少 80% 同一性的胺基酸序列；或所述重鏈可變區包含 SEQ ID NO: 7 所示胺基酸序列，所述輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 8 所示胺基酸序列。

【0135】 實施方案 12. 根據實施方案 10 或 11 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，所述重鏈包含與 SEQ ID NO: 9 所示胺基酸序列具有至少 80% 同一性的胺基酸序列，所述

輕鏈包含與 SEQ ID NO: 10 所示胺基酸序列具有至少 80%同一性的胺基酸序列。

**【0136】** 實施方案 13. 根據實施方案 9 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體為帕曲妥單抗。

**【0137】** 實施方案 14. 根據實施方案 9-13 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物展現出下述性質中的一種或多種的組合：

- (a) 結合 HER3；
- (b) 阻斷 HER3 與配體的結合；
- (c) 在表達 HER3 的細胞中顯示內吞作用；
- (d) 對表達 HER3 的腫瘤細胞具有殺傷活性；
- (e) 具有旁觀者效應。

**【0138】** 實施方案 15. 一種藥物組合物，其包含實施方案 1-14 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物；任選地，所述藥物組合物還包括可藥用載體。

**【0139】** 實施方案 16. 實施方案 1-14 任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物或者實施方案 15 所述的藥物組合物在製備用於治療癌症的藥物中的用途；優選地，所述癌症為 HER3 陽性癌症；優選地，所述癌症為膽道癌、癌肉瘤、

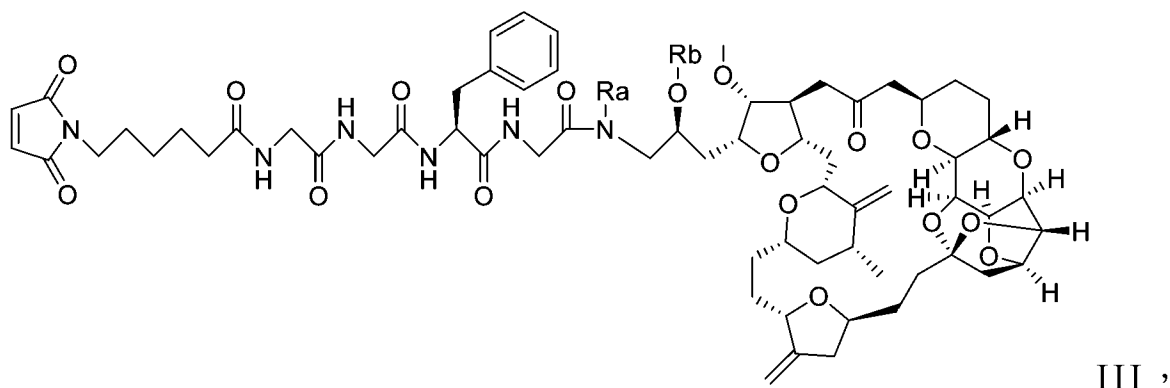
食管癌、胃食管結合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、頭頸癌、結直腸癌、腎癌、宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、子宮癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮膚癌、肺癌、多形膠質母細胞瘤、膠質母細胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、鱗狀細胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、睪丸癌、肛門癌或陰莖癌。

**【0140】** 實施方案 17. 一種治療癌症的方法，其包括向有需要的患者施用治療有效量的實施方案 1-14 任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物或者實施方案 15 所述的藥物組合物；優選地，所述癌症為 HER3 陽性癌症。

**【0141】** 實施方案 18. 根據實施方案 17 所述的方法，所述方法包括使腫瘤細胞與所述抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物、或者所述藥物組合物接觸，從而殺傷腫瘤細胞或抑制腫瘤細胞生長。

**【0142】** 實施方案 19. 根據實施方案 17 或 18 所述的方法，其中所述癌症為膽道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管結合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、頭頸癌、結直腸癌、腎癌、宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、子宮癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮膚癌、肺癌、多形膠質母細胞瘤、膠質母細胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、鱗狀細胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、睪丸癌、肛門癌或陰莖癌。

【0143】 實施方案 20. 一種具有式 III 所示結構的接頭-藥物中間體化合物：



其中，

$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

或者  $R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。

【0144】 實施方案 21. 根據實施方案 20 所述的接頭-藥物中間體化合物，其特徵在於， $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。

【0145】 為清楚起見，進一步用實施例來闡述本發明，但是實施例並非限制本申請的範圍。本申請所使用的試劑通常是市售的，

無需進一步純化即可使用。

**【0146】** 本申請實施例中採用的帕曲妥單抗（Patritumab）按照抗體的常規方法進行製備，先進行表達載體（包括例如 CN107001463A 披露的 pcDNA3.1 載體、CN109422811A 披露的 pCHO1.0 載體等）構建，轉染 Expi-CHO 宿主細胞之後進行表達，並採用 Protein A 親和層析進行純化；帕曲妥單抗重鏈和輕鏈的胺基酸序列分別如 SEQ ID NO:9 和 10 所示。氘代 MC-GGFG-DXd（MC-GGFG-DDDXd）的合成參見專利公開 WO2022033578A1 中實施例 14 中的方法。

**【0147】** 本申請實施例中涉及的細胞及其來源如下表所示：

細胞	來源
NCI-N87	中國科學院細胞庫
BT474	中科院
SKBR3	中美冠科
SK-OV3	中國科學院細胞庫
JIMT-1	ATCC
Capan1	北納生物
MCF-7	中國科學院細胞庫
KYSE410	雅吉生物
MDA-MB-468	北納生物
HCC1569	南京科佰
SW620	南京科佰
A549	中國醫學科學院基礎醫學研究所基礎醫學細胞中心
WiDr	南京科佰



2H), 4.65-4.60 (m, 2H), 4.56 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 4.26 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 4.21-4.14 (m, 1H), 4.10 (s, 3H), 4.05-3.98 (m, 1H), 3.86-3.64 (m, 8H), 3.60-3.45 (m, 4H), 3.37-3.30 (m, 2H), 3.26 (s, 4H), 3.17-3.09 (m, 1H), 3.08-2.99 (m, 2H), 2.84 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 2.86-2.66 (m, 3H), 2.56-2.50m, 1H), 2.37-2.18 (m, 5H), 2.15-2.05 (m, 3H), 2.05-1.96 (m, 2H), 1.95-1.84 (m, 4H), 1.75-1.57 (m, 6H), 1.55-1.38 (m, 6H), 1.35-1.25 (m, 3H), 1.23-1.12 (m, 3H), 1.03 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.00-0.92 (m, 1H).

**【0150】** 實施例 2 抗體藥物偶聯物的製備

**【0151】** 試劑：

溶液 A：pH 7.4 PBS 緩衝液

溶液 B：10 mM TCEP（三(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽）水溶液

溶液 C：DMSO

溶液 D：組胺酸緩衝液（含 L-組胺酸 0.89 mg/mL 和鹽酸 L-組胺酸一水合物 4.04 mg/mL）

溶液 E：700 mg/mL 蔗糖溶液（用溶液 D 配製）

溶液 F：20 mg/mL 吐溫 80（用溶液 D 配製）

**【0152】** 實驗流程：

**【0153】** 1、抗體置換

a、將 30 KD 的超濾離心管用溶液 A 充分潤濕

b、將抗體置換到溶液 A 中

c、加入適量溶液 A 調節抗體濃度

**【0154】** 2、抗體還原

a、計算抗體莫耳量，記為 N1

b、向抗體溶液中加入適量溶液 B，使反應體系 TCEP 莫耳量為 N2

c、鋁箔包紮，置於旋轉培養儀上低速（20 rpm）震搖，37°C避光反應 1 h

**【0155】 3、偶聯**

a、取適量 linker-payload，用 DMSO 溶解，最終濃度為 10 mg/mL

b、向抗體溶液中加入 DMSO，使濃度為 5%，再加入適量 linker-payload 溶液，使莫耳量為 N3

c、鋁箔包紮，置於旋轉培養儀上低速（20 rpm）震搖，22°C避光反應 1.5 h

**【0156】 4、偶聯終止**

a、用溶液 D 將超濾離心管潤濕

b、將抗體置換至溶液 D 中，加入適量溶液 E、F，-80°C凍存

**【0157】** 抗體藥物偶聯物的 DAR 值（每一分子抗體的藥物平均連接數）測定

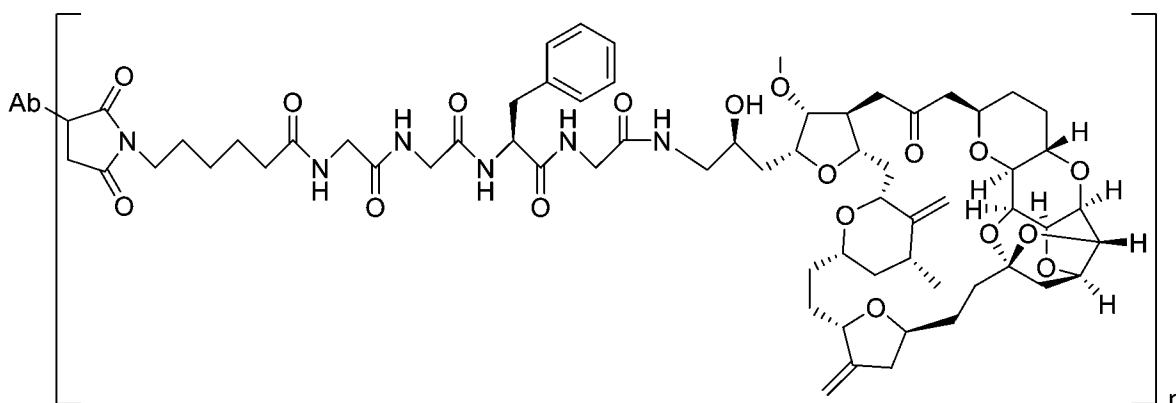
**【0158】** 採用 LC-MS 方法測定 DAR 值。取 50 µg ADC 樣品，加入 1 µL 糖苷酶 PNGase F（瑞安生物，中國），在 37°C 孵育 20 小時。實驗中的質譜儀為高分辨的 Xevo G2-XS（Waters，美國）。將樣品濃度調至 5 µM，採用直接進樣法，採集正離子模式下的質  
SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

譜數據。採集的非變性質譜數據採用軟體 UNIFI 1.8.2.169 (Waters, 美國) 進行分析處理。

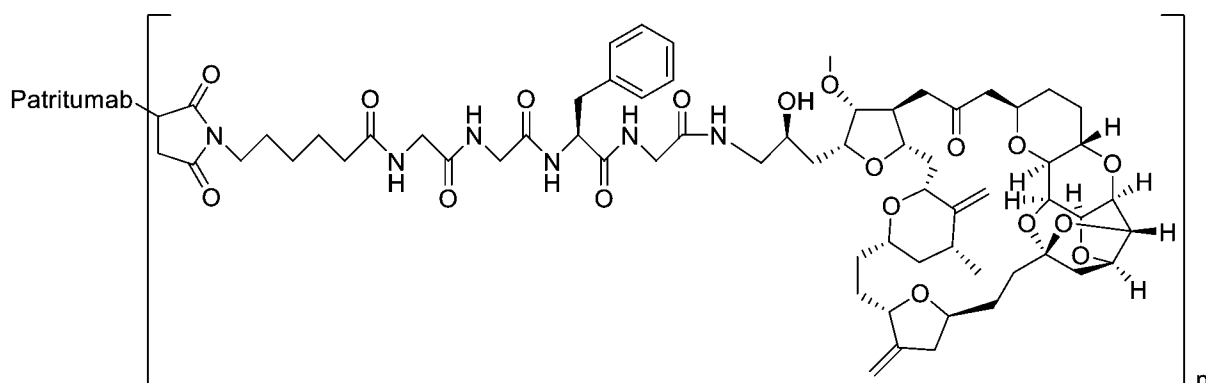
**【0159】 抗體藥物偶聯物的蛋白濃度測定**

**【0160】** 採用 lowry 法檢測蛋白濃度。用微量盤分析儀測定樣品在 OD<sub>650</sub> 波長的吸光度值，擬合標準曲線，將樣品吸光度值帶入標準曲線，計算蛋白濃度。

**【0161】** 通過以上方法製備式 IV-1 的抗體藥物偶聯物 (包括 IV-1(Patritumab)) 以及式 IV 系列的其它抗體藥物偶聯物：



IV-1



IV-1(Patritumab)

**【0162】** 分別製備得到樣品 1：DAR=4.8、蛋白濃度=1.71 mg/mL 和樣品 2：DAR=7.1、蛋白濃度=1.65 mg/mL。

**【0163】** 實施例 3 小分子細胞毒性化合物以及抗體藥物偶聯物的細胞活性

**【0164】** 將小分子細胞毒性化合物使用培養基稀釋至 35000 ng/mL-0.0896 ng/mL，共 9 個濃度。取對數生長期腫瘤細胞，調整密度至  $1 \times 10^5$  cells/mL 進行鋪板，每孔加入 100  $\mu$ L，並設置無細胞空白孔作為對照。加入上述梯度稀釋的樣品，每孔 50  $\mu$ L。於 37°C、5% CO<sub>2</sub> 二氧化碳培養箱中培養 5 天。移除培養液，加入 CCK-8（日本同仁化學，貨號：CK04）工作液，每孔 100  $\mu$ L，孵育顯色 4-5 小時後置於微量盤分析儀中（廠家 Thermo，型號：VarioskanFlash），以 630 nm 為參考波長，讀取並記錄波長 450 nm 下孔板的吸光度值。計算腫瘤細胞增殖抑制率。

**【0165】** 將抗體藥物偶聯物使用培養基稀釋至 5000 ng/mL-0.0128 ng/mL，共 9 個濃度。取對數生長期腫瘤細胞，調整密度至  $2 \times 10^4$  cells/mL 進行鋪板，每孔加入 100  $\mu$ L，並設置無細胞空白孔作為對照。加入上述梯度稀釋的樣品，每孔 50  $\mu$ L。於 37°C、5% CO<sub>2</sub> 二氧化碳培養箱中培養。移除培養液，加入 CTG 檢測液（Promega，貨號：G7572），每孔 100  $\mu$ L，孵育顯色 10 min 後置於多功能讀板（廠家 Thermo，型號：VarioskanFlash），讀取化學發光值。計算腫瘤細胞增殖抑制率。

**【0166】** IV-1(Patritumab)細胞活性：

細胞系	EC <sub>50</sub> (nM)	
	DAR=4.8	DAR=7.1

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

第 49 頁，共 64 頁（發明說明書）

MCF-7	0.08	0.05
BT474	0.07	0.04
SKBR3	0.17	0.08

**【0167】** 實施例 4 抗體藥物偶聯物的製備

**【0168】** 試劑：

溶液 G：組胺酸/鹽酸組胺酸緩衝液（L-組胺酸 1.43 mg/mL、鹽酸 L-組胺酸一水合物 2.27 mg/mL）；

溶液 H：10 mM TCEP（三(2-羧基乙基)膦鹽酸鹽）水溶液；

溶液 I：DMSO（二甲基亞砜）；

溶液 J：500 mg/mL 蔗糖溶液（用溶液 G 配製）；

溶液 K：30 mg/mL 吐溫 80（用溶液 G 配製）；

溶液 L：10% DMSO 的溶液 G；

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

抗體：帕曲妥單抗；

linker-payload（接頭-藥物中間體化合物）：實施例 1 中式 III-1 所示結構的化合物 MC-GGFG-艾日布林（製備帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物時使用）；MC-GGFG-DDDXd（製備帕曲妥單抗-DDDXd 偶聯物時使用）。

**【0169】**（1）按照如下實驗流程製備 DAR 為 2.6 或 7.6 的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物，分別命名為帕曲妥單抗-艾日布林-D2 和帕曲妥單抗-艾日布林-D8；按照如下實驗流程製備 DAR 為 7.9 的帕曲妥單抗-DDDXd 偶聯物，命名為帕曲妥單抗-DDDXd-D8：

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

第 50 頁，共 64 頁（發明說明書）

【0170】 實驗流程：

【0171】 1、抗體置換：

將 30 KD 的超濾離心管用溶液 G 充分潤濕，將抗體置換到溶液 G 中，加入適量溶液 G 調節抗體濃度為 10 mg/mL；之後加入適量溶液 M 調節抗體溶液的 pH 約為 7.0。

【0172】 2、抗體還原：

計算抗體莫耳量，記為 N1；向抗體溶液中加入適量溶液 H，使反應體系 TCEP 莫耳量為 N2；將獲得的混合物於 37°C 避光振蕩 1 h，從而抗體二硫鍵被還原，獲得反應溶液 1。

【0173】 3、抗體與接頭-藥物中間體化合物的偶聯：

取適量 linker-payload，用 50% 丙酮水溶液溶解，最終濃度為 10 mg/mL；向反應溶液 1 中加入溶液 I（溶液 I:反應溶液 1（v/v）=1:10），混勻，再加入適量的上述用丙酮水溶液溶解的 linker-payload 溶液，使 linker-payload 的莫耳量為 N3；反應混合物於 22°C 避光振蕩 1 h，獲得反應溶液 2。

【0174】 4、偶聯反應的終止：

用溶液 L 將超濾離心管潤濕；先後用 20 倍體積的溶液 L 和 20 倍體積的溶液 G 來超濾反應溶液 2，加入適量溶液 J、K，-80°C 凍存。

【0175】 其中，實驗條件及組別如下表 1-1 所示。

【0176】 表 1-1 實驗條件及組別

ADC	抗體	linker-payload	N1:N2	N1:N3
帕曲妥單抗- 艾日布林-D2	帕曲妥單抗	MC-GGFG-艾日 布林	1:2	1:3
帕曲妥單抗- 艾日布林-D8	帕曲妥單抗	MC-GGFG-艾日 布林	1:8.5	1:10.5
帕曲妥單抗- DDDXd-D8	帕曲妥單抗	MC-GGFG- DDDXd	1:8.5	1:10.5

【0177】 (2) 按照如下實驗流程製備 DAR 為 4.0-4.2 的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物，命名為帕曲妥單抗-艾日布林-D4：

【0178】 實驗流程：

【0179】 1、抗體置換：

將 30 KD 的超濾離心管用溶液 G 充分潤濕，將抗體置換到溶液 G 中，加入適量溶液 G 調節抗體濃度為 10 mg/mL；之後加入適量溶液 M 調節抗體溶液的 pH 約為 7.0。

【0180】 2、抗體還原：

計算抗體莫耳量，記為 N1；向抗體溶液中加入適量溶液 H，使反應體系 TCEP 莫耳量為 N2；將獲得的混合物於 5-10°C 避光反應 6 h，從而抗體二硫鍵被還原，獲得反應溶液 3。

【0181】 3、抗體與接頭-藥物中間體化合物的偶聯：

取適量 linker-payload，用 50% 丙酮水溶液溶解，最終濃度為 10 mg/mL；向反應溶液 3 中加入適量的上述用丙酮水溶液溶解的 linker-payload 溶液，使 linker-payload 的莫耳量為 N3；反應混合物於 5-10°C 避光反應 40 min，獲得反應溶液 4。

**【0182】** 4、偶聯反應的終止：

用溶液 L 將超濾離心管潤濕；先後用 20 倍體積的溶液 L 和 20 倍體積的溶液 G 來超濾反應溶液 4，加入適量溶液 J、K，-80°C 凍存。

**【0183】** 其中，實驗條件及組別如下表 1-2 所示。

**【0184】** 表 1-2 實驗條件及組別

ADC	抗體	linker-payload	N1:N2	N1:N3
帕曲妥單抗- 艾日布林-D4	帕曲妥單抗	MC-GGFG-艾日 布林	1:2.58	1:5.1

**【0185】** 實施例 5 抗體藥物偶聯物的 DAR 值測定

**【0186】** 採用鍵合丁基的無孔聚苯乙烯/二乙烯苯（PS/DVB）填料對上述實施例 4 製備的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物各組分進行分離，利用中性高鹽流動相提高蛋白分子的疏水性質，從而和層析柱中疏水的鍵合相結合，而後通過逐步降低鹽濃度，並逐步增大異丙醇的比例溶析物質，疏水性小的組分先溶析，疏水性大的組分後溶析。

**【0187】** 層析柱規格為 Sepax HIC-Butyl、4.6×100 mm、5 μm，柱溫 25°C。流動相 A 為 10 mM 磷酸鹽緩衝液-1.5 M 硫酸銨，pH 7.0（稱取無水磷酸氫二鈉 1.42 g、硫酸銨 198.21 g，加入約 800 mL 超純水，攪拌至充分溶解後，用磷酸調節至 pH 7.0±0.1，定容至 1 L，混勻後經 0.22 μm 濾膜過濾）。流動相 B 為 10 mM 磷酸鹽緩衝液，pH 7.0（稱取無水磷酸氫二鈉 1.42 g，加入約 800 mL

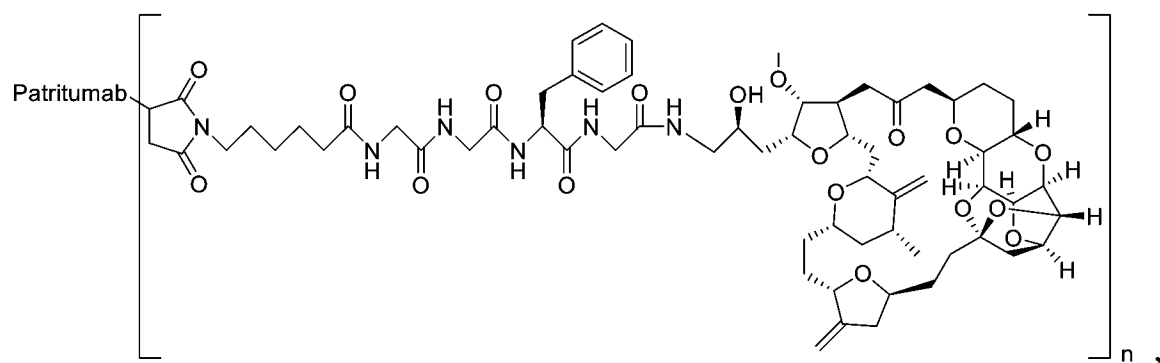
SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

超純水，攪拌至充分溶解後，用磷酸調節至 pH 7.0±0.1，定容至 1 L，混勻後經 0.22 μm 濾膜過濾）。流動相 C 為 100% 異丙醇。流速為 0.5 mL/min，梯度溶析 30 min，流動相參數為：0-15 min 由 75% 流動相 A 加 25% 流動相 B 升至 75% 流動相 B 加 25% 流動相 C，15-20 min 為 75% 流動相 B 加 25% 流動相 C，20-30 min 為 75% 流動相 A 加 25% 流動相 B）。用第 0 min 初始流動相將帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物稀釋 1 倍作為供試品溶液，根據帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物濃度調整進樣體積進樣 50 μg 蛋白，在 280 nm 波長處檢測吸光度值。

**【0188】** 數據處理，採用面積歸一化法對結果進行定量分析。分別計算含有 0、1、2、3、4、5、6、7 和 8 個細胞毒性藥物的 ADC 的峰面積百分比，並計算 DAR 值結果。計算公式為：DAR 值=(含有 0 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×0+含有 1 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×1+含有 2 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×2+含有 3 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×3+含有 4 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×4+含有 5 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×5+含有 6 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×6+含有 7 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×7+含有 8 個細胞毒性藥物的 ADC 峰面積百分比×8)/100%。

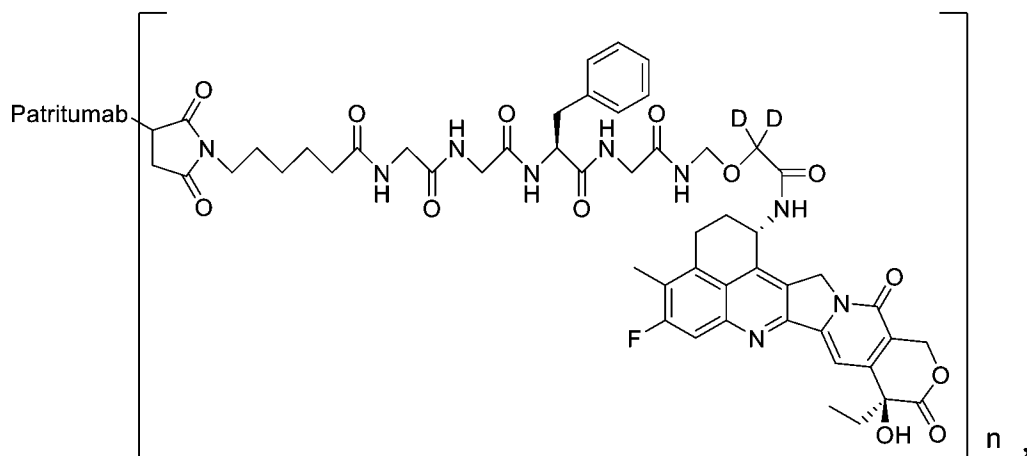
**【0189】** 通過實施例 4 和實施例 5 的方法製備並測定帕曲妥

單抗-艾日布林偶聯物，其具有如下結構：



其中，帕曲妥單抗-艾日布林-D2，其測得的 DAR 值為 2.6；  
 帕曲妥單抗-艾日布林-D4，其測得的 DAR 值為 4-4.2；帕曲妥單  
 抗-艾日布林-D8，其測得的 DAR 值為 7.6。

**【0190】** 通過實施例 4 和實施例 5 的方法製備並測定帕曲妥  
 單抗-DDDXd-D8，其具有如下結構：



其測得的 DAR 值為 7.9。

**【0191】** 實施例 6 抗體藥物偶聯物的聚集體驗證

**【0192】** 採用凝膠層析柱對上述實施例 4 製備的帕曲妥單抗-  
 藥物偶聯物各組分進行分離。利用添加 10% 異丙醇的中性 pH 緩  
 衝液作為流動相進行溶析，各組分按照分子量由大到小的順序依

次被洗出。層析柱為 ACQUITY UPLC Protein BEH SEC Column 200Å、1.7 μm、4.6×300 mm 規格的凝膠層析柱，柱溫 25°C。流動相為 50 mM 磷酸鹽緩衝液-200 mM 氯化鈉-10%異丙醇，pH 7.0（稱取十二水合磷酸氫二鈉 12.53 g、二水合磷酸二氫鈉 2.33 g、氯化鈉 11.69 g，加入約 800 mL 超純水，攪拌至充分溶解，加超純水至 1000 mL 備用，取異丙醇 100 mL 加上述溶液至 1000 mL，混勻後經 0.22 μm 濾膜過濾）。精密取 20 μg 帕曲妥單抗-藥物偶聯物注入液相層析儀，在 280 nm 波長處檢測。流速為 0.3 mL/min，等度溶析 15 min。

【0193】 數據處理，採用面積歸一化法對結果進行定量分析。分別計算聚集體、免疫球蛋白單體和低分子量雜質的峰面積百分比，其中主峰前為聚集體，主峰為免疫球蛋白單體，主峰後為低分子量雜質。帕曲妥單抗-藥物偶聯物的單體、聚集體及低分子量雜質含量比例見表 2。

【0194】 表 2 帕曲妥單抗-藥物偶聯物的單體、聚集體及低分子量雜質含量

名稱	帕曲妥單抗 -艾日布林- D2	帕曲妥單抗 -艾日布林- D4	帕曲妥單抗- 艾日布林- D8	帕曲妥單抗 -DDDXd-D8
聚集體	0.29%	0.52%	0%	0.95%
單體	98.36%	97.85%	97.44%	97.55%
低分子片段	1.35%	1.62%	2.56%	1.5%

【0195】 實施例 7 抗體藥物偶聯物的細胞結合活性

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

第 56 頁，共 64 頁（發明說明書）

【0196】 基於 FACS 的方法，以帕曲妥單抗-DDDXd-D8 和帕曲妥單抗作為對照，分析上述實施例 4 製備的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物與不同 HER3 表達程度細胞的結合活性，包括 HER3 高表達程度的 MCF-7、HCC1569、BT474 細胞，HER3 中表達程度的 MDA-MB-468、JIMT-1 細胞，HER3 低表達程度的 SW620 細胞以及 HER3 陰性的 A549 細胞。

【0197】 將  $1 \times 10^5$  個細胞加入到 96 孔細胞培養板的各孔中，帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物以 135.14 nM 起始濃度，4 倍稀釋、9 個濃度梯度，稀釋於 FACS buffer (Miltenyi Biotec, 貨號: 130-091-221) 中，於 4°C 孵育 60 min 後，1000 rpm 離心 5 min，移除上清，用預冷 PBS (pH 7.4) 洗滌 3 次，加入按照 1:200 (v/v) 稀釋的羊抗人 IgG Fc $\gamma$ -PE 二抗 (Jackson immunoresearch, 貨號: 109-116-170)，100  $\mu$ L/孔，4°C 孵育 30 min。用預冷 PBS (pH 7.4) 洗滌 3 次，用 100  $\mu$ L PBS (pH 7.4) 重懸，然後使用流式細胞儀 (Sartorius, iQUE) 分析檢測螢光訊號。通過染色的平均螢光強度 (MFI) 來測量帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物和對照與上述各細胞的結合活性。使用 GraphPad Prism5 分析數據，結果如圖 1A-1G 所示，計算的 EC<sub>50</sub> 在下表 3 中示出。結果表明，各 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物與 HER3 高、中、低表達程度細胞的結合活性均與帕曲妥單抗的相當，與 HER3 陰性的 A549 細胞無結合。

**【0198】** 表 3 帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物與不同 HER3 表達程度細胞的結合活性

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

\*：未檢測。

**【0199】** 實施例 8 抗體藥物偶聯物的內吞實驗

**【0200】** 基於 FACS 的方法，以帕曲妥單抗-DDDXd-D8 和帕曲妥單抗作為對照，分析上述實施例 4 製備的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物在不同 HER3 表達程度細胞中的內吞情況，包括 HER3 高表達程度的 MCF-7、BT474 細胞，HER3 中表達程度的 NCI-N87 細胞以及 HER3 低表達程度的 SW620 細胞。

**【0201】** 調整細胞密度為  $1 \times 10^6$  個/mL，50  $\mu$ L/孔加入 96 孔細胞培養板。樣品準備：將帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物預稀釋至濃度為 20  $\mu$ g/mL，標記為 S1，其後按 3 倍濃度梯度稀釋，獲得 9

個樣品 S1-S9；把梯度稀釋的樣品溶液加到細胞培養板中，每孔加 50  $\mu\text{L}$ ，4°C 孵育 30 min。孵育結束後取出 96 孔細胞培養板，置於 4°C，400 g 離心 4 min，移除上清。按照 1:200 (v/v) 稀釋 pHrodo™ Green Maleimide (綠色馬來醯亞胺；Invitrogen，貨號：P35370) 標記的 AffiniPure Goat Anti-Human IgG, Fc $\gamma$  fragment specific (羊抗人 IgG，Fc 片段特異性抗體；Jackson Immuno；貨號：109-005-190)，每孔加 50  $\mu\text{L}$  後於 4°C 孵育。30 min 後洗滌，每孔加入 50  $\mu\text{L}$  細胞培養基，混勻後置於 37°C 內化 2 h，置於流式細胞儀 (Sartorius, iQUE)，測定 BL1 通道的螢光讀值。使用 GraphPad Prism5 分析數據，結果如圖 2A-2D 所示，計算的 EC<sub>50</sub> 在下表 4 中示出。結果表明，各 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物在 HER3 高、中表達程度細胞中表現出明顯的內吞作用，在低表達程度的 SW620 細胞中內吞作用較弱。

**【0202】** 表 4 帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物在不同 HER3 表達程度細胞中的內吞作用

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

**【0203】** 實施例 9 抗體藥物偶聯物的細胞殺傷活性

【0204】 為檢測上述實施例 4 製備的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物對腫瘤細胞的增殖抑制作用，以帕曲妥單抗-DDDXd-D8 作為對照，分別用不同 HER3 表達程度的細胞進行殺傷活性檢測，包括 HER3 高表達程度的 BT474、MCF-7、HCC1569 細胞，HER3 中表達程度的 SKBR3、NCI-N87、JIMT-1、MDA-MB-468 細胞，以及 HER3 低表達程度的 SW620、WiDr 細胞。

【0205】 取對數生長期的細胞加入 96 孔板，100  $\mu$ L/孔，細胞密度為  $1 \times 10^4$  個/mL 或  $2 \times 10^4$  個/mL。37°C、5% CO<sub>2</sub> 貼壁過夜培養。樣品準備：將帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物用含 10% FBS 的基礎培養基配製成待測樣品（5  $\mu$ g/mL 起始，5 倍梯度稀釋、九個梯度）。取出過夜貼壁培養的細胞，實驗組加入 50  $\mu$ L/孔稀釋好的待測樣品，對照組加入 50  $\mu$ L/孔含 10% FBS 的基礎培養基，繼續培養 96 h、120 h 或 144 h 後採用 CellTiter-Glo Luminescent Cell 試劑盒（Promega，貨號：G7572）檢測，取出 96 孔板，在每孔中加入 75  $\mu$ L CTG 檢測液（Promega，貨號：G7572），震盪混勻，室溫避光孵育 10 min 後每孔各吸取 180  $\mu$ L 轉移至不透明白板，去除氣泡，讀取化學發光值，並計算殺傷率。

【0206】 殺傷率（%）=  $(1 - \text{實驗組發光值} / \text{對照組發光值}) \times 100\%$ 。

【0207】 用 Graphpad Prism5 分析處理數據，結果如圖 3A-3I 所示，計算的 EC<sub>50</sub> 在下表 5-1 和 5-2 中示出。結果表明，對於

HER3 高、中、低表達程度細胞，DAR 值越大，帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物的殺傷活性越強，且各 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物的殺傷活性均優於帕曲妥單抗-DDDXd-D8。

【0208】 表 5-1 帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物對 HER3 高表達程度細胞的殺傷活性

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

【0209】 表 5-2 帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物對 HER3 中表達程度細胞的殺傷活性

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

【0210】 實施例 10 抗體藥物偶聯物在 JIMT-1 人乳腺癌細胞

裸小鼠皮下移植瘤模型中的藥效學評價

SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

【0211】 通過曲妥珠單抗耐藥細胞株 JIMT-1 人乳腺癌細胞裸小鼠皮下移植瘤模型評價上述實施例 4 製備的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物的體內藥效。

【0212】 在 SPF 級雌性裸小鼠（來源：常州卡文斯實驗動物有限公司）右側腋窩皮下接種 JIMT-1 細胞， $2 \times 10^6$  個/隻。待腫瘤平均體積達 100-300 mm<sup>3</sup> 時，將動物分成 5 組，每組 6 隻，具體分組和給藥方案在表 6 中示出。

【0213】 表 6 分組和給藥方案

組別	藥物	劑量 ( mg/kg )	給藥途徑	給藥頻次
1	溶媒對照	N/A	尾靜脈注射	Q1W
2	帕曲妥單抗-DDDXd-D8	3	尾靜脈注射	Q1W
3	帕曲妥單抗-艾日布林-D2	3	尾靜脈注射	Q1W
4	帕曲妥單抗-艾日布林-D4	3	尾靜脈注射	Q1W
5	帕曲妥單抗-艾日布林-D8	3	尾靜脈注射	Q1W

Q1W：每週給藥一次。

【0214】 分組當天為 d0 天，分組後 d1 天尾靜脈給藥。每週測 2-3 次瘤體積，同時給小鼠稱重，記錄數據；每日觀察與記錄小鼠一般表現。實驗結束後剝取腫瘤並稱重、拍照。

【0215】 檢測指標包括：

【0216】 腫瘤體積 TV ( mm<sup>3</sup> ) =  $1/2 \times (a \times b^2)$ ；其中，a 為長徑，b 為短徑。

【0217】 相對腫瘤體積 RTV =  $TV_t/TV_0$ ；其中，TV<sub>0</sub> 為 d0 天

腫瘤體積， $TV_t$  為每一次測量時的腫瘤體積。

【0218】 相對腫瘤增殖率  $T/C(\%) = T_{RTV}/C_{RTV} \times 100\%$ ；其中， $T_{RTV}$  為治療組 RTV， $C_{RTV}$  為對照組 RTV。

【0219】 腫瘤生長抑制率： $1-T/C$ 。

【0220】 抑瘤率  $TGI(\%) = (1-TW/TW_0) \times 100\%$ ；其中， $TW$  為治療組瘤重， $TW_0$  為對照組瘤重。

【0221】 體重變化率， $WCR(\%) = (Wt_t - Wt_0) / Wt_0 \times 100\%$ ；其中， $Wt_0$  為 d0 天動物體重， $Wt_t$  為每一次測量時的動物體重。

【0222】 各藥物對腫瘤體積、瘤重、及小鼠體重的影響見圖 4-6，檢測指標結果在下表 7 中示出。到 d21 天實驗結束，無動物死亡，各治療組的小鼠體重增長與模型組相當，藥物無明顯毒性作用，安全性好。各 DAR 值的帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物均表現出較好的體內腫瘤增殖抑制活性，且均優於帕曲妥單抗-DDDXd-D8；帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物的 DAR 值越大，體內腫瘤增殖抑制活性越強。

【0223】 表 7 帕曲妥單抗-艾日布林偶聯物在 JIMT-1 人乳腺癌細胞裸小鼠移植瘤模型中的腫瘤抑制作用

組別	腫瘤生長抑制率 1-T/C	抑瘤率 TGI
2	24.4%	26.6%
3	36.6%	41.1%
4	65.9%	68.9%
5	82.9%	84.3%

【0224】 根據本發明所公開的內容，雖然根據優選實施方案 SHIC220589-26/18 TW (2022TWP4455)

對本發明的方法進行了描述，但對本領域具有通常知識者而言，在不背離本發明的概念、精神和範圍的情況下，可對在此所述的方法以及所述方法的步驟或步驟的順序進行改變。

**【0225】** 本文所引用的所有文獻的公開內容通過引用結合於此，引用程度為，他們提供示例性的，程序上和其他的細節補充本文所述內容。

**【符號說明】**

**【0226】** 無。

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3"
fileName="P20211147TW1_SEQ.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.2.0" productionDate="2022-10-14">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>111135142</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-09-16</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>P20211147TW1</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>CN</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>202111085308.7</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-09-16</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">大陸商正大天晴藥業集團股份有限公司
</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>Chia Tai Tianqing Pharmaceutical Group Co.,
Ltd.</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">抗HER3抗體藥物偶聯物及其組合物和用途
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>10</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q30">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q50">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>HCDR1 for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的HCDR1</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSFSGY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q51">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q52">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>HCDR2 for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的HCDR2</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NHSGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q53">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q54">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>HCDR3 for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的HCDR3</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DKWTWYFDL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q55">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>

```

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q56">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>LCDR1 for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的LCDR1</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QSVLYSSSNRNYLA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q57">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q58">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

```

    <INSDQualifier_value>LCDR2 for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的LCDR2</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WASTRES</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q59">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>LCDR3 for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的LCDR3</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQYYSTPRT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q61">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q62">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的VH</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYNPS
LKSRTVISVETSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 8" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>113</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q63">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..113</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q64">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VL for anti-HER3 antibody</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的VL</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
```

```

</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 9" >
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>447</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..447</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q65">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..447</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="q66">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Heavy chain for anti-HER3
antibody</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的重鏈</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPS
LKSRTVTSVETSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV

```

```

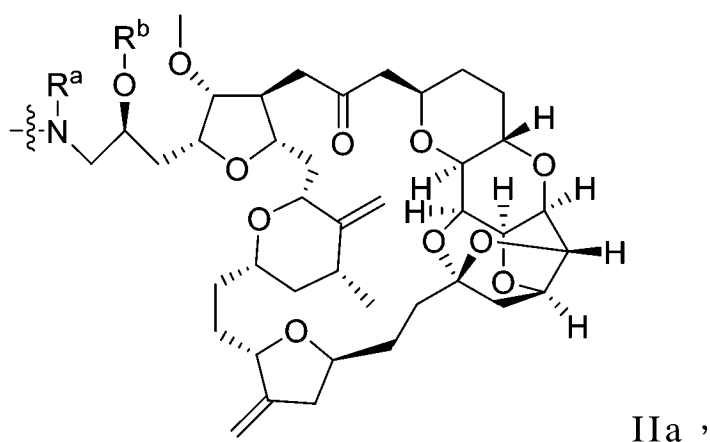
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>220</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q67">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成建構體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain for anti-HER3
antibody</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>抗HER3抗體的輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDSeq_sequence>DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRES  
GVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL  
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</  
INSDSeq_sequence>  
  </INSDSeq>  
</SequenceData>  
</ST26SequenceListing>
```

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種具有通式  $Ab-(L-U)_n$  的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中  $Ab$  表示抗體部分， $L$  表示接頭部分， $U$  表示細胞毒性藥物部分， $n$  為選自 1 至 10 的整數或小數，其特徵在於，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIa 所示的結構：



其中，

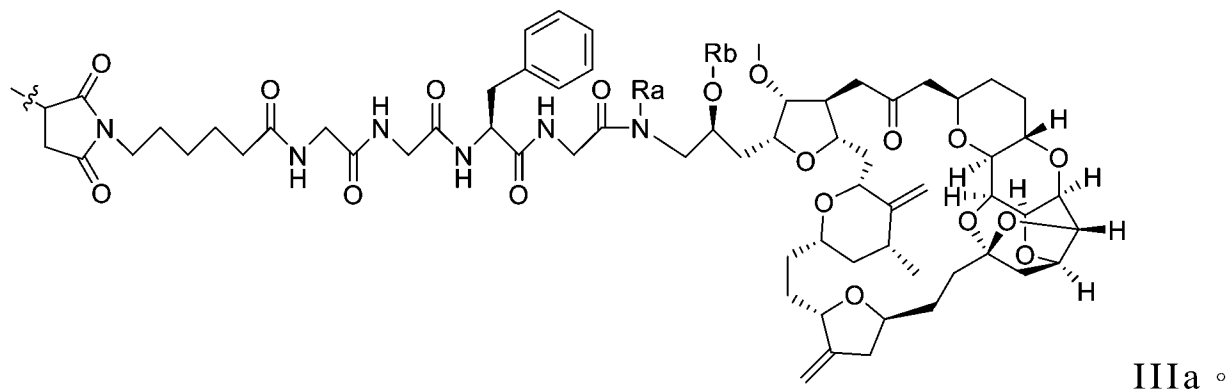
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

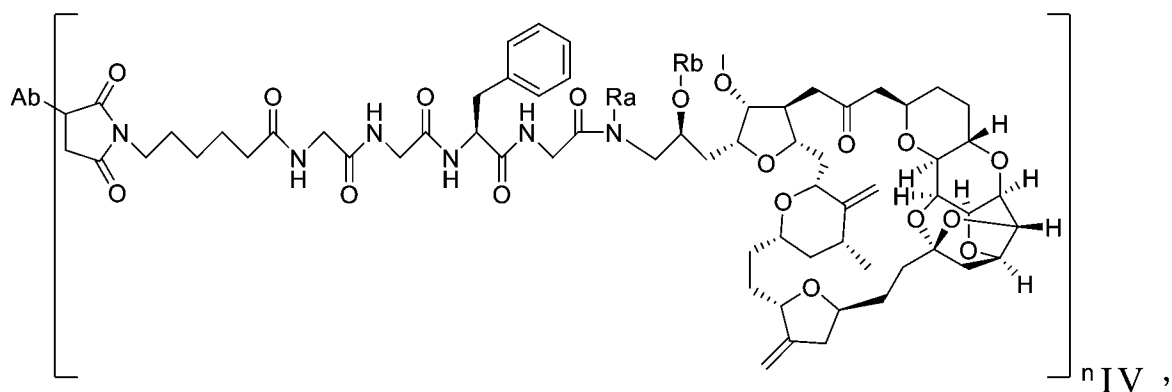
或者，

$R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。

【請求項2】 根據請求項1所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIIa 所示的結構：



【請求項3】 根據請求項1或2所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物為以下式 IV 所示結構：



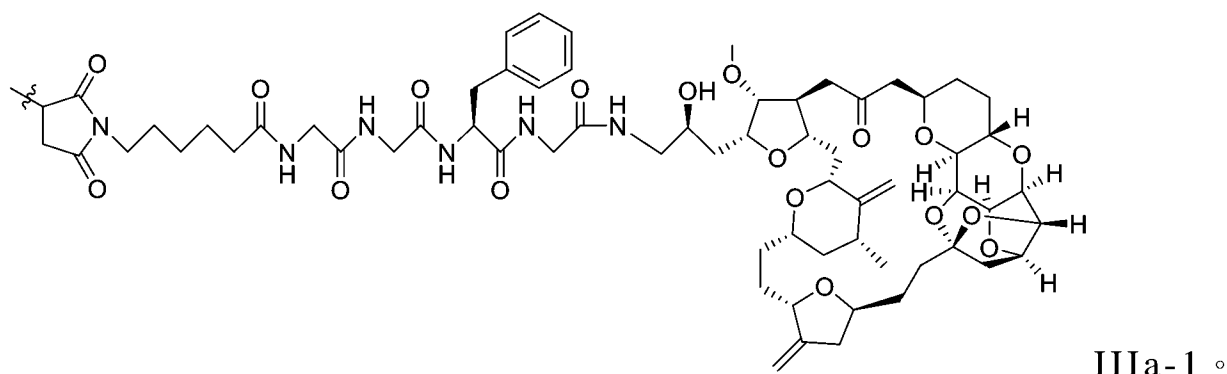
其中，

Ab 表示抗體部分，

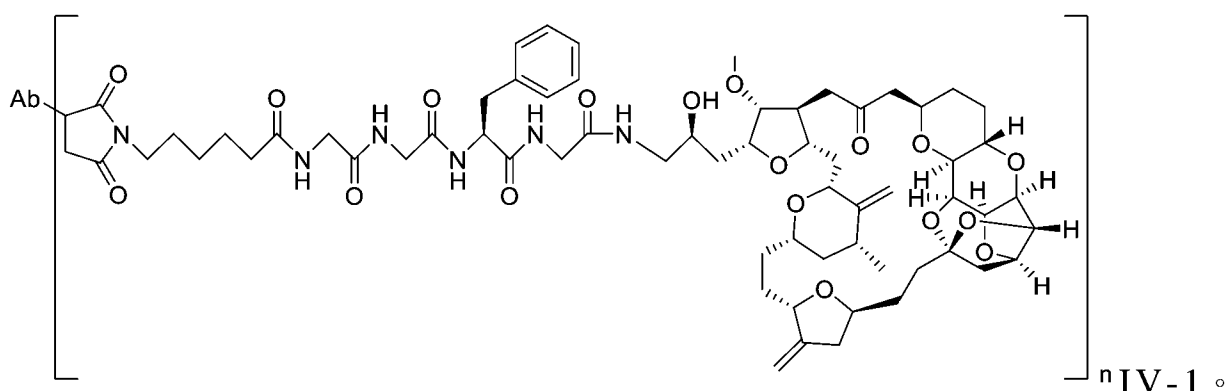
n 為選自 1-10 的整數或小數。

【請求項4】 根據請求項 1-3 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中， $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。

【請求項5】 根據請求項 1 或 2 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物包含以下式 IIIa-1 所示的結構：



【請求項6】 根據請求項 3 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物為以下式 IV-1 所示結構：



【請求項7】 根據請求項 1-6 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述  $n$  為 2-4.8、2.6-4.8、3.5-4.8、4-4.8、2-4.5、2.6-4.5、3.5-4.5、4-4.5、3.5-4.2、

3.5-4、4-4.2、7-8、7-7.9、7-7.6、7-7.5、7.1-8、7.1-7.9、7.1-7.6、7.5-8、7.6-8、或 7.6-7.9。

**【請求項8】** 根據請求項 7 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述  $n$  為約 2.6、約 4、約 4.2、約 4.8、約 7、約 7.1、約 7.5、約 7.6、約 7.9 或約 8。

**【請求項9】** 根據請求項 1-8 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述 Ab 為抗 HER3 抗體或其抗原結合片段。

**【請求項10】** 根據請求項 9 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含 SEQ ID NO: 1 所示胺基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示胺基酸序列的 HCDR2，包含 SEQ ID NO: 3 所示胺基酸序列的 HCDR3，包含 SEQ ID NO: 4 所示胺基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示胺基酸序列的 LCDR2 和包含 SEQ ID NO: 6 所示胺基酸序列的 LCDR3。

**【請求項11】** 根據請求項 10 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 7 所示胺基酸序列具有至少 80%同一性的胺基酸序列，所述輕鏈可變區包含與 SEQ ID NO: 8 所示胺基酸序列具有至少 80%同一性的胺基酸序列；或所述重鏈可變區包含 SEQ ID NO:

7 所示胺基酸序列，所述輕鏈可變區包含 SEQ ID NO: 8 所示胺基酸序列。

**【請求項12】** 根據請求項 10 或 11 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體或其抗原結合片段包含重鏈和輕鏈，所述重鏈包含與 SEQ ID NO: 9 所示胺基酸序列具有至少 80% 同一性的胺基酸序列，所述輕鏈包含與 SEQ ID NO: 10 所示胺基酸序列具有至少 80% 同一性的胺基酸序列。

**【請求項13】** 根據請求項 9 所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗 HER3 抗體為帕曲妥單抗。

**【請求項14】** 根據請求項 9-13 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物，其中，所述抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物展現出下述性質中的一種或多種的組合：

- (a) 結合 HER3；
- (b) 阻斷 HER3 與配體的結合；
- (c) 在表達 HER3 的細胞中顯示內吞作用；
- (d) 對表達 HER3 的腫瘤細胞具有殺傷活性；
- (e) 具有旁觀者效應。

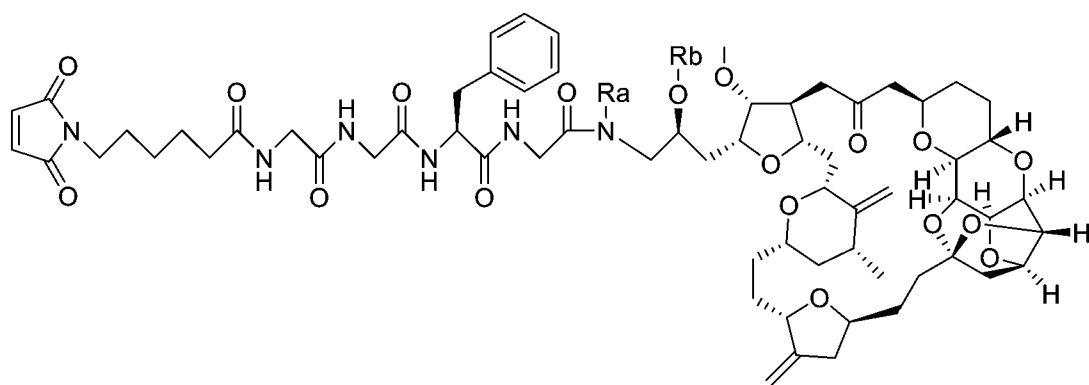
【請求項15】 一種藥物組合物，其包含請求項 1-14 中任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物；任選地，所述藥物組合物還包括可藥用載體。

【請求項16】 一種根據請求項 1-14 任一項所述的抗體藥物偶聯物或其藥學上可接受的鹽或溶劑化物或者根據請求項 15 所述的藥物組合物在製備用於治療癌症的藥物中的用途。

【請求項17】 根據請求項 16 所述的用途，其中，所述癌症為 HER3 陽性癌症。

【請求項18】 根據請求項 16 或 17 所述的用途，其中，所述癌症為膽道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管結合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、頭頸癌、結直腸癌、腎癌、宮頸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、子宮癌、黑色素瘤、咽癌、口腔癌、皮膚癌、肺癌、多形膠質母細胞瘤、膠質母細胞瘤、尿路上皮癌、前列腺癌、膀胱癌、胃腸道間質瘤、鱗狀細胞癌、腹膜癌、肝癌、唾液腺癌、外陰癌、甲狀腺癌、睪丸癌、肛門癌或陰莖癌。

【請求項19】 一種具有式 III 所示結構的接頭-藥物中間體化合物：



其中，

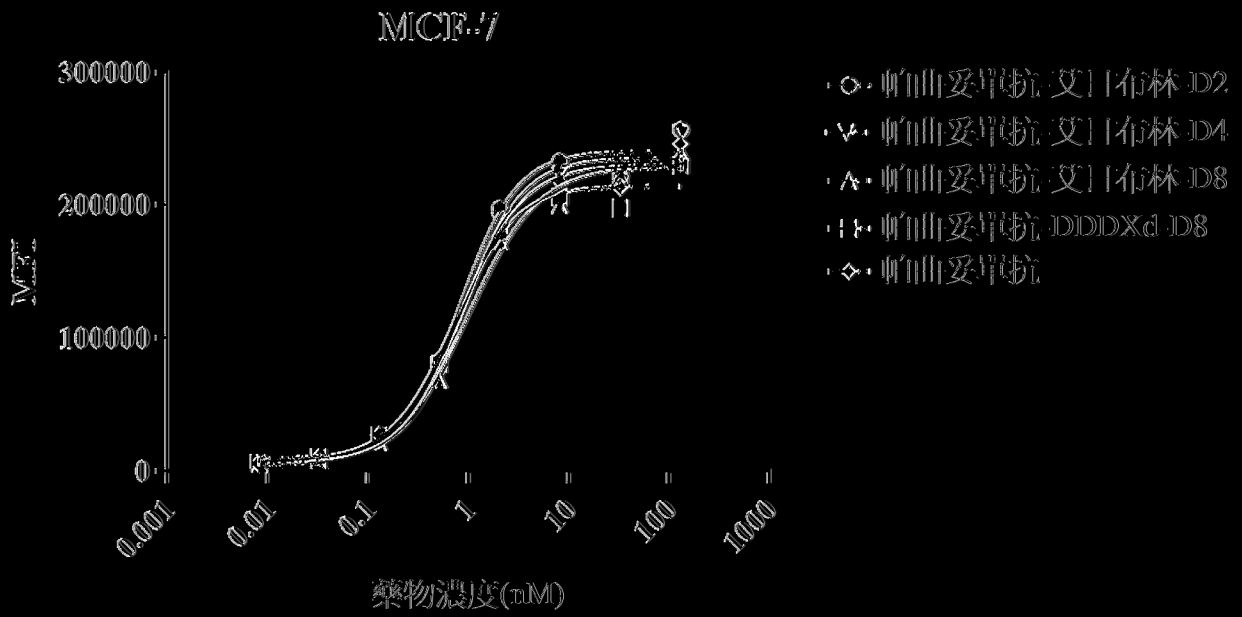
$R^a$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

$R^b$  選自氫原子、氬原子、任選被取代的  $C_{1-6}$  烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  環烷基、任選被取代的  $C_{3-7}$  雜環基、任選被取代的  $C_{6-10}$  芳基、任選被取代的  $C_{5-12}$  雜芳基；

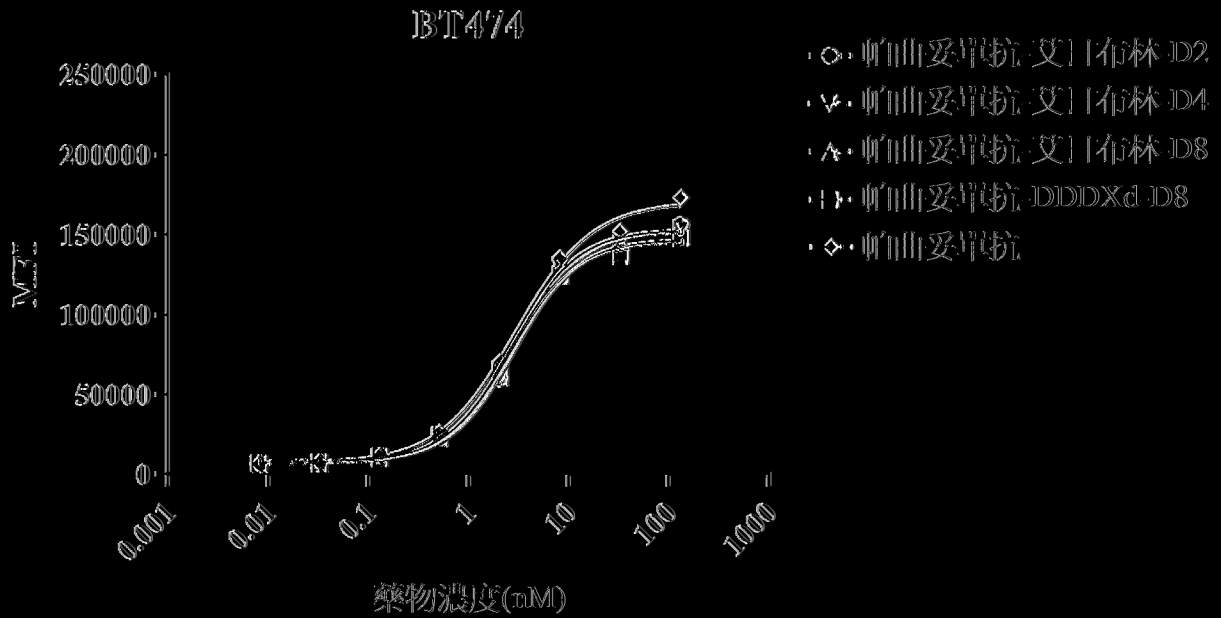
或者  $R^a$  與  $R^b$  與其相連接的原子一起形成任選被取代的 5 至 8 員的雜環基。

**【請求項 20】** 根據請求項 19 所述的接頭-藥物中間體化合物，其中， $R^a$  與  $R^b$  各自獨立地選自氫原子、甲基、乙基、丙基或異丙基。

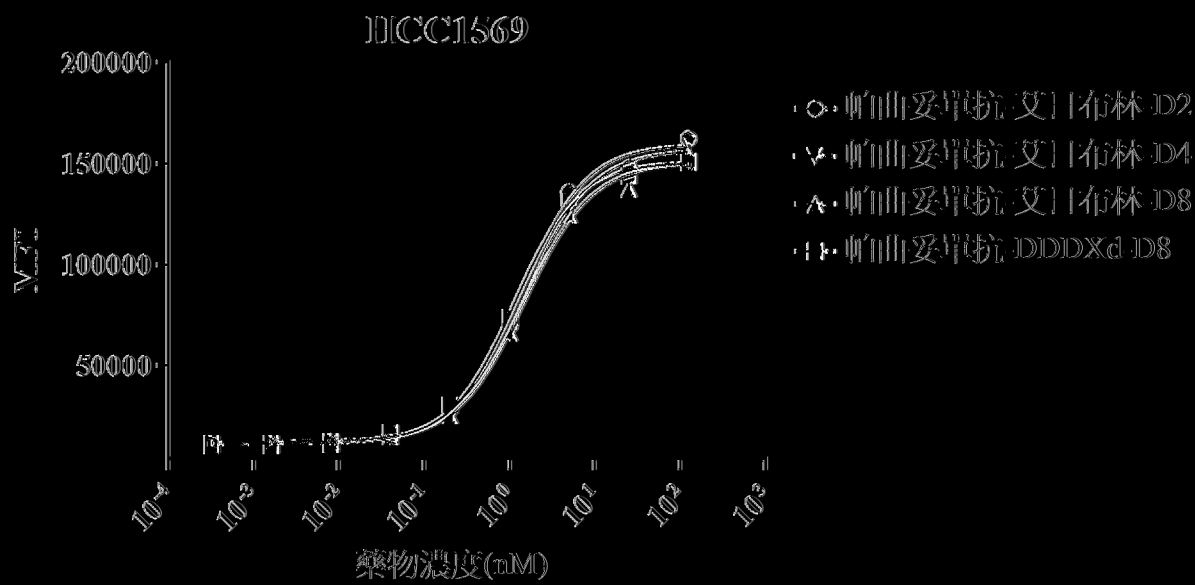
(發明圖式)



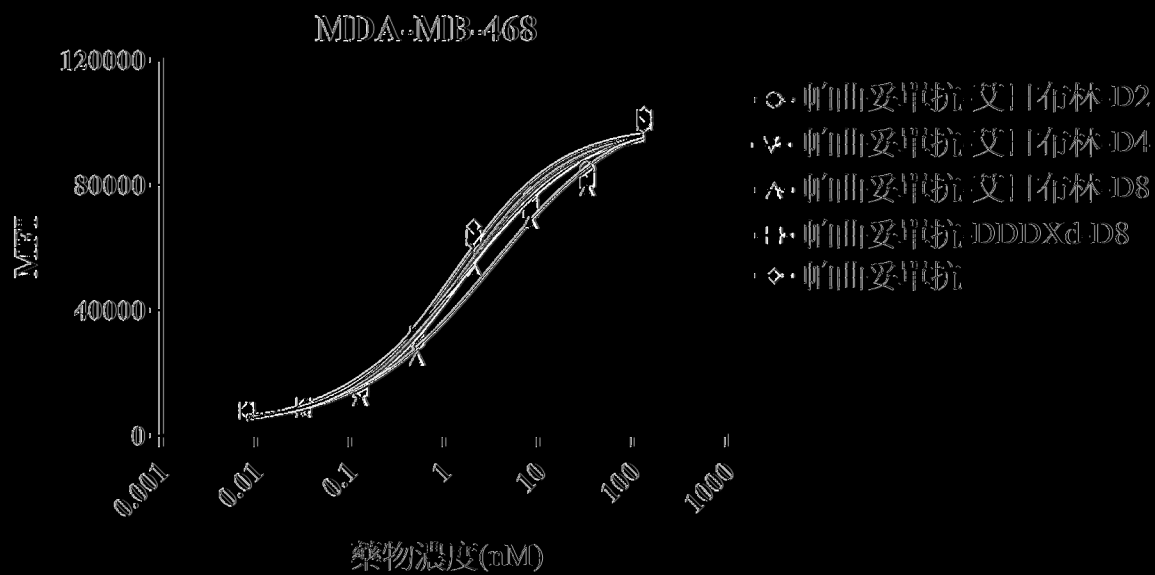
(圖式1A)



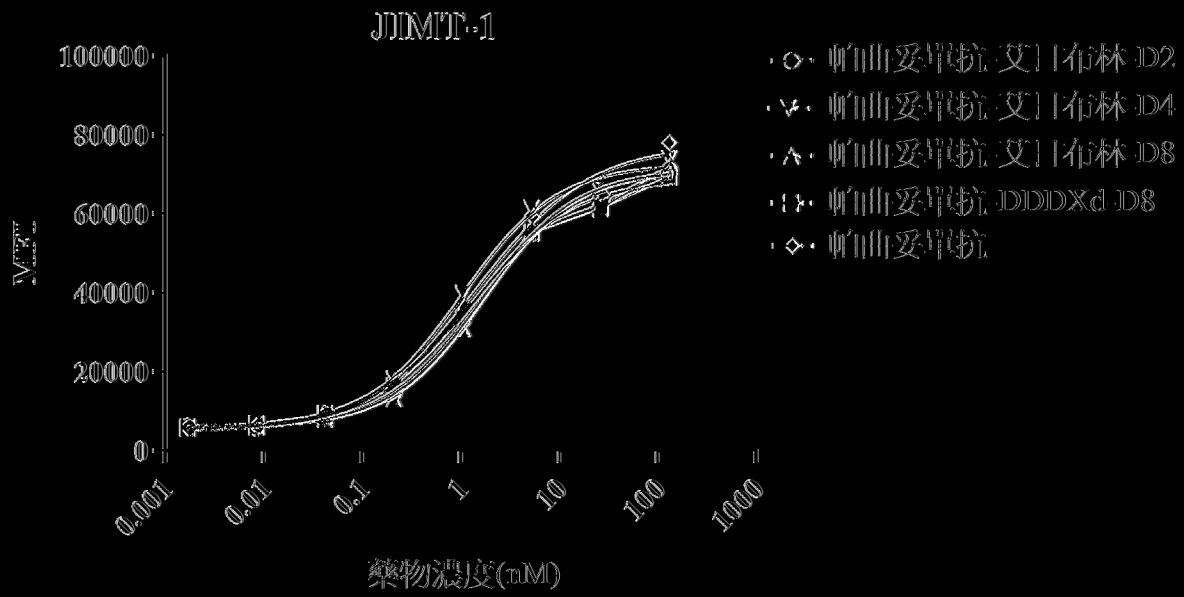
(圖式1B)



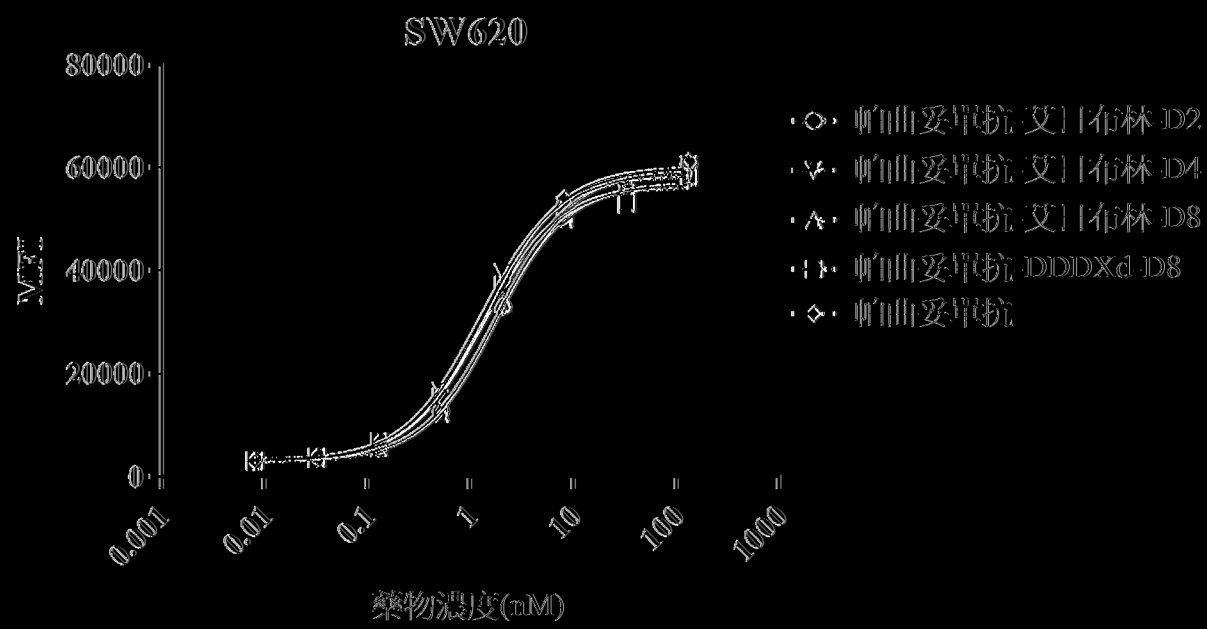
|(101C)|



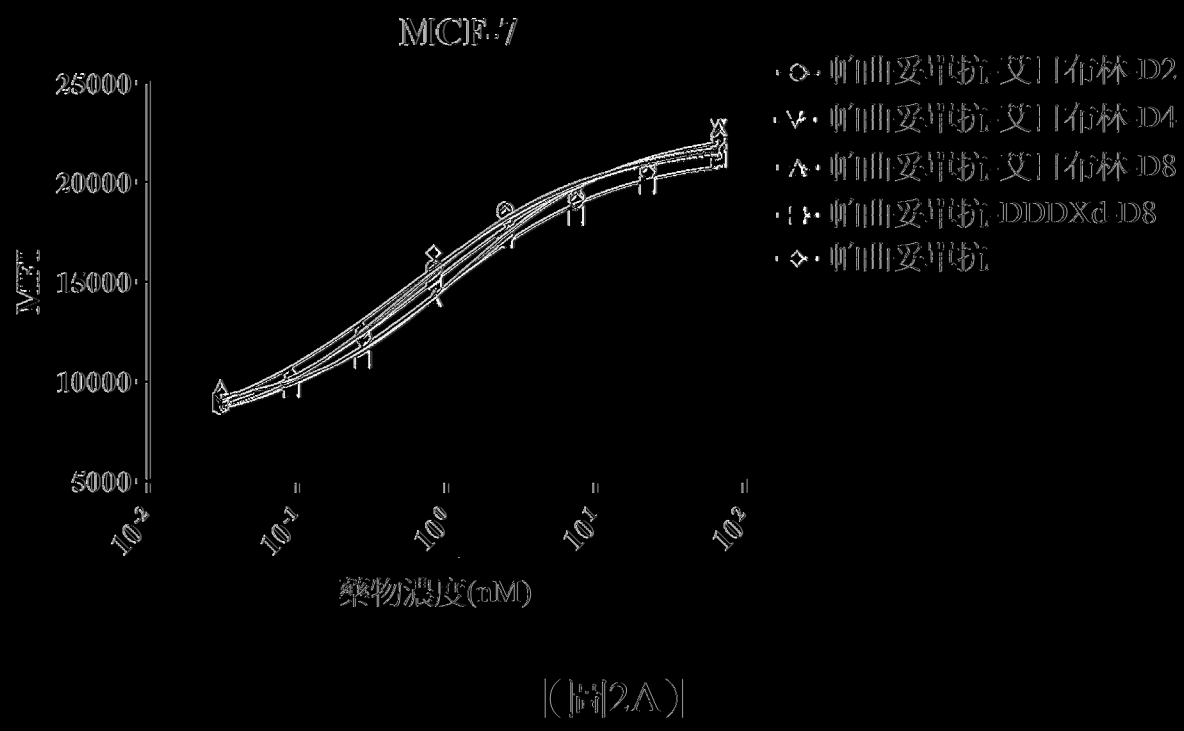
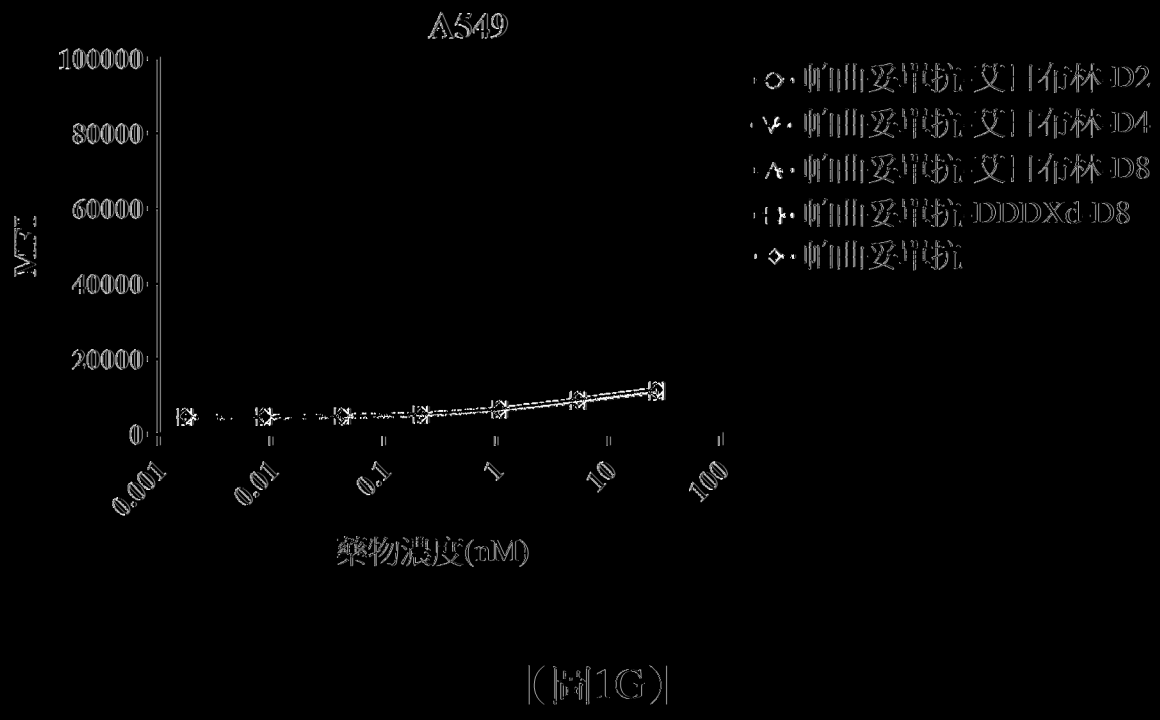
|(101D)|

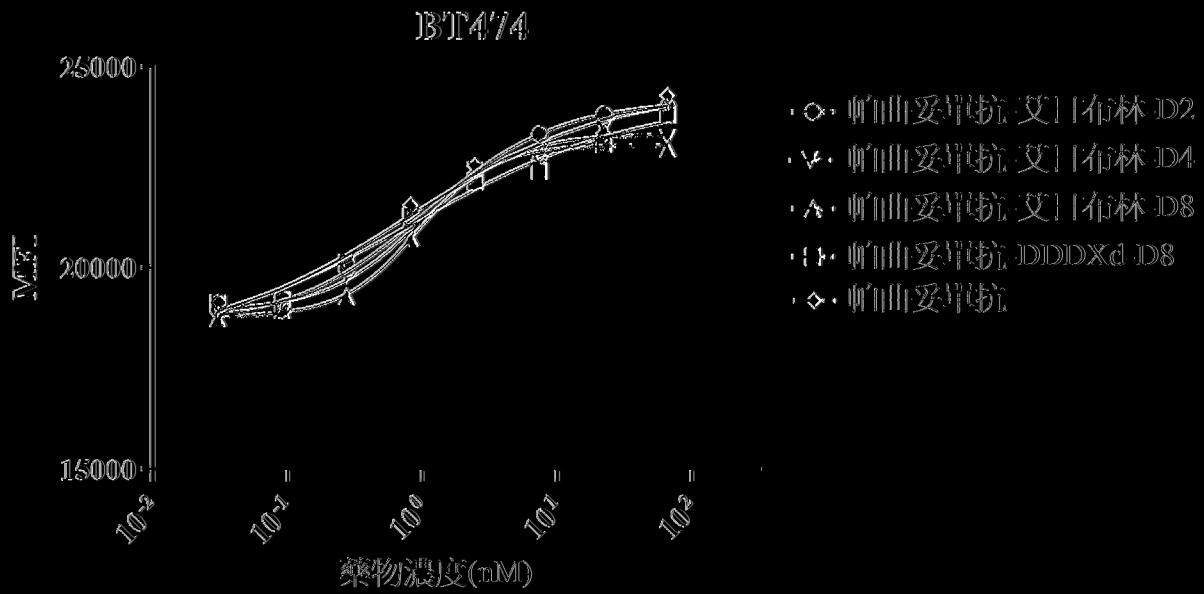


|(16)|113|

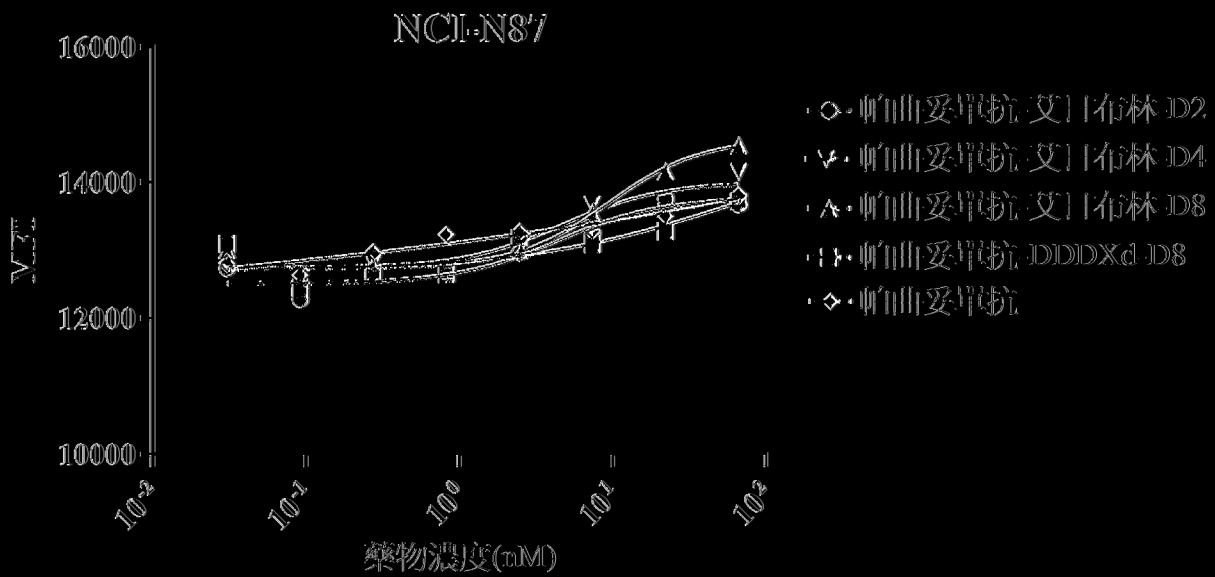


|(16)|114|

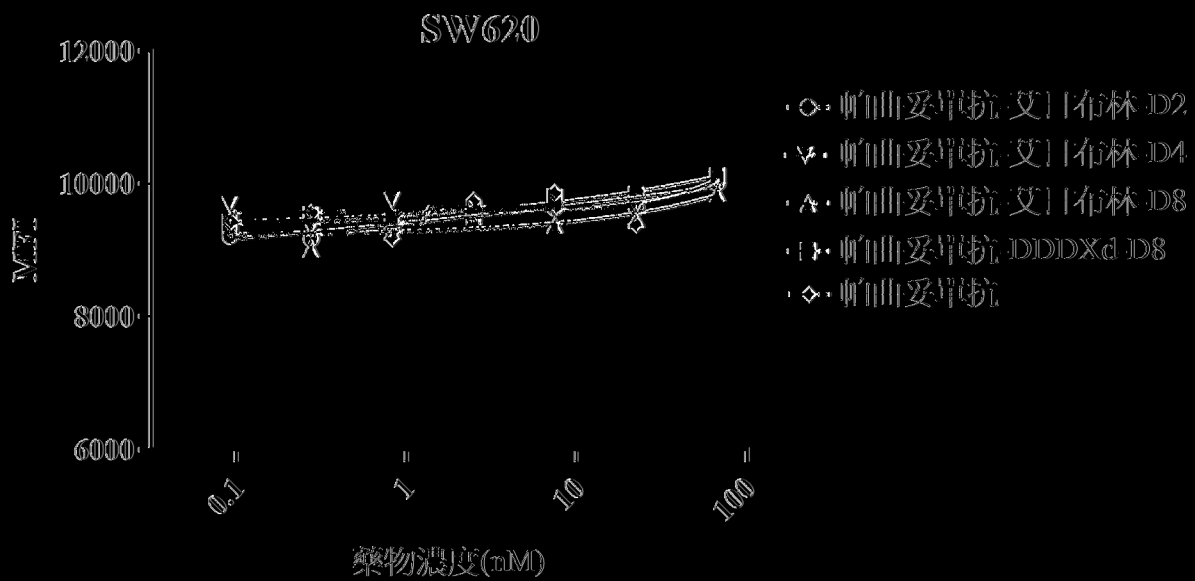




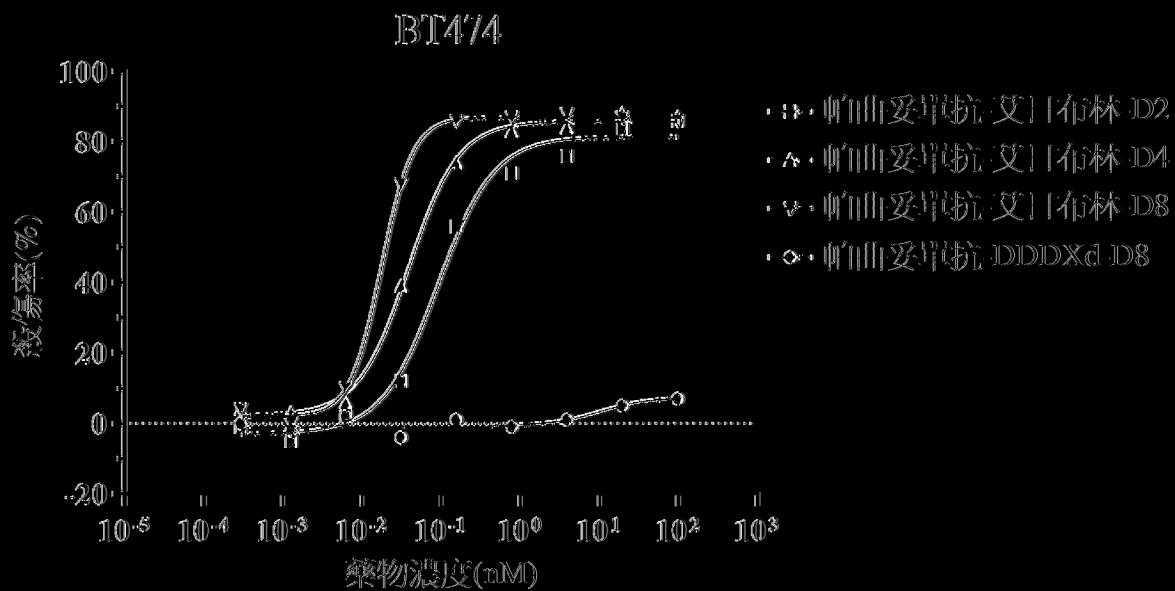
(圖 2B)



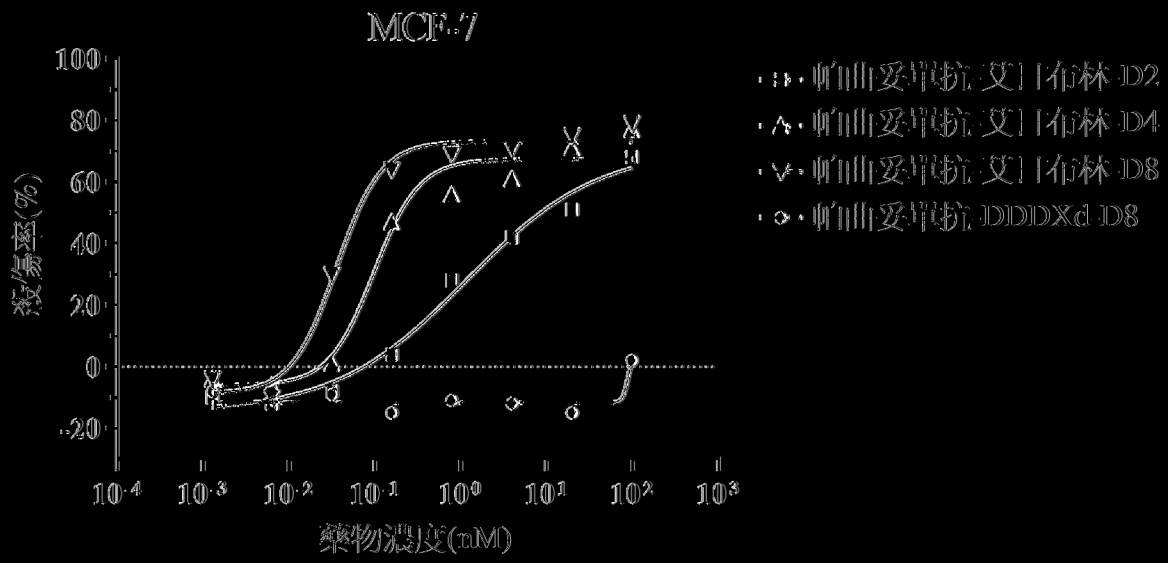
(圖 2C)



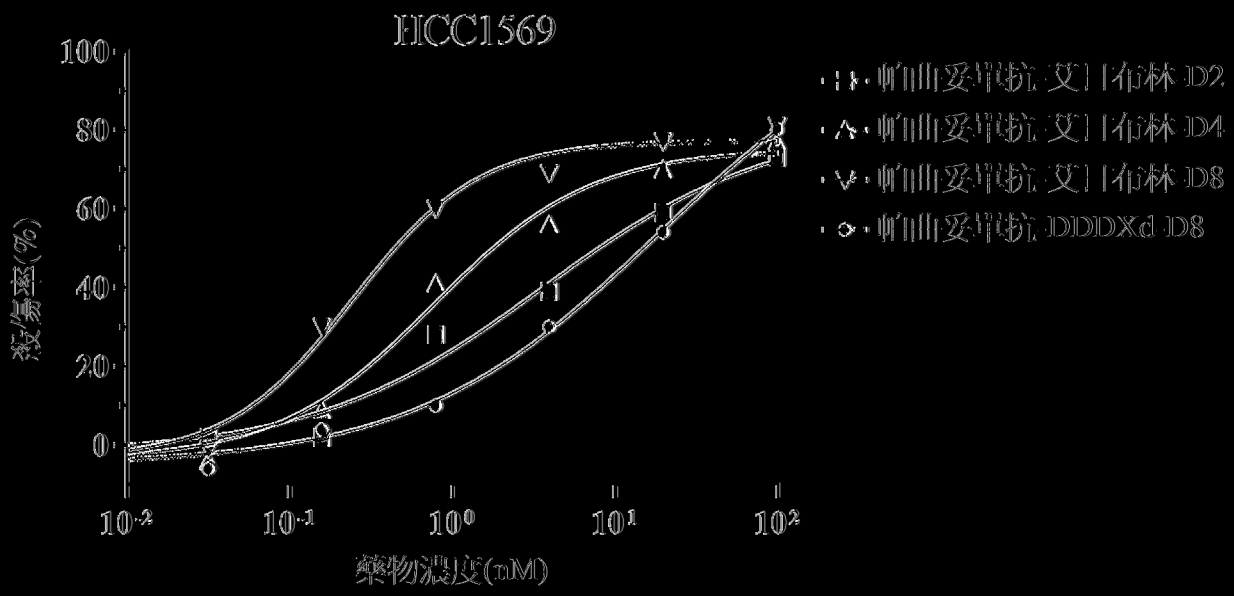
|(圖2D)|



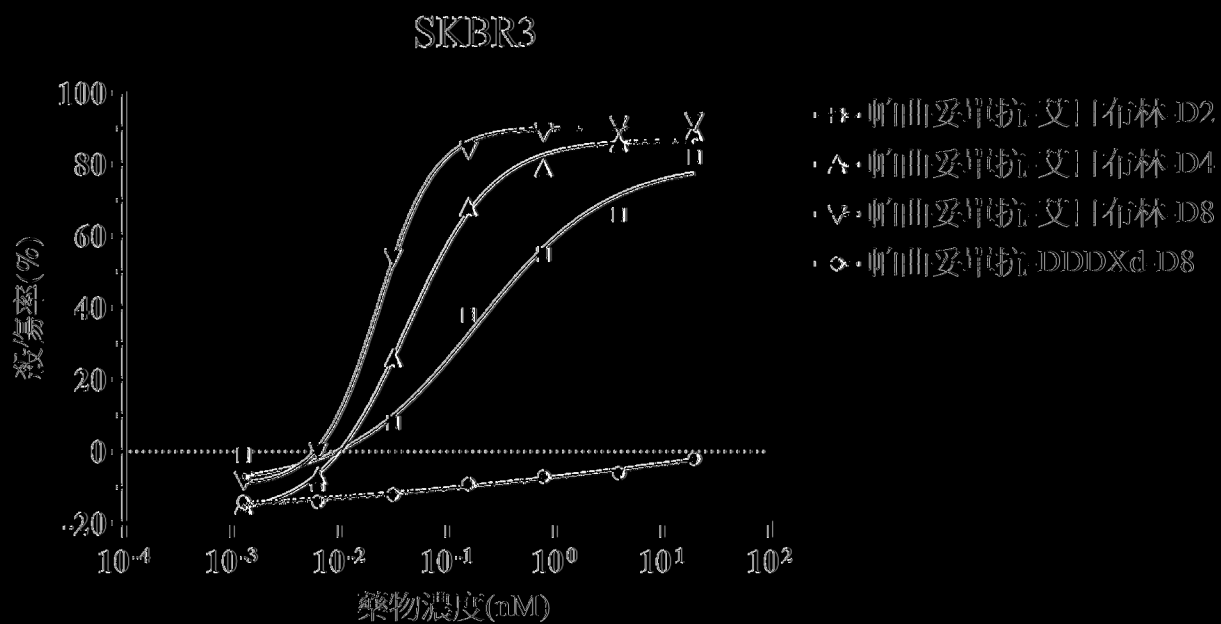
|(圖3A)|



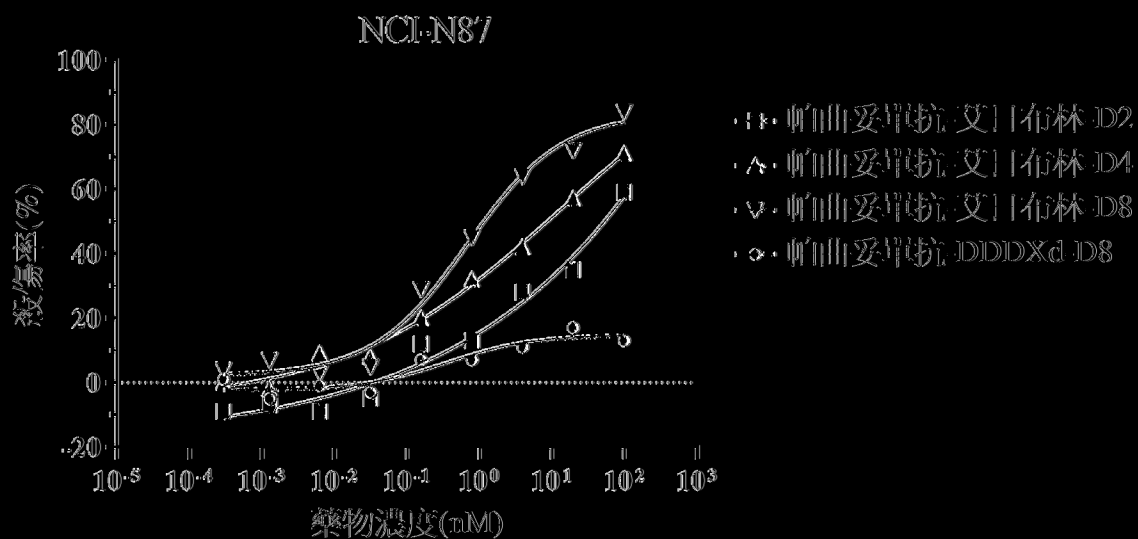
(圖3B)



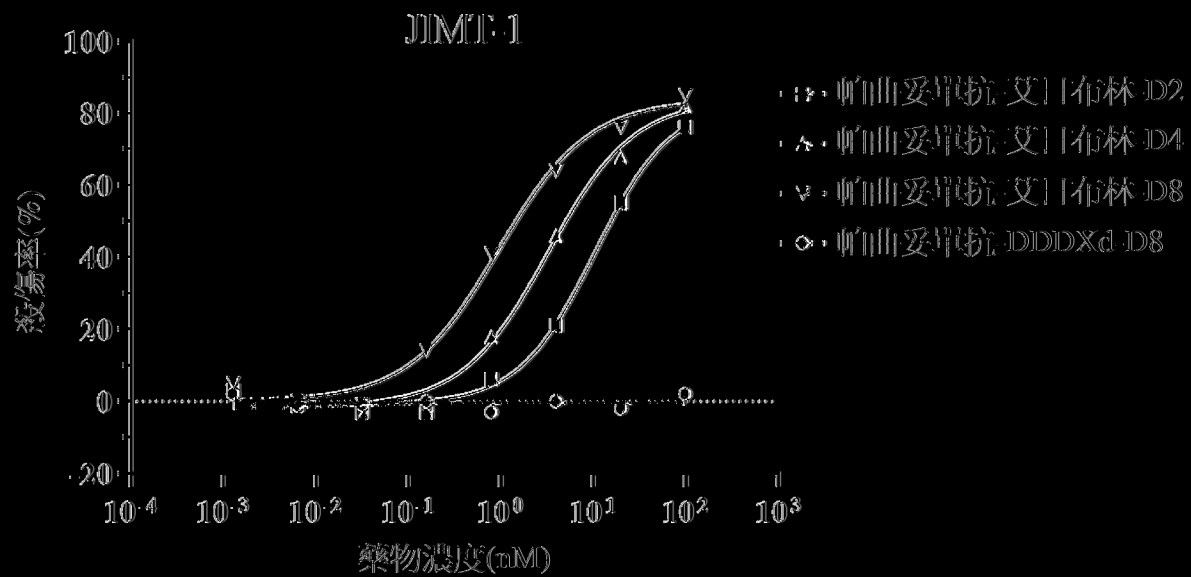
(圖3C)



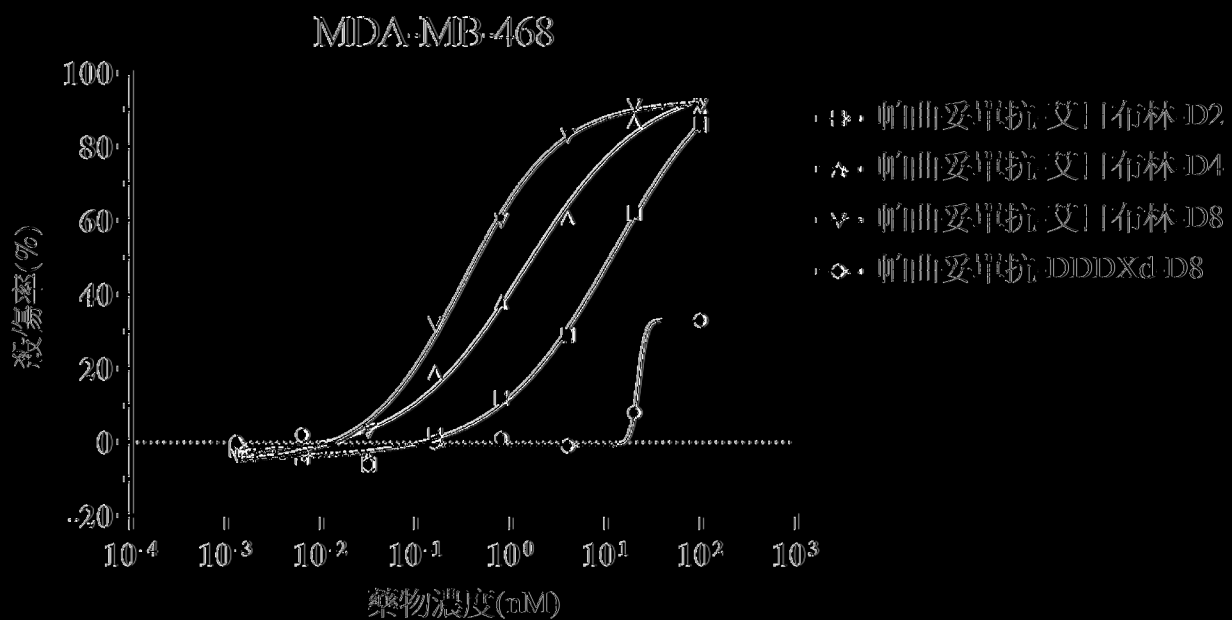
[(圖3D)]



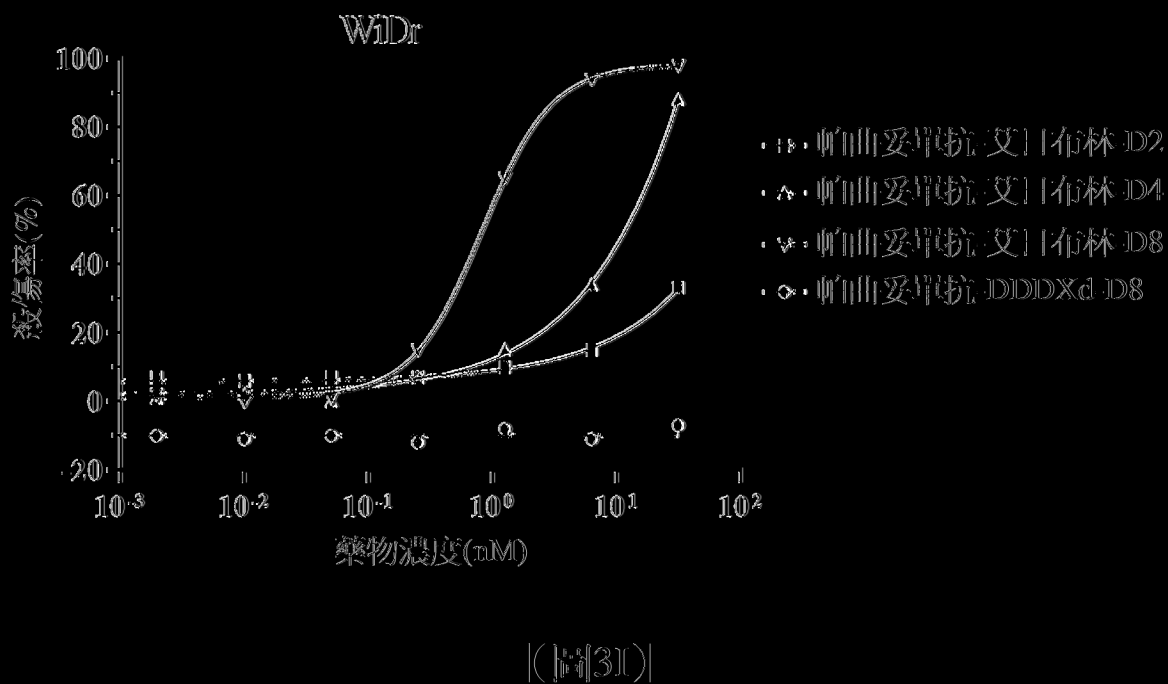
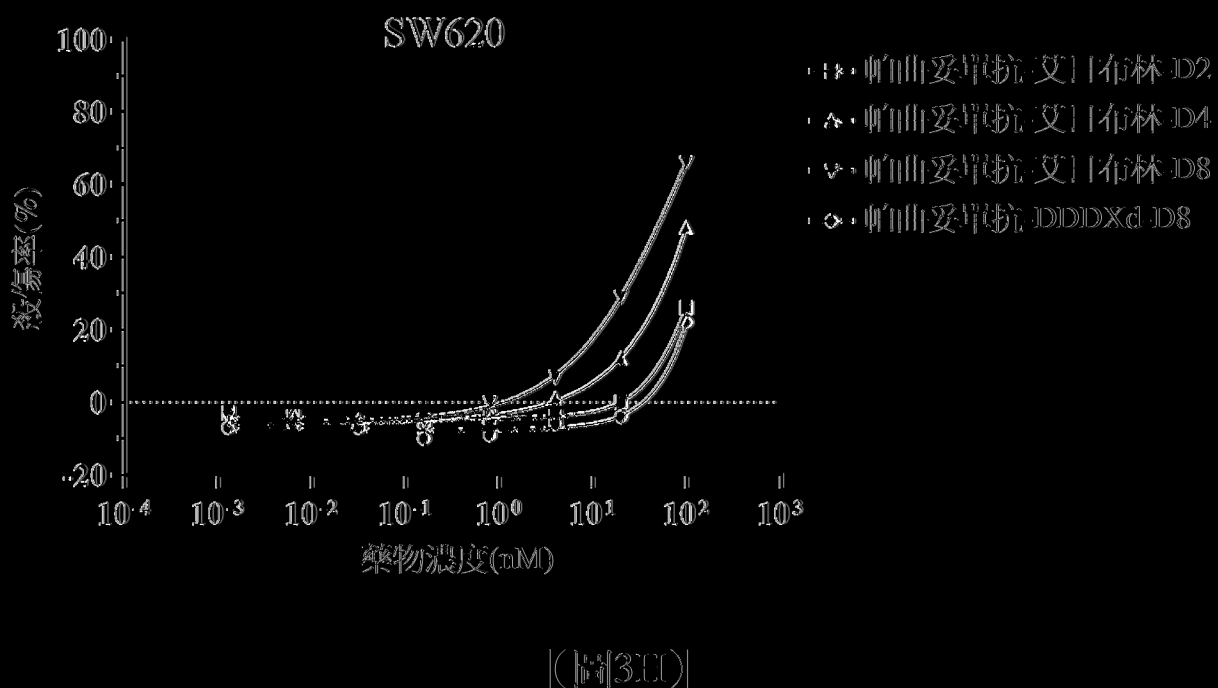
[(圖3E)]

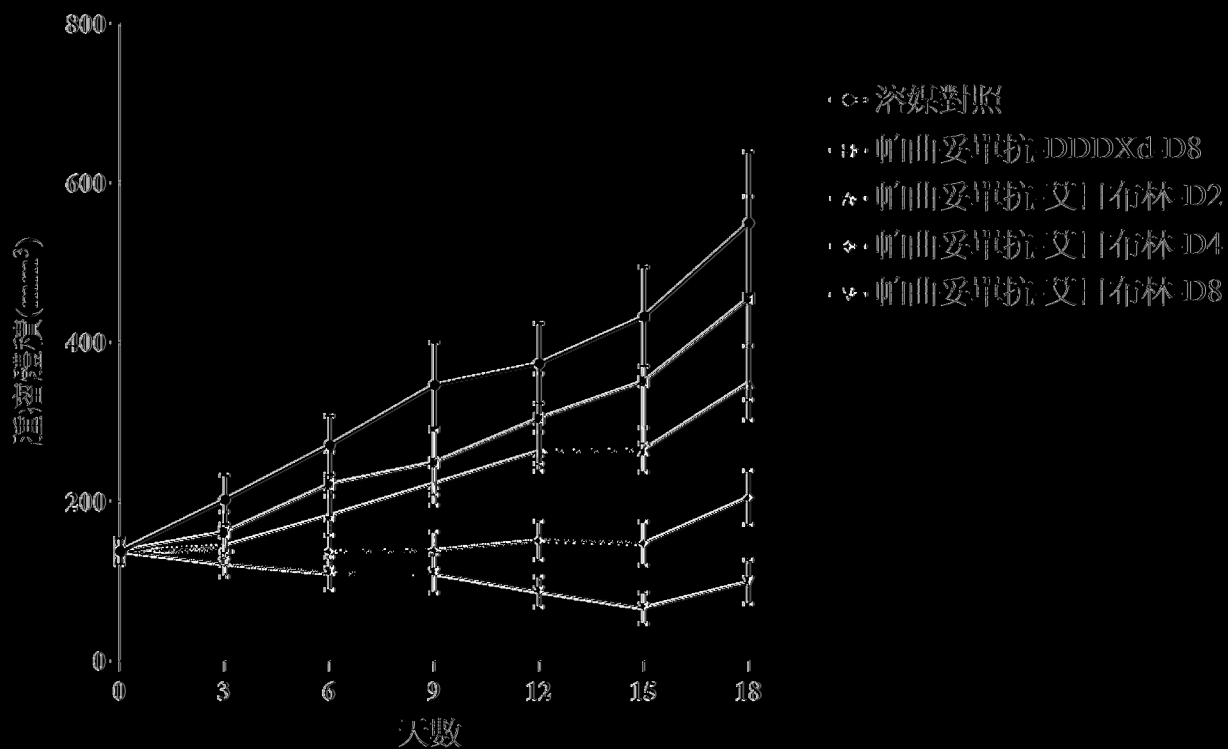


[(圖3E)]

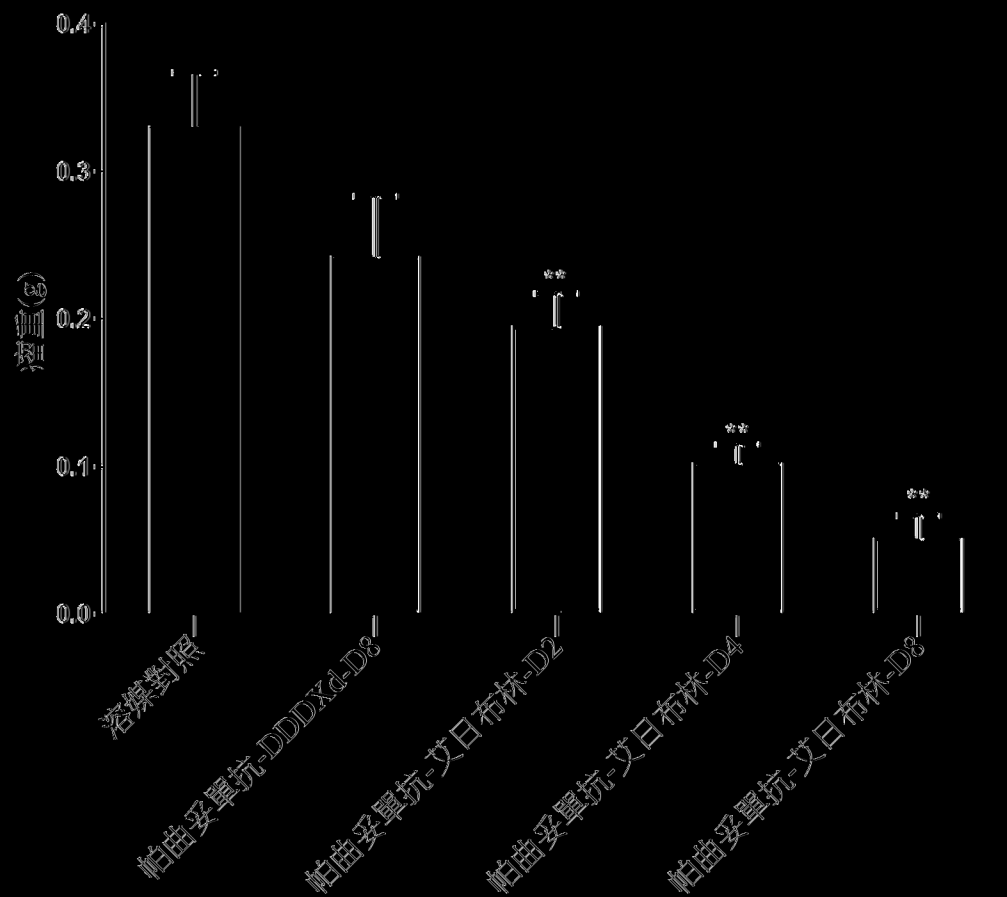


[(圖3G)]

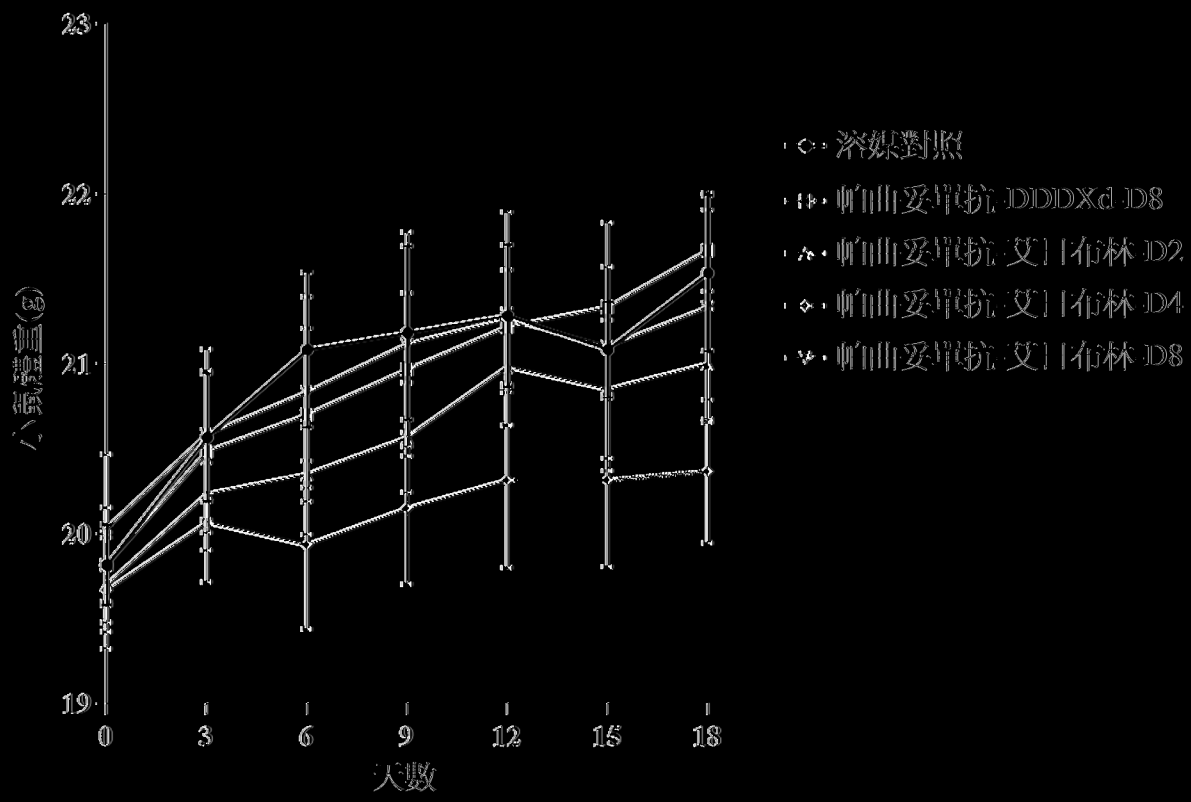




(圖4)



(圖5)



(圖6)