

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024 年 7 月 25 日 (25.07.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/153224 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 39/395 (2006.01) **A61K 47/18** (2017.01)

A61K 47/68 (2017.01) **A61P 35/00** (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/073229

(22) 国际申请日: 2024 年 1 月 19 日 (19.01.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202310076956.9 2023年1月19日 (19.01.2023) CN

(71) 申请人: 江苏恒瑞医药股份有限公司(JIANGSU HENGRUI PHARMACEUTICALS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路 7 号, Jiangsu 222047 (CN)。上海恒瑞医药有限公司(SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。

(72) 发明人: 吴婷婷 (WU, Tingting); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。杜敏 (DU, Min); 中国上海市闵行区文井路 279 号, Shanghai 200245 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司(GE CHENG & CO., LTD.); 中国北京市东城区东长安街 1 号东方广场东三办公楼 10 层, Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

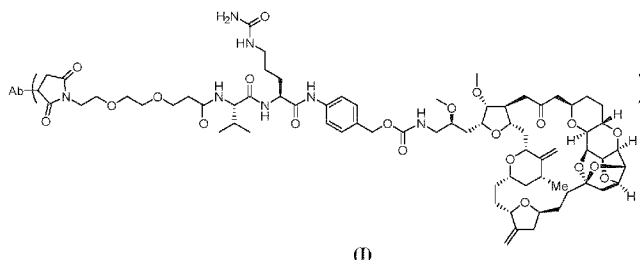
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING ERIBULIN DERIVATIVE DRUG CONJUGATE

(54) 发明名称: 一种含艾日布林衍生物药物偶联物的药物组合物



(57) Abstract: The present disclosure relates to a pharmaceutical composition containing an Eribulin derivative drug conjugate. Specifically, the present disclosure relates to a pharmaceutical composition, comprising an antibody-drug conjugate and a buffering agent. The antibody-drug conjugate has a structure as shown in Formula I, wherein Ab is Pertuzumab. The pharmaceutical composition of the present disclosure has good stability.

(57) 摘要: 本公开涉及一种含艾日布林衍生物药物偶联物的药物组合物。具体而言, 本公开涉及一种药物组合物, 包含抗体药物偶联物和缓冲剂, 其中所述抗体药物偶联物具有如式 I 所示的结构, 其中 Ab 为 Pertuzumab。本公开的药物组合物具备良好的稳定性。



WO 2024/153224 A1

一种含艾日布林衍生物药物偶联物的药物组合物

技术领域

本公开属于药物制剂领域，具体涉及一种含艾日布林衍生物药物偶联物的药物组合物。

背景技术

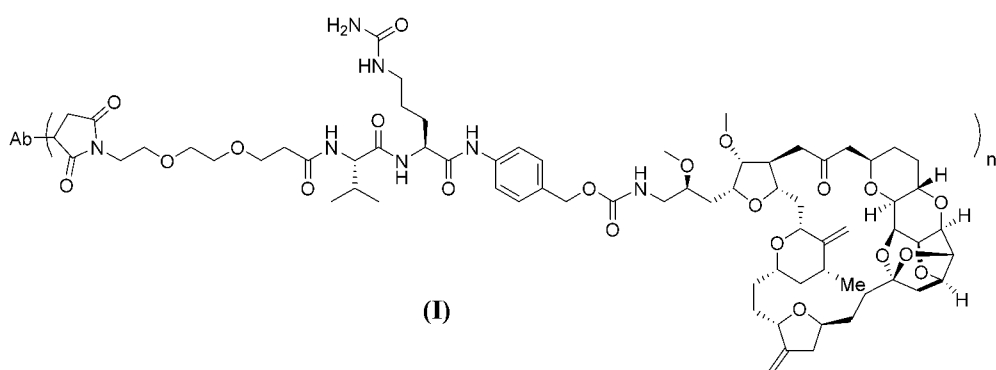
抗体药物偶联物 (antibody drug conjugate, ADC) 把单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的化学接头化合物与具有生物活性的药物相连，充分利用了抗体对正常细胞和肿瘤细胞表面抗原结合的特异性和药物的高效性，同时又避免了前者疗效偏低和后者毒副作用过大等缺陷。这也就意味着，与以往传统的化疗药物相比，抗体药物偶联物能精准地结合肿瘤细胞并降低将对正常细胞的影响。

微管为与包括细胞内迁移和转运、细胞信号传导和维持细胞形状的多种细胞功能相关的有力的细丝状细胞骨架蛋白。微管也在有丝分裂细胞分裂中通过形成染色体分成两个子细胞所需的有丝分裂纺锤体而起到关键作用。所有细胞中微管的生物功能大部分由其聚合动力学调节，这通过 α 和 β 微管蛋白二聚物可逆、非共价地加在微管两端进行。这种动力学行为和所产生的对微管长度的控制为有丝分裂纺锤体的适当功能所不可缺少的。甚至微管动力学的微小改变也会牵涉轴检查点，抑制有丝分裂时细胞周期进展，且随后引起细胞死亡。由于癌细胞的细胞分裂快速，所以与正常细胞相比，其一般对结合于微管蛋白且破坏其正常功能的化合物更加敏感。因此，微管蛋白抑制剂及其抗体药物偶联物有望成为一类有前景的治疗癌症的药物。

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

发明内容

本公开提供一种药物组合物，包含抗体药物偶联物和缓冲剂，其中所述抗体药物偶联物具有如式 I 所示的结构：



其中：

Ab 为 Pertuzumab；

n 为 1 至 10；

所述缓冲剂选自枸橼酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂和琥珀酸盐缓冲剂。

- 5 在一些实施方案中，所述缓冲剂选自组氨酸-盐酸组氨酸、枸橼酸-枸橼酸钠和琥珀酸-琥珀酸钠。

在一些实施方案中，药物载量 (n) 的范围可以是每个 Pertuzumab 抗体结合细胞毒性药物的平均数，非限制性的实施例包括每个抗体结合细胞毒性药物的平均个数为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 以及这些点值之间的任意范围。

- 10 例如可以是 2-8，2-7，2-6，2-5，2-4，3-4，3-5，3.5~4.7，5-6，5-7，5-8 和 6-8。示例性的，药物载量 (n) 可以为 1，2，3，4，5，6，7，8，9，10 的均值。n 是小数或整数。在一些实施方案中，n 为 1 至 8，或 3 至 5。

- 15 在一些实施方案中，所述药物组合物的 pH 为 3.5 至 5.5，非限制性的实施例包括 3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5，以及这些点值之间的任意范围。在一些实施方案中，pH 为 3.5 至 5.0，或 pH 为 3.7 至 4.7。

- 20 在一些实施方案中，药物组合物中缓冲剂浓度为 5mM 至 50 mM，非限制性的实施例包括 5mM、10 mM、12 mM、15 mM、16 mM、17 mM、18 mM、19 mM、20 mM、30 mM、40 mM、50 mM 以及这些点值之间的任意范围；在一些实施方案中，缓冲剂浓度为 10 mM 至 50 mM；在一些实施方案中，缓冲剂浓度为 20 mM 至 40 mM；在一些实施方案中，缓冲剂浓度为 30 mM。

- 25 在一些实施方案中，药物组合物还包含表面活性剂。可选自聚山梨酯、泊洛沙姆、聚羟亚烃、Triton、十二烷基磺酸钠、月桂基磺酸钠、辛基糖甙钠、月桂基-磺基甜菜碱、肉豆蔻基-磺基甜菜碱、亚油基-磺基甜菜碱、硬脂基-磺基甜菜碱、月桂基-肌氨酸、肉豆蔻基-肌氨酸、亚油基-肌氨酸、硬脂基-肌氨酸、亚油基-甜菜碱、肉豆蔻基-甜菜碱、鲸蜡基-甜菜碱、月桂酰胺基丙基-甜菜碱、柯卡酰胺基丙基-甜菜碱、亚油酰胺基丙基-甜菜碱、肉豆蔻酰胺基丙基-甜菜碱、棕榈酰胺基丙基-甜菜碱、异硬脂酰胺基丙基-甜菜碱、肉豆蔻酰胺基丙基-二甲基胺、棕榈酰胺基丙基-二甲基胺、异硬脂酰胺基丙基-二甲基胺、甲基可可酰基钠、甲基油基牛磺酸钠、聚乙二醇、聚丙二醇和乙烯与丙烯二醇的共聚物等等。在一些实施方案中，表面活性剂是泊洛沙姆或聚山梨酯，例如泊洛沙姆 188、聚山梨酯 20、聚山梨酯 80。

- 35 在一些实施方案中，药物组合物中表面活性剂的浓度为 0.01 mg/mL 至 1.0 mg/mL，或 0.1 mg/mL 至 0.8 mg/mL，或 0.3 mg/mL 至 0.8 mg/mL，在一些实施方案中，表面活性剂的浓度为 0.6 mg/mL，非限制性的实施例包括 0.02 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.15 mg/mL、0.2 mg/mL、0.25 mg/mL、0.3 mg/mL、0.35 mg/mL、

0.4 mg/mL、0.45 mg/mL、0.5 mg/mL、0.6 mg/mL、0.7 mg/mL、0.8 mg/mL，以及这些点值之间的任意范围。

5 在一些实施方案中，前述药物组合物还包含糖。本公开的“糖”包含常规组合物 $(\text{CH}_2\text{O})_n$ 及其衍生物，包括单糖，二糖，三糖，多糖，糖醇，还原性糖，非还原性糖等等。所述的糖可选自葡萄糖，蔗糖，海藻糖， α, α -海藻糖二水合物，乳糖，果糖，麦芽糖，右旋糖苷，甘油，赤藻糖醇，丙三醇，阿拉伯糖醇，sylitol，山梨糖醇，甘露醇，密里二糖，松三糖，蜜三糖，甘露三糖，水苏糖，麦芽糖，乳果糖，麦芽酮糖，山梨醇，麦芽糖醇，乳糖醇，异-麦芽酮糖等等。在一些实施方案中，糖为蔗糖。

10 在一些实施方案中，前述药物组合物中糖的浓度为 25 mg/mL 至 80 mg/mL，或者 30 mg/mL 至 50 mg/mL，非限制性的实施例包括 25 mg/mL、30 mg/mL、35 mg/mL、40 mg/mL、45 mg/mL、50 mg/mL、55 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围。在一些实施方案中，浓度为 40 mg/mL。

在一些实施方案中，前述药物组合物还包含氨基酸，例如甘氨酸。

15 在一些实施方案中，前述药物组合物中所述氨基酸的浓度为 6 mg/mL 至 15 mg/mL，例如，7 mg/mL 至 11 mg/mL，或 7 mg/mL 至 10 mg/mL，非限制性的实施例包括 6 mg/mL、6.5 mg/mL、7 mg/mL、7.2 mg/mL、7.6 mg/mL、7.8 mg/mL、8 mg/mL、8.5 mg/mL、9 mg/mL、10 mg/mL、10.2 mg/mL、11 mg/mL、12 mg/mL、13 mg/mL、14 mg/mL、15 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围。在一些实施方案中，浓度为 9 mg/mL。

20 在一些实施方案中，药物组合物中所述抗体药物偶联物浓度为以蛋白浓度计，1 mg/mL 至 100 mg/mL，非限制性的实施例包括 1 mg/mL、10 mg/mL、11 mg/mL、12 mg/mL、13 mg/mL、14 mg/mL、15 mg/mL、16 mg/mL、17 mg/mL、18 mg/mL、19 mg/mL、20 mg/mL、21 mg/mL、22 mg/mL、23 mg/mL、24 mg/mL、25 mg/mL、26 mg/mL、27 mg/mL、28 mg/mL、29 mg/mL、30 mg/mL、40 mg/mL、50 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL、90 mg/mL、100 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围；在一些实施方案中，所述抗体药物偶联物浓度为以蛋白浓度计，10 mg/mL 至 30 mg/mL，例如 20 mg/mL。具体的，非限制性的实施例包括 20.1 mg/mL、20.2 mg/mL、20.3 mg/mL、20.4 mg/mL、20.5 mg/mL、20.6 mg/mL、20.7 mg/mL、20.8 mg/mL、20.81 mg/mL、20.82 mg/mL、20.83 mg/mL、20.84 mg/mL、20.85 mg/mL、20.86 mg/mL、20.87 mg/mL、20.88 mg/mL、20.89 mg/mL、20.9 mg/mL、20.91 mg/mL、20.92 mg/mL、20.93 mg/mL、20.94 mg/mL、20.95 mg/mL、20.96 mg/mL、20.97 mg/mL、20.98 mg/mL、20.99 mg/mL、21 mg/mL 以及这些点值之间的任意范围。所述的以蛋白浓度计，是指以抗体药物偶联物中的抗体部分的浓度计。

35 在一些实施方案中，所述的药物组合物，其包含：

(a) 以蛋白浓度计，1 mg/mL 至 100 mg/mL 的所述抗体药物偶联物，(b) 0.1

mg/mL 至 0.8 mg/mL 的泊洛沙姆或聚山梨酯, (c) 30 mg/mL 至 50mg/mL 的蔗糖, (d) 6mg/mL 至 15mg/mL 甘氨酸, 和(e) 10 mM 至 50 mM 的琥珀酸-琥珀酸钠缓冲剂; 所述药物组合物的 pH 为 3.5 至 5.5。

在一些实施方案中, 所述的药物组合物, 其包含:

- 5 (a)以蛋白浓度计, 1 mg/mL 至 50 mg/mL 的所述抗体药物偶联物, (b) 0.2 mg/mL 至 0.8 mg/mL 的泊洛沙姆或聚山梨酯, (c) 30 mg/mL 至 50mg/mL 的蔗糖, (d) 6mg/mL 至 15mg/mL 甘氨酸, 和(e) 20 mM 至 40 mM 的琥珀酸-琥珀酸钠缓冲剂; 所述药物组合物的 pH 为 3.7 至 4.7。

在一些实施方案中, 所述的药物组合物, 其包含:

- 10 (a)以蛋白浓度计, 20 mg/mL 的所述抗体药物偶联物, (b) 0.6 mg/mL 的泊洛沙姆 188 或 0.2mg/mL 的聚山梨酯 80, (c) 40 mg/mL 的蔗糖, (d) 9mg/mL 甘氨酸和 (e) 30 mM 琥珀酸-琥珀酸钠缓冲剂, 所述药物组合物的 pH 为 4.2。

- 在一些实施方案中, 前述任一项的药物组合物是液体制剂。本公开的液体制剂或者复溶后的制剂, 具有较好的稳定性。进一步的, 稳定的液体制剂包括这样的液体制剂: 其在包括 40°C 的温度保存 1 个月后表现出期望的特征。

本公开还提供一种含抗体药物偶联物的冻干制剂, 其中所述制剂复溶后可形成如上所述的药物组合物。

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

- 20 在一些实施方案中, 该冻干制剂于 40°C 稳定至少 7 天, 至少 14 天, 至少 28 天或至少 30 天。

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

- 25 本公开还提供一种含抗体药物偶联物的复溶溶液, 其中所述复溶溶液是通过将如上所述的冻干制剂复溶制备获得。

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

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

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

本公开还提供治疗疾病的方法, 包括向有需要的患者施用前述的药物组合物或冻干制剂或复溶溶液或制品。

- 35 本公开还提供作为药物的前述的药物组合物, 或冻干制剂, 或复溶溶液, 或制品, 用于治疗疾病。

本公开还提供作为药物的前述的药物组合物, 或冻干制剂, 或复溶溶液, 或

制品，用于治疗肿瘤。

本公开还提供作为药物的前述的药物组合物，或冻干制剂，或复溶溶液，或制品，在制备治疗肿瘤的药物中的用途。

在一些实施方案中，其中所述的肿瘤为与 HER2 的结构域 II 表达相关的癌症。

- 5 在一些实施方案中，其中所述肿瘤选自乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、肉瘤、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、白血病、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌和淋巴瘤。

以下为 Pertuzumab 的重、轻链的可变区序列：

- 10 轻链可变区

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS
YRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 1

- 15 重链可变区

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVA
DVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGP
SFYFDYWGGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 2

- 20 以下为 Pertuzumab 的序列：

轻链

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSIGVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS
YRYTGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYYIYPYTFGQGTKVEIKR
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES
25 VTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO. 3

重链

- EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTDYTMDWVRQAPGKGLEWVA
DVNPNSGGSIYNQRFKGRFTLSVDRSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNLGP
30 SFYFDYWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK
35 GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

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

发明详述

本公开提供一种更利于生产和给药，性能稳定的药物组合物。其中，不期望的不稳定性可包括下列任何一项或多项：聚集、脱酰胺化（例如 Asn 脱酰胺化）、
10 氧化（例如 Met 氧化）、异构化（例如 Asp 异构化）、剪裁（clipping）/水解/片段化（例如铰链区片段化）、琥珀酰亚胺形成、不成对的半胱氨酸、毒素的解离等。具体地，本公开所述的药物组合物包含抗体药物偶联物和缓冲剂。

术语

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

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

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

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

接头，包括延伸物、间隔物和氨基酸单元，可以通过本领域已知方法合成，诸如 US20050238649A1 中所记载的。接头可以是便于在细胞中释放药物的“可切割接头”。例如，可使用酸不稳定接头（例如脘）、蛋白酶敏感（例如肽酶敏感）接头、光不稳定接头、二甲基接头、或含二硫化物接头(Chari 等,Cancer Research 52:
35 127-131(1992); 美国专利 No.5,208,020)。

术语“药物连接臂片段”或“药物-接头片段”是指药物与接头单元相连形成的片

段，其可通过接头单元另一端与抗体相连。

可以用以下非限制性方法控制细胞毒性药物的载量，包括：

- (1) 控制连接药物连接臂片段和单抗的摩尔比，
- (2) 控制反应时间和温度，
- 5 (3) 选择不同的反应试剂。

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

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

本公开工程化的抗体或抗原结合片段可用常规方法制备和纯化。比如，编码重链和轻链的 cDNA 序列，可以克隆并重组至 GS 表达载体。重组的免疫球蛋白表达载体可以稳定地转染 CHO 细胞。作为一种更推荐的现有技术，哺乳动物类表达系统会导致抗体的糖基化，特别是在 Fc 区的高度保守 N 端位点。阳性的克隆在生物反应器的无血清培养基中扩大培养以生产抗体。分泌了抗体的培养液可以用常规技术纯化。比如，用含调整过的缓冲液的 A 或 G Sepharose FF 柱进行纯化。洗去非特异性结合的组分。再用 pH 梯度法洗脱结合的抗体，用 SDS-PAGE 检测抗体片段，收集。抗体可用常规方法进行过滤浓缩。可溶的混合物和多聚体，也可以用常规方法去除，比如分子筛、离子交换。得到的产物需立即冷冻，如-70°C，或者冻干。

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

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

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

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

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

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

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

本公开中，“药物组合物”和“制剂”并不互相排斥。

本公开中所述药物组合物的溶液形式，若无特殊说明，其中的溶剂均为水。

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

本文所用术语“约”、“大约”是指数值在由本领域一般技术人员所测定的具体值的可接受误差范围内，所述数值部分取决于怎样测量或测定(即测量体系的限度)。例如，在本领域每一次实行中“约”可意味着在 1 内或超过 1 的标准差。或者，“约”或“基本上包含”可意味着至多 20% 的范围。此外，特别对于生物学系统或过程而言，该术语可意味着至多一个数量级或数值的至多 5 倍。除非另外说明，否则当具体值在本申请和权利要求中出现时，“约”或“基本上包含”的含义应该假定为在该具体值的可接受误差范围内。

本公开中数值为仪器测量值或仪器测量后计算值，存在一定程度的误差，一般而言，正负 10% 均属于合理误差范围内。当然需要考虑该数值所用之处的上下文，例如，总杂质的含量，该数值为测量后误差变化不超过正负 10%，可以为正负 9%、正负 8%、正负 7%、正负 6%、正负 5%、正负 4%、正负 3%、正负 2% 或正负 1%，优选正负 5%。

本公开所述的药物组合物能够达到一种稳定的效果：其中的抗体药物偶联物在贮藏后基本上保留其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物学活性的药物组合物；优选地，药物组合物在贮藏后基本上保留其物理和化学稳定性以及其生物学活性。贮藏期一般基于药物组合物的预定保存期来选择。目前有多种测量蛋白质或抗体药物偶联物稳定性的分析技术，可测量在选定温度贮藏选定时间段后的稳定性。

稳定的制剂是在下述情况下没有观察到显著变化的制剂：在冷藏温度(2-8°C)保存至少 3 个月、优选 6 个月、更优选 1 年。另外，稳定的液体制剂包括这样的液体制剂：其在包括 25°C 的温度保存包括 1 个月、2 个月、3 个月在内的时段后表现出期望的特征。进一步的，稳定的液体制剂包括这样的液体制剂：其在包括 40°C

的温度保存包括 10 天、20 天、1 个月在内的时段后表现出期望的特征。稳定性的典型的例子：通过 SEC-HPLC 测得，通常不超过约 10%、优选不超过约 5% 的抗体单体发生聚集或降解。通过视觉分析，制剂是淡黄色近无色澄明液体或者无色，或澄清至稍微乳白色。所述制剂的浓度、pH 和重量克分子渗透压浓度具有不超过
5 $\pm 10\%$ 变化。通常观察到不超过约 10%、优选不超过约 5% 的减少。通常形成不超过约 10%、优选不超过约 5% 的聚集。

如果在目检颜色和/或澄清度后，或者通过 UV 光散射、尺寸排阻色谱法(SEC)和动态光散射(DLS)测得，抗体药物偶联物没有显示出显著的聚集增加、沉淀和/或变性，那么所述抗体药物偶联物在药物制剂中“保留它的物理稳定性”。蛋白构象的变化可以通过荧光光谱法(其确定蛋白三级结构)和通过 FTIR 光谱法(其确定蛋白二级结构)来评价。
10

如果抗体药物偶联物没有显示出显著的化学改变，那么所述抗体药物偶联物在药物制剂中“保留它的化学稳定性”。通过检测和定量化学上改变的形式蛋白，可以评估化学稳定性。经常改变蛋白化学结构的降解过程包括水解或截短(通过诸如尺寸排阻色谱法和 CE-SDS 等方法来评价)、氧化(通过诸如与质谱法或 MALDI/TOF/MS 结合的肽谱法等方法来评价)、脱酰胺作用(通过诸如离子交换色谱法、毛细管等电聚焦、肽谱法、异天冬氨酸测量等方法来评价)和异构化(通过测量异天冬氨酸含量、肽谱法等来评价)。
15

如果抗体药物偶联物在给定时间的生物活性是在制备药物制剂时表现出的生物活性的预定范围内，那么所述抗体药物偶联物在药物制剂中“保留它的生物活性”。
20

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

“取代的”指基团中的一个或多个氢原子，优选为最多 5 个，更优选为 1~3 个氢原子彼此独立地被相应数目的取代基取代。不言而喻，取代基仅处在它们的可能的化学位置，本领域技术人员能够在不付出过多努力的情况下确定(通过实验或理论)可能或不可能的取代。例如，具有游离氢的氨基或羟基与具有不饱和(如烯属)键的碳原子结合时可能是不稳定的。
25

常规的药物组合物的制备见中国药典。

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

“给予”和“处理”当应用于动物、人、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流

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

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

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

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

在本文中，“Pertuzumab”指包含分别在 SEQ ID No.1 和 2 中的轻链和重链可变区氨基酸序列的抗体。若 Pertuzumab 是完整抗体，则它优选包含分别在 SEQ ID No.3 和 4 中的轻链和重链氨基酸序列。

附图说明

图 1 为 N87/16-8 皮下移植瘤模型小鼠肿瘤体积变化图。

图 2 为 N87/16-8 皮下移植瘤模型小鼠体重变化图。

图 3 为 JIMIT-1 皮下移植瘤模型小鼠肿瘤体积变化图。

图 4 为 JIMIT-1 皮下移植瘤模型小鼠体重变化图。

具体实施方式

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

化合物的结构是通过核磁共振(NMR)或/和质谱(MS)来确定的。NMR 位移(δ)以 10^{-6} (ppm)的单位给出。NMR 的测定是用 Bruker AVANCE-400 核磁仪，测定溶剂为氘代二甲基亚砷(DMSO- d_6)、氘代氯仿($CDCl_3$)、氘代甲醇(CD_3OD)，内标为四甲基硅烷(TMS)。

MS 的测定用 Agilent 1200 /1290 DAD- 6110/6120 Quadrupole MS 液质联用仪(生产商: Agilent, MS 型号: 6110/6120 Quadrupole MS)。

waters ACQuity UPLC-QD/SQD(生产商: waters, MS 型号: waters ACQuity Qda Detector/waters SQ Detector)THERMO Ultimate 3000- Q Exactive (生产商: THERMO, MS 型号: THERMO Q Exactive)

高效液相色谱法 (HPLC) 分析使用 Agilent HPLC 1200DAD、Agilent HPLC 1200VWD 和 Waters HPLC e2695-2489 高压液相色谱仪。

手性 HPLC 分析测定使用 Agilent 1260 DAD 高效液相色谱仪。

高效液相制备使用 Waters 2545-2767、Waters 2767-SQ Detecor2、Shimadzu LC-20AP 和 Gilson GX-281 制备型色谱仪。

手性制备使用 Shimadzu LC-20AP 制备型色谱仪。

CombiFlash 快速制备仪使用 Combiflash Rf200 (TELEDYNE ISCO)。

薄层层析硅胶板使用烟台黄海 HSGF254 或青岛 GF254 硅胶板，薄层色谱法 (TLC)使用的硅胶板采用的规格是 0.15 mm 至 0.2 mm，薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm 至 0.5 mm。

硅胶柱色谱法一般使用烟台黄海硅胶 200 至 300 目硅胶为载体。

本发明的已知的起始原料可以采用或按照本领域已知的方法来合成，或可购买自 ABCR GmbH & Co. KG, Acros Organics, Aldrich Chemical Company, 韶远化学科技(Accela ChemBio Inc)、达瑞化学品等公司。

实施例中无特殊说明，反应能够均在氩气氛或氮气气氛下进行。

氩气氛或氮气气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氩气或氮气气球。

氢气气氛是指反应瓶连接一个约 1L 容积的氢气气球。

加压氢化反应使用 Parr 3916EKX 型氢化仪和清蓝 QL-500 型氢气发生器或 HC2-SS 型氢化仪。

氢化反应通常抽真空，充入氢气，反复操作 3 次。

微波反应使用 CEM Discover-S 908860 型微波反应器。

实施例中无特殊说明，溶液是指水溶液。

实施例1中无特殊说明，反应的温度为室温，为 20℃至 30℃。

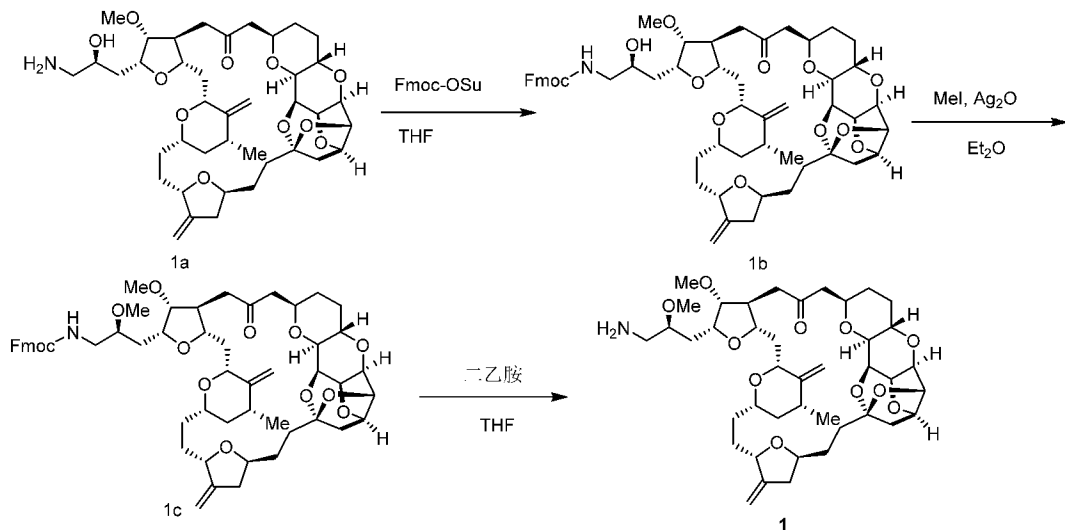
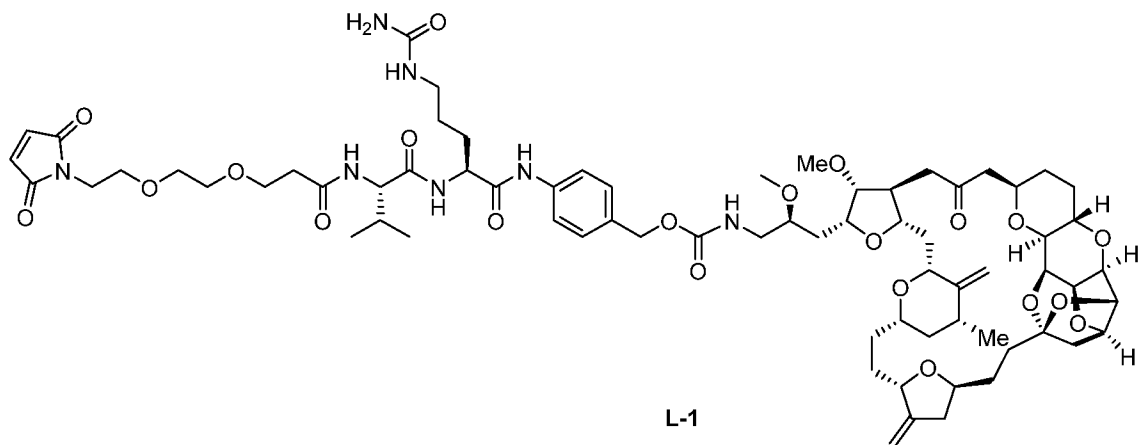
纯化化合物采用的柱层析的洗脱剂的体系和薄层色谱法的展开剂的体系包括：

A：二氯甲烷和异丙醇体系，B：二氯甲烷和甲醇体系，C：石油醚和乙酸乙酯体系，溶剂的体积比根据化合物的极性不同而进行调节，也可以加入少量的三乙胺和酸性或碱性试剂等进行调节。

本文所述的如式 I 所示的抗体药物偶联物可依照 PCT/CN2022/107479 的方法制备。

一、抗体偶联物的制备

实施例 1



步骤 1：化合物 1b 的制备

冰水浴下，将化合物 **1a**（艾日布林，参照 ZL201010236637.2 方法制备获得）(72.91 mg, 0.1 mmol)溶于 10 mL 的四氢呋喃中，加入 Fmoc-OSu(芴甲氧羰基琥珀酰亚胺, 41 mg, 0.12 mmol)，然后在室温搅拌至反应完全。减压浓缩得粗品，直接用于下一步反应。

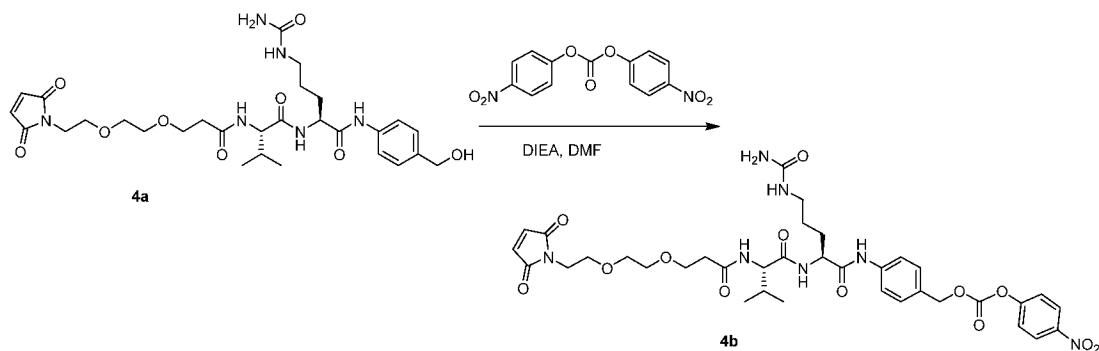
步骤 2: 化合物 **1c** 的制备

将上步所得化合物 **1b** 的粗品溶于 10 mL 无水乙醚中, 加入氧化银(34.8 mg, 0.15 mmol), 接着加入碘甲烷(28.4 mg, 0.2 mmol), 然后于室温搅拌至反应完全, 过滤, 然后减压浓缩得粗品, 直接进行下一步反应。

5 步骤 3: 化合物 **1** 的制备

将上步所得化合物 **1c** 粗品溶于 10 mL 的四氢呋喃中, 加入 2mL 的二乙胺, 然后在室温搅拌至反应完全, 减压浓缩得粗品, 经硅胶柱层析色谱法(洗脱剂: 二氯甲烷/乙酸乙酯/石油醚)纯化, 得 3mg 目标产物化合物 **1**。

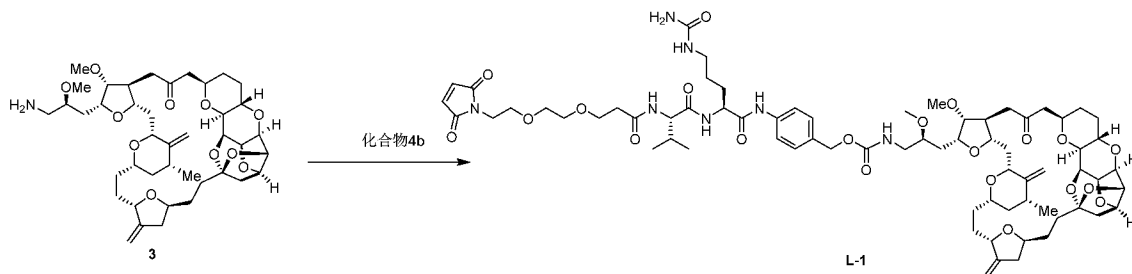
LC/MS (ESI): m/z 744.2 $[M+H]^+$ 。



10

冰水浴下, 将 **4a**(50 mg, 0.08 mmol, 参照 WO2017151979 中方法制备)溶解到 1.5 mL 的 N,N-二甲基甲酰胺中, 然后加入 DIPEA (N,N-二异丙基乙胺, 18 mg, 0.14 mmol), 接着加入二(对硝基苯)碳酸酯(49 mg, 0.16 mmol), 然后在室温下搅拌 10 加入 20 mL 甲基叔丁基醚, 搅拌 20 分钟, 过滤, 干燥得到固体 36 mg, LC/MS (ESI):

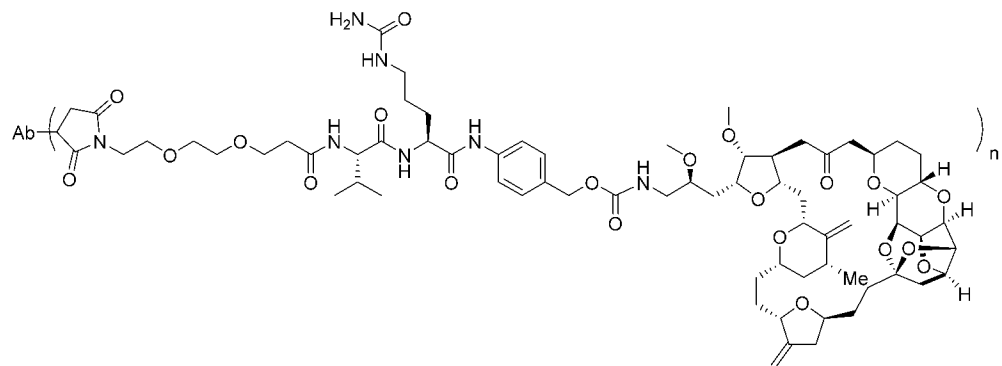
15 m/z 784.1 $[M+H]^+$ 。



将化合物 **1** (13.5 mg, 0.018 mmol)溶于 1.5 mL 的 DMF 中, 加入 DIPEA (7 mg, 0.054 mmol), 然后分批加入化合物 **4b**(18 mg, 1.3 mmol), 搅拌至反应基本完全, 浓缩得粗品, 经 HPLC 制备分离得 6.5 mg 化合物 L-1, 纯度 96.95%, LC/MS (ESI):

20 m/z 1388.3 $[M+H]^+$ 。

实施例 2 ADC-001



在 37 °C 条件下, 向抗体 Pertuzumab 的 PBS 缓冲水溶液 (pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液; 10.0 mg/mL, 1.43 mL, 97 nmol) 加入配置好的三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP-HCl)的水溶液(10 mM, 24.2 uL, 242 nmol), 置于水浴振荡器, 于 37 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25 °C。

将化合物 **L-1** (1.34 mg, 965 nmol) 溶解于 60 uL 二甲亚砜中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25 °C 下振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用 Sephadex G25 凝胶柱脱盐纯化(洗脱相: pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 缓冲水溶液, 含 0.001M 的 EDTA), 得到标题产物的 PBS 缓冲液(1.24 mg/mL, 9.8 mL), 于 4 °C 冷藏储存。

CE-SDS 计算平均值: n=3.17。

实施例 3 ADC-001

在 12°C 条件下, 在含有 2.5 mM EDTA 的 20mM 组氨酸-盐酸-Tris 缓冲液 (pH 7.2, 7.73L) 中, 含 135.32g Pertuzumab 抗体 (0.93 mmol) 与 0.5880g 三(2-羧乙基)膦盐酸盐(Sigma, 2.05 mmol) 在恒温水浴中搅拌反应 120min, 生成中间体 I 溶液。滴加 2M 醋酸调节反应液 pH 至 5.2。

将化合物 **L-1** (6.865g, 4.94mmol) 溶解于 0.425 L DMSO 中, 生成化合物 L-1 的 DMSO 溶液。向上述中间体 I 溶液中预加 0.348 L DMSO, 再将上述化合物 L-1 的 DMSO 溶液加入到预加 DMSO 的中间体 I 溶液中, 于水浴 12 °C 下搅拌。滴加 2M 醋酸调节反应液 pH 至 4.2。

将上述反应液经 0.22μm 滤器过滤后, 使用琥珀酸缓冲液 (pH=4.2) 超滤, 得到产物 ADC-001 (20g/L, 反相色谱计算平均值: n=4.1)。

二、生物学测试

测试例 1: 对体外培养人乳腺癌 BT-474 和人胃癌 NCI-N87, NCI-N87/16-8, NCI-N87/8-2 细胞增殖的抑制作用

1.1 药物信息

序列	药品代号	浓度%	纯度%
1	ADC-001	1.24	97.57
2	kadcyla	10	/

注：以上样品由上海恒瑞有限公司提供。其中帕妥珠单抗按照 WO2006033700 中类似方法制备获得；kadcyla：曲妥珠单抗-美坦新偶联物。

1.2 受试细胞

NCI-N87 和 BT-474 细胞购自 American Type Culture Collection(ATCC)。T-DM1 长期作用 NCI-N87 诱导出的 T-DM1 耐药的 NCI-N87/16-8 和 NCI-N87/8-2 细胞由本实验室构建。细胞用含 10 % 胎牛血清 (FBS) 的 RPMI 1640/DMEM (1: 1) 培养液培养。

1.3 仪器及试剂

RPMI 1640 和 DMEM 购自 Gibco BRL 公司；FBS 购自 Gibco 公司；磺酰罗丹明 B(SRB)购自 Sigma 公司。

酶标仪 Synergy H4 购自 BioTek 公司。

1.4 实验步骤

接种一定数量的对数生长期细胞于 96 孔培养板。贴壁生长 24 小时后，加入不同浓度 (10000, 3000, 1000, 300, 100, 30, 10, 3, 1 ng/mL) 的药物。药物处理 120 小时后，用三氯乙酸固定细胞。然后 SRB 溶液染色；最后加入 Tris 溶液溶解 SRB，酶标仪 510nm 波长下测定 OD 值，以下列公式计算细胞生长抑制率：

抑制率=(OD 值对照孔－OD 值给药孔)/ OD 值对照孔×100%

根据各浓度抑制率，用 GraphPad Prism 7 软件计算半数抑制浓度 IC₅₀。

表 1.对 HER2 阳性肿瘤细胞增殖抑制作用 IC₅₀ (ng/mL)

	NCI-N87	NCI-N87/16-8	NCI-N87/8-2	BT-474
ADC-001	8.1	33.6	13.0	5.6

测试例 2：化合物 1 的体外细胞毒活性筛选

1.1. 实验原理及方法

本实验利用 CTG 检测 ATP 含量，反映肿瘤细胞的存活情况。首先通过种植不同密度的细胞并培养 3 天和 5 天，根据 IC₅₀ 和最大抑制率确定最终培养条件。然后按照此条件检测毒素分子的杀伤作用。

1.2. 细胞株的选择

根据实验目的，选择乳腺癌、NSCLC 两种疾病模型，选出 SKBR3 肿瘤细胞 (HER2+, ATCC, 货号 HTB-30)、MDA-MB-468 (HER2-, ATCC, 货号 HTB-132) 和 A549 (人非小细胞肺癌细胞, ATCC, 货号 CCL-185) 三株细胞用于筛选实验。

1.3. 细胞培养条件的确定

1)细胞培养: A549、SK-BR-3 和 MDA-MB-468 细胞分别用含 10% FBS(Gibco, 10099-141)的 Ham's F-12K(Kaighn's)培养基(Gibco, 21127030)和 McCoy's 5A 培养

基 (ThermoFisher, 货号 16600108) 培养及 Leibovitz's L-15 培养基 (ThermoFisher, 货号 11415-114) 进行培养。

2) 细胞铺板: 将 A549 用胰酶消化后, 用上述培养基终止, 计数后分别取 4.3×10^5 、 7.2×10^5 、 11.5×10^5 个细胞加培养液使终体积均为 26ml。在 96 孔板 (康宁, 货号 3903) 第 2 列到第 11 列每孔加 180ul 细胞悬液, 使得细胞密度分别为每孔 3K、5K、8K。第 12 列为 200ul 培养液, 剩余孔用 PBS 填充。SKBR3 和 MDA-MB-468 细胞重复上述操作。平行两份。

2) 药物配制: 在圆底 96 孔板 (康宁, 货号 3788) 中, 用 DMSO 配制阳性对照艾日布林和本公开化合物储备液。在配药板 1 的第 1 列配制 2mM (用 DMSO 将储备液稀释 10 倍), 此后到第 10 列梯度 10 倍稀释于 DMSO 中, 第 11 列为 DMSO。配药板 2 第 2 列至第 11 列每孔加入相应培养液 95ul, 从配药板 1 的第 2 列至第 11 列吸取 5ul 溶液至配药板 2, 混匀后, 吸取 20ul 加入铺好的细胞中, 继续培养 3 天和 5 天。

3) CTG 检测 (Cell Titer-Glo™, 发光细胞生存能力检测, Promega 公司): 分别在第 3 天和第 5 天取出细胞板, 平衡至室温。每孔加入 90ul CTG, 避光室温反应 10min, 酶标仪读取发光值并计算 IC₅₀。

1.4. 数据结果

表 2

化合物	SKBR3		MDA-MB-468		A549	
	IC ₅₀ (nM)	最大抑制率%	IC ₅₀ (nM)	最大抑制率%	IC ₅₀ (nM)	最大抑制率%
艾日布林	0.7147	94.90	0.4819	87.47	0.6609	81.50
化合物 1	0.2052	96.87	0.1827	88.01	0.5151	81.34

测试例 3: 化合物 1 药代动力学测试

1、概述

以 Non-naïve 的比格犬为受试动物, 应用 LC/MS/MS 法测定了比格犬静脉注射给予化合物 1 和艾日布林后不同时刻血浆中的药物浓度。研究本公开化合物在犬体内的药代动力学行为, 评价其药动学特征。

2、试验方案

2.1 试验药品

化合物 1 和艾日布林

2.2 试验动物

比格犬 6 只, 雄性, 平均分为 2 组, 由美迪西普亚医药科技 (上海) 有限公司采购并进行动物给药实验。

2.3 药物配制

称取化合物1，加5%体积的DMSO，20%PG和20% PEG400使其溶解，然后加入55%生理盐水配制成0.25mg/ml无色澄明溶液。

称取艾日布林，加5%体积的DMSO，20%PG和20% PEG400使其溶解，然后加入55%生理盐水配制成0.25mg/ml无色澄明溶液。

5 2.4 给药

一组犬静脉注射给药化合物1, 给药剂量均为0.5mg/kg, 给药体积均为2ml/kg。

另一组犬静脉注射给药艾日布林，给药剂量均为0.5mg/kg，给药体积均为2ml/kg。

3、操作

犬注射给药化合物 1，于给药前及给药后 5 分钟、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0、24.0 小时采血 1ml，将收集的血液样本置于 EDTA-K2 抗凝型采血管中，将收集到的全血放在冰上，1 小时内离心分离血浆（离心力 2200g，离心 10 min，2-8℃）。血浆样本在检测前存放于-80℃冰箱内。

犬注射给药艾日布林化合物，于给药前及给药后 5 分钟、0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0、24.0 小时采血 1ml，将收集的血液样本置于 EDTA-K2 抗凝型采血管中，将收集到的全血放在冰上，1 小时内离心分离血浆（离心力 2200g，离心 10 min，2-8℃）。血浆样本在检测前存放于-80℃冰箱内。

测定药物注射给药后犬血浆中的待测化合物含量：取给药后各时刻的犬血浆 25 μl ，加入内标溶液喜树碱（中国生物制品检定所）50 μl （100 ng/mL ）和乙腈 200 μl ，涡旋混合 5 分钟，离心 10 分钟（3700 转/分钟），血浆样品取上清液 3-4 μl 进行 LC/MS/MS（API4000 三重四极杆串联质谱仪（No.2），美国 Applied Biosystems 公司；Shimadzu LC-30AD 超高效液相色谱系统，日本 Shimadzu 公司）分析。

4、药代动力学参数结果

本公开化合物的药代动力学参数如下表 3 所示。

表 3

编 号	犬药代实验					
	血药浓度	曲线面积	半衰期	滞留时间	清除率	表观分布容积
	C5min (ng /mL)	AUC0-t (ng /mL*h)	T1/2 (h)	MRT (h)	CL (ml/min/kg)	Vz (ml/kg)
化合物 1	82.1	433	29.3	41.1	8.9	22039
艾日布林	217	106	3.5	3.7	78	15556

测试例 4: ADC-001 对人胃癌 NCI-N87/16-8 裸小鼠皮下移植瘤的疗效

1、实验目的

评价 ADC-001对人胃癌NCI-N87/16-8裸小鼠皮下移植瘤的疗效。

2、试验药品

ADC-001, 用生理盐水稀释至所需浓度。

3、细胞

5 人胃癌NCI-N87细胞购自American Type Culture Collection。NCI-N87经T-DM1长期诱导培养对T-DM1耐药, 命名为NCI-N87/16-8。细胞用10-cm培养皿培养, 培养条件为RPMI 1640培养基(Gibco)中加10%胎牛血清以及青、链霉素, 于37°C、含5% CO₂空气的培养箱中培养。一周2-3次传代, 当细胞呈指数生长期时, 胰酶消化, 收集细胞, 计数, 接种。

10 4、试验动物

BALB/cJGpt-Foxn1tm/Gpt小鼠, 4周, 雌性, 购自江苏集萃药康生物科技有限公司。生产许可证号: SCXK(苏)2019-0009; 动物合格证号202004958。饲养环境: SPF级。

5、试验步骤

15 每只裸小鼠皮下接种 1×10^7 NCI-N87/16-8 细胞, 待肿瘤生长至 100-150mm³ 后, 根据肿瘤体积和体重将动物分组(D0)。小鼠静脉注射给予 0.3 和 0.6 mg/ml 的 ADC-001, 给药体积 10 mL/kg。每周测 2 次肿瘤体积, 称小鼠体重, 记录数据。

6、试验指标

实验指标为考察药物对肿瘤生长的影响, 具体指标为 T/C%或肿瘤生长抑制率
20 TGI(%)。

每周二次用游标卡尺测量肿瘤直径, 肿瘤体积(V)计算公式为:

$$V = 1/2 \times a \times b^2 \quad \text{其中 } a、b \text{ 分别表示长、宽。}$$

$T/C(\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ 其中 T、C 为实验结束时的肿瘤体积; T₀、C₀ 为实验开始时的肿瘤体积。

25 生长抑制率 $TGI(\%) = 100 - T/C(\%)$ 。

当肿瘤出现消退时, 生长抑制率 $TGI(\%) = 100 - (T - T_0) / T_0 \times 100$

如果肿瘤比起始体积缩小, 即 $T < T_0$ 或 $C < C_0$ 时, 即定义为肿瘤部分消退(PR); 如果肿瘤完全消失, 即定义为肿瘤完全消退(CR)。

实验结束、达到实验终点、或溶剂组平均肿瘤体积达到 1500mm³, CO₂ 麻醉
30 处死动物, 随后解剖取瘤并拍照。

7、统计学分析

除非特别说明, 二组肿瘤体积之间比较采用双尾 Student's t 检验, $P < 0.05$ 定义为有统计学显著性差异。

8、结果

35 单次给药后第 22 天, 3 mg/k 和 6 mg/kg, ADC-001 可以抑制 NCI-N87/16-8 细胞在裸小鼠皮下移植瘤模型中的生长, 抑瘤率分别为 46.77%和 90.18% ($P < 0.01$ vs

PBS control)。荷瘤小鼠对能 ADC-001 很好耐受，没有体重减轻等症状发生。

9、结论

ADC-001能够有效抑制人胃癌NCI-N87/16-8细胞在裸小鼠皮下移植瘤模型中的生长，荷瘤小鼠对ADC-001能很好耐受。

5

测试例 5：ADC-001 对 JIMIT-1 细胞在裸小鼠皮下移植瘤的疗效

1、试验药品

ADC-001，用PBS稀释至所需浓度。

2、细胞

10

人乳腺癌JIMIT-1细胞。

4、试验动物

雌性Balb/c nude 小鼠

5、试验步骤

15

BALB/c nude 小鼠右侧背部皮下接种 JIMT1 细胞 5×10^5 JIMT1 细胞，待肿瘤体积达 $80-100\text{mm}^3$ 时，根据肿瘤体积和小鼠体重随机分组，每组 6 只，分组当天开始给药。HRA00092-C063-004 采用 PBS 稀释至 0.6mg/ml 静脉注射给药，给药体积为 10ml/kg ，对照组静脉注射给予相同体积的 PBS。

每周二次用游标卡尺测量肿瘤长径和短径，并测量小鼠体重。

肿瘤体积 (V) 计算公式为：

20

$V = 1/2 \times a \times b^2$ 其中 a、b 分别表示长、宽。

$T/C(\%) = (T - T_0) / (C - C_0) \times 100$ 其中 T、C 为实验结束时的肿瘤体积； T_0 、 C_0 为实验开始时的肿瘤体积。

生长抑制率 $TGI(\%) = 100 - T/C(\%)$ 。

25

除非特别说明，二组肿瘤体积之间比较采用双尾 Student's T 检验， $P < 0.05$ 定义为有统计学显著性差异。

6、结果

单次给药后第24天，ADC-001可以显著抑制JIMIT-1细胞在裸小鼠皮下移植瘤模型中的生长，抑瘤率为121.3%，其中5只小鼠中的肿瘤都出现了消退($< 50\text{mm}^3$)。荷瘤小鼠对能ADC-001很好耐受，没有体重减轻等症状发生。

30

三、制剂

制剂制备与检测过程中使用的设备及结果计算方法如下：

SEC 分子排阻色谱法：

35

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

SEC% (SEC 单体含量百分比) = A 单体/A 总 × 100% (A 单体为样品中主峰单体的峰面积, A 总为所有峰面积之和)。ΔSEC% = 稳定性放置前制剂的 SEC% - 稳定性放置后制剂的 SEC%。

SEC 测定用仪器: 安捷伦 1260; 柱子: waters, XBridge BEH200Å SEC
5 (300×7.8mm 3.5μm)

R-CE 毛细管凝胶电泳:

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

R-CE% = A 主峰/A 总 × 100% (A 主峰为样品中轻链主峰+重链主峰的峰面积, A 总为所有峰面积之和。) ΔR-CE% = 稳定性放置前制剂的 R-CE% - 稳定性放置后制剂的 R-CE%。
10

CE 测定用仪器: Beckman 型号 plus800

渗透压测定:

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

蛋白浓度:

以下实施例所采用的蛋白为抗 Her2-ADC。

蛋白的浓度测定用仪器: 紫外可见分光光度计, 型号: Nano Drop 2000, 光程
20 为 1mm。

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

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

$$A_{280nm} = (C_{mAb} \times E_{mAb-280}) \times l$$

25 即:

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

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

$E_{mAb-280}$: 蛋白在 280 nm 波长处的质量消光系数, 为 $1.45 \text{ g}^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ L}$;

C_{mAb} : 蛋白的浓度, mg/mL;

30 l: 光程长度, cm (此处光程为 1 cm)。

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

游离毒素测定 (RP-UPLC 反相法):

将样品中的蛋白用 ACN 沉淀除去, 取上清氮气吹干后复溶, 根据样品中的毒

素的极性不一样进行分离，再通过毒素标准品浓度-峰面积拟合的线性方程公式计算样品中的毒素含量。

测定仪器：waters ACQuity H class;

色谱柱：waters ACQUITY UPLC BEH Shield RP18，1.7μm，2.1*150mm

5 游离毒素测定（LC-MS 法）：

本研究通过液相色谱联用质谱法对 ADC 产品中的毒素及相关杂质进行定量测定。本方法直接将样品稀释后上样 UPLC-MS 进行检测，同时通过外标曲线法结合毒素标准品的提取离子流色谱峰面积测定检测样品中的游离毒素含量。

仪器：Waters, Acquity UPLC_Rda (Bioaccord)

10 柱子：Waters, ACQUITY UPLC BEH C4, 1.7μm, 2.1×50mm

制剂实施例 1. pH 和缓冲体系筛选

制备含表 4 所示的缓冲体系、20 mg/mL 蛋白、0.2 mg/mL 聚山梨酯 80（PS80）、40 mg/mL 蔗糖、9 mg/mL 甘氨酸的制剂。对样品进行强制降解研究（40℃ 放置一个
15 个月），以 SEC 为评价指标，考察不同缓冲体系对蛋白稳定性的影响。

结果见表 4。SEC 数据显示，40℃ 放置一个月后，含 His-HCl 或 SA 的制剂 SEC 单体下降幅度小于 CA 组。优选 His-HCl 和 SA 体系。

表 4 pH 和缓冲体系筛选结果

组别	缓冲体系	放置条件	△SEC%
1	30 mM His-HCl pH 5.5	40℃M1	23.6
2	30 mM SA pH 5.5	40℃M1	27.5
3	30 mM CA pH 5.5	40℃M1	30.1

注：His-HCl 代表组氨酸-盐酸组氨酸；CA 代表枸橼酸-枸橼酸钠盐；SA 代表琥珀酸-琥珀酸钠盐；40℃ M1：40℃ 放置一个月，△SEC%：D0 与 40℃ M1 SEC 单体差值，下同。
20

制剂实施例 2. 缓冲体系 pH 对游离毒素的影响

制备含表 5 所示的缓冲体系、20 mg/mL 蛋白、0.2 mg/mL PS80、40 mg/mL 蔗糖、9 mg/mL 甘氨酸的制剂。对样品进行 2~8℃稳定性研究，以游离毒素为评价指标，考察不同 pH 缓冲体系对游离毒素的影响。
25

结果见表 5。游离毒素数据显示，2~8℃放置一个月后，游离毒素随着缓冲体系 pH 的降低而减少。pH5.5 优于 pH6.5.

表 5 pH 对游离毒素的影响

组别	缓冲体系	放置条件	游离毒素-化合物 3（ppm）
1	30 mM His-HCl pH 6.5	2-8℃ M1	2296
2	30 mM His-HCl pH 5.5	2-8℃ M1	137

注：2-8℃ M1 表示 2~8℃放置一个月。

制剂实施例 3. pH 和缓冲体系对游离毒素的影响

制备含表 6 所示的缓冲体系、20 mg/mL 蛋白、0.2 mg/mL 聚山梨酯 80（PS80）、40 mg/mL 蔗糖、9 mg/mL 甘氨酸的制剂。对样品进行稳定性研究（室温放置一天、2-8℃放置一天、-35℃与 2~8℃之间反复冻融 2 个循环），以游离毒素为评价指标，考察不同 pH 和缓冲体系对游离毒素的影响。

结果见表 6。游离毒素数据显示，随着 pH 的降低，游离毒素的增长速度变慢，缓冲体系 SA 优于 His-AA。因此缓冲体系优选为 30mM SA pH4.2。

表 6 pH 和缓冲体系对游离毒素的影响结果

组别	缓冲体系	放置条件	△游离毒素-化合物 3
1	30mM His-AA pH 4.8	RT24H	247.2
		2-8℃D1	113.3
		FT2C	25.4
2	30mM SA pH 4.8	RT24H	84.0
		2-8℃D1	23.3
		FT2C	19.8
3	30mM SA pH 4.2	RT24H	6.0
		2-8℃D1	1.7
		FT2C	2.2

注：RT24H 表示室温放置一天，2-8℃D1 表示 2-8℃放置一天，FT2C 表示-35℃与 2~8℃之间反复冻融 2 个循环，△游离毒素表示放置后游离毒素与 0 时比增加的值，同下。

制剂实施例 4. 缓冲体系 pH 的优化

制备含表 7 所示的缓冲体系、20 mg/mL 蛋白、0.6 mg/ml 泊洛沙姆 188(F68)、40 mg/mL 蔗糖、9 mg/mL 甘氨酸的溶液剂和冻干粉制剂。对样品进行稳定性研究（溶液剂样品室温放置 24 小时、2-8℃放置 3 天、-35℃与 2~8℃之间反复冻融 5 个循环，冻干粉样品 40℃放置 4 周），以外观、SEC、R-CE、游离毒素为评价指标，考察不同缓冲体系 pH 对蛋白稳定性和游离毒素的影响。

结果见表 7、8。结果显示，溶液剂：pH4.0-4.2 各条件下 SEC/CE/游离毒素稳定性均较好，pH4.6 游离毒素 RT24h 及 2-8℃ D3 略有增长，但整体游离毒素依然较低，稳定性可以接受。冻干剂 pH4.0-4.6 4 度及 40 度放置 4 周稳定性较好，组间无差异。综合溶液及冻干结果，缓冲体系优选为 30mM SA pH4.2。

表 7.缓冲体系 pH 的优化溶液剂结果

缓冲体系 pH	放置条件	SEC%	R-CE%	游离毒素 化合物 3
		单体		
30 mM SA pH 4.0	D0	96.8	98.0	<50
	RT24H	96.9	97.4	<50
	2-8℃D3	96.9	98.0	<50
	FT5C	96.9	98.4	<50
30 mM SA	D0	96.6	98.1	<50

pH 4.2	RT24H	96.7	98.2	58.0
	2-8°C D3	96.7	98.2	<50
	FT5C	96.7	98.3	<50
30 mM SA pH 4.6	D0	96.4	97.9	<50
	RT24H	96.4	98.0	89.2
	2-8°C D3	96.5	97.9	60.1
	FT5C	96.4	98.3	54.7

注：D0 表示 0 天，RT24H 表示室温 24 小时，D3 表示 3 天，以此类推；FT1C 表示-35°C与 2~8°C 之间反复冻融 1 个循环，以此类推。

表 8 缓冲体系 pH 的优化冻干粉结果

缓冲体系 pH	放置条件	外观	SEC%	R-CE%	游离毒素 化合物 3
			单体		
30 mM SA pH 4.0	D0	澄清透明	96.8	98.0	<50
	FR-40°C W4	澄清透明	96.1	98.3	<50
30 mM SA pH 4.2	D0	澄清透明	96.6	98.1	<50
	FR-40°C W4	澄清透明	95.9	98.1	<50
30 mM SA pH 4.6	D0	澄清透明	96.4	97.9	<50
	FR-40°C W4	澄清透明	96.0	98.0	<50

注：FR 表示冻干粉用注射用水进行复溶；D0 表示 0 天；W4 表示 4 周。

5

制剂实施例 5. 赋形剂及渗透压调节剂的筛选

制备含表 9 所示赋形剂及渗透压调节剂、30mM SA pH 4.2、20 mg/mL 蛋白、0.2 mg/mL PS80 的溶液剂。对样品进行稳定性研究，以外观、SEC 和游离毒素为评价指标，考察不同浓度的赋形剂及渗透压调节剂对蛋白稳定性的影响。

10

结果见表 10。RT24H/2-8°C D1/ FT1C 数据显示，组间外观和 SEC 无显著性差异。但 40 mg/mL 蔗糖+9 mg/mL 甘氨酸组游离毒素略优，因此优选 40 mg/mL 蔗糖+9 mg/mL 甘氨酸。

表 9 赋形剂及渗透压调节剂信息表

组别	赋形剂	渗透压调节剂
1	40 mg/mL 蔗糖	9 mg/mL 甘氨酸
2	20 mg/mL 蔗糖	13.5 mg/mL 甘氨酸

表 10 赋形剂及渗透压调节剂的筛选结果

组别	放置条件	溶液 外观	ΔSEC%	Δ 游离毒素-化合物 3 (ppm)
1	RT24H	澄明	-0.3	6.0
	2-8°C D1	澄明	-0.7	1.7
	FT1C	N/A	N/A	2.6
2	RT24H	澄明	-0.2	12.8
	2-8°C D1	澄明	-0.4	3.5
	FT1C	N/A	N/A	3.5

注： RT24H 表示室温放置 24 小时；2-8℃D1 表示 2-8℃放置 1 天； F/T1C 表示-35℃与 2~8℃之间反复冻融 1 个循环； N/A 表示未检测。

5 制剂实施例 6. 表面活性剂筛选

制备含表 11 所示表面活性剂、30 mM SA pH 4.2、20 mg/mL 蛋白、40 mg/mL 蔗糖、9 mg/mL 甘氨酸的溶液剂。对样品进行稳定行放置（室温放置 7 天和 4℃放置 7 天），以 SEC 和游离毒素为评价指标，考察不同表面活性剂对蛋白稳定性的影响。

10 结果见表 11。数据显示，组间游离毒素、SEC 纯度无显著性区别。

表 11 表面活性剂种类筛选结果

组别	表面活性剂	放置条件	ΔSEC%	Δ 游离毒素-化合物 3 (ppm)
1	0.2 mg/ml PS80	RTD7	0.6	113
		4℃CD7	0.5	55
2	0.6 mg/ml F68	RTD7	0.1	101
		4℃CD7	0.3	50

制剂实施例 7. 表面活性剂浓度筛选

15 制备含表 12 所示不同浓度的 F68、30mM SA pH 4.2、20 mg/mL 蛋白、40 mg/mL 蔗糖、9 mg/mL 甘氨酸的溶液剂和冻干粉制剂。对样品进行稳定性研究（溶液样品在 2-8℃放置 3 天、-35℃和 2~8℃之间反复冻融 3 次，冻干后产品 0 时），以外观和 SEC 为评价指标，考察不同浓度的 F68 对蛋白稳定性的影响。

20 结果见表 12。数据显示，对溶液剂，0.4-0.6 mg/mL F68 处方在不同条件下，样品外观较好，SEC 纯度项无显著性差异。冻干复溶后外观和 SEC 纯度项无显著差异。因此，表面活性剂浓度优选 0.4-0.6 mg/mL。更优选 0.6 mg/ml。

表 12 表面活性剂浓度筛选结果

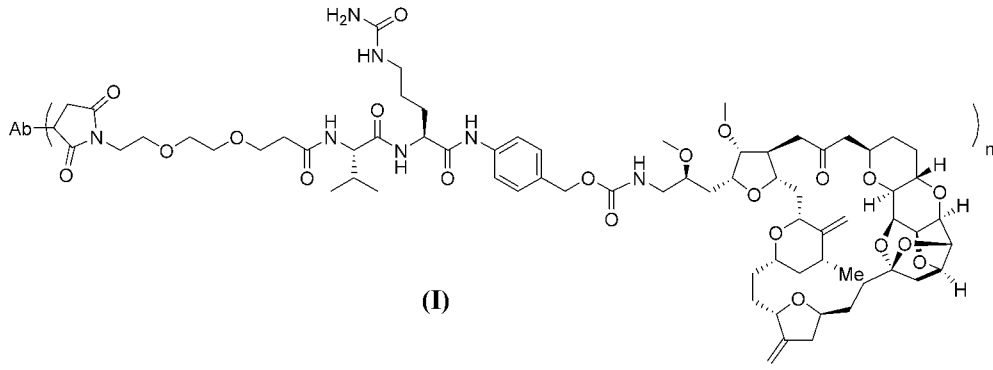
组别	表面活性剂	放置条件	外观	ΔSEC%
1	0.2 mg/ml F68	溶液剂 D0	偶见细小颗粒	N/A
		2-8℃D3	少量细小颗粒	0.1
		FT3C	少量细小颗粒	0.0
		FR-D0	澄明	N/A
2	0.4 mg/ml F68	溶液剂 D0	澄明	N/A
		2-8℃D3	偶见细小颗粒	0.2
		FT3C	澄明	0.1
		FR-D0	澄明	N/A

3	0.6 mg/ml F68	溶液剂 D0	澄明	N/A
		2-8°CD3	澄明	0.1
		FT3C	澄明	0.1
		FR-D0	澄明	N/A

。

权利要求书

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



其中：

Ab 为 Pertuzumab；

n 为 1 至 10，优选为 1 至 8，更优选为 3 至 5；

所述缓冲剂选自枸橼酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂和琥珀酸盐缓冲剂，优选组氨酸-盐酸组氨酸、枸橼酸-枸橼酸钠和琥珀酸-琥珀酸钠。

2. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述药物组合物的 pH 为 3.5 至 5.5，优选 pH 为 3.5 至 5.0，更优选 pH 为 3.7 至 4.7。

3. 根据权利要求 1 所述的药物组合物，其中所述缓冲剂的浓度为 5mM 至 50 mM，优选为 20mM 至 40 mM，更优选为 30 mM。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含表面活性剂，所述表面活性剂优选为聚山梨酯或泊洛沙姆。

5. 根据权利要求 4 所述的药物组合物，其中所述表面活性剂浓度为 0.01 mg/mL 至 1.0 mg/mL，优选 0.05 mg/mL 至 1.0 mg/mL，更优选为 0.1 mg/mL 至 1.0mg/mL。

6. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还包含糖，所述糖优选为蔗糖。

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

8. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物还

包含氨基酸，所述氨基酸优选为甘氨酸。

9. 根据权利要求 8 所述的药物组合物，其中所述氨基酸的浓度为 6mg/mL 至 15mg/mL，优选为 7mg/mL 至 11mg/mL，更优选为 9mg/mL。

5

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

优选地，所述抗体药物偶联物浓度为以蛋白浓度计，10 mg/mL 至 30 mg/mL，更优选地，所述抗体药物偶联物浓度为以蛋白浓度计，18mg/mL 至 22 mg/mL。

10

11. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的药物组合物，其包含：

(a) 以蛋白浓度计，1 mg/mL 至 100 mg/mL 的所述抗体药物偶联物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.8 mg/mL 的泊洛沙姆或聚山梨酯，(c) 30 mg/mL 至 50mg/mL 的蔗糖，(d) 6mg/mL 至 15mg/mL 甘氨酸，和(e) 10 mM 至 50 mM 的琥珀酸-琥珀酸钠缓冲剂；所述药物组合物的 pH 为 3.5 至 5.5，

15

优选的，所述的药物组合物包含：

(a) 以蛋白浓度计，1 mg/mL 至 50 mg/mL 的所述抗体药物偶联物，(b) 0.4 mg/mL 至 0.8 mg/mL 的泊洛沙姆或聚山梨酯，(c) 30 mg/mL 至 50mg/mL 的蔗糖，(d) 6mg/mL 至 15mg/mL 甘氨酸，和(e) 20 mM 至 40 mM 的琥珀酸-琥珀酸钠缓冲剂；所述药物组合物的 pH 为 3.7 至 4.7

20

更优选的，所述的药物组合物包含：

(a) 以蛋白浓度计，20 mg/mL 的所述抗体药物偶联物，(b) 0.6 mg/mL 的泊洛沙姆 188 或 0.2mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 的蔗糖，(d) 9mg/mL 甘氨酸和 (e) 30 mM 琥珀酸-琥珀酸钠缓冲剂，所述药物组合物的 pH 为 4.2。

25

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

13. 一种含抗体药物偶联物的冻干制剂，其中所述冻干制剂通过将权利要求 1 至 11 中任一项所述的药物组合物冷冻干燥获得。

30

14. 一种含抗体药物偶联物的复溶溶液，其中所述复溶溶液是通过将权利要求 12 或 13 所述的冻干制剂复溶制备获得。

15. 一种制品，其包括容器，该容器中装有如权利要求 1 至 11 中任一项所述的药物组合物、权利要求 12 或 13 所述的冻干制剂或权利要求 14 所述的复溶溶液。

35

16. 根据权利要求 1 至 11 中任一项所述的药物组合物、根据权利要求 12 或 13 所述的冻干制剂、根据权利要求 14 所述的复溶溶液或权利要求 15 所述制品在制备治疗病毒感染、肿瘤或癌症的药物中的用途；优选的，所述的肿瘤为与 HER2 的结构域 II 表达相关的癌症；优选的，所述肿瘤选自乳腺癌、卵巢癌、宫颈癌、
- 5 子宫癌、前列腺癌、肾癌、尿道癌、膀胱癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、唾液腺癌、食道癌、黑色素瘤、神经胶质瘤、神经母细胞瘤、肉瘤、肺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、白血病、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、胰腺癌和淋巴瘤。

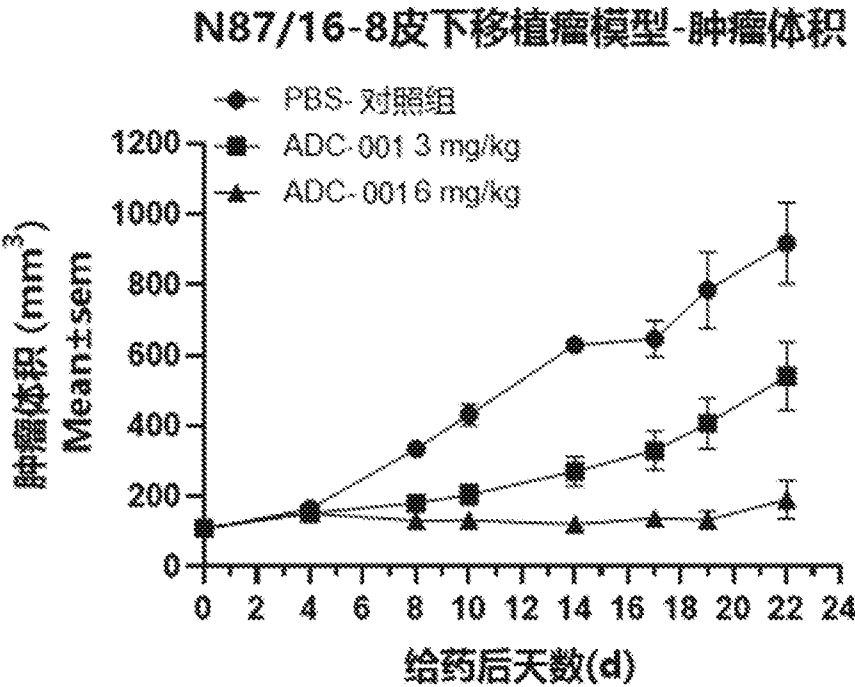


图1

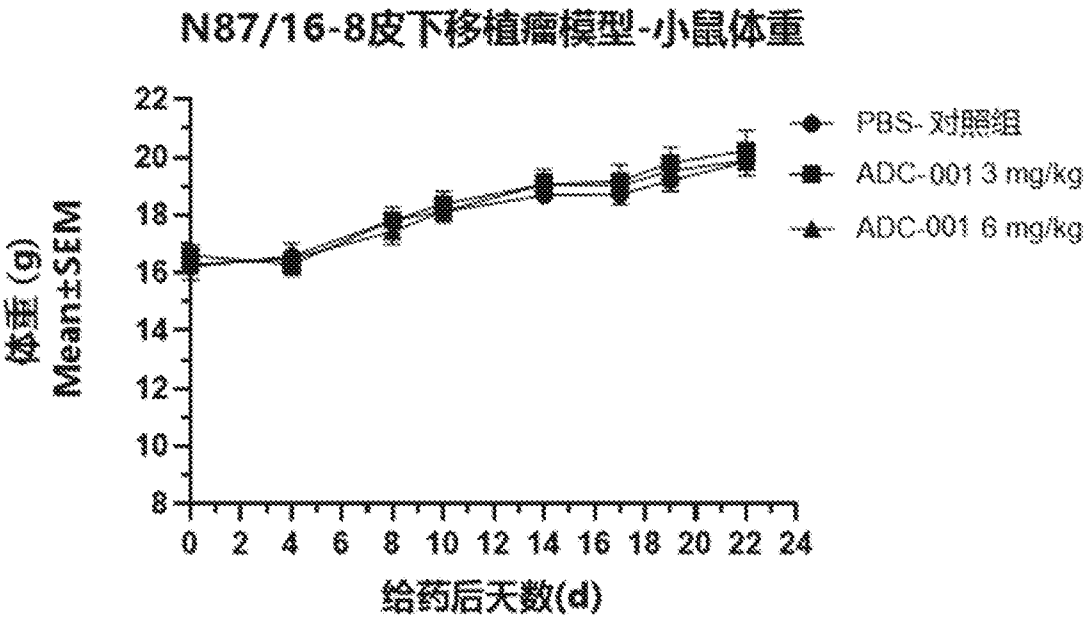


图2

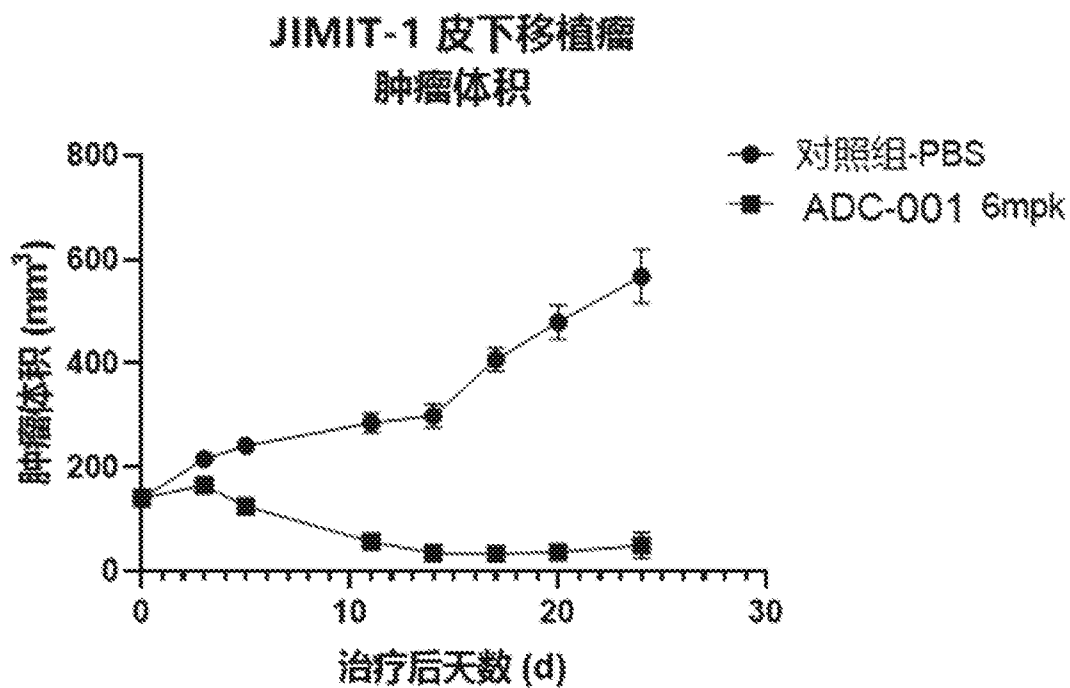


图3

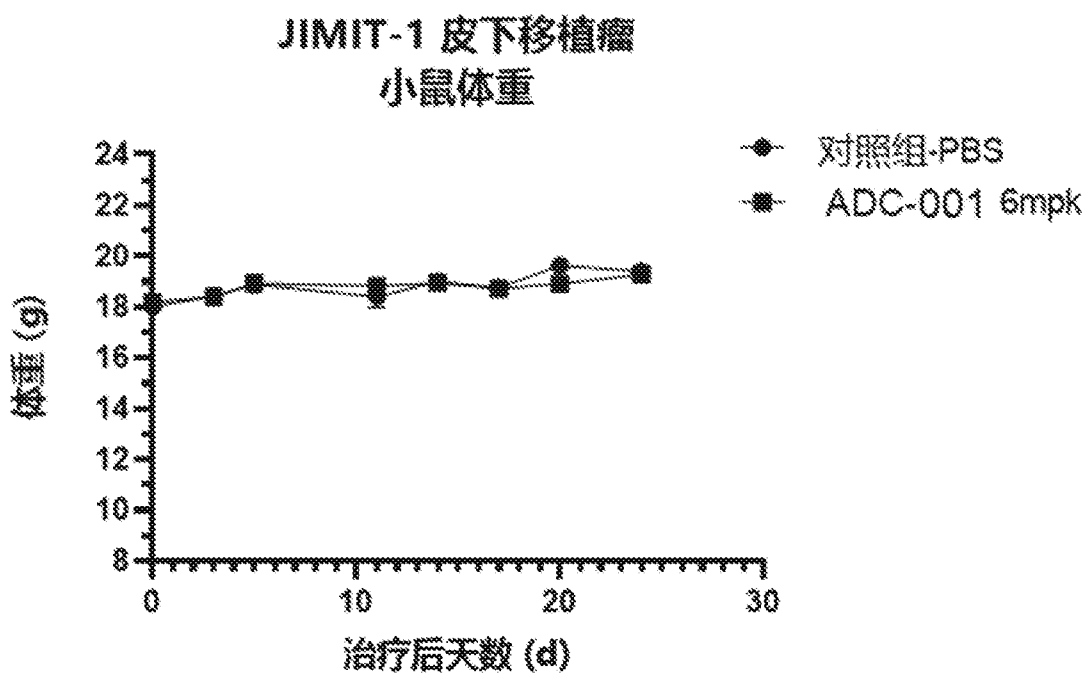


图4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2024/073229

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K39/395(2006.01)i; A61K47/68(2017.01)i; A61K9/19(2006.01)i; A61K47/18(2017.01)i; A61P35/00(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC:A61K,A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNTXT, WPABS, WPABSC, ENTXTC, OETXT, VEN, 中国药物专利数据库, China Medicine Patent Database, CNKI, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, 超星读秀学术, DIUXIU SCHOLAR (CN), 万方, WANFANG (CN), Medline, ISI-WEB OF SCIENCE, REGISTRY, CAPLUS: 结构式检索, structural formula search, 帕妥珠单抗, 培妥珠单抗, 艾日布林, 缓冲, 抗体药物, 偶联物, 缀合物, antibody, drug, conjugate, pertuzumab, omnitarg, eribulin, buffer		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2021148003 A1 (SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO., LTD. et al.) 29 July 2021 (2021-07-29) see claims 1-46, and description, pages 18-25, 37-38, 42 and 79, embodiments 2-16	1-16
Y	WO 2021190581 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. et al.) 30 September 2021 (2021-09-30) see abstract, claims 1-19, and description, pages 20-23	1-16
Y	CN 113521018 A (NOVOCODEX BIOPHARMACEUTICALS CO., LTD.) 22 October 2021 (2021-10-22) see abstract, and claims 1-10	1-16
Y	CN 112516090 A (SHANGHAI FUDAN-ZHANGJIANG BIO-PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 19 March 2021 (2021-03-19) see abstract, claims 1-10, and description, embodiments	1-16
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: “A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance “D” document cited by the applicant in the international application “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed “T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art “&” document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 27 March 2024		Date of mailing of the international search report 12 April 2024
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 110732023 A (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. et al.) 31 January 2020 (2020-01-31) see abstract, and claims 1-18	1-16
Y	CN 114828895 A (EISAI R. & D. MANAGEMENT CO., LTD.) 29 July 2022 (2022-07-29) see abstract, and claims 1-8	1-16
Y	CN 108883198 A (EISAI R. & D. MANAGEMENT CO., LTD.) 23 November 2018 (2018-11-23) see abstract, and claims 1-169	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/073229

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2021148003	A1	29 July 2021	AU	2021210079	A1	25 August 2022
				BR	112022014398	A2	13 September 2022
				MX	2022009044	A	11 August 2022
				EP	4094779	A1	30 November 2022
				EP	4094779	A4	22 November 2023
				TW	202140078	A	01 November 2021
				JP	2023511163	A	16 March 2023
				KR	20220130160	A	26 September 2022
				CA	3168654	A1	29 July 2021
				US	2023144203	A1	11 May 2023
WO	2021190581	A1	30 September 2021	MX	2022011770	A	18 October 2022
				KR	20220157998	A	29 November 2022
				BR	112022019073	A2	08 November 2022
				JP	2023518583	A	02 May 2023
				AU	2021243073	A1	13 October 2022
				TW	202144013	A	01 December 2021
				US	2023165969	A1	01 June 2023
				EP	4129345	A1	08 February 2023
				EP	4129345	A4	29 November 2023
				CA	3175733	A1	30 September 2021
CN	113521018	A	22 October 2021	CN	113521018	B	18 November 2022
				WO	2023000171	A1	26 January 2023
CN	112516090	A	19 March 2021	CN	112516090	B	20 June 2023
CN	110732023	A	31 January 2020	CN	110732023	B	16 June 2023
CN	114828895	A	29 July 2022	WO	2021132166	A1	01 July 2021
				BR	112022012546	A2	06 September 2022
				IL	293040	A	01 July 2022
				CA	3164797	A1	01 July 2021
				KR	20220120586	A	30 August 2022
				MX	2022007798	A	19 July 2022
				EP	4088739	A1	16 November 2022
				AU	2020414996	A1	14 July 2022
				JPWO	2021132166	A1	01 July 2021
				US	2023074385	A1	09 March 2023
CN	108883198	A	23 November 2018	TW	202241524	A	01 November 2022
				TWI	825834	B	11 December 2023
				UA	125024	C2	29 December 2021
				JOP	20210074	A1	30 January 2023
				JP	2020019787	A	06 February 2020
				JP	6870051	B2	12 May 2021
				CA	3013791	A1	08 September 2017
				US	2020297860	A1	24 September 2020
				EP	3824909	A1	26 May 2021
				US	2017252458	A1	07 September 2017
				US	10548986	B2	04 February 2020
				SG	10202007520	WA	29 September 2020
				AU	2023285804	A1	18 January 2024
				AR	121302	A2	04 May 2022

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2024/073229

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		LT 3423105 T	10 September 2021
		IL 261428 A	31 October 2018
		JP 2023082096 A	13 June 2023
		SG 11201806515 RA	27 September 2018
		CO 2018008667 A2	31 August 2018
		BR 112018067379 A2	15 January 2019
		RS 62108 B1	31 August 2021
		KR 20220101204 A	19 July 2022
		MX 2023003809 A	12 April 2023
		PE 20231049 A1	11 July 2023
		KR 20180115330 A	22 October 2018
		KR 102445255 B1	22 September 2022
		HUE 054726 T2	28 September 2021
		CL 2021000048 A1	28 May 2021
		TW 201800110 A	01 January 2018
		TWI 772288 B	01 August 2022
		JP 2020128413 A	27 August 2020
		JP 2019516664 A	20 June 2019
		JP 6599019 B2	30 October 2019
		KR 20240007722 A	16 January 2024
		MY 189113 A	26 January 2022
		PL 3423105 T3	25 October 2021
		MD 3423105 T2	31 October 2021
		ES 2880402 T3	24 November 2021
		HRP 20211125 T1	15 October 2021
		JOP 20210073 A1	30 January 2023
		EP 3423105 A1	09 January 2019
		EP 3423105 B1	05 May 2021
		JOP 20170053 B1	17 August 2021
		IL 292946 A	01 July 2022
		AR 107787 A1	06 June 2018
		WO 2017151979 A1	08 September 2017
		US 2018193478 A1	12 July 2018
		US 10322192 B2	18 June 2019
		AU 2017225982 A1	16 August 2018
		AU 2017225982 B2	05 October 2023
		PE 20181953 A1	17 December 2018
		SI 3423105 T1	31 December 2021
		PH 12018501847 A1	15 May 2019
		US 2023398228 A1	14 December 2023
		AR 121301 A2	04 May 2022
		CY 1124628 T1	22 July 2022
		DK 3423105 T3	26 July 2021
		MX 2018010562 A	20 February 2019
		PE 20231050 A1	11 July 2023
		KR 20220101203 A	19 July 2022
		KR 102456433 B1	19 October 2022
		CL 2018002456 A1	21 December 2018
		RU 2018134331 A	02 April 2020
		RU 2018134331 A3	14 August 2020

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2024/073229

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		RU 2754369 C2	01 September 2021
		PT 3423105 T	19 July 2021
		MX 2023003808 A	12 April 2023
		RU 2021125492 A	05 April 2022
		MX 2023003806 A	12 April 2023
		CL 2021000049 A1	28 May 2021
		MA 45280 A	09 January 2019
		MA 45280 B1	31 August 2021
		JP 2021185176 A	09 December 2021
		JP 7254861 B2	10 April 2023

A. 主题的分类

A61K39/395(2006.01)i; A61K47/68(2017.01)i; A61K9/19(2006.01)i; A61K47/18(2017.01)i; A61P35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC:A61K,A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNTEXT,WPABS,WPABSC,ENTXTC,OETXT,VEN,中国药物专利数据库,CNKI,百度学术, 超星读秀学术(CN), 万方(CN), Medline, ISI-WEB OF SCIENCE, REGISTRY, CAPLUS: 结构式检索, 帕妥珠单抗, 培妥珠单抗, 艾日布林, 缓冲, 抗体药物, 偶联物, 缀合物, antibody, drug,conjugate,pertuzumab, omnitarg, eribulin, buffer

C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
Y	WO 2021148003 A1 (SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO LTD等) 2021年7月29日 (2021 - 07 - 29) 参见权利要求1-46, 说明书第18-25、37-38、42、79页, 实施例2-16	1-16
Y	WO 2021190581 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO等) 2021年9月30日 (2021 - 09 - 30) 参见摘要, 权利要求1-19, 说明书第20-23页	1-16
Y	CN 113521018 A (浙江新码生物医药有限公司) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 参见摘要, 权利要求1-10	1-16
Y	CN 112516090 A (上海复旦张江生物医药股份有限公司等) 2021年3月19日 (2021 - 03 - 19) 参见摘要, 权利要求1-10, 说明书实施例	1-16
Y	CN 110732023 A (江苏恒瑞医药股份有限公司等) 2020年1月31日 (2020 - 01 - 31) 参见摘要, 权利要求1-18	1-16
Y	CN 114828895 A (卫材R&D管理有限公司) 2022年7月29日 (2022 - 07 - 29) 参见摘要, 权利要求1-8	1-16

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2024年3月27日

国际检索报告邮寄日期

2024年4月12日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

修文

电话号码 (+86) 010-62411076

PCT/ISA/210 表(第2页) (2022年7月)

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	CN 108883198 A (卫材研究发展管理有限公司) 2018年11月23日 (2018 - 11 - 23) 参见摘要，权利要求1-169	1-16

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/073229

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2021148003	A1	2021年7月29日	AU	2021210079	A1	2022年8月25日
				BR	112022014398	A2	2022年9月13日
				MX	2022009044	A	2022年8月11日
				EP	4094779	A1	2022年11月30日
				EP	4094779	A4	2023年11月22日
				TW	202140078	A	2021年11月1日
				JP	2023511163	A	2023年3月16日
				KR	20220130160	A	2022年9月26日
				CA	3168654	A1	2021年7月29日
				US	2023144203	A1	2023年5月11日
WO	2021190581	A1	2021年9月30日	MX	2022011770	A	2022年10月18日
				KR	20220157998	A	2022年11月29日
				BR	112022019073	A2	2022年11月8日
				JP	2023518583	A	2023年5月2日
				AU	2021243073	A1	2022年10月13日
				TW	202144013	A	2021年12月1日
				US	2023165969	A1	2023年6月1日
				EP	4129345	A1	2023年2月8日
				EP	4129345	A4	2023年11月29日
				CA	3175733	A1	2021年9月30日
CN	113521018	A	2021年10月22日	CN	113521018	B	2022年11月18日
				WO	2023000171	A1	2023年1月26日
CN	112516090	A	2021年3月19日	CN	112516090	B	2023年6月20日
CN	110732023	A	2020年1月31日	CN	110732023	B	2023年6月16日
CN	114828895	A	2022年7月29日	WO	2021132166	A1	2021年7月1日
				BR	112022012546	A2	2022年9月6日
				IL	293040	A	2022年7月1日
				CA	3164797	A1	2021年7月1日
				KR	20220120586	A	2022年8月30日
				MX	2022007798	A	2022年7月19日
				EP	4088739	A1	2022年11月16日
				AU	2020414996	A1	2022年7月14日
				JPWO	2021132166	A1	2021年7月1日
				US	2023074385	A1	2023年3月9日
CN	108883198	A	2018年11月23日	TW	202241524	A	2022年11月1日
				TWI	825834	B	2023年12月11日
				UA	125024	C2	2021年12月29日
				JOP	20210074	A1	2023年1月30日
				JP	2020019787	A	2020年2月6日
				JP	6870051	B2	2021年5月12日
				CA	3013791	A1	2017年9月8日
				US	2020297860	A1	2020年9月24日
				EP	3824909	A1	2021年5月26日
				US	2017252458	A1	2017年9月7日
				US	10548986	B2	2020年2月4日
				SG	10202007520	WA	2020年9月29日
				AU	2023285804	A1	2024年1月18日
				AR	121302	A2	2022年5月4日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2024/073229

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		LT 3423105 T	2021年9月10日
		IL 261428 A	2018年10月31日
		JP 2023082096 A	2023年6月13日
		SG 11201806515 RA	2018年9月27日
		CO 2018008667 A2	2018年8月31日
		BR 112018067379 A2	2019年1月15日
		RS 62108 B1	2021年8月31日
		KR 20220101204 A	2022年7月19日
		MX 2023003809 A	2023年4月12日
		PE 20231049 A1	2023年7月11日
		KR 20180115330 A	2018年10月22日
		KR 102445255 B1	2022年9月22日
		HUE 054726 T2	2021年9月28日
		CL 2021000048 A1	2021年5月28日
		TW 201800110 A	2018年1月1日
		TWI 772288 B	2022年8月1日
		JP 2020128413 A	2020年8月27日
		JP 2019516664 A	2019年6月20日
		JP 6599019 B2	2019年10月30日
		KR 20240007722 A	2024年1月16日
		MY 189113 A	2022年1月26日
		PL 3423105 T3	2021年10月25日
		MD 3423105 T2	2021年10月31日
		ES 2880402 T3	2021年11月24日
		HRP 20211125 T1	2021年10月15日
		JOP 20210073 A1	2023年1月30日
		EP 3423105 A1	2019年1月9日
		EP 3423105 B1	2021年5月5日
		JOP 20170053 B1	2021年8月17日
		IL 292946 A	2022年7月1日
		AR 107787 A1	2018年6月6日
		WO 2017151979 A1	2017年9月8日
		US 2018193478 A1	2018年7月12日
		US 10322192 B2	2019年6月18日
		AU 2017225982 A1	2018年8月16日
		AU 2017225982 B2	2023年10月5日
		PE 20181953 A1	2018年12月17日
		SI 3423105 T1	2021年12月31日
		PH 12018501847 A1	2019年5月15日
		US 2023398228 A1	2023年12月14日
		AR 121301 A2	2022年5月4日
		CY 1124628 T1	2022年7月22日
		DK 3423105 T3	2021年7月26日
		MX 2018010562 A	2019年2月20日
		PE 20231050 A1	2023年7月11日
		KR 20220101203 A	2022年7月19日
		KR 102456433 B1	2022年10月19日
		CL 2018002456 A1	2018年12月21日
		RU 2018134331 A	2020年4月2日
		RU 2018134331 A3	2020年8月14日

国际申请号
PCT/CN2024/073229

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		RU 2754369 C2	2021年9月1日
		PT 3423105 T	2021年7月19日
		MX 2023003808 A	2023年4月12日
		RU 2021125492 A	2022年4月5日
		MX 2023003806 A	2023年4月12日
		CL 2021000049 A1	2021年5月28日
		MA 45280 A	2019年1月9日
		MA 45280 B1	2021年8月31日
		JP 2021185176 A	2021年12月9日
		JP 7254861 B2	2023年4月10日