

(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
2023 年 8 月 3 日 (03.08.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/143351 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 47/68 (2017.01) *C07K 16/22* (2006.01)
A61K 31/58 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/073057

(22) 国际申请日: 2023 年 1 月 19 日 (19.01.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210110349.5 2022 年 1 月 29 日 (29.01.2022) CN

(71) 申请人: 上海盛迪医药有限公司 (SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (CN)。上海森辉医药有限公司 (SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区自由贸易试验区金科路 3728 号 14 幢 4 层, Shanghai 201203 (CN)。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)。

(72) 发明人: 任文明 (REN, Wenming); 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (CN)。祝令建 (ZHU, Lingjian); 中国上海市浦东新区自由贸易试验区金科路 3728 号 14 幢 4 层, Shanghai 201203 (CN)。陈豪 (CHEN, Hao); 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (CN)。唐满平 (TANG, Manping); 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (CN)。林源 (LIN, Yuan); 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (CN)。周彩虹 (ZHOU, Caihong); 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (CN)。黄建 (HUANG, Jian); 中国上海市浦东新区自由贸易试验区金科路 3728 号 14 幢 4 层, Shanghai 201203 (CN)。廖成 (LIAO, Cheng); 中国上海市浦东新区张江镇海科路 1288 号, Shanghai 201210 (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, 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, 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))。
- 包括说明书序列表部分 (细则 5.2 (a))。

(54) Title: DRUG CONJUGATE OF GLUCOCORTICOID

(54) 发明名称: 糖皮质激素的药物偶联物

(57) Abstract: Disclosed is an antibody-drug conjugate represented by formula (I), wherein Ab is an antibody or an antigen-binding fragment thereof, L is a linker covalently linking Ab to D, k is 1 to 20, and D is a glucocorticoid or a residue thereof, the glucocorticoid being selected from budesonide and ciclesonide. Ab-(L-D)_k (I)

(57) 摘要: 式 (I) 所示的抗体-药物偶联物, 其中, Ab 为抗体或其抗原结合片段, L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子, 且 k 为 1 至 20, D 为糖皮质激素或其残基, 所述糖皮质激素选自布地奈德或环索奈德。Ab-(L-D)_k (I)



WO 2023/143351 A1

糖皮质激素的药物偶联物

技术领域

本公开属于医药领域，具体涉及一种糖皮质激素的药物偶联物。

背景技术

白介素 4(Interleukin-4, IL-4)由 153 个氨基酸组成，分子量约为 17kDa。最初，因为 IL-4 能够刺激 B 细胞增殖而被发现，并被命名为 B 细胞刺激因子-1(BSF-1)。IL-4 与 IL-13 一样属于 I 型细胞因子家族，具有 4 α 螺旋的疏水束核心所构成的四级结构。IL-4 由 TH2 细胞分泌，参与 TH2 介导的免疫应答，具有广泛的生物学活性，包括刺激 T 细胞、肥大细胞、粒细胞、巨核细胞和红细胞增殖。此外，IL-4 还可以刺激 B 细胞表达主要组织相容性复合物 2 类分子。IL-13 与 IL-4 具有大约 30% 的氨基酸序列同源性和多种相似的功能。IL-4 和 IL-13 都能促进 B 细胞增殖，并联合 CD40/CD40L 共刺激诱导 IgM 类型转变成 IgE。IL-4 促进肥大细胞聚集，上调肥大细胞高亲和力 IgE 受体和 B 细胞上 IgE 低亲和力受体 CD23(Fc ϵ RII)的表达，上调血管内皮细胞黏附分子(VCAM-1)表达，促进嗜酸性粒细胞、T 淋巴细胞、单核细胞和嗜碱性粒细胞的转移。与 IL-13 不同的是，IL-4 可以促进幼稚 T 细胞分化成 TH2。

IL-4 需要与膜受体结合而发挥生物学功能。人白介素受体(IL-4R)是由两条多肽链形成的异二聚体，其中一条 α 链对 IL-4 有很高的亲和力，由于在 IL-4R 复合物中 IL-4R α 链对 IL-4 的结合起主导作用，因此很多科学研究和报道中常用 IL-4R α 替代 IL-4R。IL-4R 在人 B 细胞、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、巨噬细胞/单核细胞、DC 细胞、纤维细胞、气道上皮和平滑肌等多种细胞上都有表达。IL-4R α 可以与其他亚基形成两类受体复合物，在造血干细胞中主要表达由 IL-4R α 和 γ c 组成的 I 型受体。在非造血干细胞中 IL-4 主要通过 IL-4R α 和 IL-13R α 1 组成的 II 型受体发挥作用。II 型受体是 IL-4 和 IL-13 的共同受体，IL-13 与 IL-13R α 1 结合发挥功能。I 型受体和 II 型受体都通过 Jak/STAT 通路转导信号，IL-4R α 、 γ c 和 IL-13R α 1 分别与 Jak1、Jak3 和 Tyk2 结合激活下游通路，IL-4 和 IL-13 还可以通过胰岛素受体底物家族(IRS)转导信号，最终激活核内的 PI3-K、NF- κ B。阻断 IL-4R 既可以抑制 IL-4 也可以抑制 IL-13 的生物学功能。

多项研究表明 IL-4 和 IL-13 与 TH2 免疫应答相关的疾病有关。特应性皮炎(AD)，又称异位性皮炎或遗传过敏性皮炎，是皮肤科常见疾病，多见于儿童和青少年，常与某些遗传过敏性疾病如过敏性鼻炎、哮喘等并发。研究发现 AD 患者的 TH2 因子 IL-4、IL-5、IL-10 和 IL-13 水平上升，IgE 水平升高，此外还发现，TH2 因子与 AD 疾病进程相关，过表达 IL-4、IL-13 等 TH2 因子的小鼠表现出皮肤保护缺陷和类似 AD 病症^{[14][15]}。AD 患者 IL-4 和 IL-13 水平升高阻碍了表皮分化和抗菌肽的产生。IL-4 缺陷小鼠降低皮肤过敏性炎症的发生。这些研究表明阻断 IL-4R 可能治疗 AD 有效。国外已经有抗 IL-4R 的单抗上市，对 AD 表现出良好的治疗效果。

IL-13 和 IL-4 在哮喘中也发挥重要作用。哮喘是一种常见的肺部炎症疾病，以气道高反应性(AHR)、粘液分泌过多、纤维化和 IgE 水平升高为特征。非特异性刺激如冷空气等常常

导致气道高反应性加剧，AHR 和粘液分泌过多导致气道阻碍这是哮喘致死的主要原因。TH2 因子在哮喘疾病进程中发挥重要作用，哮喘患者支气管和肺泡灌洗液过表达 IL-4 和 IL-13。尽管 IL-13 和 IL-4 具有某些功能相似性，但是一些研究表明 IL-13 在哮喘的疾病进展中发挥了比其他 Th2 细胞因子更为重要的作用。IL-13 可以促进杯状细胞的分化和纤维化。给未经过过敏原刺激的小鼠气道注射重组 IL-13 会导致气道炎症，粘液分泌过多和气道高反应性，注射可溶性的 IL13R α 2 可以阻止小鼠 AHR、粘液分泌过多和肺部炎症的发生。在哮喘模型中注射 IL-4R α 抗体可以降低 AHR 和肺泡灌洗液中的嗜酸性粒细胞。研究表明阻断 IL-4R α 可能治疗哮喘有效。

目前各国已有多家制药公司正在研发针对 IL-4R 的单克隆抗体，相关专利申请如 WO2010053751、WO2001092340、WO2008054606、WO2014031610、WO2020038454 等。

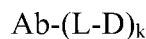
糖皮质激素也是治疗过敏性疾病、炎症等较为有效的药物。作为代表性的糖皮质激素，已知皮质醇、皮质酮等在生物体内制成的糖皮质激素以及地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、布地奈德等合成糖皮质激素。这些糖皮质激素由于具有类固醇结构，因此总称为类固醇类，应用在各种疾病的治疗中。但是，这些类固醇类由于其使用，有时会表现出类固醇消化性溃疡、类固醇紫斑、类固醇肺炎、类固醇糖尿病、类固醇白内障、类固醇青光眼等副作用。

抗体药物偶联物 (antibody drug conjugate, ADC)，是指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。临床前和临床开发中的大多数 ADC 都用于肿瘤适应症，其中细胞毒性有效载荷靶向表达抗原的癌细胞。但是，通过 ADC 介导的生物活性小分子的传递来调节病原性细胞活性对于非肿瘤学适应症也是有吸引力的，从而导致了该技术的广泛应用。

现有技术已经公开了一些糖皮质激素的药物偶联物，例如 WO2017210471，WO2019106609、WO2019136487 等。

发明内容

本公开一方面提供了一种式 (I) 所示的抗体-药物偶联物 (ADC)，



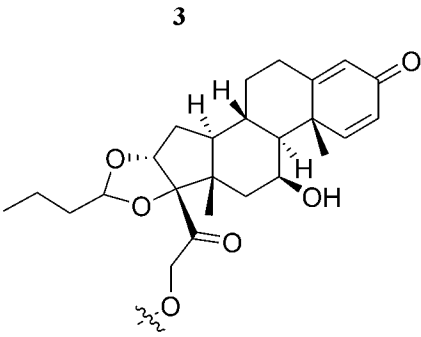
(I)

其中，Ab 为抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段，

L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子，且 k 为 1 至 20 (包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或任意两数值之间任意数值)，

D 为糖皮质激素或其残基，所述糖皮质激素选自地塞米松、泼尼松、泼尼松龙、布地奈德、莫米松、丙酸倍氯米松、氟替卡松、曲安奈德和环索奈德，例如可以是布地奈德或环索奈德。

在一些实施方案中，D 如下式所示：



在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段可以是已知的，如在例如 WO2010053751、WO2001092340、WO2008054606、WO2014031610、WO2020038454（其各自通过引用并入本文）中所描述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包括但不限于 Dupixent、PRS-060、AK-120、63 IgG1、CBP201、AMG-317 或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段是抗人 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段。

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中重链可变区包含：

(I) 分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II) 分别如 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12 和 SEQ ID NO: 13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

和/或抗体轻链可变区包含：

(I) 分别如 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II) 分别如 SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 和 SEQ ID NO: 16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III) 分别如 SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV) 分别如 SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 39 和 SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

表 1 示出了抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的 CDR 序列。

表 1 抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的 CDR 序列

名称	序列	编号
1 HCDR	GFTFSDYGMH	SEQ ID NO: 3
2 HCDR	FISSGSSIIYYADIVKG	SEQ ID NO: 4
3 HCDR	GNKRGFFDY	SEQ ID NO: 5

1	LCDR	NASSSVSYMY	SEQ ID NO: 6
2	LCDR	LTSNLAS	SEQ ID NO: 7
3	LCDR	QQWRSNPPMLT	SEQ ID NO: 8
1	HCDR	GYTFTSYWMH	SEQ ID NO: 11
2	HCDR	LIHPNSDTTKFSENFKT	SEQ ID NO: 12
3	HCDR	SKIITTIVARHWYFDV	SEQ ID NO: 13
1	LCDR	KASQSVDYGGDSYMN	SEQ ID NO: 14
2	LCDR	AASNLES	SEQ ID NO: 15
3	LCDR	QHSNENPPT	SEQ ID NO: 16
1	LCDR	RASSVPYMY	SEQ ID NO: 38
2	LCDR	LASSRPS	SEQ ID NO: 39
3	LCDR	QQWRAYPPMLT	SEQ ID NO: 40
1	LCDR	RASPGVPPLA	SEQ ID NO: 42

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含选自以下 (I) 至 (IV) 中的任一项：

(I) 重链可变区，其包含分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

轻链可变区，其包含分别如 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(II) 重链可变区，其包含分别如 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12 和 SEQ ID NO: 13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

轻链可变区，其包含分别如 SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 和 SEQ ID NO: 16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(III) 重链可变区，其包含分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

轻链可变区，其包含分别如 SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 40 所示

的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3;

(IV) 重链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和

轻链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 39 和 SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方案中, 所述的抗 IL-4R 的抗体或抗原结合片段是鼠源抗体、嵌合抗体、全人抗体、人源化抗体或其片段。在一些具体的实施方案中, 所述抗 IL-4R 的抗体或抗原结合片段是人源化的。

在一些实施方案中, 所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段, 包含来源于人种系轻链 IGKV3-11*01 (SEQ ID NO: 22, 用于抗体 25G7) 的 FR 序列或与其至少有 95% 同一性的带有回复突变的序列。在一些具体实施方案中, 所述的回复突变选自 L46P, L47W, F71Y 中的一个或多个。在一些实施方案中, 所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段, 包含来源于人种系重链 IGHV3-48*01 (SEQ ID NO: 21, 用于抗体 25G7) 的 FR 区序列或与其至少有 95% 同一性的带有回复突变的序列。在一些具体实施方案中, 所述的回复突变选自 S94A, F67S, A93T 中的一个或多个。在一些实施方案中, 所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段, 包含来源于人种系轻链 IGKV2D-29*01 (SEQ ID NO: 24, 用于抗体 7B10) 的 FR 区序列或与其至少有 95% 同一性的回复突变序列。在一些具体实施方案中, 所述的回复突变选自 M4L 和/或 V58I。在一些实施方案中, 所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段, 包含来源于人种系重链 IGHV1-2*02 (SEQ ID NO: 23, 用于抗体 7B10) 的 FR 区序列或与其至少有 95% 同一性的回复突变序列。在一些具体实施方案中, 所述的回复突变选自 M69L, R71I, T73K, R94K 中的一个或多个。

人种系重链 IGHV3-48*01:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYA
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

SEQ ID NO: 21

人种系轻链 IGKV3-11*01:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP

SEQ ID NO: 22

人种系重链 IGHV1-2*02:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGT
NYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR

SEQ ID NO: 23

人种系轻链 IGKV2D-29*01:

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTYLYWYLQKPGQPPQLLIYEVSNR
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLP

SEQ ID NO: 24

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中：

重链可变区包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 1 所示或与 SEQ ID NO: 1 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 9 所示或与 SEQ ID NO: 9 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO: 43 所示或与 SEQ ID NO: 43 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列；或

和/或轻链可变区包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 2 所示或与 SEQ ID NO: 2 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 10 所示或与 SEQ ID NO: 10 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO: 37 所示或与 SEQ ID NO: 37 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列；或

(IV) 如 SEQ ID NO: 41 所示或与 SEQ ID NO: 41 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99%同一性的序列。

25G7 HCVR (25G7 重链可变区)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMYYCTRGNKRGFFDYWGQGTILTVSS
SEQ ID NO: 1

25G7 LCVR (25G7 轻链可变区)

QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCNASSSVSYMYWYQRKPRSSPKPWIYLTSLNLSGVP
VRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWRSNPPMLTFGSGTKLEVK
SEQ ID NO: 2

7B10 HCVR (7B10 重链可变区)

QVQLQQPGTELLKPGASVSLSCASGYTFTSYWMHWVKQRPQGQLEWIGLIHPNSDT
TKFSENFKTRATLTIDKSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYYCAKSKIITTIVARHWYFDVWGTGTT
VTVSS

SEQ ID NO: 9

7B10 LCVR (7B10 轻链可变区)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCKASQSVDYGGDSYMNWYQQKLGQPPKVLIYAASNL
ESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDVATYYCQHSNENPPTFGGGTKLEIK

SEQ ID NO: 10

hu25G7-A LCVR (hu25G7-A 轻链可变区)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVPYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTSLASGIPAR
FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQWRAYPPMLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 37

hu25G7-B LCVR (hu25G7-B 轻链可变区)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASPGVPPLAWYQQKPGQAPRLLIYLASSRPSGIPARF
SGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 41

hu25G7-VH (hu25G7 重链可变区)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 43

在至少一个实施方案中，所述抗 IL-4R 的抗体或抗原结合片段的重链可变区如序列 SEQ ID NO: 1 所示，轻链可变区如序列 SEQ ID NO: 2 所示；或

重链可变区如序列 SEQ ID NO: 9 所示，轻链可变区如序列 SEQ ID NO: 10 所示；或
重链可变区如序列 SEQ ID NO: 43 所示，轻链可变区如序列 SEQ ID NO: 37 所示；或
重链可变区如序列 SEQ ID NO: 43 所示，轻链可变区如序列 SEQ ID NO: 41 所示。

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中：

重链可变区包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 25-27 之一所示或与 SEQ ID NO: 25-27 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 31-33 之一所示或与 SEQ ID NO: 31-33 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

和/或轻链可变区包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 28-30 之一所示或与 SEQ ID NO: 28-30 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 34-36 之一所示或与 SEQ ID NO: 34-36 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列。

hu25G7-VH-a:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGNKRGFFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 25

hu25G7-VH-b:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 26

hu25G7-VH-c:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 27

hu25G7-VL-a:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTSLASGIPAR
FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 28

hu25G7-VL-b:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTSLASGIPAR
FSGSGSGTDYTLTISLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 29

hu25G7-VL-c:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRPWIYLTSLASGIPAR
FSGSGSGTDYTLTISLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 30

hu7B10-VH-a:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIHPNS
DTTKFSENFKTRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSKIITTIVARHWYFDVWGQ
GTTVTVSS

SEQ ID NO: 31

hu7B10-VH-b:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIHPNS
DTTKFSENFKTRVTMTIDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAKSKIITTIVARHWYFDVWGQ
GTTVTVSS

SEQ ID NO: 32

hu7B10-VH-c:

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIHPNS
DTTKFSENFKTRVTLTIDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAKSKIITTIVARHWYFDVWGQ
TTVTVSS

SEQ ID NO: 33

hu7B10-VL-a:

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVGYGGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASNL
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHSNENPPTFGGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 34

hu7B10-VL-b:

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVGYGGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHSNENPPTFGGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 35

hu7B10-VL-c:

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYGGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASNL
ESGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHSNENPPTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 36

在一些具体的实施方案中，重链可变区如序列 SEQ ID NO: 25-27 之一所示，和轻链可变区如序列 SEQ ID NO: 28-30 之一所示；

重链可变区如序列 SEQ ID NO: 31-33 之一所示，和轻链可变区如序列 SEQ ID NO: 34-36 之一所示。

在一些实施方案中，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含选自人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的重链恒定区或其变体。一些具体的方案中，包含人源 IgG1 的重链恒定区或其变体。在一些实施方案中，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含人源 κ 、 λ 链或其变体的恒定区。

在一些实施方案中，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体为人源化抗体，重链序列如 SEQ ID NO: 17 所示或与其具有至少 85% 序列同一性；轻链序列如 SEQ ID NO: 18 所示或与其具有至少 85% 序列同一性。

在一些实施方案中，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体为人源化抗体，重链序列如 SEQ ID NO: 19 所示或与其具有至少 85% 序列同一性；轻链序列如 SEQ ID NO: 20 所示或与其具有至少 85% 序列同一性。

在一些实施方案中，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体为人源化抗体，重链序列如 SEQ ID NO: 44 所示或与其具有至少 85% 序列同一性；轻链序列如 SEQ ID NO: 45 所示或与其具有至少 85% 序列同一性。

在一些实施方案中，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体为人源化抗体，重链序列如 SEQ ID NO: 44 所示或与其具有至少 85% 序列同一性；轻链序列如 SEQ ID NO: 46 所示或与其具有至少 85% 序列同一性。

在一些实施方案中，提供一种分离的抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段，其特征在于与如上所述的任一抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段竞争结合人 IL-4R 或其表位。

在一些实施方案中，提供一种双特异性抗体或多特异性抗体，其含有如上所述任一抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段轻链可变区和/或重链可变区。在另一些实施方案中，提供一种单链抗体，其含有如上所述任一抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的轻链可变区和/或重链可变区。

在一些实施方案中，人源化抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段，还包含人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的重链恒定区或其变体。在至少一个实施方案中，包含的是人源 IgG2 或 IgG4 重链恒定区。因为 IgG2 或 IgG4 没有 ADCC 毒性。在另一个实施方案中，使用氨基酸突变后无 ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, 抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用) 毒性的 IgG1。在至少一个实施方案中，变体包含 ADCC 效应功能降低或缺失的重链恒定区突变，例如但不限于 IgG1 的 N297A、L234A、L235A。在一些实施方案中，IgG1 包含突变 E239D 和 M241L。

除非另有说明，本公开的抗 IL-4R 抗体或其抗原结合蛋白根据 Kabat 编码。

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的包含重链和轻链，其中重链包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 17 所示或与 SEQ ID NO: 17 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 19 所示或与 SEQ ID NO: 19 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO: 44 所示或与 SEQ ID NO: 44 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

(IV) 如 SEQ ID NO: 47 所示或与 SEQ ID NO: 47 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

和/或轻链包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 18 所示或与 SEQ ID NO: 18 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 20 所示或与 SEQ ID NO: 20 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO: 45 所示或与 SEQ ID NO: 45 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(IV) 如 SEQ ID NO: 46 所示或与 SEQ ID NO: 46 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的序列。

hu25G7 HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTTLTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO: 17

hu25G7 LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTSLASGIPAR
FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDESTYSLSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 18

hu7B10 HC

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWMGLIHNS
DTTKFSENFKTRVTMTIDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAKSKIITTIVARHWYFDVWGQ
GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 19

hu7B10 LC

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVVDYGGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASNLE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHSNENPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTL
TLTKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 20

hu25G7-IgG4 HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTTLTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM
HEALHNHYTQKSLSLGLK

SEQ ID NO: 44

hu25G7-A LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVPYMYWYQQKPGQAPRLLIYLTSLNLSGIPAR
FSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQWRAYPPMLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE
QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTK
ADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 45

hu25G7-B LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASPGVPPLAWYQQKPGQAPRLLIYLASSRPSGIPARF
SGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKA
DYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 46

hu25G7-24-IgG1 (E239D, M241L) HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLLTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 47

在一些实施方案中，重链序列如 SEQ ID NO: 17 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 18 所示；或

重链序列如 SEQ ID NO: 19 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 20 所示；或

重链序列如 SEQ ID NO: 44 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 45 所示；或

重链序列如 SEQ ID NO: 44 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 46 所示；或

重链序列如 SEQ ID NO: 47 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 45 所示。

在一些实施方案中，抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的包含重链和轻链，其中重链包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 48 所示或与 SEQ ID NO: 48 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 49 所示或与 SEQ ID NO: 49 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO: 50 所示或与 SEQ ID NO: 50 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

(IV) 如 SEQ ID NO: 51 所示或与 SEQ ID NO: 51 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

和/或轻链包含：

(I) 如 SEQ ID NO: 18 所示或与 SEQ ID NO: 18 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO: 45 所示或与 SEQ ID NO: 45 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO: 46 所示或与 SEQ ID NO: 46 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的序列。

hu25G7-IgG4 VH-CH1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLLTVSS

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV

SEQ ID NO: 48

hu25G7-IgG1 VH-CH1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV

SEQ ID NO: 49

hu25G7-24-IgG4 VH-CH1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPHKPSNTKVDKRV

SEQ ID NO: 50

hu25G7-24-IgG1 VH-CH1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAFISSGSSII
YYADIVKGRSTISRDNANKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV

SEQ ID NO: 51

在一些实施方案中，重链序列如 SEQ ID NO: 48 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 18 所示；或

重链序列如 SEQ ID NO: 49 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 18 所示；或
重链序列如 SEQ ID NO: 50 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 45 所示；或
重链序列如 SEQ ID NO: 50 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 46 所示；或
重链序列如 SEQ ID NO: 51 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 45 所示；或
重链序列如 SEQ ID NO: 51 所示，和轻链序列如 SEQ ID NO: 46 所示。

在一些实施方案中，所述抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段可以为抗体变体，所述变体在轻链有 1 至 10 个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个）氨基酸变化，和/或重链有 1 至 10 个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 个）氨基酸变化。

在一些实施方案中，上述变体具有与亲本抗 IL-4R 的抗体或其片段相同或相似的生物学功能或效果。

在一些实施方案中，抗原结合片段包括但不限于 Fab、Fab'、Fv、F(ab')₂、线性抗体、scFv（单链 Fv 抗体）、串联二-scFv、串联三-scFv、双链抗体（diabody）、三链抗体（triabody）、

四链抗体 (tetrabody)、sdAb (单域抗体或纳米抗体)、sdFv、肽抗体 (peptibody)、结构域抗体、多特异性抗体 (例如双特异性抗体、三特异性抗体或四特异性抗体)、dsFv (二硫键稳定化的 Fv)、ScdsFv (二硫键稳定化的单链 Fv 抗体)。

在一些实施方案中,本公开的抗体-药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂化物中的抗 IL-4R 的抗体的抗原结合片段是与上述的抗 IL-4R 的抗体的抗原结合片段结合相同的 IL-4R 或其表位。

在一些实施方案中,提供编码如上所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸,例如 DNA 或 RNA。

在一些实施方案中,提供包含上述多核苷酸的表达载体,例如真核表达载体、原核表达载体、病毒载体。

在一些实施方案中,提供上述表达载体转化的宿主细胞,例如真核细胞、原核细胞。一些具体实施方案中,宿主细胞为细菌 (例如大肠杆菌)、酵母菌 (例如毕赤酵母)、哺乳动物细胞 (例如中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞或人胚肾 (HEK) 293 细胞)。

在一些实施方案中,提供制备上述抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段的方法包括步骤:在如前所述的宿主细胞中表达该抗体或其抗原结合片段,并自该宿主细胞中分离该抗体或其抗原结合片段。

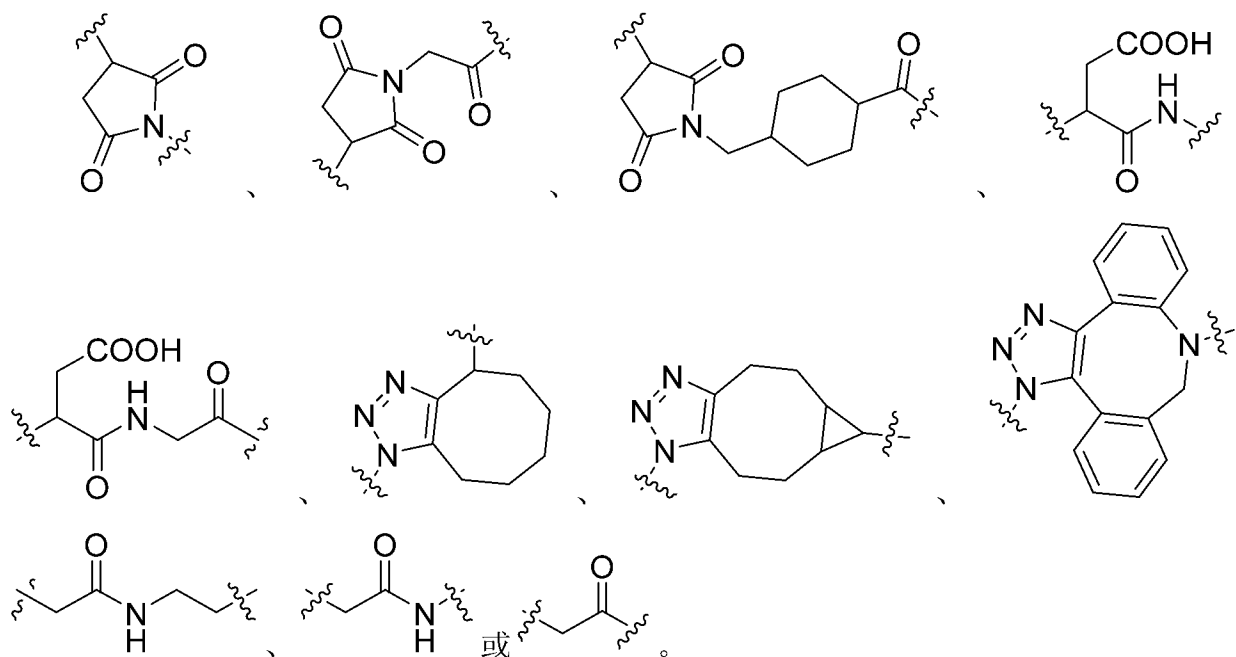
本公开中抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段中的氨基酸三字母代码和单字母代码如 J. Biol. Chem, 243, p3558(1968)中所述。

在某些实施方案中,k 为 1-10 之间的任意数值,优选 2-5 之间的任意数值。k 可以为整数,也可以为小数。

在某些实施方案中,连接子在细胞外是稳定的,使得 ADC 在存在于细胞外环境中时保持完整,但在细胞中内化时能够裂解。在一些实施方案中,当 ADC 进入表达对 ADC 的抗体部分具有特异性的抗原的细胞时,糖皮质激素药物部分从抗体部分裂解,且裂解释放糖皮质激素的未修饰形式。

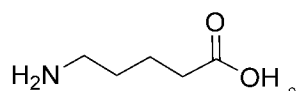
在某些实施方案中,连接子中的可裂解部分为可裂解肽部分。在一些实施方案中,相对于包含其他可裂解部分的 ADC,包含可裂解肽部分的 ADC 显示较低的聚集水平,改善的抗体与药物比率。在某些实施方案中,相对于不可裂解的连接子,添加可裂解部分增加细胞毒性和/或效力。在一些实施方案中,可裂解肽部分能够由酶裂解,且连接子为酶能够裂解的连接子。在一些实施方案中,酶为组织蛋白酶,且连接子为组织蛋白酶能够裂解的连接子。在某些实施方案中,与其它分裂机制相比,酶能够裂解的连接子(例如组织蛋白酶能够裂解的连接子)显示上述改善特性中的一种或多种。

在一些实施方案中,连接子包含拉伸单元,其一端通过碳原子与抗体共价连接而另一端与氨基酸单元、二硫化物部分、磺酰胺部分或非肽化学部分相连的化学结构片段。示例性拉伸单元包括但不限于



在一些实施方案中, 连接子包含氨基酸单元, 所述氨基酸单元优选包含由 2 至 7 个选自苯丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、赖氨酸、瓜氨酸、丝氨酸、谷氨酸、天冬氨酸、高赖氨酸、n-

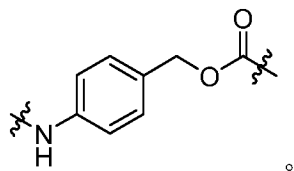
甲基-缬氨酸、 $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_q\text{COOH}$ (q 为 1-6 的整数) 的氨基酸构成的肽残基, 示例性氨基酸单元包括但不限于缬氨酸-瓜氨酸(Val -Cit)、丙氨酸-苯丙氨酸(Ala-Phe); 苯丙氨酸-赖氨酸(Phe -Lys)、苯丙氨酸-高赖氨酸(Phe-Homolys)、n-甲基-缬氨酸-瓜氨酸(Me-Val-Cit)、丙氨酸-丙氨酸(Ala-Ala)、甘氨酸-谷氨酸(Gly-Glu)、谷氨酸-丙氨酸-丙氨酸(Glu-Ala-Ala)和甘氨酸-赖氨酸(Gly-Lys)、甘氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(Glv-Val-Cit)和甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(Gly-Gly-Gly)、



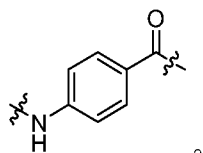
在一些实施方案中, 连接子可以包含至少一种聚乙二醇(PEG)部分。PEG 部分可以例如包含-(PEG)_{p1}-, $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{p1}$, 其中 p1 为整数 1 至 20, 例如 $(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2$, (PEG)₂;



在一些实施方案中, 所述连接子包含连接于 D 的间隔单元。在一些实施方案中, 所述间隔单元包含对氨基苯甲氧基羰基 (PAB),



在一些实施方案中, 所述间隔单元包含对氨基苯甲酰基,



在一些实施方案中, 所述间隔单元包含:

$-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$, 其中 $n1$ 选自 0-6 之间整数; L^a 表示 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-$ 、 $-\text{NR}^7-(\text{CH}_2)_{n2}-$ 、 $-\text{O}-$ 或单键, R^7 选自氢、 C_{1-6} 烷基、 $-(\text{CH}_2)_{n3}-\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{n4}-\text{OH}$, $n3$ 选自 1-4 之间整数, $n4$ 选自 1-6 之间整数; L^b 表示 $-\text{CR}^8(\text{R}^9)-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}^{10}-$ 或单键, R^8 和 R^9 独立选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-(\text{CH}_2)_{n5}-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_{n6}-\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{n7}-\text{OH}$, R^{10} 选自氢或 C_{1-6} 烷基, $n5$ 选自 0-6 之间整数, $n6$ 选自 1-4 之间整数, $n7$ 选自 1-4 之间整数, 且 $n5$ 为 0 时, R^8 与 R^9 不相同, 或者 R^8 和 R^9 与其相连接的碳原子一起形成 C_{3-6} 环烷基; L^c 表示 $-\text{CH}_2-$ 或 $-\text{C}(=\text{O})-$ 。

在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 中 L^c 表示 $-\text{NHCH}_2-$ 。

在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 中 R^8 和 R^9 独立选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基, 例如氢、甲基、乙基或环丙基。

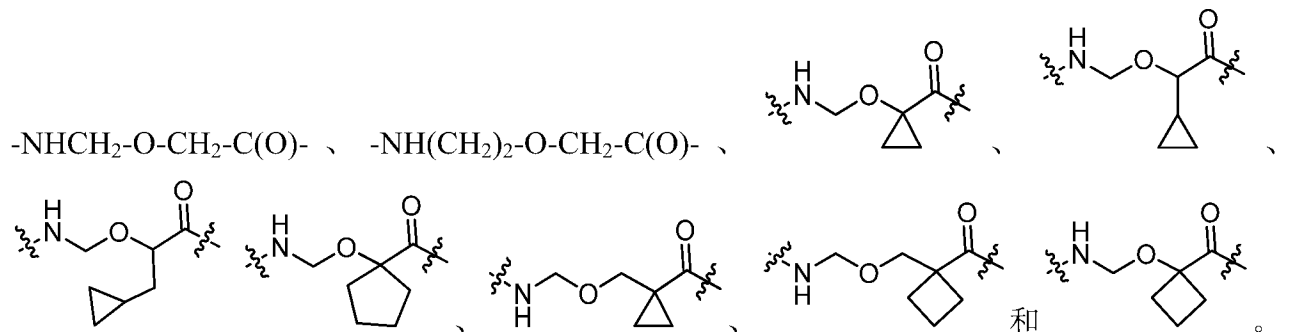
在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 中 L^a 表示 $-\text{O}-$ 或单键, L^b 表示 $-\text{CR}^8(\text{R}^9)-$ 或单键, L^c 表示 $-\text{C}(=\text{O})-$, R^8 和 R^9 与其相连接的碳原子一起形成 C_{3-6} 环烷基。

在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 中 L^a 表示 $-\text{O}-$ 或单键, L^b 表示 $-\text{CR}^8(\text{R}^9)-$ 或单键, L^c 表示 $-\text{C}(=\text{O})-$, R^8 和 R^9 独立选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、 $-(\text{CH}_2)_{n5}-\text{NH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_{n6}-\text{COOH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{n7}-\text{OH}$, R^{10} 选自氢或 C_{1-6} 烷基, $n5$ 选自 0-6 之间整数, $n6$ 选自 1-4 之间整数, $n7$ 选自 1-4 之间整数, 且 $n5$ 为 0 时, R^8 与 R^9 不相同。

在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 中 L^a 表示 $-\text{O}-$ 或单键, L^b 表示 $-\text{CR}^8(\text{R}^9)-$ 或单键, L^c 表示 $-\text{CH}_2-$ 。

在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 中 L^a 表示 $-\text{O}-$ 或单键, L^b 表示 $-\text{CR}^8(\text{R}^9)-$ 或单键, L^c 表示 $-\text{CH}_2-$, R^8 和 R^9 独立选自氢、 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基, 优选氢、甲基、乙基或环丙基。

在一些实施方案中, 抗体-药物偶联物中 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 为: $-\text{NHCH}_2-$ 、 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NHCH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3-\text{C}(\text{O})-$ 、



在一些实施方案中, $-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n1}-\text{L}^a-\text{L}^b-\text{L}^c-$ 为 $-\text{NHCH}_2-$ 或 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。

在一些实施方案中, 连接子中的间隔子单元包含 $(\text{PEG})_2$ 。在一些实施方案中, 尽管连接子长度较短, 但相对于包含较长间隔子单元(例如 $(\text{PEG})_8$)的 ADC, 包含较短间隔子单元(例如 $(\text{PEG})_2$)的 ADC 显示较低的聚集水平和/或较高的药物负载。

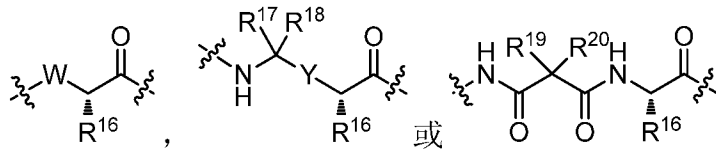
另一方面, 本公开抗体偶联物 (ADC) 中 L-D 是由下式表示的化学部分:

$-\text{Str-Pep-Sp-D}$

Str 是与 Ab 共价连接的伸展基单元,

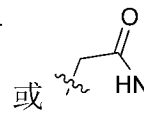
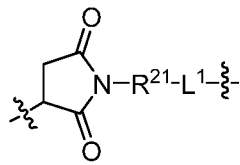
Sp 为间隔单元,

Pep 选自氨基酸单元、二硫化物部分、磺酰胺部分或以下非肽化学部分：



其中，W 是-NH-亚杂环烷基-或杂环烷基；Y 是亚杂芳基、亚芳基、-C(O)C₁₋₆ 亚烷基、C₂₋₆ 亚烯基、C₁₋₆ 亚烷基或-C₁₋₆ 亚烷基-NH-；每个 R¹⁶ 独立选自 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、-(C₁₋₆ 亚烷基)NHC(NH)NH₂ 或-(C₁₋₆ 亚烷基)NHC(O)NH₂；R¹⁷ 和 R¹⁸ 各自独立选自氢、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、芳基、杂芳基，或 R¹⁷ 和 R¹⁸ 一起可形成 C₃₋₆ 环烷基；R¹⁹ 和 R²⁰ 各自独立选自 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、芳基、杂芳基、(C₁₋₆ 烷基)OCH₂-, 或 R¹⁹ 和 R²⁰ 一起可形成 C₃₋₆ 环烷基环。

在一些实施方案中，所述抗体-药物偶联物（ADC）中 Str 选自下式表示的化学部分：



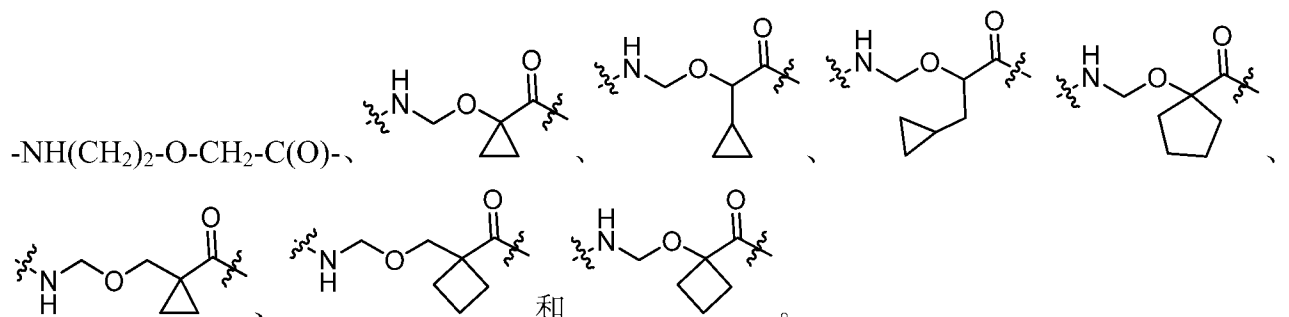
或 $\text{HN}-\text{R}^{21}-\text{L}^1-\text{Z}$ ，其中 R²¹ 选自 -W₁-C(O)-、-C(O)-W₁-C(O)-、-(CH₂CH₂O)_{p1}C(O)-、-(CH₂CH₂O)_{p1}CH₂C(O)-、-(CH₂CH₂O)_{p1}CH₂CH₂C(O)-，其中 W₁ 选自 C₁₋₆ 亚烷基、C₁₋₆ 亚烷基-环烷基或 1 至 8 个原子的直链杂烷基，所述杂烷基包含 1 至 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子，其中所述烷基、环烷基和直链杂烷基各自独立地任选被一个或多个选自卤素、氘、羟基、氰基、氨基、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基、氘代 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基和 C₃₋₆ 环烷基所取代，p₁ 各自独立地为 1 至 20 的整数；

L¹ 选自 -NR²²-(CH₂CH₂O)_{p2}CH₂CH₂C(O)-、-NR²²-(CH₂CH₂O)_{p2}CH₂C(O)-、-S(CH₂)_{p2}C(O)-、-(CH₂)_{p2}C(O)-或单键，优选单键；p₂ 为 1 至 20 的整数，R²² 选自氢原子、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基或氘代 C₁₋₆ 烷基。

在一些实施方案中，所述抗体-药物偶联物 Str 中 R²¹ 选自 C₁₋₆ 亚烷基 C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₂C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₂CH₂C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₂CH₂CH₂C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₃C(O)-和-(CH₂-CH₂O)₄C(O)-。

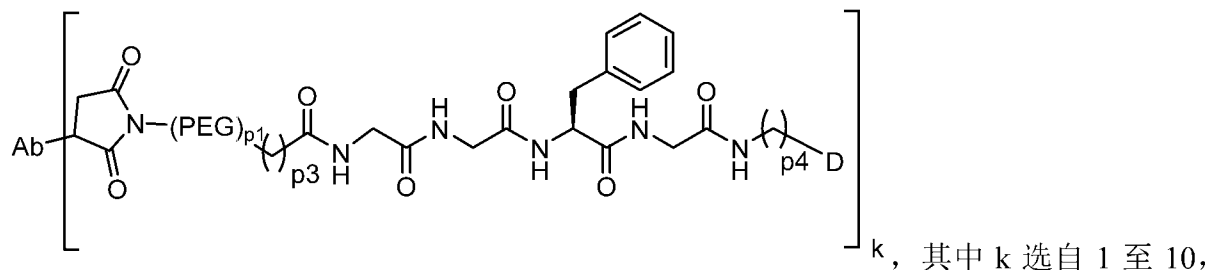
在一些实施方案中，所述的 Pep 选自缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit)、丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺(Ala-Ala-Asn)、甘氨酸-甘氨酸-赖氨酸(Gly-Gly-lys)、缬氨酸-赖氨酸(Val-lys)、缬氨酸-丙氨酸(Val-Ala)、缬氨酸-苯丙氨酸(Val-Phe)或甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸 (Gly-Gly-Phe-Gly)。

在一些实施方案中，所述的 Sp 选自 -NHCH₂-、-NHCH₂CH₂-、-NHCH₂CH₂CH₂-、-NHCH₂-O-CH₂-、-NHCH₂CH₂-O-CH₂-、-NH(CH₂)₃-C(O)-、-NHCH₂-O-CH₂-C(O)-、

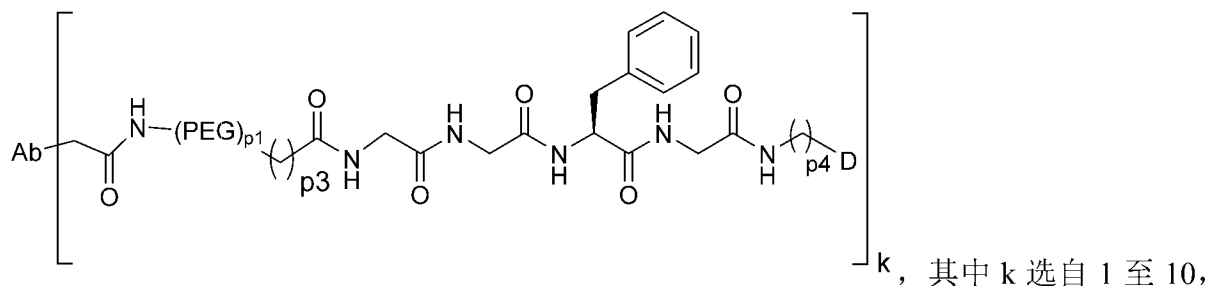


在一些实施方案中，所述抗体-药物偶联物中连接子 L 包含：顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₄-CH₂CH₂C(O)- Gly-Gly-Phe-Gly、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₂-Val-Cit、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₆-Val-Cit、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₈-Val-Cit、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₄-CH₂CH₂C(O)-Val-lys、顺丁烯二酰亚胺-(CH₂)₅-Val-Cit、顺丁烯二酰亚胺-(CH₂)₅-Val-lys、顺丁烯二酰亚胺-(CH₂)₅-Gly-Gly-Phe-Gly、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₄-CH₂CH₂C(O)- Gly-Gly-Phe-Gly、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₂-Ala-Ala-Asn、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₆-Ala-Ala-Asn、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₈-Ala-Ala-Asn、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₄-三唑-(PEG)₃-磺酰胺、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₂-CH₂CH₂C(O)-Val-lys、顺丁烯二酰亚胺-(PEG)₄-三唑-(PEG)₃-磺酰胺或 Mal-(PEG)₄-三唑-(PEG)₃-二硫化物。

在另一些实施方案中，本公开抗体-药物偶联物（ADC），其由下式表示：

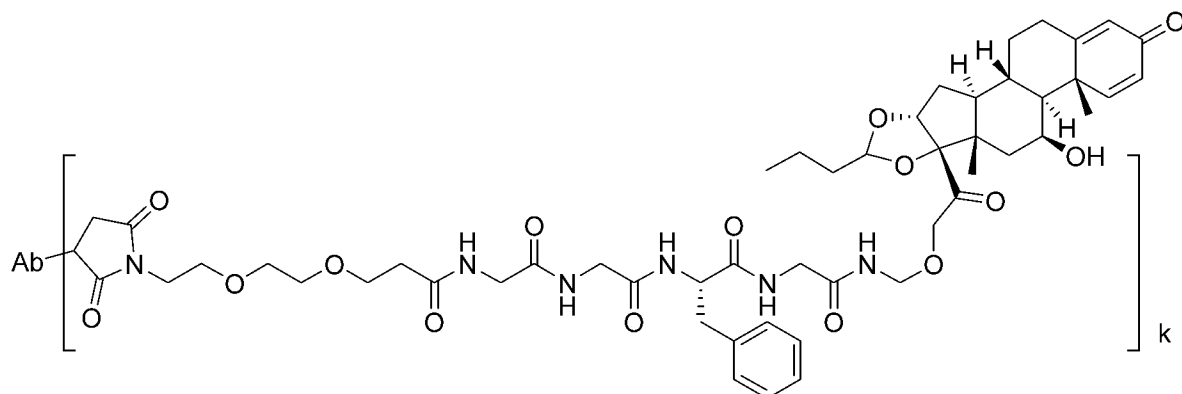


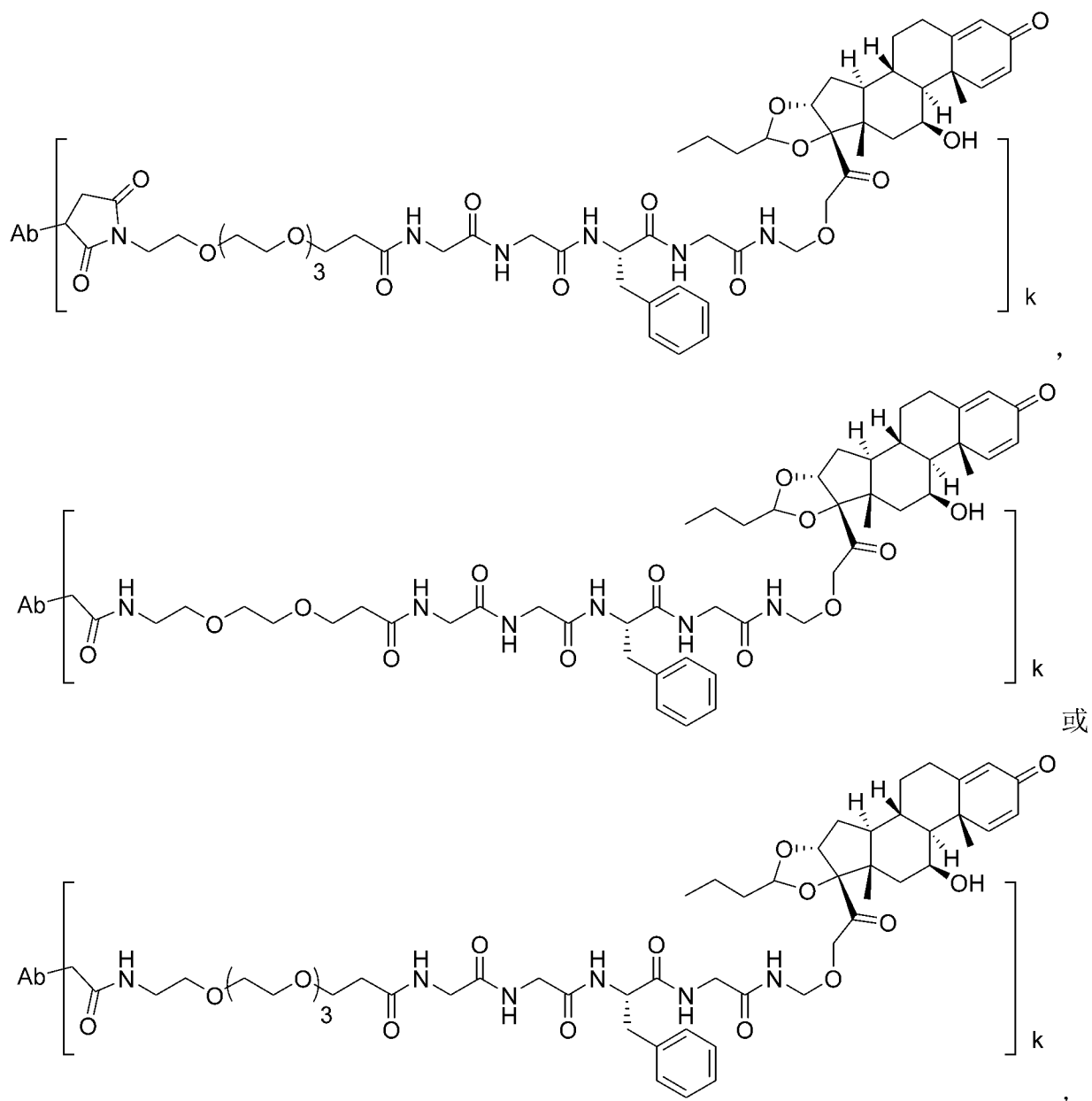
可以为整数，也可以为小数，p1 选自 2、4、6 或 8，p3、p4 各自独立地选自 0、1 或 2；



可以为整数，也可以为小数，p1 选自 2、4、6 或 8，p3、p4 各自独立地选自 0、1 或 2；

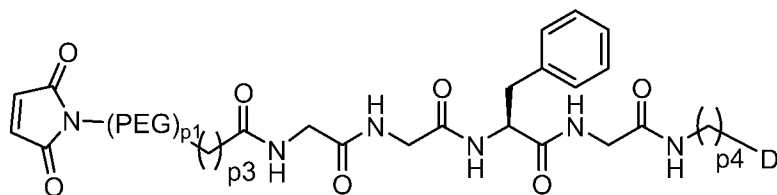
在另一些实施方式中，本公开抗体-药物偶联物（ADC），选自：





其中 k 选自 1 至 10，可以为整数，也可以为小数。

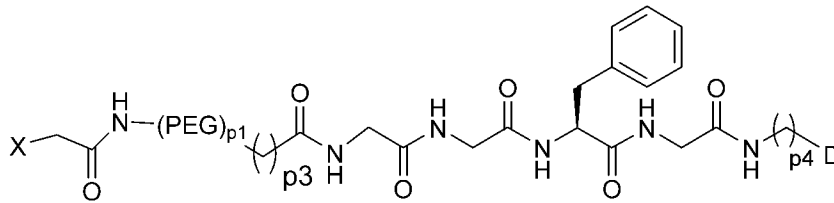
本公开还提供了一种式 II-A 所示化合物或其可药用盐,



II-A

其中 p1 选自 2、4、6 或 8，p3、p4 各自独立地选自 0、1 或 2。

本公开还提供了一种式 II-B 所示化合物或其可药用盐,



II-B

其中 X 为卤素, p_1 选自 2、4、6 或 8, p_3 、 p_4 各自独立地选自 0、1 或 2。

本公开所述的结构中, $\equiv$ 表示单键或双键。

本公开还提供了一种药物组合物, 包括至少一种前述抗体-药物偶联物, 以及药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

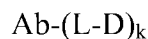
在一些实施方案中, 所述的药物组合物的单位剂量为 0.001 mg-1000 mg。

在一些实施方案中, 基于组合物的总重量, 所述的药物组合物含有 0.01%-99.99% 的前述化合物。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 0.1%-99.9% 的前述化合物。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 0.5%-99.5% 的前述化合物。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 1%-99% 的前述化合物。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 2%-98% 的前述化合物。

在一些实施方案中, 基于组合物的总重量, 所述的药物组合物含有 0.01%-99.99% 的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 0.1%-99.9% 的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 0.5%-99.5% 的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 1%-99% 的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。在一些实施方案中, 所述的药物组合物含有 2%-98% 的药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

本公开的抗体-药物偶联物可以用适合适应症的方式对患者施用, 例如, 肠胃外、局部或通过吸入施用。如果注射的话, 拮抗剂可以通过例如, 关节内、静脉内、肌内、损伤内、腹膜内或皮下路径, 通过快速浓注或连续输注进行施用。在疾病或损伤处的局部给药被认为是经皮递送和从植入物中持续释放。通过吸入递送包括, 例如, 鼻或口腔吸入、使用喷雾器、吸入气雾剂形式的拮抗剂等。其它的选择包括眼药水; 口服制剂, 包括丸剂、糖浆剂、锭剂或口香糖; 和局部制剂如洗剂、凝胶剂、喷雾剂和软膏剂。

本公开还提供了一种可吸入的药物组合物, 包括式 (I) 所示的抗体-药物偶联物以及药学上可接受的载体,



(I)

其中, Ab 为抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段,

L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子, 且 k 为 1 至 20 (包括 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或任意两数值之间任意数值),

D 为糖皮质激素或其残基。

可选的 Ab、L、D 如前文所述。

在一些实施方案中, Ab 为抗 IL-4R 的 Fab 片段。

本公开还提供了所述的抗体-药物偶联物和/或包含抗体-药物偶联物的药物组合物在制备用于治疗或预防 IL-4R 介导的疾病或病症的药物中的用途。

本公开还提供了所述的抗体-药物偶联物和/或包含抗体-药物偶联物的药物组合物在制备用于治疗或预防免疫性疾病或病症的药物中的用途。所述疾病或病症选自：哮喘、鼻息肉、慢性鼻窦炎、过敏性皮肤病、嗜酸细胞性食管炎、慢性阻塞性肺病、过敏性鼻炎、关节炎、炎症性疾病、变应性反应、自体免疫淋巴组织增生性综合征、自体免疫性溶血性贫血、巴雷特食管、自体免疫葡萄膜炎、结核病和肾病。优选哮喘或过敏性皮肤病。

本公开还提供了一种向表达 IL-4R 的细胞递送糖皮质激素的方法，包括使表达 IL-4R 的细胞与本公开所述的抗体-药物偶联物接触的步骤。

本公开进一步提供了一种试剂盒，其包含本公开所述的抗体-药物偶联物，或药物组合物。

发明的详细说明

除非另有限定，本公开所用的所有技术和科学术语均与本公开所属领域普通技术人员的通常理解一致。虽然也可采用与本公开所述相似或等同的任何方法和材料实施或测试本公开，但本公开描述了优选的方法和材料。描述和要求保护本公开时，依据以下定义使用下列术语。

当本公开中使用商品名时，申请人旨在包括该商品名产品的制剂、该商品名产品的非专利药和活性药物部分。

除非有相反陈述，在说明书和权利要求书中使用的术语具有下述含义。

术语“连接子”、“连接单元”、“接头单元”、“接头”或“连接片段”是指一端与配体连接而另一端与药物相连的化学结构片段或键，也可以连接其他接头后再与药物相连。

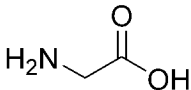
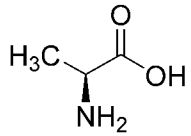
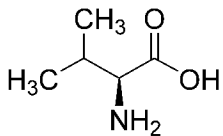
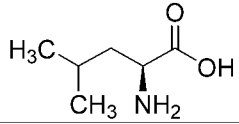
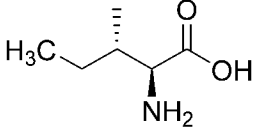
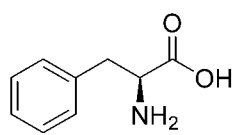
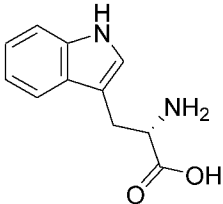
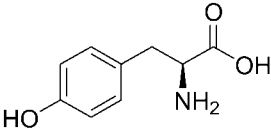
接头可以包含一种或多种接头构件。例示性的接头构件包括 6-马来酰亚氨基己酰基(MC)、马来酰亚氨基丙酰基(MP)、缬氨酸-瓜氨酸(Val-Cit 或 vc)、丙氨酸-苯丙氨酸(ala-phe)、对氨基苄氧羰基(PAB)，及那些源自与接头试剂的偶联的：N-琥珀酰亚氨基 4-(2-吡啶基硫代)戊酸酯(SPP)、N-琥珀酰亚氨基 4-(N-马来酰亚氨基甲基)环己烷-1 羧酸酯(SMCC，在本文中也称作 MCC)和 N-琥珀酰亚氨基(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸酯(SIAB)。接头可以包括拉伸单元、间隔单元、氨基酸单元和延伸单元。可以通过本领域已知方法合成，诸如 US2005-0238649A1 中所记载的。接头可以是便于在细胞中释放药物的“可切割接头”。例如，可使用酸不稳定接头（例如脲）、蛋白酶敏感（例如肽酶敏感）接头、光不稳定接头、二甲基接头、或含二硫化物接头 (Chari 等, *Cancer Research* 52: 127-131(1992); 美国专利 No.5,208,020)。

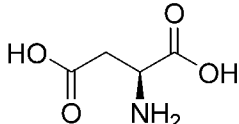
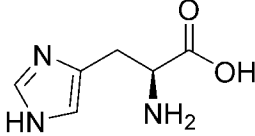
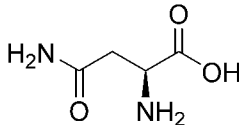
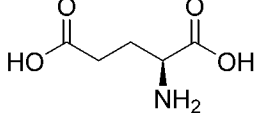
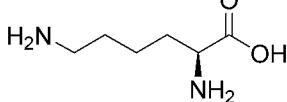
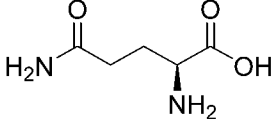
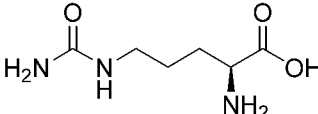
术语“拉伸单元”指一端通过碳原子与抗体共价连接而另一端与氨基酸单元、二硫化物部分、磺酰胺部分或非肽化学部分相连的化学结构片段。

术语“间隔单元”是一种双功能化合结构片段，可用于偶联氨基酸单元和糖皮质激素最终形成抗体-药物偶联物，这种偶联方式可以将糖皮质激素选择性的连接到氨基酸单元上。

术语“氨基酸”是指分子结构中含有氨基和羧基，并且氨基和羧基都直接连接在-CH-结构上的有机化合物。通式是 $H_2NCH(R)COOH$ ，R 为 H、取代或未取代烷基等。根据氨基连结

在羧酸中碳原子的位置，可分为 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ-氨基酸。在生物界中，构成天然蛋白质的氨基酸具有其特定的结构特点，即其氨基直接连接在 α -碳原子上，即 α -氨基酸，包括甘氨酸(Glycine)、丙氨酸(Alanine)、缬氨酸(Valine)、亮氨酸(Leucine)、异亮氨酸(Isoleucine)、苯丙氨酸(Phenylalanine)、色氨酸(Tryptophan)、酪氨酸(Tyrosine)、天冬氨酸(Aspartic acid)、组氨酸(Histidine)、天冬酰胺(Asparagine)、谷氨酸(Glutamic acid)、赖氨酸(Lysine)、谷氨酰胺(Glutamine)、甲硫氨酸(Methionine)、精氨酸(Arginine)、丝氨酸(Serine)、苏氨酸(Threonine)、半胱氨酸(Cysteine)、脯氨酸(Proline)等。非天然氨基酸如瓜氨酸。如本领域技术人员所公知的，非天然氨基酸并不构成天然蛋白质，因此也不参与本公开中抗体的合成。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。

简称	缩写	名称	结构
G	Gly	甘氨酸 Glycine	
A	Ala	丙氨酸 Alanine	
V	Val	缬氨酸 Valine	
L	Leu	亮氨酸 Leucine	
I	Ile	异亮氨酸 Isoleucine	
F	Phe	苯丙氨酸 Phenylalanine	
W	Trp	色氨酸 Tryptophan	
Y	Tyr	酪氨酸 Tyrosine	

D	Asp	天冬氨酸 Aspartic acid	
H	His	组氨酸 Histidine	
N	Asn	天冬酰胺 Asparagine	
E	Glu	谷氨酸 Glutamic acid	
K	Lys	赖氨酸 Lysine	
Q	Gln	谷氨酰胺 Glutamine	
C	Cit	瓜氨酸 Citrulline	

术语“抗体-药物偶联物”，指配体通过稳定的连接单元与具有生物活性的药物相连。在本公开中“抗体-药物偶联物”（antibody drug conjugate, ADC），指把单克隆抗体或者抗体片段通过稳定的连接单元与具有生物活性的糖皮质激素相连。其中抗体或抗体片段可通过其中的特定基团（例如链间二硫键）与包含接头的糖皮质激素分子相结合。

术语“载药量”是指抗体-药物偶联物群体中，每个抗体-药物偶联物分子载有的药物平均数量，也可以表示为药物量和抗体量的比值。载药量的范围可以是每个抗体（Ab）连接 1-20 个，优选 1-10 个糖皮质激素（D）。在本公开的实施方式中，载药量表示为 k，示例性的可以为 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或任意两数值之间数值的均值。优选 1-10，更优选 1-8，或 2-8，或 2-7，或 3-8，或 3-7，或 3-6，或 4-7，或 4-6，或 4-5 的均值。可用常规方法如 UV/可见光光谱法、质谱、ELISA 试验、单抗分子大小变异体测定法（CE-SDS）和 HPLC 特征鉴定偶联反应后每个 ADC 分子的药物平均数量。

本公开单抗分子大小变异体测定法(CE-SDS)可采用十二烷基硫酸钠毛细管电泳(CE-SDS)紫外检测方法，在还原和非还原条件下，依据分子量大小，按毛细管电泳法（2015 年版《中国药典》0542），定量测定重组单克隆抗体产品的纯度。

本公开的一个实施方式中，糖皮质激素通过连接单元偶联在配体的 N 端氨基和/或赖氨酸残基的ε-氨基上，一般地，偶联反应中能与抗体偶联的药物分子数将小于理论上的最大值。

可以用以下非限制性方法控制抗体-药物偶联物的载量，包括：

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

术语“抗体”指免疫球蛋白，是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。免疫球蛋白重链恒定区的氨基酸组成和排列顺序不同，故其抗原性也不同。据此，可将免疫球蛋白分为五类，或称为免疫球蛋白的同种型，即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE，其相应的重链分别为 μ 链、 δ 链、 γ 链、 α 链、和 ϵ 链。同一类 Ig 根据其铰链区氨基酸组成和重链二硫键的数目和位置的差别，又可分为不同的亚类，如 IgG 可分为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。轻链通过恒定区的不同分为 κ 链或 λ 链。五类 Ig 中每类 Ig 都可以有 κ 链或 λ 链。

抗体重链和轻链靠近 N 端的约 110 个氨基酸的序列变化很大，为可变区（Fv 区）；靠近 C 端的其余氨基酸序列相对稳定，为恒定区。可变区包括 3 个高变区（HVR）和 4 个序列相对保守的骨架区（FR）。3 个高变区决定抗体的特异性，又称为互补性决定区（CDR）。每条轻链可变区（LCVR）和重链可变区（HCVR）由 3 个 CDR 区 4 个 FR 区组成，从氨基端到羧基端依次排列的顺序为：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。轻链的 3 个 CDR 区指 LCDR1、LCDR2、和 LCDR3；重链的 3 个 CDR 区指 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

本公开的抗体包括鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体，优选人源化抗体和全人源抗体。

术语“鼠源抗体”在本公开中为根据本领域知识和技能用鼠制备抗体。制备时用特定抗原注射试验对象，然后分离表达具有所需序列或功能特性的抗体的杂交瘤。

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

术语“人源化抗体（humanized antibody）”，也称为 CDR 移植抗体（CDR-grafted antibody），是指将鼠的 CDR 序列移植到人的抗体可变区框架，即不同类型的人种系抗体框架序列中产生的抗体。可以克服嵌合抗体由于携带大量鼠蛋白成分，从而诱导的异源性反应。此类构架序列可以从包括种系抗体基因序列的公共 DNA 数据库或公开的参考文献获得。如人重链和轻链可变区基因的种系 DNA 序列可以在“VBase”人种系序列数据库（在因特网 www.mrccpe.com.ac.uk/vbase 可获得），以及在 Kabat, E.A.等人，1991 Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版中找到。为避免免疫原性下降的同时，引起的活性下降，可对所述的人抗体可变区框架序列进行最少反向突变或回复突变，以保持活性。本公开的人源化抗体也包括进一步由噬菌体展示对 CDR 进行亲和力成熟后的人源化抗体。进一步描述参与人源化可使用小鼠抗体的方法的文献包括，例如 Queen 等，Proc., Natl.Acad.Sci.USA, 88, 2869, 1991 和 Winter 及其同事的方法 [Jones 等，Nature, 321, 522(1986), Riechmann, 等，Nature,

332, 323-327(1988), Verhoeyen, 等, Science, 239, 1534(1988)]。

术语“全人源抗体”、“全人抗体”或“完全人源抗体”，也称“全人源单克隆抗体”，其抗体的可变区和恒定区都是人源的，去除免疫原性和毒副作用。单克隆抗体的发展经历了四个阶段，分别为：鼠源性单克隆抗体、嵌合性单克隆抗体、人源化单克隆抗体和全人源单克隆抗体。本公开为全人源单克隆抗体。全人抗体制备的相关技术主要有：人杂交瘤技术、EBV 转化 B 淋巴细胞技术、噬菌体显示技术(phage display)、转基因小鼠抗体制备技术(transgenic mouse)和单个 B 细胞抗体制备技术等。

术语“抗原结合片段”是指抗体的保持特异性结合抗原的能力的一个或多个片段。已显示可利用全长抗体的片段来进行抗体的抗原结合功能。“抗原结合片段”中包含的结合片段的实例包括(i)Fab 片段，由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段；(ii)F(ab')₂ 片段，包含通过铰链区上的二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段；(iii) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段；(iv) 由抗体的单臂的 VH 和 VL 结构域组成的 Fv 片段；(v) 单结构域或 dAb 片段(Ward 等人,(1989)Nature341 : 544-546)，其由 VH 结构域组成；和(vi) 分离的互补决定区(CDR) 或(vii) 可任选地通过合成的接头连接的两个或更多个分离的 CDR 的组合。此外，虽然 Fv 片段的两个结构域 VL 和 VH 由分开的基因编码，但可使用重组方法，通过合成的接头连接它们，从而使得其能够产生为其中 VL 和 VH 区配对形成单价分子的单个蛋白质链(称为单链 Fv(scFv)；参见，例如，Bird 等人(1988)Science242 :423-426；和 Huston 等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci USA85:5879-5883)。此类单链抗体也意欲包括在术语抗体的“抗原结合片段”中。使用本领域技术人员已知的常规技术获得此类抗体片段，并且以与对于完整抗体的方式相同的方式就功用性筛选片段。可通过重组 DNA 技术或通过酶促或化学断裂完整免疫球蛋白来产生抗原结合部分。抗体可以是不同同种型的抗体，例如，IgG(例如，IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 亚型)、IgA1、IgA2、IgD、IgE 或 IgM 抗体。

Fab 是通过用蛋白酶木瓜蛋白酶(切割 H 链的 224 位的氨基酸残基)处理 IgG 抗体分子所获得的片段中的具有约 50,000 的分子量并具有抗原结合活性的抗体片段，其中 H 链 N 端侧的约一半和整个 L 链通过二硫键结合在一起。

F(ab')₂ 是通过用酶胃蛋白酶消化 IgG 铰链区中两个二硫键的下方部分而获得的分子量为约 100,000 并具有抗原结合活性并包含在铰链位置相连的两个 Fab 区的抗体片段。

Fab'是通过切割上述 F(ab')₂ 的铰链区的二硫键而获得的分子量为约 50,000 并具有抗原结合活性的抗体片段。

此外，可以通过将编码抗体的 Fab'片段的 DNA 插入到原核生物表达载体或真核生物表达载体中并将载体导入到原核生物或真核生物中以表达 Fab'来生产所述 Fab'。

术语“单链抗体”、“单链 Fv”或“scFv”意指包含通过接头连接的抗体重链可变结构域(或区域; VH)和抗体轻链可变结构域(或区域; VL)的分子。此类 scFv 分子可具有一般结构: NH₂-VL-接头-VH-COOH 或 NH₂-VH-接头-VL-COOH。合适的现有技术接头由重复的 GGGGS 氨基酸序列或其变体组成，例如使用 1-4 个重复的变体 (Holliger 等人(1993), Proc. Natl. Acad. Sci. USA90: 6444-6448)。可用于本公开的其他接头由 Alftan 等人(1995), Protein Eng.8:725-731, Choi 等人(2001), Eur.J.Immuno 1.31:94-106, Hu 等人(1996), Cancer Res.56:3055-3061,

Kipriyanov 等人(1999), J.Mol.Biol.293:41-56 和 Roovers 等人(2001), Cancer Immunol.描述。

术语“CDR”是指抗体的可变结构域内主要促成抗原结合的 6 个高变区之一。所述 6 个 CDR 的最常用的定义之一由 Kabat E.A. 等人, (1991)Sequences of proteins of immunological interest.NIH Publication91-3242)提供。如本文中使用的, CDR 的 Kabat 定义只应用于轻链可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3(CDR L1、CDR L2、CDR L3 或 L1、L2、L3), 以及重链可变结构域的 CDR2 和 CDR3(CDR H2、CDR H3 或 H2、H3)。通常, 每个重链可变区中存在三个 CDR (HCDR1、HCDR2、HCDR3), 每个轻链可变区中存在三个 CDR (LCDR1、LCDR2、LCDR3)。可以使用各种公知方案中的任何一种来确定 CDR 的氨基酸序列边界, 包括“Kabat”编号规则(参见 Kabat 等(1991), “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD)、“Chothia”编号规则(参见 Al-Lazikani 等人, (1997)JMB 273: 927-948)和 ImMunoGenTics(IMG T)编号规则(参见 Lefranc M.P., Immunologist, 7, 132-136(1999); Lefranc, M.P.等, Dev. Comp. Immunol., 27, 55-77(2003))等。例如, 对于经典格式, 遵循 Kabat 规则, 所述重链可变域(VH)中的 CDR 氨基酸残基编号为 31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和 95-102(HCDR3); 轻链可变域(VL)中的 CDR 氨基酸残基编号为 24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和 89-97(LCDR3)。遵循 Chothia 规则, VH 中的 CDR 氨基酸编号为 26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和 95-102(HCDR3); 并且 VL 中的氨基酸残基编号为 26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和 91-96(LCDR3)。通过组合 Kabat 和 Chothia 两者的 CDR 定义, CDR 由人 VH 中的氨基酸残基 26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和 95-102(HCDR3)和人 VL 中的氨基酸残基 24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和 89-97(LCDR3)构成。遵循 IMG T 规则, VH 中的 CDR 氨基酸残基编号大致为 26-35(CDR1)、51-57(CDR2)和 93-102(CDR3), VL 中的 CDR 氨基酸残基编号大致为 27-32(CDR1)、50-52(CDR2)和 89-97(CDR3)。遵循 IMG T 规则, 抗体的 CDR 区可以使用程序 IMG T/DomainGap Align 确定。

术语“抗体框架”, 是指可变结构域 VL 或 VH 的一部分, 其用作该可变结构域的抗原结合环(CDR)的支架。从本质上讲, 其是不具有 CDR 的可变结构域。

“与 IL-4R 结合”, 指能与人 IL-4R (或其表位、片段)相互作用。本文的术语“抗原结合位点”指由本文抗体或抗原结合片段识别的三维空间位点。

术语“表位”或“抗原决定簇”是指抗原上免疫球蛋白或抗体特异性结合的部位。表位通常以独特的空间构象包括至少 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 或 15 个连续或非连续的氨基酸(参见, 例如, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, 第 66 卷, G.E.Morris, Ed.(1996))。

术语“特异性结合”、“选择性结合”、“选择性地结合”和“特异性地结合”是指抗体对预先确定的抗原上的表位的结合。通常, 抗体以大约小于 10^{-7} M, 例如: 大约小于 10^{-8} M、 10^{-9} M 或 10^{-10} M 或更小的亲和力(KD)结合。

术语“核酸分子”是指 DNA 分子和 RNA 分子。核酸分子可以是单链或双链的, 但优选是双链 DNA。当将核酸与另一个核酸序列置于功能关系中时, 核酸是“有效连接的”。例如, 如果启动子或增强子影响编码序列的转录, 那么启动子或增强子有效地连接至所述编码序列。

术语“载体”是指能够运输已与其连接的另一个核酸的核酸分子。在一个实施方案中, 载体

是“质粒”，其是指可将另外的 DNA 区段连接至其中的环状双链 DNA 环。在另一个实施方案中，载体是病毒载体，其中可将另外的 DNA 区段连接至病毒基因组中。本文中公开的载体能够在已引入它们的宿主细胞中自主复制(例如，具有细菌的复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体)或可在引入宿主细胞后整合入宿主细胞的基因组，从而随宿主基因组一起复制(例如，非附加型哺乳动物载体)。

现有技术中熟知生产和纯化抗体和抗原结合片段的方法，如冷泉港的抗体实验技术指南，5-8 章和 15 章。抗原结合片段同样可以用常规方法制备。发明所述的抗体或抗原结合片段用基因工程方法在非人源的 CDR 区加上一个或多个个人源 FR 区。人 FR 种系序列可以通过比对 IMGT 人类抗体可变区种系基因数据库和 MOE 软件，从 ImMunoGeneTics(IMGT)的网站 <http://imgt.cines.fr> 得到，或者从免疫球蛋白杂志，2001 ISBN 012441351 上获得。

术语“宿主细胞”是指已向其中引入了表达载体的细胞。宿主细胞可包括细菌、微生物、植物或动物细胞。易于转化的细菌包括肠杆菌科(*enterobacteriaceae*)的成员，例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)或沙门氏菌(*Salmonella*)的菌株；芽孢杆菌科(*Bacillaceae*)例如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)；肺炎球菌(*Pneumococcus*)；链球菌(*Streptococcus*)和流感嗜血菌(*Haemophilus influenzae*)。适当的微生物包括酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和毕赤酵母(*Pichia pastoris*)。适当的动物宿主细胞系包括 CHO(中国仓鼠卵巢细胞系)和 NS0 细胞。

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℃，或者冻干。

氨基酸序列“同一性”指在比对氨基酸序列及必要时引入间隙，以达成最大序列同一性百分比，且不将任何保守性取代视为序列同一性的一部分，第一序列中与第二序列中的氨基酸残基同一的氨基酸残基的百分比。为测定氨基酸序列同一性百分比的目的，比对可以通过属于本领域技术的范围内的多种方式来实现，例如使用公开可得到的计算机软件，诸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2 或 Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定适用于测量比对的参数，包括在所比较的序列全长上达成最大比对所需的任何算法。

术语“抗 IL-4R 抗体”或“与 IL-4R 结合的抗体”是指能够例如以足够的亲和力结合 IL-4R 的抗体，使得该抗体可用作靶向 IL-4R 的治疗剂。抗 IL-4R 抗体与不相关的非 IL-4R 蛋白的结合程度可以小于如，例如，通过放射免疫测定(RIA)所测量的抗体与 IL-4R 的结合的约 10%。在一些实施方案中，与 IL-4R 结合的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$ 、 $\leq 100\text{nM}$ 、 $\leq 10\text{nM}$ 、 $\leq 1\text{nM}$ 或 $\leq 0.1\text{nM}$ 的解离常数(Kd)。

术语“肽”是指介于氨基酸和蛋白质之间的化合物片段，由 2 个或 2 个以上氨基酸分子通过

肽键相互连接而成，是蛋白质的结构与功能片段，如激素、酶类等本质上都是肽。

术语“糖”是指由 C、H、O 三种元素组成的生物大分子，可分为单糖、二糖和多糖等。

术语“荧光探针”是指在紫外-可见-近红外区有特征荧光，并且其荧光性质（激发和发射波长、强度、寿命和偏振等）可随所处环境的性质，如极性、折射率、粘度等改变而灵敏地改变的一类荧光性分子，其与核酸(DNA 或 RNA)、蛋白质或其他大分子结构非共价相互作用而使一种或几种荧光性质发生改变，可用于研究大分子物质的性质和行为。

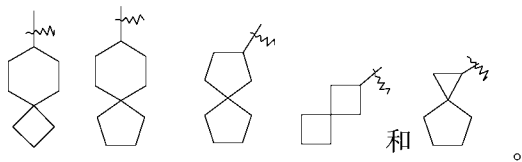
术语“烷基”指饱和脂肪族烃基团，其为包含 1 至 20 个碳原子的直链或支链基团，优选含有 1 至 12 个碳原子的烷基。非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各种支链异构体等。更优选的是含有 1 至 6 个碳原子的烷基，非限制性实施例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、仲丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，所述取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、羧基或羧酸酯基。

术语“杂烷基”指含有一个或多个选自 N、O 或 S 的杂原子的烷基，其中烷基如上所定义。

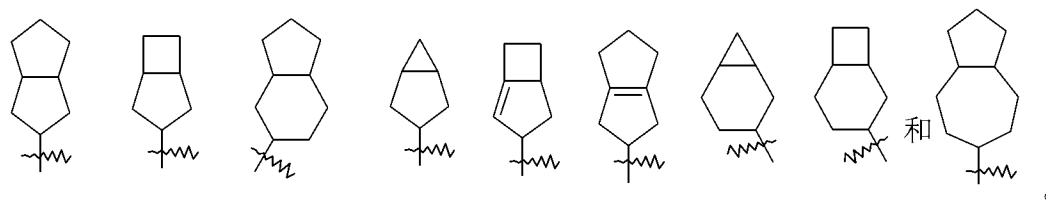
术语“环烷基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，环烷基环包含 3 至 20 个碳原子，优选包含 3 至 12 个碳原子，更优选包含 3 至 6 个碳原子。单环环烷基的非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环己二烯基、环庚基、环庚三烯基、环辛基等；多环环烷基包括螺环、稠环和桥环的环烷基。“碳环”指的是环烷基中的环系。

术语“螺环烷基”指 5 至 20 元的单环之间共用一个碳原子(称螺原子)的多环基团，其可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺环烷基分为单螺环烷基、双螺环烷基或多螺环烷基，优选为单螺环烷基和双螺环烷基。更优选为 4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺环烷基。“螺碳环”指的是螺环烷基中的环系。螺环烷基的非限制性实

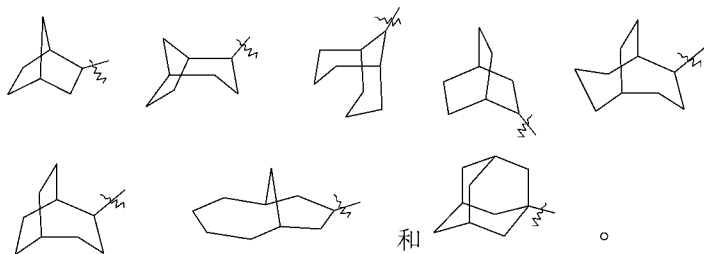
例包括：



术语“稠环烷基”指 5 至 20 元，系统中的每个环与体系中的其他环共享毗邻的一对碳原子的全碳多环基团，其中一个或多个环可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠环烷基，优选为双环或三环，更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环烷基。“稠碳环”指的是稠环烷基中的环系。稠环烷基的非限制性实例包括：



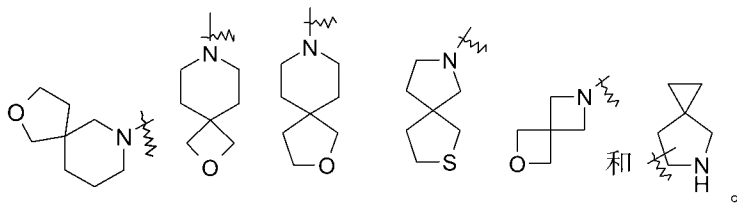
术语“桥环烷基”指 5 至 20 元，任意两个环共用两个不直接连接的碳原子的全碳多环基团，其可以含有一个或多个双键，但没有一个环具有完全共轭的 π 电子系统。优选为 6 至 14 元，更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥环烷基，优选为双环、三环或四环，更有选为双环或三环。桥环烷基的非限制性实例包括：



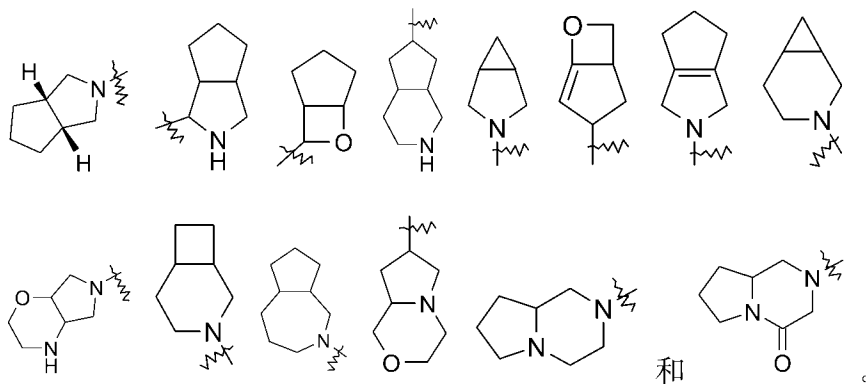
所述环烷基环可以稠合于芳基、杂芳基或杂环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为环烷基，非限制性实例包括茚满基、四氢萘基、苯并环庚烷基等。环烷基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、羧基或羧酸酯基。

术语“杂环基”指饱和或部分不饱和单环或多环环状烃取代基，其包含 3 至 20 个环原子，其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 $S(O)_m$ (其中 m 是整数 0 至 2) 的杂原子，但不包括 -O-O-、-O-S- 或 -S-S- 的环部分，其余环原子为碳。优选包含 3 至 12 个环原子，其中 1~4 个是杂原子；更优选包含 3 至 6 个环原子。单环杂环基的非限制性实例包括吡咯烷基、咪唑烷基、四氢呋喃基、四氢噻吩基、二氢咪唑基、二氢呋喃基、二氢吡唑基、二氢吡咯基、哌啶基、哌嗪基、吗啉基、硫代吗啉基、高哌嗪基等，优选哌啶基、吡咯烷基。多环杂环基包括螺环、稠环和桥环的杂环基。“杂环”指的是杂环基中的环系。

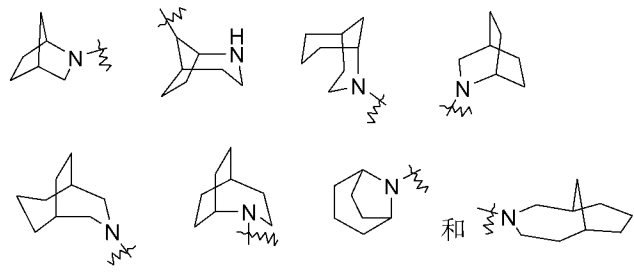
术语“螺杂环基”指 5 至 20 元的单环之间共用一个原子(称螺原子)的多环杂环基团, 其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 $S(O)_m$ (其中 m 是整数 0 至 2) 的杂原子, 其余环原子为碳。其可以含有一个或多个双键, 但没有一个环具有完全共轭的 π 电子系统。优选为 6 至 14 元, 更优选为 7 至 10 元。根据环与环之间共用螺原子的数目将螺杂环基分为单螺杂环基、双螺杂环基或多螺杂环基, 优选为单螺杂环基和双螺杂环基。更优选为 4 元/4 元、4 元/5 元、4 元/6 元、5 元/5 元或 5 元/6 元单螺杂环基。“螺杂环”指的是螺杂环基中的环系。螺杂环基的非限制性实例包括:



术语“稠杂环基”指 5 至 20 元, 系统中的每个环与体系中的其他环共享毗邻的一对原子的多环杂环基团, 一个或多个环可以含有一个或多个双键, 但没有一个环具有完全共轭的 π 电子系统, 其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 $S(O)_m$ (其中 m 是整数 0 至 2) 的杂原子, 其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元, 更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环稠杂环基, 优选为双环或三环, 更优选为 5 元/5 元或 5 元/6 元双环稠杂环基。“稠杂环”指的是稠杂环基中的环系。稠杂环基的非限制性实例包括:

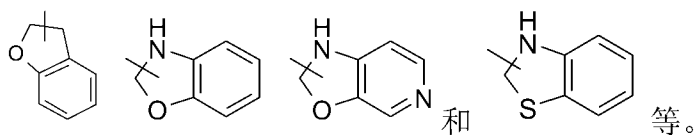


术语“桥杂环基”指 5 至 14 元, 任意两个环共用两个不直接连接的原子(称桥原子)的多环杂环基团, 其可以含有一个或多个双键, 但没有一个环具有完全共轭的 π 电子系统, 其中一个或多个环原子为选自氮、氧或 $S(O)_m$ (其中 m 是整数 0 至 2) 的杂原子, 其余环原子为碳。优选为 6 至 14 元, 更优选为 7 至 10 元。根据组成环的数目可以分为双环、三环、四环或多环桥杂环基, 优选为双环、三环或四环, 更有选为双环或三环。桥杂环基的非限制性实例包括:



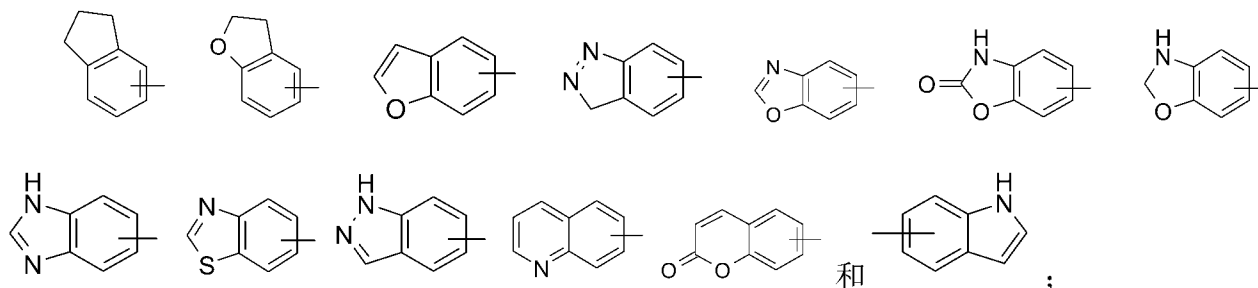
所述杂环基环可以稠合于芳基、杂芳基或环烷基环上, 其中与母体结构连接在一起的环

为杂环基，其非限制性实例包括：



杂环基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、氧代基、羧基或羧酸酯基。

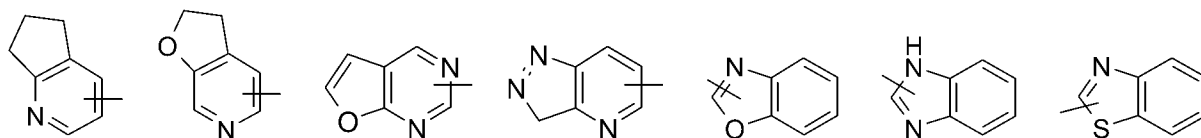
术语“芳基”指具有共轭的 π 电子体系的6至14元全碳单环或稠合多环(也就是共享毗邻碳原子对的环)基团，优选为6至10元，例如苯基和萘基。所述芳基环可以稠合于杂芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为芳基环。“芳环”指的是芳基中的环系。芳基非限制性实例包括：

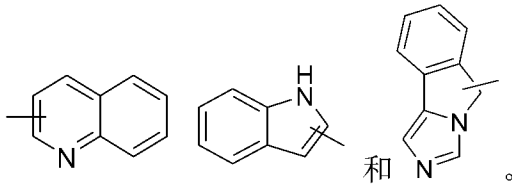


芳基可以是取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、羧基或羧酸酯基，优选苯基。

术语“稠环芳基”可以是含有8-14个环原子由两个或两个以上环状结构彼此共用两个相邻的原子连接起来形成的不饱和的具有芳香性的稠环结构，环原子优选8-12个。例如包括全部不饱和稠环芳基，例如萘、菲等，还包括部分饱和稠环芳基，例如苯并3-8元饱和单环环烷基、苯并3-8元部分饱和单环环烷基。“稠芳环”指的是稠环芳基中的环系。稠环芳基具体实例例如2,3-二氢-1H-茚基、1H-茚基、1,2,3,4-四氢萘基、1,4-二氢萘基等。

术语“杂芳基”指包含1至4个杂原子、5至14个环原子的杂芳族体系，其中杂原子选自氧、硫和氮。杂芳基优选为5至12元，例如咪唑基、呋喃基、噻吩基、噻唑基、吡唑基、噁唑基、吡咯基、四唑基、吡啶基、嘧啶基、噻二唑、吡嗪基等，优选为咪唑基、吡唑基、嘧啶基或噻唑基；更优选为吡唑基或噻唑基。所述杂芳基环可以稠合于芳基、杂环基或环烷基环上，其中与母体结构连接在一起的环为杂芳基环。“杂芳环”指的是杂芳基中的环系。杂芳基非限制性实例包括：





杂芳基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、羧基或羧酸酯基。

术语“稠杂芳基”可以是含有 5-14 个环原子(其中至少含有一个杂原子)由两个或两个以上环状结构彼此共用两个相邻的原子连接起来形成的不饱和的具有芳香性的稠环结构，同时包括碳原子、氮原子和硫原子可以被氧化，优选“5-12 元稠杂芳基”、“7-12 元稠杂芳基”、“9-12 元稠杂芳基”等，例如苯并呋喃基、苯并异呋喃基、苯并噻吩基、吡啶基、异吡啶、苯并噻唑基、苯并咪唑基、吡唑基、苯并三唑基、喹啉基、2-喹啉酮、4-喹啉酮、1-异喹啉酮、异喹啉基、吡啶基、菲啶基、苯并吡嗪基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、酚嗪基、喋啶基、嘌呤基、茶啶基、吩嗪、吩噻嗪等。“稠杂芳环”指的是稠杂芳基中的环系。

稠杂芳基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基、羧基或羧酸酯基。

术语“亚烷基 (-CH₂-)”则表示烷烃分子中去除 2 个氢原子后余下的部分，包括 1 至 20 个碳原子的直链和支链亚基团。含有 1 至 6 个碳原子的亚烷基，非限制性实施例包括亚甲基 (-CH₂-)、亚乙基 (如-CH₂CH₂-或-CH(CH₃)-)、亚丙基 (如-CH₂CH₂CH₂-或-CH(CH₂CH₃)-)、亚丁基 (如-CH₂CH₂CH₂CH₂-)。亚烷基可以是取代的或未取代的，当被取代时，取代基可以在任何可使用的连接点上被取代，优选一个或多个以下基团，独立地选自卤素、氘、羟基、硝基、氰基或氨基。同理，“亚烯基”、“亚杂芳基”、“亚芳基”、“亚杂环烷基”等如前所定义。

术语“亚链烯基”指包含具有 2 至 8 个碳原子，优选地具有 2 至 6 个碳原子，更优选地具有 2 至 4 个碳原子并在任何位置具有至少一个双键的线性链烯基，包括例如亚乙烯基、亚烯丙基(allylene)、亚丙烯基、亚丁烯基、亚异戊二烯基(prenylene)、亚丁二烯基(butadienylene)、亚戊烯基、亚戊二烯基、亚己烯基、亚己二烯基等。

术语“亚链炔基”包括具有 2 至 8 个碳原子，优选地具有 2 至 6 个碳原子，更优选地具有 2 至 4 个碳原子并在任何位置具有至少一个叁键的线性亚链炔基，包括例如亚乙炔基、亚丙炔基、亚丁炔基、亚戊炔基、亚己炔基等。

术语“烷氧基”指-O-(烷基)和-O-(非取代的环烷基)，其中烷基的定义如上所述。烷氧基的非限制性实例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基。烷氧基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环

烷硫基、羧基或羧酸酯基。

术语“烷硫基”指-S-(烷基)和-S-(非取代的环烷基)，其中烷基的定义如上所述。烷硫基的非限制性实例包括：甲硫基、乙硫基、丙硫基、丁硫基、环丙硫基、环丁硫基、环戊硫基、环己硫基。烷硫基可以是任选取代的或非取代的，当被取代时，取代基优选为一个或多个以下基团，其独立地选自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基氨基、卤素、巯基、羟基、硝基、氰基、环烷基、杂环烷基、芳基、杂芳基、环烷氧基、杂环烷氧基、环烷硫基、杂环烷硫基中的一个或多个取代基所取代。

术语“羟烷基”指被羟基取代的烷基，其中烷基如上所定义。

术语“卤代烷基”指被卤素取代的烷基，其中烷基如上所定义。

术语“氘代烷基”指被氘原子取代的烷基，其中烷基如上所定义。

术语“羟基”指-OH 基团。

术语“氧代”指 =O 基团。例如，碳原子与氧原子通过双键连接，其中形成酮或醛基。

术语“硫代”指 =S 基团。例如，碳原子与硫原子通过双键连接，形成硫代羰基-C(S)-。

术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

术语“氨基”指-NH₂。

术语“氰基”指-CN。

术语“硝基”指-NO₂。

术语“羧基”指-C(O)OH。

术语“醛基”指-CHO。

术语“羧酸酯基”指-C(O)O(烷基)或-C(O)O(环烷基)，其中烷基、环烷基如上所定义。

术语“酰卤”指含有-C(O)-卤素的基团的化合物。

术语“磺酰基”指-S(O)(O)-。

术语“亚磺酰基”指-S(O)-。

“氨基保护基”是本领域已知的适当的用于氨基保护的基团，参见文献(“Protective Groups in Organic Synthesis”, 5th. Ed. T. W. Greene & P. G. M. Wuts)中的氨基保护基团，优选地，所述的氨基保护基可以是(C₁₋₁₀ 烷基或芳香基)酰基，例如：甲酰基，乙酰基，苯甲酰基等；可以是(C₁₋₆ 烷基或 C₆₋₁₀ 芳基)磺酰基；也可以是(C₁₋₆ 烷氧基或 C₆₋₁₀ 芳基氧基)羰基，例如：Boc 或 Cbz；还可以是取代或非取代的烷基，例如：三苯甲基(Tr)、2,4-二甲氧基苄基(DMB)、对甲氧基苄基(PMB) 或苄基(Bn)。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述的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地场合。例如，“任选被烷基取代的杂环烷基团”意味着烷基可以但不必须存在，该说明包括杂环烷基团被烷基取代的情形和杂环烷基团不被烷基取代的情形。

术语“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及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。

术语“药物载体”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。

术语“赋形剂”是在药物制剂中除主药以外的附加物，也可称为辅料。如片剂中的粘合剂、填充剂、崩解剂、润滑剂；半固体制剂软膏剂、霜剂中的基质部分；液体制剂中的防腐剂、抗氧剂、矫味剂、芳香剂、助溶剂、乳化剂、增溶剂、渗透压调节剂、着色剂等均可称为赋形剂。

术语“稀释剂”又称填充剂，其主要用途是增加片剂的重量和体积。稀释剂的加入不仅保证一定的体积大小，而且减少主要成分的剂量偏差，改善药物的压缩成型性等。当片剂的药物含有油性组分时，需加入吸收剂吸收油性物，使保持“干燥”状态，以利于制成片剂。

本公开中化合物可以含有一个或多个不对称中心，因此可以产生对映异构体、非对映异构体，并且其可以根据绝对立体化学定义为(R)-或(S)-或用于氨基酸的(D)-或(L)-的其它立体异构形式。本公开包括所有可能异构体以及其外消旋和光学纯的形式。光学活性的(+)和(-)、(R)-和(S)-或(D)-和(L)-异构体可以使用手性合成子或手性试剂制备，或者可以使用常规方法例如色谱法和分级结晶制备。用于制备/分离各个对映体的常规方法包括从合适的的光学纯前体手性合成或使用例如手性高效液相色谱法(HPLC)的外消旋物(或盐或衍生物的外消旋物)拆分。当本文描述的化合物含有烯双键或其它几何不对称性中心，除非另有说明，否则其意味着所述化合物包括 E 和 Z 几何异构体。而且，所有的互变异构形式也意味着包括在内。

本公开所述化合物的化学结构中，键“/”表示未指定构型，即如果化学结构中存在手性异构体，键“/”可以为“”或“”，或者同时包含“”和“”两种构型。本公开所述化合物的化学结构中，键“”并未指定构型，即可以为 Z 构型或 E 构型，或者同时包含两种构型。

“立体异构体”指通过相同的键键合但具有不同的三维结构的相同原子组成的化合物，其不可互换。本公开中预期各种立体异构体及其混合物，并且包括“对映异构体”，其指其分子彼此为不能重叠的镜像的两种立体异构体。

“互变异构体”指质子从分子的一个原子转移到同一分子的另一个原子。本公开中包括任何所述化合物的互变异构体。

本公开所述化合物或其可药用盐、或其异构体的任何同位素标记的衍生物都被本公开所覆盖。能够被同位素标记的原子包括但不限于氢、碳、氮、氧、磷、氟、氯、碘等。它们可分别被同位素同位素 ^2H (D)、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 和 ^{125}I 等代替。除另有说明，当一个位置被特别地指定为氘(D)时，该位置应理解为具有大于氘的天然丰度(其为 0.015%)至少 3000 倍的丰度的氘(即，至少 45%的氘掺入)。

附图说明

图 1: 受试蛋白与人源 IL-4R α 表达细胞的全细胞结合活性剂量-响应曲线

图 2: 受试蛋白对 IL-4/IL-13 信号通路阻断作用的剂量-响应曲线

图 3: 受试蛋白在 TF-1 细胞中的内吞率-时间曲线

图 4: 气管内给药后 ADC-2 和游离 Budesonide 在各组织的时间-浓度曲线

图 5: 测试例 6 肺泡灌洗液内白细胞与分型细胞计数

图 6: 测试例 7 肺泡灌洗液内白细胞与分型细胞计数

具体实施方式

以下结合实施例进一步描述本公开所述的化合物、可药用盐的制备,但这些实施例并非限制本公开中的范围。

本公开中实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,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。

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砜(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 Shimadzu 2010 Mass Spectrometer 或 Agilent 6110A MSD 质谱仪。

HPLC 的测定使用 Shimadzu LC-20A systems、Shimadzu LC-2010HT series 或安捷伦 Agilent 1200 LC 高压液相色谱仪(Ultimate XB-C18 3.0*150mm 色谱柱或 Xtimate C18 2.1*30mm 色谱柱)。

手性 HPLC 分析测定使用 Chiralpak IC-3 100*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AD-3 150*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AD-3 50*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AS-3 150*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralpak AS-3 100*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralcel OD-3 150*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralcel OD-3 100*4.6mm I.D., 3 μ m、Chiralcel OJ-H 150*4.6mm I.D., 5 μ m、Chiralcel OJ-3 150*4.6mm I.D., 3 μ m 色谱柱; 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~0.2 mm,薄层层析分离纯化产品采用的规格是 0.4 mm~0.5 mm。

柱层析一般使用烟台黄海硅胶 100~200 目、200~300 目或 300~400 目硅胶为载体。

手性制备柱使用 DAICEL CHIRALPAK IC (250mm*30mm,10 μ m) 或 Phenomenex-Amylose-1 (250mm*30mm,5 μ m)。

CombiFlash 快速制备仪使用 Combiflash Rf150 (TELEDYNE ISCO)。

激酶平均抑制率及 IC_{50} 值的测定用 NovoStar 酶标仪(德国 BMG 公司)。

本公开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氛下进行。

氩气氛或氮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。

实施例中无特殊说明，反应的温度为室温，为 20℃~30℃。

实施例中的反应进程的监测采用薄层色谱法(TLC)，反应所使用的展开剂，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体系包括：A：二氯甲烷/甲醇体系，B：正己烷/乙酸乙酯体系，C：石油醚/乙酸乙酯体系，D：石油醚/乙酸乙酯/甲醇，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醋酸等碱性或酸性试剂进行调节。

1.0 M Tris buffer pH=8.30±0.1 的配制：

50mL 容量瓶中称取 tris 6.0 g，加入 40mL 纯化水，振荡溶解，滴加入浓盐酸 1.2 mL，调 pH 至 8.30，再用纯化水定容。

Buffer A 的配制：

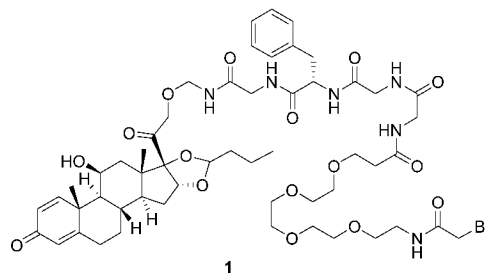
在 2.0 L 的容器中，加入 KH₂PO₄ (8.50 g)、K₂HPO₄ (8.56 g)、NaCl (5.86 g)和 EDTA (1.50 g)，加入 1.6 L 注射用水，搅拌半小时，完全溶解后再用注射用水定容至 2.0 L，测定 pH 为 6.30±0.1。

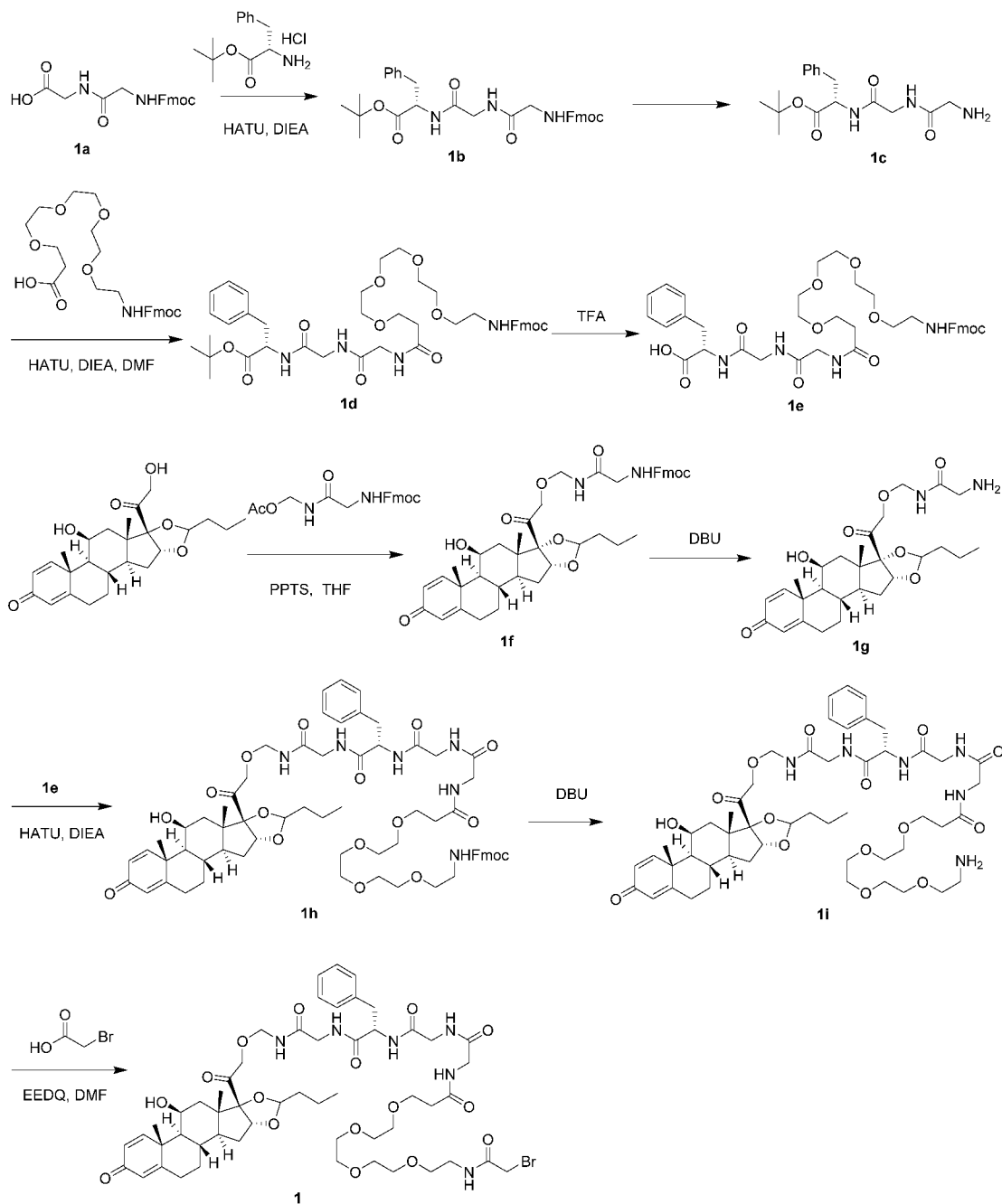
下述实验中所用缩写代表的含义如下：

DAST: 二乙胺基三氟化硫；THF: 四氢呋喃；NMP: *N*-甲基吡咯烷酮；DCM: 二氯甲烷；*m*-CPBA: 间氯过氧苯甲酸；DIEA: *N,N*-二异丙基乙胺；TEA: 三乙胺；Boc: 叔丁氧羰基，MeOH: 甲醇；Et₂O: 乙醚。

本申请中 25G7、7B10 抗体的制备、纯化方法已在申请号为 WO2020038454A1 专利文件中记载，前述申请文件的全部内容均引入本公开。

实施例 1: N-((10*S*)-10-苄基-1-((6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-7-羟基 -6*a*,8*a*-二甲基 -4- 氧代 -10- 丙基 -1,2,4,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,11*a*,12,12*a*,12*b*- 十二氢 -8*bH*- 蔡并 [2',1':4,5] 茚并 [1,2-*d*][1,3]二氧杂环戊-8*b*-基)-1,6,9,12,15-五氧-3-氧代-5,8,11,14-四聚乙二醇-16-基)-1-(2-溴乙酰氨基)-3,6,9,12-四氧代十五烷-15-酰胺 (化合物 1) 的制备





步骤 1) (((9*H*-苄-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸叔丁基酯 (化合物 1b) 的制备

将化合物 **1a** (5.14 g, 20.0 mmol, 1.0 eq) 和 L-苯丙氨酸叔丁酯盐酸盐 (7.08 g, 20.0 mmol, 1.0 eq) 置入 250 mL 三口烧瓶中, 加入无水 DMF (60 mL) 溶清。冰浴冷却, 再加入 HATU (9.12 g, 24.0 mmol, 1.2 eq) 和 DIEA (7.74 g, 60.0 mmol, 3.0 eq), 保持冰浴反应 2 小时。向反应液中加入水, 乙酸乙酯萃取, 有机相用饱和食盐水洗涤, 干燥, 减压浓缩得化合物 **1b** (11.5 g, 100% yield), 粗品可直接投入下一步。

MS (ESI): m/z 580.3 $[M+Na]^+$ 。

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.21-8.16(m, 1H), 8.12-8.05 (m, 1H), 7.91-7.87 (m, 2H), 7.72-7.68 (m, 2H), 7.64-7.59 (m, 1H), 7.44-7.38 (m, 2H), 7.36-7.25 (m, 4H), 7.23-7.18 (m, 3H), 4.41-4.18 (m, 4H), 3.76-3.72 (m, 2H), 3.68-3.61 (m, 2H), 2.98-2.89 (m, 2H), 2.69 (s, 2H), 1.30 (s, 9H)。

步骤 2) 甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸叔丁酯 (化合物 1c) 的制备

将化合物 **1b** (5.57 g, 10.0 mmol, 1.0 eq) 置入 250 mL 三口烧瓶中, 加入无水 DCM (60 mL) 溶清, 冰浴冷却。缓慢加入哌啶 (8.5 g, 100.0 mmol, 10.0 eq), 加毕之后维持室温搅拌反应约 2 小时。直接将反应液浓缩至干, 粗品经柱层析纯化得化合物 **1c** (2.70 g, 81% yield)

MS (ESI): m/z 358.3 $[M+H]^+$ 。

步骤 3) (1-(9H-芴-9-基)-3-氧代-2,7,10,13,16-五氧-4-四聚乙二醇-19-氧基)甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸叔丁酯 (化合物 1d) 的制备

100 mL 三口烧瓶中加入原料 1-(9H-芴-9-基)-3-氧代-2,7,10,13,16-五氧-4-四聚乙二醇-19-油酸 (1.0 g, 2.05 mmol, 1.0 eq; 来源于通莱生化) 和 **1c** (0.69 g, 2.05 mmol, 1.0 eq), 加入无水 DMF (25 mL) 溶清, 冰浴冷却。加入 HATU (1.01 g, 2.67 mmol, 1.3 eq) 和 DIEA (529 mg, 4.10 mmol, 2.0 eq), 维持冰浴反应 1 小时。向反应液中加入水, 乙酸乙酯萃取, 饱和食盐水洗涤, 干燥且减压浓缩得化合物 **1d** (1.60 g, 97% yield)。

MS (ESI): m/z 805.3 $[M+H]^+$ 。

步骤 4) (1-(9H-芴-9-基)-3-氧代-2,7,10,13,16-五氧-4-四聚乙二醇-19-氧基)甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸 (化合物 1e) 的制备

100 mL 单口瓶中加入化合物 **1d** (1.60 g, 1.99 mmol, 1.0 eq), 加入无水二氯甲烷 (16 mL) 溶解。室温下加入三氟乙酸 (8 mL), 维持搅拌反应 2 小时。将反应液直接浓缩至干, 加入乙酸乙酯溶解, 饱和食盐水洗涤, 干燥, 减压浓缩得化合物 **1e** (1.23 g, 83% yield);

MS (ESI): m/z 749.3 $[M+H]^+$ 。

步骤 5) (9H-芴-9-基)甲基(2-(((2-(((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-7-羟基-6a,8a-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6a,6b,7,8,8a,11a,12,12a,12b-十二氢-8bH-萘并[2',1':4,5]茚并[1,2-d][1,3]二氧杂环戊-8b-基)-2-氧代乙氧基)甲基)氨基)-2-氧代乙基)氨基甲酸酯 (化合物 1f) 的制备

100 mL 三口瓶中加入原料布地奈德 (1.29 g, 3.0 mmol, 1.0 eq) 和 (2-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)乙酰氨基)乙酸甲酯 (1.16 g, 3.15 mmol, 1.0 eq; 参考文献“*Tetrahedron*, 2018, 74(15), 1951-1956”的方法制备) 及对甲苯磺酸吡啶盐 (75 mg, 0.30 mmol, 0.1 eq)。室温下加入无水四氢呋喃 (20 mL), 回流加热反应 4 小时。直接将反应液浓缩至干, 粗品柱层析纯化得 **1f** (0.54 g, 24% yield)。

MS (ESI): m/z 739.4 $[M+H]^+$ 。

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.76-8.69 (m, 1H), 7.91-7.84 (m, 2H), 7.73-7.67 (m, 2H), 7.63-7.57 (m, 1H), 7.43-7.58 (m, 2H), 7.35-7.23 (m, 3H), 6.13 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.91 (s, 2H), 5.15-4.97 (m, 1H), 4.73-4.45 (m, 5H), 4.30-4.09 (m, 5H), 3.65-3.59 (m, 2H), 2.29-2.21 (m, 1H), 2.11-1.87 (m, 2H), 1.74-1.21 (m, 11H), 1.09-0.77 (m, 8H)。

步骤 6) 2-氨基-N-((2-(((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-7-羟基-6a,8a-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6a,6b,7,8,8a,11a,12,12a,12b-十二氢-8bH-萘并[2',1':4,5]茚并[1,2-d][1,3]二氧杂环戊-8b-基)-2-氧代乙氧基)甲基)乙酰胺 (化合物 1g) 的制备

25 mL 单口瓶中置入化合物 **1f** (540 mg, 0.73 mmol, 1.0 eq), 加入无水二氯甲烷 (10 mL)

溶解。冰浴冷却，加入 DBU (167 mg, 1.10 mmol, 1.5 eq)，维持搅拌反应 30 分钟。加入水分液，水相用二氯甲烷萃取两次，饱和食盐水洗涤，减压浓缩得化合物 **1g** (450 mg, 100% yield)，粗品可以直接用于下一步反应。

MS (ESI): m/z 517.4 $[M+H]^+$ 。

步骤 7) (9*H*-芴-9-基)甲基((10*S*)-10-苄基-1-((6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-7-羟基-6*a*,8*a*-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,11*a*,12,12*a*,12*b*-十二氢-8*bH*-蔡并[2',1':4,5]茚并[1,2-*d*][1,3]二氧杂环戊-8*b*-基)-1,6,9,12,15,18-六氧代-3,21,24,27,30-五氧代-5,8,11,14,17-五氮杂三十烷-32-基)氨基甲酸酯(化合物 **1h**)的制备

100 mL 三口烧瓶中置入化合物 **1g** (0.45 g 粗品, 折算为 0.73 mmol, 1.0 eq) 和 **1e** (0.55 g, 0.73 mmol, 1.0 eq)，加入无水 DMF (9 mL) 溶清。冰浴冷却，再依次加入 HATU (361 mg, 0.95 mmol, 1.3 eq) 和 DIEA (189 mg, 1.46 mmol, 2.0 eq)，维持搅拌反应 1 小时。向反应液中加入水，二氯甲烷萃取两次，合并有机相，饱和食盐水洗涤一次，干燥且减压浓缩得粗品。将粗品在混合溶剂石油醚和乙酸乙酯中打浆纯化，得化合物 **1h** (710 mg, 78% yield)。

MS (ESI): m/z 1269.7 $[M+Na]^+$ 。

步骤 8) 1-氨基-*N*-((10*S*)-10-苄基-1-((6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-7-羟基-6*a*,8*a*-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,11*a*,12,12*a*,12*b*-十二氢-8*bH*-蔡并[2',1':4,5]茚并[1,2-*d*][1,3]二氧杂环戊-8*b*-基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧代-5,8,11,14-聚四乙二醇-16-基-3,6,9,12-四氧代十五烷-15-酰胺(化合物 **1i**)的制备

25 mL 单口瓶中置入化合物 **1h** (350 mg, 0.28 mmol, 1.0 eq)，加入无水二氯甲烷 (10 mL) 溶清。冰浴冷却，加入 DBU (64 mg, 0.42 mmol, 1.5 eq)，维持搅拌反应 1 小时。直接将反应液浓缩至干，得粗品，再经柱层析纯化得化合物 **1i** (289 mg, 89% yield)。

MS (ESI): m/z 1025.6 $[M+H]^+$ 。

步骤 9) *N*-((10*S*)-10-苄基-1-((6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-7-羟基-6*a*,8*a*-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,11*a*,12,12*a*,12*b*-十二氢-8*bH*-蔡并[2',1':4,5]茚并[1,2-*d*][1,3]二氧杂环戊-8*b*-基)-1,6,9,12,15-五氧-3-氧代-5,8,11,14-四聚乙二醇-16-基)-1-(2-溴乙酰氨基)-3,6,9,12-四氧代十五烷-15-酰胺(化合物 **1**)的制备

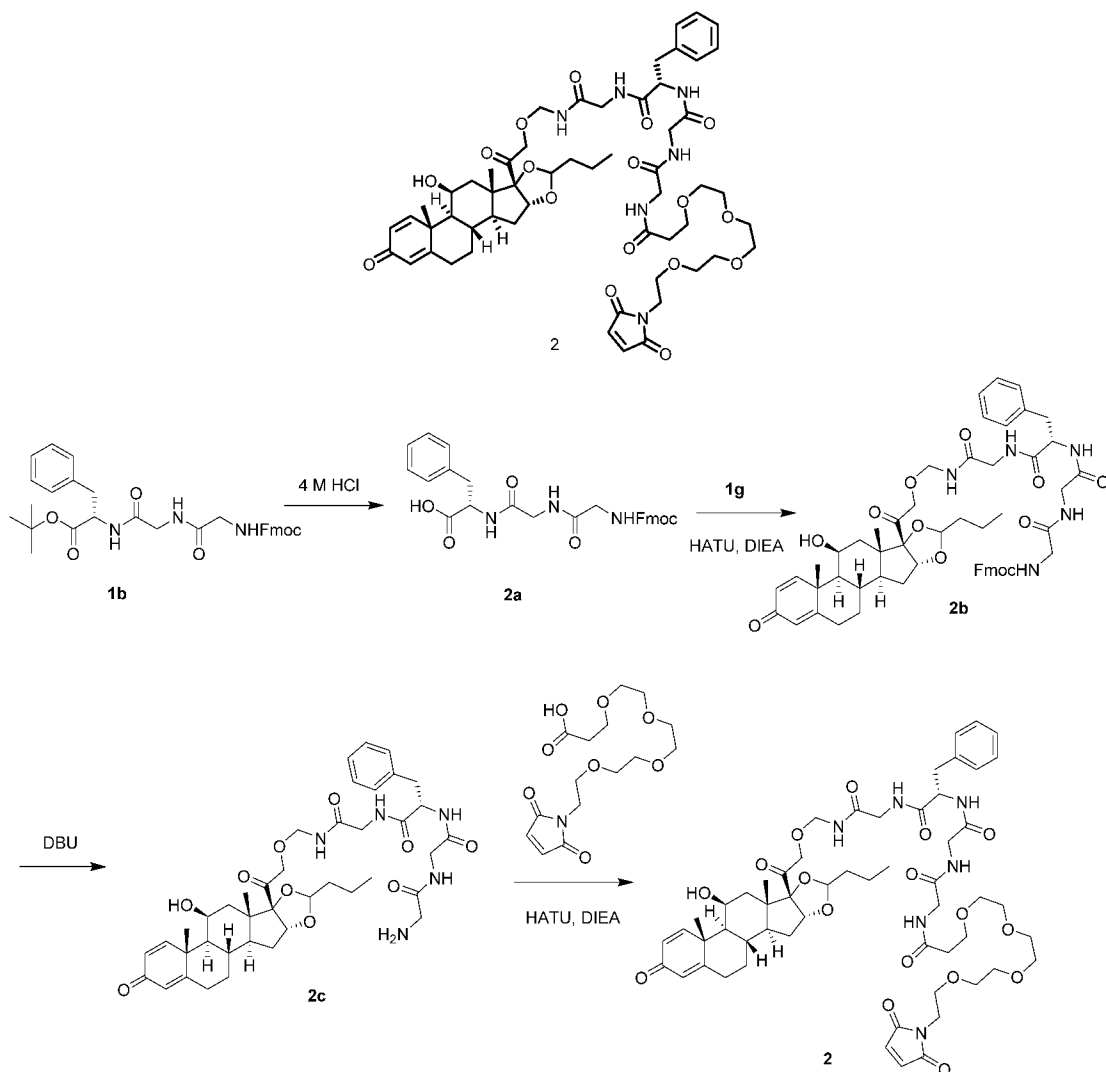
25 mL Schlenk-Tube 中置入溴乙酸固体 (35.2 mg, 0.127 mmol, 1.0 eq) 和 EEDQ (63 mg, 0.25 mmol, 2.0 eq)，加入无水 DMF (5 mL) 溶清。维持室温搅拌反应 1 小时。化合物 **1i** (130 mg, 0.127 mmol, 1.0 eq) 溶解在 DMF (2 mL) 中，将此溶液逐滴加入到上述制备的活性酯溶液中，加毕再维持室温反应 2 小时。向反应体系中加入水，乙酸乙酯萃取两次，合并有机相，饱和食盐水洗涤，干燥且减压浓缩得粗品，再经柱层析纯化得化合物 **1** (39 mg, 27% yield)。

MS (ESI): m/z 1145.5/1147.6 $[M+1]^+$ 。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.62-8.57 (m, 1H), 8.34-8.28 (m, 2H), 8.19-8.11 (m, 2H), 8.03-7.99 (m, 1H), 7.30-7.17 (m, 6H), 6.15 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.92 (s, 2H), 5.18-5.03 (m, 1H), 4.72-4.47 (m, 5H), 4.29-4.15 (m, 2H), 3.78-3.42 (m, 27H), 3.27-3.21 (m, 2H), 3.06-2.84 (m, 2H), 2.41-2.28 (m, 3H), 2.06-1.73 (m, 2H), 1.60-1.24 (m, 10H), 1.01-0.82 (m, 8H)。

实施例 2:

N-((10*S*)-10-苄基-1-((6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-7-羟基-6*a*,8*a*-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,11*a*,12,12*a*,12*b*-十二氢-8*bH*-萘并[2',1':4,5]茚并[1,2-*d*][1,3]二氧杂环戊-8*b*-基)-1,6,9,12,15-五氧-3-氧代-5,8,11,14-四聚乙二醇-16-基)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1*H*-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧代十五烷-15-酰胺

步骤 1) (((9*H*-苄-9-基)甲氧基)羰基)甘氨酸甘氨酸-L-苯丙氨酸 (化合物 2a) 的制备

100 mL 单口瓶中置入化合物 **1b** (1.50 g, 2.69 mmol, 1.0 eq), 加入 4M HCl 的 1,4-二氧六环溶液 (20 mL) 溶解。室温下维持搅拌 4 小时至原料 **1b** 反应完全。将反应液直接浓缩至干, 得化合物 **1a** (1.34 g, 100% yield)。

MS (ESI): m/z 502.3 $[M+1]^+$

步骤 2) (9*H*-苄-9-基)甲基-((10*S*)-10-苄基-1-((6*aR*,6*bS*,7*S*,8*aS*,8*bS*,11*aR*,12*aS*,12*bS*)-7-羟基-6*a*,8*a*-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6*a*,6*b*,7,8,8*a*,11*a*,12,12*a*,12*b*-十二氢-8*bH*-萘并[2',1':4,5]茚并[1,2-*d*][1,3]二氧杂环戊-8*b*-基)-1,6,9,12,15-五氧代-3-氧-5,8,11,14-四聚乙二醇-16-基)氨基甲酸酯 (化合物 2b) 的制备

将化合物 **2a** (0.97 g, 1.63 mmol, 1.0 eq) 和 **1g** (1.0 g, 1.95 mmol, 1.2 eq) 置于 100 mL 三口烧瓶中。加入 DMF (20 mL), 冰浴冷却。依次加入 HATU (927 mg, 2.44 mmol,

1.5 eq) 和 DIEA (420 mg, 3.26 mmol, 2.0 eq), 加完后, 维持冰浴反应 1-2 小时。将反应液浓缩, 经柱层析纯化得化合物 **2b** (860 mg, 53% yield)。

MS (ESI): m/z 1000.5 $[M+1]^+$

步骤 3(2S)-2-(2-(2-氨基乙酰氨基)-乙酰氨基-N-(2-(((2-(((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-7-羟基-6a,8a-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6a,6b,7,8,8a,11a,12,12a,12b-十二氢-8bH-萘并[2',1':4,5]茚并[1,2-d][1,3]二氧杂环戊-8b-基)-2-氧代乙氧基)甲基)氨基)-2-氧代乙基)-3-苯丙酰胺 (化合物 2c) 的制备

25 mL 单口瓶中置入化合物 **2b** (860 mg, 0.86 mmol, 1.0 eq), 加入无水 DMF 烷 (10 mL) 溶清。冰浴冷却, 加入 DBU (196 mg, 1.29 mmol, 1.5 eq), 维持搅拌反应 30 分钟。直接将反应液浓缩, 经柱层析纯化得化合物 **2c** (485 mg, 72% yield)。

MS (ESI): m/z 778.4 $[M+1]^+$

步骤 4) N-((10S)-10-苄基-1-((6aR,6bS,7S,8aS,8bS,11aR,12aS,12bS)-7-羟基-6a,8a-二甲基-4-氧代-10-丙基-1,2,4,6a,6b,7,8,8a,11a,12,12a,12b-十二氢-8bH-萘并[2',1':4,5]茚并[1,2-d][1,3]二氧杂环戊-8b-基)-1,6,9,12,15-五氧-3-氧代-5,8,11,14-四聚乙二醇-16-基)-1-(2,5-二氧代-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧代十五烷-15-酰胺 (化合物 2d) 的制备

100 mL 三口烧瓶中置入化合物 **2c** (480 mg, 0.62 mmol, 1.0 eq) 和 1-(2,5-二氧基-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)-3,6,9,12-四氧戊二酸-15-油酸 (213 mg, 0.62 mmol, 1.0 eq; 来源于通莱生化), 加入无水 DMF (10 mL) 溶清。冰浴冷却, 再依次加入 HATU (352 mg, 0.93 mmol, 1.5 eq) 和 DIEA (159 mg, 1.23 mmol, 2.0 eq), 维持搅拌反应 1 小时。直接将反应液浓缩, 经柱层析纯化得化合物 **2d** (360 mg, 53% yield)。

MS (ESI): m/z 1105.6 $[M+1]^+$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.61-8.56 (m, 1H), 8.32-8.26 (m, 1H), 8.22-8.13 (m, 2H), 8.03-7.96(m, 1H), 7.39-7.20(m, 6H), 7.02 (s, 2H), 6.17-6.13 (m, 1H), 5.92 (s, 2H), 5.16-4.99 (m, 1H), 4.76-4.40 (m, 6H), 4.29-4.16 (m, 2H), 3.64-3.19 (m, 26H), 3.09-3.02 (m, 1H), 2.86-2.79 (m, 1H), 2.41-2.26 (m, 3H), 2.12-1.90 (m, 2H), 1.78-1.25 (m, 10H), 1.03-0.83 (m, 8H)。

实施例 3: 25G7-Fab 蛋白制备流程

合成抗体的基因序列, 亚克隆至 pcDNA3.4 载体。连接产物转化 Top10 感受态细胞, 挑取阳性克隆扩大培养。克隆接种于培养基中扩大培养, 大量抽提含 25G7-Fab 抗体的脱氧核糖核酸序列的质粒。采用脂质体转染, 将表达质粒与转染试剂混合后, 加入 Expi 293 细胞中, 恒温培养箱培养 5 天后收获细胞培养物。将细胞培养物离心后取上清, 过滤除去细胞碎片, 收集澄清液。使用 kappa select 层析柱捕获目的蛋白。目的蛋白经过滤, 用 Nanodrop 测定 A280 吸光度值并除以消光系数的方法得到蛋白浓度, 乘以体积以确定最终产量, 凝胶电泳、体积排阻色谱法对蛋白进行 SDS-PAGE、SEC-HPLC 及内毒素检测, 得到最终产物是 25G7-Fab。

实施例 4: AZD1402-TAG 蛋白制备流程

AZD1402-TAG (蛋白序列来自于专利 WO2020200960A1 中 SEQ ID NO1, 为了便于蛋白

制备纯化, 该序列 C 端融合了 His tag, 最终命名为 AZD1402-TAG)。

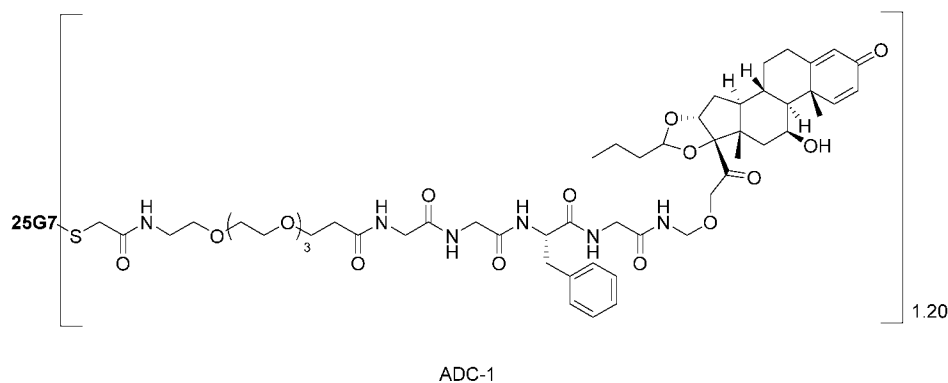
AZD1402-TAG

ASDEEIQDVSGTWYLKAMTVDSRCPRAYNSVTPMTLTTLEGGNLEAKFTAQRKGRW
QKYKLVLEKTDEPGKYTASGGRHVAYIIRSHVKDHYIFHSEGLCPGQPVPGVWLVGRDPKN
NLEALEDFEKAAGARGLSTESILIPRQSETSSPGSDHHHHHH

SEQ ID NO: 52

合成上述蛋白的编码基因序列, 亚克隆至 pcDNA3.4。将表达质粒与转染试剂混合后 37°C 孵育 15 分钟, 将混合液逐滴加入 HEK293 细胞液中, 细胞液 37°C 摇床培养一周后, 将细胞培养物离心后取上清。使用不含咪唑的缓冲液平衡镍亲和层析柱, 然后将蛋白样品流经镍亲和层析柱进行上样, 再次使用不含咪唑的缓冲液平衡后, 用含有高浓度咪唑的缓冲液洗脱柱结合蛋白。并将洗脱蛋白转移至透析袋于 1×PBS 中透析, 置换为 PBS 存储缓冲液。经检测, 获得目的蛋白。

实施例 5: 抗体药物偶联物 ADC-1 的制备

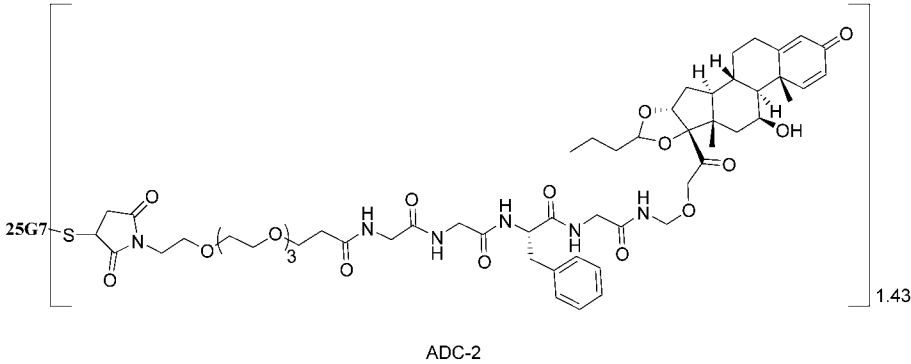


Buffer A 的配制: 在 2.0 L 的容器中, 加入 KH_2PO_4 (8.50 g)、 K_2HPO_4 (8.56 g)、NaCl (5.86 g) 和 EDTA (1.50 g), 加入 1.6 L 注射用水, 搅拌半小时, 完全溶解后再用注射用水定容至 2.0 L, 测定 pH 为 6.30 ± 0.1 。

于 37°C, 向抗体 25G7-Fab (重链序列如 SEQ ID NO: 50 所示, 轻链序列如 SEQ ID NO: 45 所示) 的 buffer A 缓冲水溶液 (pH=6.3 的 0.05 M 缓冲水溶液; 10.0 mg/ml, 0.5 mL, 0.125 mmol) 加入配制好的三(2-羧乙基)膦(TCEP)的水溶液(2.5 mM, 100.0 μL , 0.250 mmol), 置于水浴振荡器, 于 37°C 振荡反应 3 小时, 停止反应。将反应液用水浴降温至 25°C。

将 1.0 M Tris buffer(50 μL) 加入至上述反应液中, 再将化合物 1(1.43 mg, 1.250 mmol) 溶解于 25 μL DMSO 中, 加入到上述反应液中, 置于水浴振荡器, 于 25°C 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: buffer A), 并用超滤管浓缩得到标题产物 ADC-1 的 buffer A 缓冲液(6.06mg/mL, 0.60mL), 于 4°C 冷冻储存。

实施例 6: 抗体药物偶联物 ADC-2 的制备



于 37℃，向抗体 25G7-Fab 的 buffer A 缓冲水溶液 (pH=6.3 的 0.05 M 缓冲水溶液；10.0 mg/ml, 6.0 mL, 1.50 mmol)加入配制好的三(2-羧乙基)膦(TCEP)的水溶液(10.0 mM, 1.50 mL, 15.0 mmol)，置于水浴振荡器，于 37℃振荡反应 3 小时，停止反应。将反应液用水浴降温至 25℃。

将化合物 **2** (12.2 mg, 12.0 mmol)溶解于 300 ul DMSO 中，加入到上述反应液中，置于水浴振荡器，于 25℃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:buffer A)，并用超滤管浓缩得到标题产物 ADC-2 的 buffer A 缓冲液(3.65mg/mL, 12.8mL)，于 4℃冷冻储存。

生物学评价

以下结合测试例进一步描述解释本公开中，但这些实施例并非意味着限制本公开中的范围。

测试例 1：抗体药物偶联物 ADC-2 与人源 IL-4Rα 蛋白的亲和力检测

1、受试蛋白

抗体药物偶联物 ADC-2, 25G7-Fab, AZD1402-TAG

2、实验方法

采用表面等离子共振技术(surface plasmon resonance, SPR)检测抗体药物偶联物 ADC-2、25G7-Fab 及 AZD1402-TAG 与人源 IL-4Rα 抗原蛋白的亲和力。Biacore 8K (Cytiva) 中放入 SA 传感器芯片(Cytiva), Biotin 标记的人源 IL-4Rα 蛋白(SinoBiological, CAT# 10402-H08H-B)捕获于 SA 传感器芯片上，流动相采用 HBS-EP+缓冲溶液 (10mM HEPES, 150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05% surfactant P20)。各受试蛋白用 HBS-EP+缓冲溶液进行 2 倍梯度稀释后作为分析物进样，设置流速为 30 μL/min，ADC-2、25G7-Fab 和 AZD1402-TAG 的检测时间为结合 100 秒，解离 600 秒。采用 Biacore 8K evaluation software 软件 (Cytiva) 进行分析，获得各受试蛋白的亲和力数据。

3、实验结果

表 1 受试蛋白与人源 IL-4Rα 蛋白结合的亲和力 KD 值

捕获蛋白	受试蛋白	Kon (1/Ms)	Koff (1/s)	KD (pM)
hIL-4Rα	ADC-2	8.78E+06	9.62E-05	11.0
	25G7-Fab	4.69E+06	2.06E-04	43.9
	AZD1402-TAG	4.77E+06	1.02E-04	21.3

结果如表 1 所示，ADC-2 结合人源 IL-4Rα 抗原蛋白的 KD 值为 11.0 pM，略优于 AZD1402-TAG 和 25G7-Fab。

测试例 2：抗体药物偶联物 ADC-2 与人源 IL-4Rα 表达细胞的全细胞结合活性

1、受试蛋白

抗体药物偶联物 ADC-2，25G7-Fab，hu25G7（重链序列如 SEQ ID NO：44 所示，轻链序列如 SEQ ID NO：45 所示），AZD1402-TAG。

2、实验方法

TF-1 及 Karpas 299 细胞株经鉴定可表达 IL-4Rα。将处于对数生长期的 TF-1 和 Karpas299 细胞收集后，计数并调整细胞密度，以 1×10⁵ 细胞/孔接入圆底 96 孔板。将细胞与不同浓度的抗 IL-4R 抗体(25G7、裸抗 25G7-Fab)、抗体药物偶联物 ADC-2 及 AZD1402-TAG 在 4℃ 条件下孵育 45 分钟，用 FACS Buffer（含 2% FBS 的 PBS）洗去抗体后，加入荧光标记二抗进行染色，25G7-Fab、hu25G7 及 ADC-2 采用 FITC 偶联的抗人 IgG（Fab 特异性）二抗（Sigma，CAT#F5512-1ML），AZD1402-TAG 采用 FITC 偶联的抗 His 抗体（GenScript，CAT#A01620）。将细胞与二抗在 4℃ 条件下孵育 30 分钟，随后用 FACS Buffer 洗涤两次，流式细胞仪进行检测(BD,FACS Celesta)，检测结果采用 FlowJo（FlowJo, LLC）软件进行分析。

3、实验结果

表 2 受试蛋白与人源 IL-4Rα 表达细胞的全细胞结合活性 EC₅₀ 值

受试蛋白	ADC-2	25G7-Fab	hu25G7	AZD1402-TAG
检测二抗	Anti-hFab-FITC			Anti-His-FITC
EC ₅₀ (nM, TF-1)	0.107	0.243	0.247	0.0124

结果如图 1 及表 2 所示，ADC-2 结合 TF-1 细胞的 EC₅₀ 值为 0.107 nM，与裸抗 25G7-Fab 和 hu25G7 相当。AZD1402-TAG 与 TF-1 细胞的结合作用强，但因检测抗体不同，数据与 ADC-2、25G7-Fab 等不具有可比性。

测试例 3：抗体药物偶联物 ADC-2 对 IL-4/IL-13 信号通路的阻断作用

1、受试蛋白

抗体药物偶联物 ADC-2，25G7-Fab。

2、实验方法

STAT6 的活化是 IL-4/IL-13 信号通路激活的关键步骤。本实施例中，ADC-2 对 IL-4/IL-13 信号通路的阻断作用通过 HEK-Blue™ IL-4/IL-13 报告基因细胞株进行评估。该细胞购自 Invivogen（Cat#hkb-il413），其中过表达了人源 STAT6 基因及由磷酸化 STAT6 诱导表达的分泌型碱性磷酸酶报告基因（Secreted alkaline phos-phatase, SEAP），可通过

SEAP 底物 QUANTI-Blue 检测细胞培养上清中分泌的 SEAP 的含量以评估 IL-4/IL-13 信号通路的活化水平。

将处于对数生长期的 HEK-Blue™ IL-4/IL-13 细胞收集后调整密度为 5×10^5 细胞/ml，每孔 100 μL 加入 96 孔平底培养板中，于 37℃，5% CO_2 条件下培养 24 小时，而后每孔加入 20 μL 梯度稀释的受试蛋白和 20 μL 重组人 IL-4 或 IL-13，将细胞培养板放在 37℃，5% CO_2 培养箱中继续孵育 20~24 小时。培养结束后，取出细胞培养板，每孔吸取 20 μL 细胞培养上清转移至另一块 96 孔板，加入 37℃ 预热的 QUANTI-Blue 显色液 180 μL /孔，在 37℃ 孵育 1 小时后，检测 620 nm 波长下的光吸收值。

3、实验结果

表 3 受试蛋白对 IL-4/IL-13 信号通路阻断作用的 IC₅₀ 值

受试蛋白	ADC-2	25G7-Fab
阻断 IL-4 信号通路的 IC ₅₀ 值 (nM)	0.68	0.61
阻断 IL-13 信号通路的 IC ₅₀ 值 (nM)	10.60	14.59

结果如图 2 及表 3 所示，各受试蛋白对重组人 IL-4 和 IL-13 诱导的 STAT6 的活化均有阻断作用，ADC-2 阻断 IL-4 信号通路的 IC₅₀ 值为 0.68 nM，与 25G7-Fab 的 IC₅₀ 值 0.61 nM 接近；ADC-2 阻断 IL-13 信号通路的 IC₅₀ 值为 10.60 nM，与 25G7-Fab 的 IC₅₀ 值 14.59 nM 相当。

测试例 4：抗体药物偶联物 ADC-2 在 TF-1 细胞中的内吞活性

1、受试蛋白

抗体药物偶联物 ADC-2，25G7-Fab，hu25G7，AZD1402-TAG。

2、实验方法

将生长状态良好的 TF-1 细胞收集后调整密度为 1×10^6 细胞/mL，100 μL /孔加入 96 孔细胞培养板中并置于 4℃，加入终浓度为 2 nM 的各受试蛋白，于 4℃ 孵育 1 小时后放入细胞培养箱于 4℃ 分钟，5% CO_2 条件下继续培养，每个时间点单点设置一块培养板，期间按不同孵育时间取出培养板，FACS buffer 清洗并离心，随后加入荧光标记二抗进行孵育。25G7-Fab、hu25G7 及 ADC-2 采用 FITC 偶联的抗人 IgG（Fab 特异性）二抗进行标记，AZD1402-TAG 采用 FITC 偶联的抗 His 抗体进行标记。将细胞与二抗在 4℃ 条件下孵育 30 分钟，随后用 FACS Buffer 洗涤两次，流式细胞仪进行检测（BD，FACS Celesta），检测结果采用 FlowJo（FlowJo, LLC）软件进行分析。特定时间点的内吞率计算公式为：

$$(\text{gMFI}_{\text{Test Ab at time X}} - \text{gMFI}_{\text{ISO Ab at time X}})/(\text{gMFI}_{\text{Test Ab at time zero}} - \text{gMFI}_{\text{ISO Ab at time zero}})*100\%$$

3、实验结果

实验结果如图 3 所示，各受试蛋白均可检测到其在 TF-1 细胞中的内吞信号。ADC-2 和 hu25G7 的内吞作用活性相当，3 小时内吞率在 70%左右；25G7-Fab 的内吞作用更快，

内吞率也更高。相比于 AZD1402-TAG，ADC-2、25G7-Fab 和 hu25G7 的内吞速率和内吞率均显著优于 AZD1402-TAG 约在 2 小时左右达到平台，ADC-2 的内吞活性比 25G7-Fab 稍弱。

测试例 5：抗体药物偶联物 ADC-2 在小鼠模型上的药代动力学测试

1、受试蛋白

抗体药物偶联物 ADC-2

2、实验方法

2.1 实验动物

C57BL6/J 小鼠，8 周龄，雄性，赛业（苏州）生物科技有限公司

2.2 小鼠给药操作

小鼠接受气管内雾化给药（intratracheal, i.t.），于给药后的不同时间点进行下颌采血 300-400 μ L，静置 2 小时后，7500 rpm，4 $^{\circ}$ C 离心 10 min，采集血清。采血后将小鼠进行麻醉并固定，将小鼠颈部肌肉进行钝性分离，暴露出气管，将气管横向开口，缓慢插入灌洗针，将预先抽装好的 4 $^{\circ}$ C 预冷生理盐水缓慢推入肺组织进行灌洗，并收集肺泡灌洗液（BALF）。一共灌洗 3 次，前两次分别用 300 μ L 生理盐水灌洗，第 3 次用 400 μ L 灌洗。收集好的肺泡灌洗液 1000 rpm，4 $^{\circ}$ C 离心 10 min，采集上清液。安乐死小鼠后，剖开小鼠胸腔，分离并收集完整小鼠肺组织，用 PBS 冲洗掉肺组织表面的血渍，纸巾蘸干表面 PBS 后，对肺组织称重。将肺组织置于 2 mL 离心管中，加入 1 mL 细胞裂解液（CST，#9803），匀浆器（Shanghai Jing Xin, Tissuelyser-48）60 Hz 研磨 2 min 后，10,000 $\times$ g，4 $^{\circ}$ C 离心 10 min，上清液即为肺组织匀浆液，检测匀浆液蛋白浓度（Pierce, 23227）。血清、BALF 和肺组织匀浆液置于 -80 $^{\circ}$ C 保存。给药方案见表 4，采样方案见表 5。

表 4 给药方案

组别	动物数 (只)	受试蛋白	剂量 (μ g)	给药途径	给药频率
ADC-2 组	15	ADC-2	100	i.t.	1 次

表 5 采样方案

给药后时间						
5 min	1 h	6 h	24 h	48 h	Pre-dose	30 min
动物编号						
1、2、3	4、5、6	7、8、9	10、11、12	13、14、15	10、11、12	13、14、15
该时间点先采集血清，处死动物后再采集 BALF 与肺组织					该时间点仅采集血清	

2.3 ADC-2 含量检测

(1) 包被：用碳酸盐缓冲液稀释抗原 hIL-4R α 至 1 μ g/mL，（Acro，ILR-H5221），向

ELISA 板中每孔加入 100 μ L，4 $^{\circ}$ C 过夜孵育（16-18h）。

(2) 洗板：ELISA 板恢复至室温，每孔加入 300 μ L 0.05% PBST(PBS+0.05% Tween20) 缓冲液洗板，共洗板 3 次。

(3) 封闭：每孔加入 300 μ L 含 3% BSA 的 PBS，400 rpm 室温摇板孵育 2 h。

(4) 洗板：每孔加入 300 μ L 0.05% PBST，洗板 3 次。

(5) 样品孵育：将 100 μ L 稀释后的血清、BALF 或肺组织匀浆液加入 ELISA 板中，400 rpm 室温摇板孵育 1.5 h。

(6) 洗板：每孔加入 300 μ L 0.05% PBST，洗板 3 次。

(7) 检测：用 Assay buffer（含 0.5% BSA 的 0.05% PBST）将检测抗体（Invitrogen，A18811）稀释 10000 倍后加入 ELISA 板中，每孔 100 μ L，400 rpm 室温摇板孵育 1 h。

(8) 洗板：每孔加入 300 μ L 0.05% PBST，洗板 3 次。

(9) 显色：每孔加入 100 μ L TMB 底物（Sera care，5120-0080），室温孵育 15 min。

(10) 终止：每孔加入 100 μ L 底物反应终止液（Solarbio，C1058），检测 620 nm 波长下的光吸收值。

2.4 游离 Budesonide 含量检测

取 30 μ L 血清、BALF 或肺组织匀浆液，加入 30.0 μ L 内标工作溶液（5.00 ng/mL 布地奈德-D8）和 120 μ L 乙腈，涡流 1 min，13,000 rpm，4 $^{\circ}$ C 离心 5 min，取上清 100 μ L 至 96 孔板中，加入 100 μ L 0.3% FA 稀释液，1,000 rpm 室温摇板孵育 15 min，取 20 μ L 进行 LC-MS/MS 分析（日本岛津，岛津液相色谱系统；AB Sciex，Triple Quad 6500⁺型三重四极杆串联质谱仪）。

3、实验结果

抗体药物偶联物 ADC-2 和游离 Budesonide 的药代动力学参数如表 6 所示，药时曲线如图 4 所示。

表 6 ADC-2 和游离 Budesonide 的 PK 参数

药代参数	ADC-2			游离 Budesonide		
	血清	BALF	肺组织	血清	BALF	肺组织
药物峰值浓度 (C_{max} , ng/mL)	2427	31377	7293	0.7	1.1	1.88
药物峰值时间 (T_{max} , h)	1.0	1.0	1.0	1.0	0.083	6.0
药时曲线面积 (AUC_{last} , ng/mL · h)	28526	451418	133942	3.43	0.046	53.72
半衰期 ($T_{1/2}$, h)	9.4	13.8	10.7	/	/	/
清除率 (CL, g/h)	3.41	0.20	0.72	/	/	/
表观分布容积 (V_z , g)	46.46	4.06	11.17	/	/	/

实验结果表明，抗体药物偶联物 ADC-2 气管内给药后，药物主要分布于血清和 BALF，

血清暴露量低。各组织中 Budesonide 的暴露量均很低。

测试例 6：ADC-2 在 OVA 诱导的小鼠哮喘模型上的体内药效

1、受试物

抗体药物偶联物 ADC-2，25G7-Fab，AZD1402-TAG，Budesonide。

2、实验方法

2.1 实验动物

IL-4 hu/hu-IL-4R α hu/hu 双转基因 C57BL6/J 小鼠，8 周龄，雌性，赛业（苏州）生物科技有限公司

2.2 小鼠给药操作

将动物随机分为正常对照动物和造模动物。于 Day 0, 7 和 14 分别腹腔注射 100 μL 含 200 μg OVA (Sigma, A5503) 的 PBS 溶液，并使用等体积的氢氧化铝作为佐剂对小鼠进行致敏。于 Day 21-27，小鼠每天吸入一次 3% OVA 的雾化溶液，每次持续 35 min。于 Day 21 开始，吸入 OVA 雾化溶液前半小时，小鼠接受气管内雾化给药。具体给药方案见表 7。

在 Day 28，小鼠安乐死后，将小鼠颈部肌肉进行钝性分离，暴露出气管，将气管横向开口，缓慢插入灌洗针，将预先抽装好的 4 °C 预冷生理盐水缓慢推入肺组织进行灌洗，并收集肺泡灌洗液。一共灌洗 3 次，前两次分别用 300 μL 生理盐水灌洗，第 3 次用 400 μL 灌洗。1,000 rpm，4 °C 离心 10 min，细胞沉淀用 350 μL 预冷生理盐水重悬后，用全自动血液分析仪进行白细胞与分型细胞计数。

表 7 给药方案

组别	动物数 (只)	受试蛋白	给药剂量 (μg)	给药途径	给药频率
正常对照组	6	PBS	/	i.t.	QD
造模组	6	PBS	/	i.t.	QD
ADC-2 组	8	ADC-2	100	i.t.	QD
AZD1402-TAG 组	8	AZD1402-TAG	30	i.t.	QD
25G7-Fab 组	8	25G7-Fab	100	i.t.	QD
Budesonide 组	6	Budesonide	1	i.t.	QD

2.3 实验指标

BALF 内白细胞与分型细胞的数量。

2.4 统计学分析

除非特别说明，两组别细胞计数之间的比较采用 one-way ANOVA 检验，p< 0.05 定义为有统计学显著性差异。

3、实验结果

实验结果如图 5 所示。相比于造模组，在等摩尔剂量下，抗体药物偶联物 ADC-2 显著降低了 BALF 内白细胞、嗜酸性粒细胞和嗜中性粒细胞的数量，对单核细胞的数量也有一定的抑制，药效优于 AZD1402-TAG，并明显优于 25G7-Fab 和 Budesonide。ADC-2 在药效上体现出了 25G7-Fab 和 Budesonide 的协同效应。

测试例 7：ADC-2 在 OVA 诱导的小鼠哮喘模型上体内药效的剂量探索

1、受试物

抗体药物偶联物 ADC-2，AZD1402-TAG，Budesonide。

2、实验方法

2.1 实验动物

IL-4 hu/hu-IL-4R α hu/hu 双转基因 C57BL6/J 小鼠，8 周龄，雌性，赛业（苏州）生物科技有限公司

2.2 小鼠给药操作

给药和 BALF 采样操作同测试例 6。具体给药方案见表 8。

组别	动物数 (只)	受试蛋白	给药剂量 (μg)	给药途径	给药频率
正常对照组	8	PBS	/	i.t.	QD
造模组	8	PBS	/	i.t.	QD
ADC-2 低剂量组	8	ADC-2	10	i.t.	QD
ADC-2 中剂量组	8	ADC-2	30	i.t.	QD
ADC-2 高剂量组	8	ADC-2	100	i.t.	QD
AZD1402-TAG 组	8	AZD1402-TAG	30	i.t.	QD
Budesonide 组	6	Budesonide	1 mpk	i.t.	QD

2.3 实验指标

BALF 内白细胞与分型细胞的数量。

2.4 统计学分析

除非特别说明，两组别细胞计数之间的比较采用 one-way ANOVA 检验， $p < 0.05$ 定义为有统计学显著性差异。

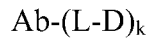
3、实验结果

实验结果如图 6 所示。相比于造模组，10 μg ADC-2 就能将肺泡灌洗液内嗜酸性粒细胞的数量显著降低，与 AZD1402-TAG 相当，并略优于远高于临床等效使用剂量的布地奈德。此外，10 μg ADC-2 对白细胞数量的抑制能力也非常显著，对单核细胞和中性粒细胞的数量也有一定程度的抑制。这些结果表明，1/10 摩尔剂量的 ADC-2 就能实现与

AZD1402-TAG 相当的药效。

权利要求书:

1、式 (I) 所示的抗体-药物偶联物,



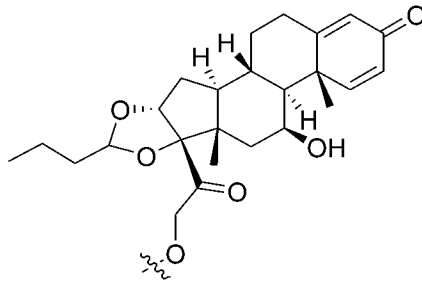
(I)

其中, Ab 为抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段,

L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子, 且 k 为 1 至 20,

D 为糖皮质激素或其残基, 所述糖皮质激素选自布地奈德或环索奈德。

2、根据权利要求 1 所述的抗体-药物偶联物, 其中 D 为:



3、根据权利要求 1 或 2 所述的抗体-药物偶联物, 其中所述抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含选自以下 (I) 至 (IV) 中的任一项:

(I) 重链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和

轻链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3;

(II) 重链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12 和 SEQ ID NO: 13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和

轻链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 15 和 SEQ ID NO: 16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3;

(III) 重链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和

轻链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7 和 SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3;

(IV) 重链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 4 和 SEQ ID NO: 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和

轻链可变区, 其包含分别如 SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 39 和 SEQ ID NO: 8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

4、根据权利要求 1-3 任一项所述的抗体-药物偶联物, 所述的抗 IL-4R 的抗体选自以下的任一项: 鼠源抗体、嵌合抗体、全人抗体和人源化抗体;

优选地, 所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含来源于人种系轻链 IGKV3-11*01

的 FR 或与其至少有 95% 同一性的 FR；所述 FR 优选包含回复突变，所述回复突变选自 46P、47W 和 71Y 中的一个或多个；和/或

包含来源于人种系重链 IGHV3-48*01 的 FR 或与其至少有 95% 同一性的 FR；所述 FR 优选包含回复突变，所述回复突变选自 49A、67S 和 93T 中的一个或多个；

或者优选地，所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含来源于人种系轻链 IGKV2D-29*01 的 FR 或与其至少有 95% 同一性的 FR；所述 FR 优选包含回复突变，所述回复突变选自 4L 和/或 58I；和/或

包含来源于人种系重链 IGHV1-2*02 的 FR 或与其至少有 95% 同一性的 FR；所述 FR 优选包含回复突变，所述回复突变选自 69L、71I、73K 和 94K 中的一个或多个。

5、根据权利要求 1-4 任一项所述的抗体-药物偶联物，其中：所述的抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含选自以下 (i) 至 (vi) 中的任一项：

(i) 重链可变区，其包含如 SEQ ID NO：43 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：43 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；和

轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO：37 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：37 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；

(ii) 重链可变区，其包含如 SEQ ID NO：9 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：9 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；和

轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：10 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；

(iii) 重链可变区，其包含如 SEQ ID NO：1 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：1 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；和

轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：2 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；

(iv) 重链可变区，其包含如 SEQ ID NO：43 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：43 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；和

轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO：41 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO：41 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的氨基酸序列；

(v) 重链可变区，其包含如 SEQ ID NO：25-27 之一所示的序列或与 SEQ ID NO：25-27 之一具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；和

轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO：28-30 之一所示的序列或与 SEQ ID NO：28-30 之一具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；

(vi) 重链可变区，其包含如 SEQ ID NO：31-33 之一所示的序列或与 SEQ ID NO：31-33 之一具有至少 90%、95%、98%、或 99% 同一性的序列；和

轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO：34-36 之一所示的序列或与 SEQ ID NO：34-36 之一具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；

优选地，所述抗 IL-4R 的抗体或抗原结合片段包含选自以下 (vii) 至 (xii) 中的任一项：

(vii) 序列如 SEQ ID NO: 43 所示的重链可变区, 序列如 SEQ ID NO: 37 所示的轻链可变区;

(viii) 序列如 SEQ ID NO: 9 所示的重链可变区, 序列如 SEQ ID NO: 10 所示的轻链可变区;

(ix) 序列如 SEQ ID NO: 1 所示的重链可变区, 序列如 SEQ ID NO: 2 所示的轻链可变区;

(x) 序列如 SEQ ID NO: 43 所示的重链可变区, 序列如 SEQ ID NO: 41 所示的轻链可变区;

(xi) 序列如 SEQ ID NO: 25-27 之一所示的重链可变区, 序列如 SEQ ID NO: 28-30 之一所示的轻链可变区;

(xii) 序列如 SEQ ID NO: 31-33 之一所示的重链可变区, 序列如 SEQ ID NO: 34-36 之一所示的轻链可变区。

6、 根据权利要求 1-5 任一项所述的抗体-药物偶联物, 其中: 所述抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段包含重链恒定区, 所述重链恒定区为人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的重链恒定区或其变体; 和/或

所述抗原结合片段为 Fab、Fv、scFv、Fab' 或 F(ab')₂。

7、 根据权利要求 1-6 任一项所述的抗体-药物偶联物, 其中: 所述抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段包含选自 (a) - (d) 中的任一项:

(a) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 44 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 44 具有至少 90%、95%、98%、或 99% 同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 45 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 45 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列;

(b) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 19 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 19 具有至少 90%、95%、98%、或 99% 同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 20 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列;

(c) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 17 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 18 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列;

(d) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 44 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 44 具有至少 90%、95%、98%、或 99% 同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 46 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 46 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列;

更优选地, 所述抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段包含选自 (e) - (i) 中的任一项:

(e) 序列如 SEQ ID NO: 44 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 45 所示的轻链;

- (f)序列如 SEQ ID NO: 47 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 45 所示的轻链;
- (g)序列如 SEQ ID NO: 17 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 18 所示的轻链;
- (h)序列如 SEQ ID NO: 19 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链;
- (i)序列如 SEQ ID NO: 44 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 46 所示的轻链。

8、 根据权利要求 1-6 任一项所述的抗体-药物偶联物, 其中: 所述抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段包含选自 (a) - (f) 中的任一项:

(a) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 48 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 48 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 18 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列;

(b) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 49 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 49 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 18 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列;

(c) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 50 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 50 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 45 示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 45 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列;

(d) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 50 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 50 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 46 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 46 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列;

(e) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 51 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 51 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 45 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 45 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列;

(f) 重链, 其包含如 SEQ ID NO: 51 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 51 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的氨基酸序列; 和

轻链, 其包含如 SEQ ID NO: 46 所示的氨基酸序列或与 SEQ ID NO: 46 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的氨基酸序列;

更优选地, 所述抗 IL-4R 抗体或其抗原结合片段包含选自 (h) - (m) 中的任一项:

(h)序列如 SEQ ID NO: 48 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 18 所示的轻链;

(i)序列如 SEQ ID NO: 49 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 18 所示的轻链;

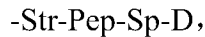
(j)序列如 SEQ ID NO: 50 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 45 所示的轻链;

(k)序列如 SEQ ID NO: 50 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 46 所示的轻链;

(l)序列如 SEQ ID NO: 51 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 45 所示的轻链;

(m)序列如 SEQ ID NO: 51 所示的重链, 序列如 SEQ ID NO: 46 所示的轻链。

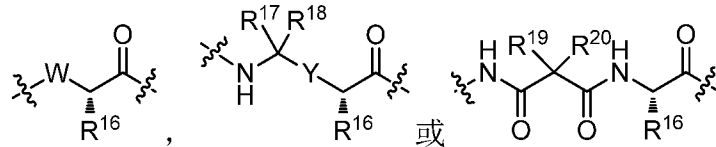
9、根据权利要求 1-8 任一项所述的抗体-药物偶联物, 其中 L-D 是由下式表示的化学部分:



其中, Str 是与 Ab 共价连接的伸展基单元,

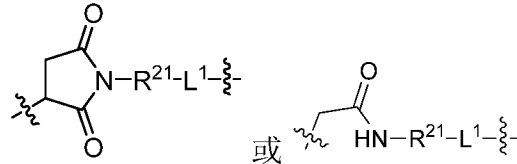
Sp 为间隔单元,

Pep 选自氨基酸单元、二硫化物部分、磺酰胺部分或以下非肽化学部分:



其中, W 是-NH-亚杂环烷基-或杂环烷基; Y 是亚杂芳基、亚芳基、-C(O)C₁₋₆ 亚烷基、C₂₋₆ 亚烯基、C₁₋₆ 亚烷基或-C₁₋₆ 亚烷基-NH-; 每个 R¹⁶ 独立选自 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、-(C₁₋₆ 亚烷基)NHC(NH)NH₂ 或-(C₁₋₆ 亚烷基)NHC(O)NH₂; R¹⁷ 和 R¹⁸ 各自独立选自氢、C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、芳基、杂芳基, 或 R¹⁷ 和 R¹⁸ 一起可形成 C₃₋₆ 环烷基; R¹⁹ 和 R²⁰ 各自独立选自 C₁₋₆ 烷基、C₂₋₆ 烯基、芳基、杂芳基、(C₁₋₆ 烷基)OCH₂-, 或 R¹⁹ 和 R²⁰ 一起可形成 C₃₋₆ 环烷基环。

10、根据权利要求 9 所述的抗体-药物偶联物, 其中 Str 选自下式表示的化学部分:

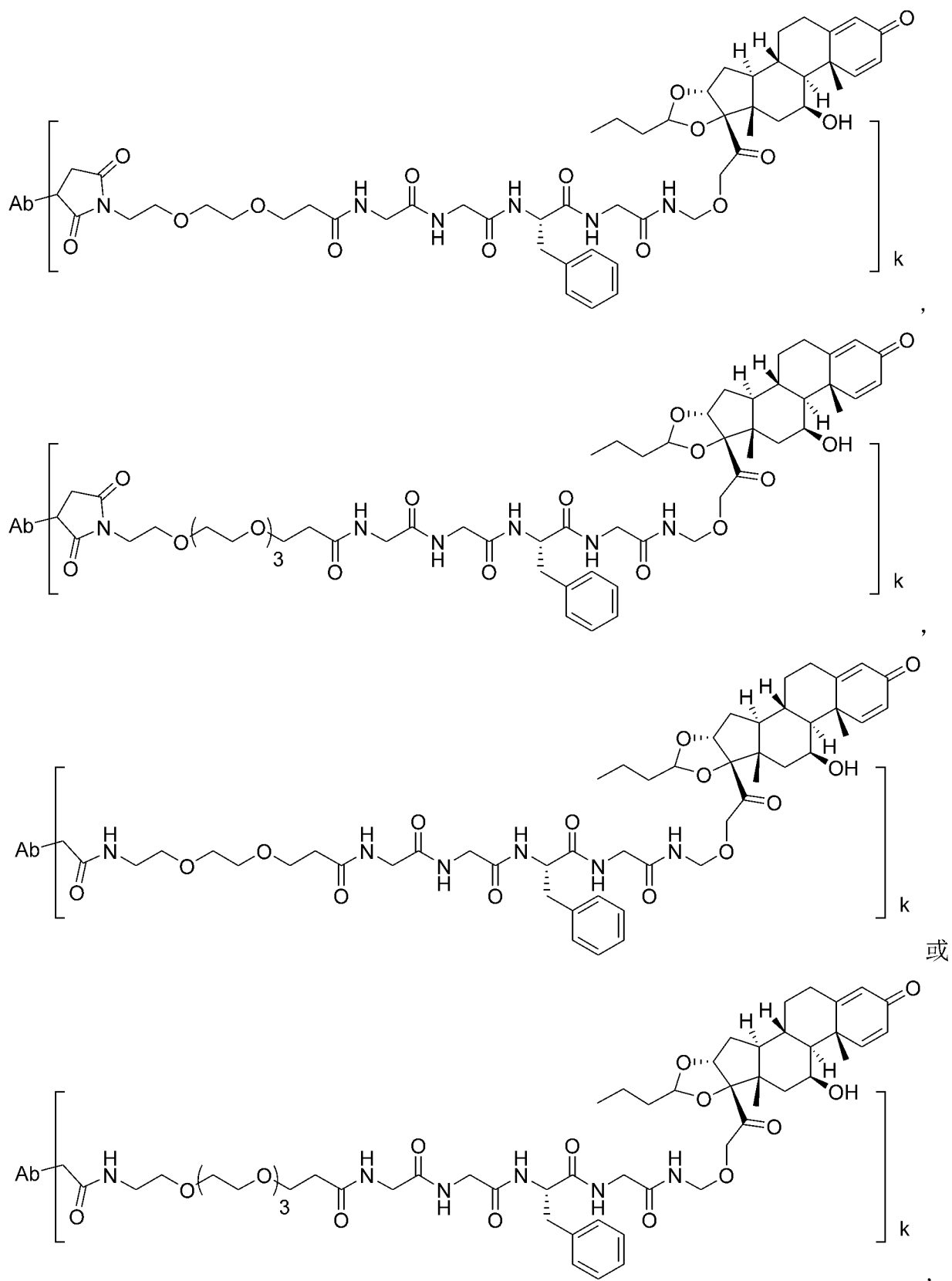


其中 R²¹ 选自 -W₁-C(O)-、-C(O)-W₁-C(O)-、-(CH₂CH₂O)_{p1}C(O)-、-(CH₂CH₂O)_{p1}CH₂C(O)-、-(CH₂CH₂O)_{p1}CH₂CH₂C(O)-, 其中 W₁ 选自 C₁₋₆ 亚烷基、C₁₋₆ 亚烷基-环烷基或 1 至 8 个原子的直链杂烷基, 所述杂烷基包含 1 至 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子, 其中所述烷基、环烷基和直链杂烷基各自独立地任选被一个或多个选自卤素、氘、羟基、氰基、氨基、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基、氘代 C₁₋₆ 烷基、C₁₋₆ 烷氧基和 C₃₋₆ 环烷基所取代, p₁ 各自独立地为 1 至 20 的整数;

L¹ 选自 -NR²²-(CH₂CH₂O)_{p2}CH₂CH₂C(O)-、-NR²²-(CH₂CH₂O)_{p2}CH₂C(O)-、-S-(CH₂)_{p2}C(O)-、-(CH₂)_{p2}C(O)-或单键, 优选单键; p₂ 各自独立地为 1 至 20 的整数, R²² 选自氢原子、C₁₋₆ 烷基、卤代 C₁₋₆ 烷基或氘代 C₁₋₆ 烷基。

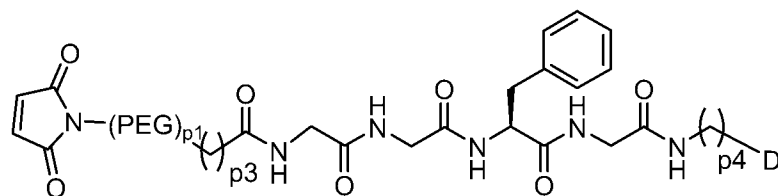
11、根据权利要求 10 所述的抗体-药物偶联物, 其中 R²¹ 选自 -C₁₋₆ 亚烷基 C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₂C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₂CH₂C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₂CH₂CH₂C(O)-、-(CH₂-CH₂O)₃C(O)-和-(CH₂-CH₂O)₄C(O)-。

12、根据权利要求 10 或 11 所述的抗体-药物偶联物, 其中所述的 Pep 选自缬氨酸-瓜氨酸、丙氨酸-丙氨酸-天冬酰胺、甘氨酸-甘氨酸-赖氨酸、缬氨酸-赖氨酸(Val-lys)、缬氨酸-丙氨酸、缬氨酸-苯丙氨酸或甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸。



其中 k 选自 1 至 10。

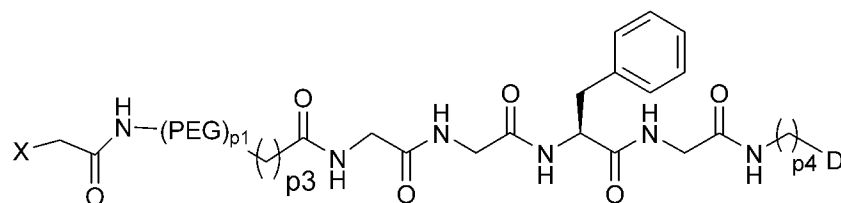
17、一种式 II-A 所示化合物或其可药用盐,



II-A

其中, p_1 选自 2、4、6 或 8, p_3 、 p_4 各自独立地选自 0、1 或 2, D 为布地奈德或环索奈德。

18、一种式 II-B 所示化合物或其可药用盐,

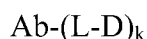


II-B

其中 X 为卤素, 优选溴, p_1 选自 2、4、6 或 8, p_3 、 p_4 各自独立地选自 0、1 或 2, D 为布地奈德或环索奈德。

19、一种药物组合物, 包含如权利要求 1-16 任一项所述的抗体-药物偶联物以及药学上可接受的赋形剂。

20、一种可吸入的药物组合物, 包括式 (I) 所示的抗体-药物偶联物以及药学上可接受的载体,



(I)

其中, Ab 为抗 IL-4R 的抗体或其抗原结合片段, 优选抗 IL-4R 的 Fab 片段,

L 为将 Ab 共价连接于 D 的连接子, 且 k 为 1 至 20,

D 为糖皮质激素或其残基。

21、权利要求 1-16 任一项所述的抗体-药物偶联物或权利要求 19 或 20 所述的药物组合物在制备用于治疗或预防免疫性疾病或病症的药物中的用途, 所述疾病或病症优选: 哮喘、鼻息肉、慢性鼻窦炎、过敏性皮肤病、嗜酸细胞性食管炎、慢性阻塞性肺病、过敏性鼻炎、关节炎、炎症性疾病、变应性反应、自体免疫淋巴组织增生性综合征、自体免疫性溶血性贫血、巴雷特食管、自体免疫葡萄膜炎、结核病和肾病, 更优选哮喘或过敏性皮肤病。

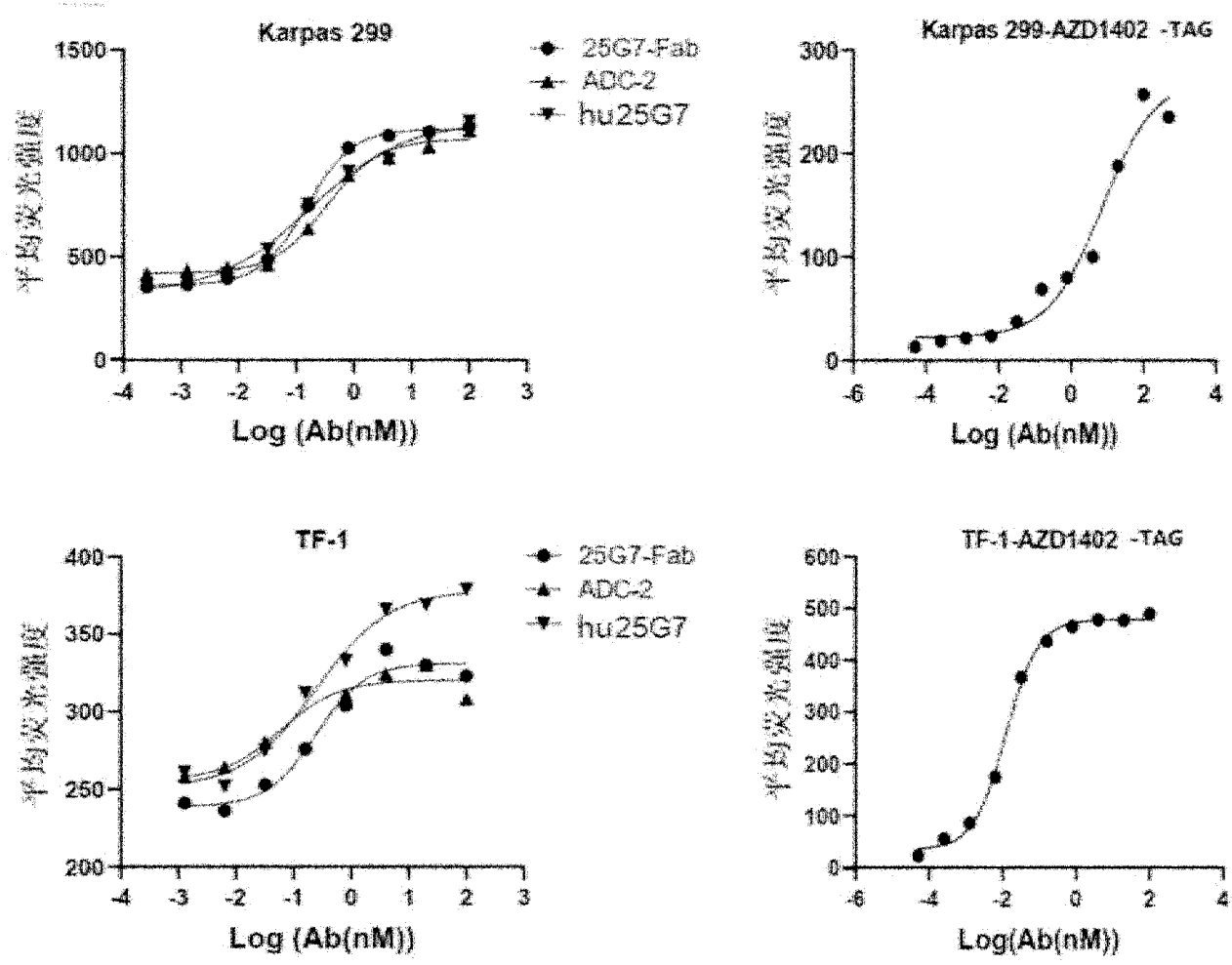


图 1

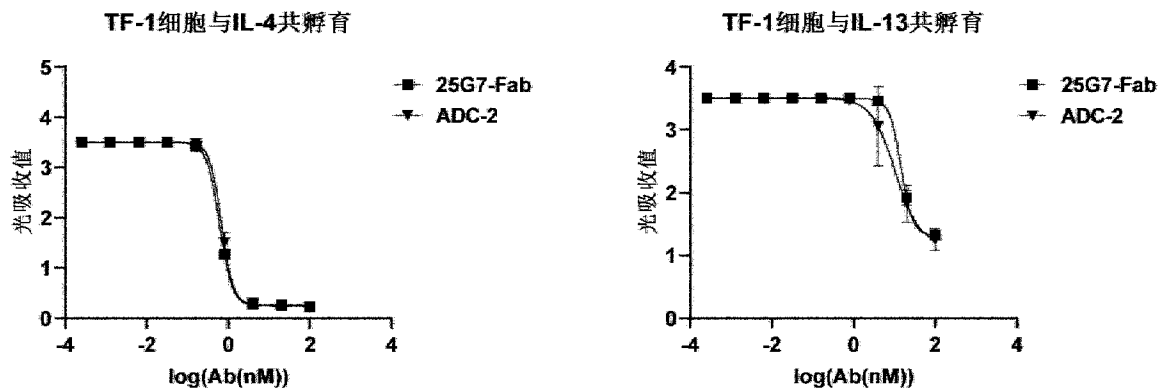


图 2

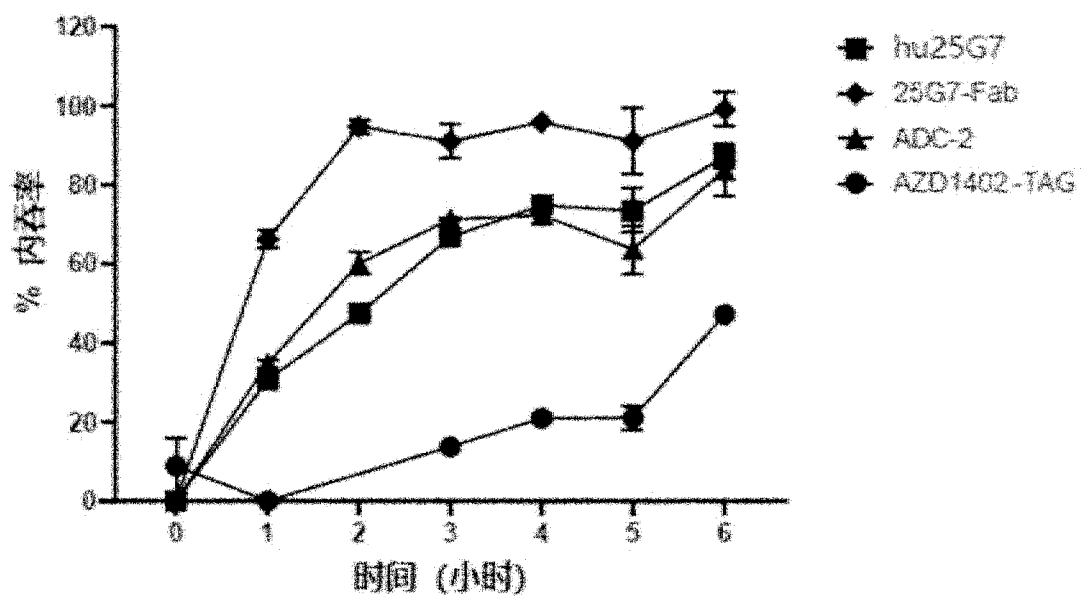


图 3

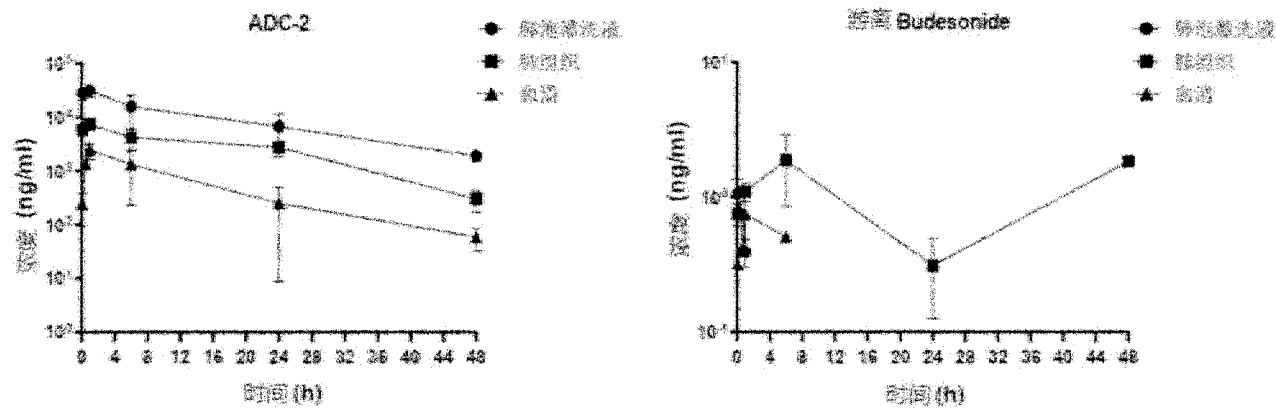


图 4

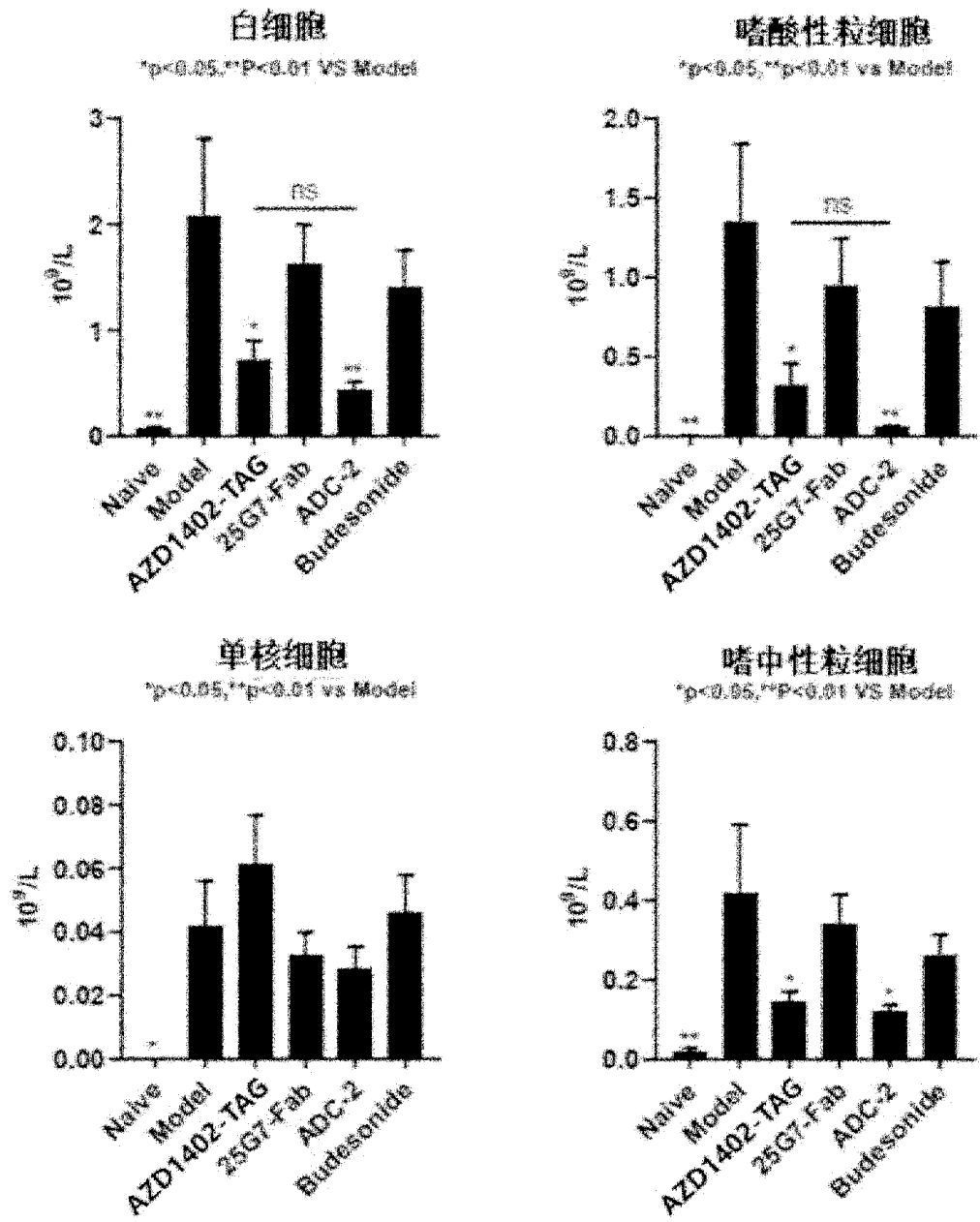


图 5

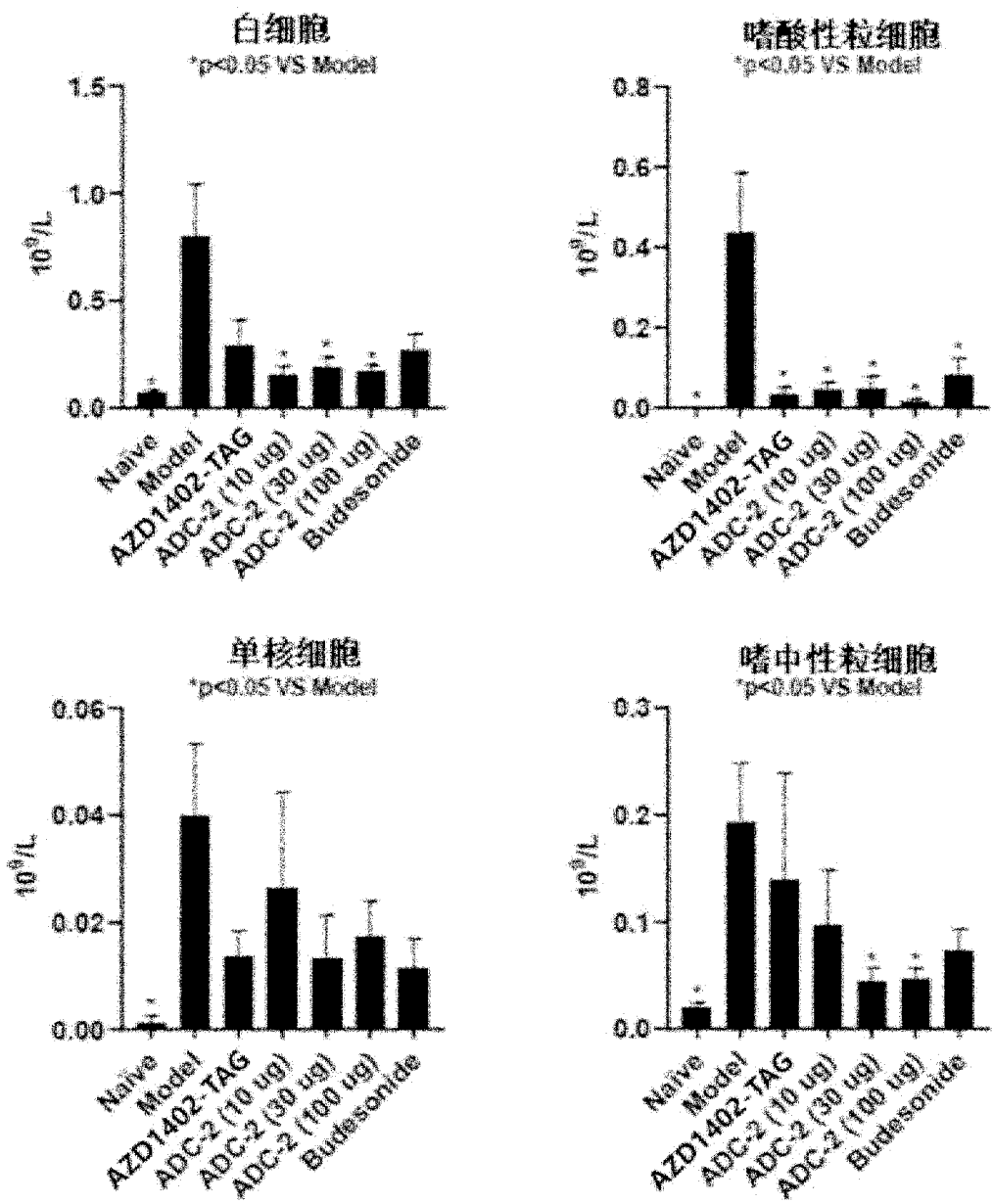


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073057

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/68 (2017.01)i; A61K31/58 (2006.01)i; C07K16/22(2006.01)i;A61P37/00(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 C07K 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)

DWPI; CNABS; WPABS; WPABSC; ENTXTC; CNTXT; CJFD; CNKI; VEN; PubMed; STN: 抗IL-4R, 白介素, PRLR, 抗体, 偶联, 缀合, 布地奈德, 环索奈德, 糖皮质激素, 序列检索, 结构检索, II-A结构, II-B结构, 哮喘, 过敏性皮肤病, ADC, Antibody, Drug, Conjugation, Asthma, Allergic dermatose?, Budesonide, Ciclesonide, Glucocorticoids

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	TW 202245796 A (SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO., LTD.; SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD.; JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 01 December 2022 (2022-12-01) claims 1, 17, and 21-23, and example 7	1, 19-21
PA	TW 202245796 A (SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO., LTD.; SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD.; JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 01 December 2022 (2022-12-01) claims 1, 17, and 21-23, and example 7	2-18
X	CN 113905767 A (REGENERON PHARMACEUTICALS INC.) 07 January 2022 (2022-01-07) claims 72 and 114, description, page 13, the second-to-last structure and page 16, the third structure, and description, paragraphs [0175], [0185], [0316], [0318], and [0325]	1, 2, 9, 19-21
Y	CN 113905767 A (REGENERON PHARMACEUTICALS INC.) 07 January 2022 (2022-01-07) claims 72 and 114, description, page 13, the second-to-last structure and page 16, the third structure, and description, paragraphs [0175], [0185], [0316], [0318], and [0325]	10-18,



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

18 April 2023

Date of mailing of the international search report

07 May 2023

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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073057

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 109476699 A (ABBVIE INC.) 15 March 2019 (2019-03-15) claims 1 and 14-21	1-21
Y	WO 2021148003 A1 (SHANGHAI SENHUI MEDICINE CO., LTD.; SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD.; SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.; JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.) 29 July 2021 (2021-07-29) claims 1 and 12-24	10-18
A	US 2015056221 A1 (REGENERON PHARMA) 26 February 2015 (2015-02-26) embodiment 9	1-21
A	US 2019167804 A1 (ABBVIE INC.) 06 June 2019 (2019-06-06) claims 1-11	1-21
A	US 2020164085 A1 (MERCK SHARP & DOHME; AMBRX INC.) 28 May 2020 (2020-05-28) claims 1-3 and 17-21	1-21
A	WO 2020038454 A1 (JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.; SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 27 February 2020 (2020-02-27) claims 1-9, 14, and 16-17	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073057

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073057

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
TW	202245796	A	01 December 2022	WO	2022166779	A1	11 August 2022
CN	113905767	A	07 January 2022	SG	11202107212	QA	29 July 2021
				CA	3125998	A1	16 July 2020
				KR	20210114008	A	17 September 2021
				EP	3908323	A2	17 November 2021
				IL	284673	A	31 August 2021
				JP	2022517767	A	10 March 2022
				WO	2020146541	A2	16 July 2020
				WO	2020146541	A3	13 August 2020
				AU	2020205662	A1	22 July 2021
				MA	53772	A1	31 October 2022
				CL	2021001790	A1	01 July 2022
				CO	2021010315	A2	19 August 2021
CN	109476699	A	15 March 2019	JP	2021088582	A	10 June 2021
				DK	3464318	T3	28 June 2021
				RU	2018145728	A	10 July 2020
				RU	2018145728	A3	04 August 2020
				RU	2745748	C2	31 March 2021
				CR	20180594	A	29 July 2019
				PE	20190622	A1	26 April 2019
				KR	20190014542	A	12 February 2019
				KR	102435599	B1	29 August 2022
				US	2018126000	A1	10 May 2018
				MY	194619	A	07 December 2022
				PH	12018502539	A1	30 September 2019
				MX	2018014927	A	09 April 2019
				US	2022354959	A1	10 November 2022
				AU	2021269433	A1	16 December 2021
				PL	3464318	T3	08 November 2021
				TW	201801749	A	16 January 2018
				TWI	728118	B	21 May 2021
				EP	3901162	A1	27 October 2021
				SG	10202001787	QA	29 April 2020
				WO	2017210471	A1	07 December 2017
				ECSP	18094857	A	31 January 2019
				BR	112018074922	A2	12 March 2019
				BR	112018074922	B1	25 October 2022
				KR	20220119529	A	29 August 2022
				MX	2020012562	A	09 February 2021
				DOP	2018000261	A	31 December 2018
				IL	263214	A	31 December 2018
				ZA	201808623	B	28 August 2019
				CL	2018003406	A1	15 February 2019
				SG	11201810678	WA	28 December 2018
				UY	37269	A	02 January 2018
				LT	3464318	T	25 June 2021
				JP	2019524645	A	05 September 2019
				JP	6843891	B2	17 March 2021
				PT	3464318	T	02 July 2021
				HUE	054804	T2	28 September 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073057

Patent document cited in search report				Publication date (day/month/year)		Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
				CO	2018012996	A2	18 January 2019		
				SI	3464318	T1	30 July 2021		
				HRP	20210924	T1	03 September 2021		
				MA	51586	A	10 April 2019		
				ES	2877548	T3	17 November 2021		
				EP	3464318	A1	10 April 2019		
				EP	3464318	B1	21 April 2021		
				AU	2017274442	A1	13 December 2018		
				AU	2017274442	B2	19 August 2021		
				US	2020338208	A1	29 October 2020		
				RS	62040	B1	30 July 2021		
				US	2019262465	A1	29 August 2019		
				US	10668167	B2	02 June 2020		
				CA	3025377	A1	07 December 2017		
				WO	2021148003	A1	29 July 2021	AU	2021210079
BR	112022014398	A2	13 September 2022						
EP	4094779	A1	30 November 2022						
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	2015056221	A1	26 February 2015					UY	35712
				NZ	716612	A	29 July 2022		
				EA	201600190	A1	31 August 2016		
				AU	2014308920	A1	03 March 2016		
				AU	2014308920	B2	06 February 2020		
				EP	3036257	A1	29 June 2016		
				EP	3036257	B1	16 October 2019		
				US	2016251442	A1	01 September 2016		
				US	9688764	B2	27 June 2017		
				CL	2016000376	A1	19 May 2017		
				TW	201542592	A	16 November 2015		
				TWI	641620	B	21 November 2018		
				IL	243974	A0	21 April 2016		
				IL	243974	B	28 June 2018		
				PH	12016500349	B1	16 May 2016		
				JP	2020023511	A	13 February 2020		
				KR	20160036630	A	04 April 2016		
				KR	102343315	B1	27 December 2021		
				US	2018094066	A1	05 April 2018		
				US	10106616	B2	23 October 2018		
				SG	11201601211	TA	30 March 2016		
				HK	1220206	A1	28 April 2017		
				BR	112016003441	A2	05 December 2017		
				US	9302015	B2	05 April 2016		
				WO	2015026907	A1	26 February 2015		
				CA	2920369	A1	26 February 2015		
				CA	2920369	C	14 March 2023		
				JP	2016532703	A	20 October 2016		
				JP	6621412	B2	18 December 2019		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073057

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	2019167804	A1	06 June 2019	MX	2016002150	A	28 June 2016
				MX	370787	B	06 January 2020
				MY	179851	A	18 November 2020
				US	2019241667	A1	08 August 2019
				US	10683354	B2	16 June 2020
US	2019167804	A1	06 June 2019	LT	3658192	T	12 July 2021
				CA	3082356	A1	06 June 2019
				CL	2020001452	A1	11 September 2020
				PT	3658192	T	25 June 2021
				ZA	202003325	B	28 July 2021
				UY	37991	A	28 June 2019
				JP	2021054845	A	08 April 2021
				SI	3658192	T1	31 August 2021
				CL	2021001075	A1	15 October 2021
				RS	61994	B1	30 July 2021
				MA	49796	A	03 June 2020
				KR	20200095477	A	10 August 2020
				PE	20201286	A1	24 November 2020
				JP	6813712	B2	13 January 2021
				JP	2021501124	A	14 January 2021
				AU	2018374634	A1	28 May 2020
				US	2021015938	A1	21 January 2021
				HRP	20210917	T1	03 September 2021
				DK	3658192	T3	21 June 2021
				PL	3658192	T3	18 October 2021
				IL	274651	A	30 June 2020
				IL	274651	B	29 April 2021
				ECSP	20029001	A	30 June 2020
				DOP	2020000116	A	31 August 2020
				CO	2020006446	A2	09 June 2020
				EP	3658192	A1	03 June 2020
				EP	3658192	B1	28 April 2021
				MX	2020005583	A	25 November 2020
				ES	2877659	T3	17 November 2021
				TW	201924723	A	01 July 2019
				WO	2019106609	A1	06 June 2019
				BR	112020010694	A2	10 November 2020
				US	10772970	B2	15 September 2020
				CR	20200239	A	21 September 2020
				EP	3884962	A1	29 September 2021
				RU	2020117698	A3	04 January 2022
				HUE	054428	T2	28 September 2021
				SG	11202004867	WA	29 June 2020
US	2020164085	A1	28 May 2020	US	11510993	B2	29 November 2022
				US	2023099074	A1	30 March 2023
				EP	3359194	A2	15 August 2018
				EP	3359194	A4	24 April 2019
				WO	2017062271	A2	13 April 2017
WO	2020038454	A1	27 February 2020	WO	2017062271	A3	01 June 2017
				BR	112021002989	A2	11 May 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073057

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		KR 20210049792 A	06 May 2021
		AU 2019324403 A1	28 January 2021
		CA 3105527 A1	27 February 2020
		MX 2021001143 A	12 April 2021
		EP 3808774 A1	21 April 2021
		EP 3808774 A4	18 August 2021
		JP 2021533792 A	09 December 2021
		TW 202023612 A	01 July 2020
		US 2021238294 A1	05 August 2021

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/073057

A. 主题的分类

A61K47/68 (2017.01)i; A61K31/58 (2006.01)i; C07K16/22(2006.01)i;A61P37/00(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 C07K 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))

DWPI; CNABS; WPABS; WPABSC; ENTXTC; CNTXT; CJFD; CNKI; VEN; PubMed; STN; 抗IL-4R, 白介素, PRLR, 抗体, 偶联, 缀合, 布地奈德, 环索奈德, 糖皮质激素, 序列检索, 结构检索, II-A结构, II-B结构, 哮喘, 过敏性皮肤病, ADC, Antibody, Drug, Conjugation, Asthma, Allergic dermatose?, Budesonide, Ciclesonide, Glucocorticoids

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
PX	TW 202245796 A (上海森辉医药有限公司; 上海盛迪医药有限公司; 江苏恒瑞医药股份有限公司) 2022年12月1日 (2022 - 12 - 01) 权利要求1、17、21-23, 实例7	1, 19-21
PA	TW 202245796 A (上海森辉医药有限公司; 上海盛迪医药有限公司; 江苏恒瑞医药股份有限公司) 2022年12月1日 (2022 - 12 - 01) 权利要求1、17、21-23, 实例7	2-18
X	CN 113905767 A (里珍纳龙药品有限公司) 2022年1月7日 (2022 - 01 - 07) 权利要求72、114, 说明书第13页倒数第二个结构, 第16页第三个结构, 说明书第[0175]、[0185]、[0316]、[0318]、[0325]段	1, 2, 9, 19-21
Y	CN 113905767 A (里珍纳龙药品有限公司) 2022年1月7日 (2022 - 01 - 07) 权利要求72、114, 说明书第13页倒数第二个结构, 第16页第三个结构, 说明书第[0175]、[0185]、[0316]、[0318]、[0325]段	10-18
A	CN 109476699 A (艾伯维公司) 2019年3月15日 (2019 - 03 - 15) 权利要求1、14-21	1-21

☒ 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

2023年4月18日

国际检索报告邮寄日期

2023年5月7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

孙镜沂

电话号码 (+86) 010-62089169

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	W0 2021148003 A1 (上海森辉医药有限公司；上海盛迪医药有限公司；上海恒瑞医药有限公司；江苏恒瑞医药股份有限公司) 2021年7月29日 (2021 - 07 - 29) 权利要求1、12-24	10-18
A	US 2015056221 A1 (REGENERON PHARMA) 2015年2月26日 (2015 - 02 - 26) 实施例9	1-21
A	US 2019167804 A1 (ABBVIE INC) 2019年6月6日 (2019 - 06 - 06) 权利要求1-11	1-21
A	US 2020164085 A1 (MERCK SHARP & DOHME; AMBRX INC) 2020年5月28日 (2020 - 05 - 28) 权利要求1-3、17-21	1-21
A	W0 2020038454 A1 (江苏恒瑞医药股份有限公司；上海恒瑞医药有限公司) 2020年2月27日 (2020 - 02 - 27) 权利要求1-9、14、16-17	1-21

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列表进行的:

- a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:
- b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三. 1(a)),
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST. 26标准的序列表的情况下, 考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见:

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073057

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)
TW	202245796	A	2022年12月1日	WO	2022166779	A1	2022年8月11日
CN	113905767	A	2022年1月7日	SG	11202107212	QA	2021年7月29日
				CA	3125998	A1	2020年7月16日
				KR	20210114008	A	2021年9月17日
				EP	3908323	A2	2021年11月17日
				IL	284673	A	2021年8月31日
				JP	2022517767	A	2022年3月10日
				WO	2020146541	A2	2020年7月16日
				WO	2020146541	A3	2020年8月13日
				AU	2020205662	A1	2021年7月22日
				MA	53772	A1	2022年10月31日
				CL	2021001790	A1	2022年7月1日
				CO	2021010315	A2	2021年8月19日
CN	109476699	A	2019年3月15日	JP	2021088582	A	2021年6月10日
				DK	3464318	T3	2021年6月28日
				RU	2018145728	A	2020年7月10日
				RU	2018145728	A3	2020年8月4日
				RU	2745748	C2	2021年3月31日
				CR	20180594	A	2019年7月29日
				PE	20190622	A1	2019年4月26日
				KR	20190014542	A	2019年2月12日
				KR	102435599	B1	2022年8月29日
				US	2018126000	A1	2018年5月10日
				MY	194619	A	2022年12月7日
				PH	12018502539	A1	2019年9月30日
				MX	2018014927	A	2019年4月9日
				US	2022354959	A1	2022年11月10日
				AU	2021269433	A1	2021年12月16日
				PL	3464318	T3	2021年11月8日
				TW	201801749	A	2018年1月16日
				TWI	728118	B	2021年5月21日
				EP	3901162	A1	2021年10月27日
				SG	10202001787	QA	2020年4月29日
				WO	2017210471	A1	2017年12月7日
				ECSP	18094857	A	2019年1月31日
				BR	112018074922	A2	2019年3月12日
				BR	112018074922	B1	2022年10月25日
				KR	20220119529	A	2022年8月29日
				MX	2020012562	A	2021年2月9日
				DOP	2018000261	A	2018年12月31日
				IL	263214	A	2018年12月31日
				ZA	201808623	B	2019年8月28日
				CL	2018003406	A1	2019年2月15日
				SG	11201810678	WA	2018年12月28日
				UY	37269	A	2018年1月2日
				LT	3464318	T	2021年6月25日
				JP	2019524645	A	2019年9月5日
				JP	6843891	B2	2021年3月17日
				PT	3464318	T	2021年7月2日
				HUE	054804	T2	2021年9月28日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073057

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)	
				CO	2018012996	A2	2019年1月18日		
				SI	3464318	T1	2021年7月30日		
				HRP	20210924	T1	2021年9月3日		
				MA	51586	A	2019年4月10日		
				ES	2877548	T3	2021年11月17日		
				EP	3464318	A1	2019年4月10日		
				EP	3464318	B1	2021年4月21日		
				AU	2017274442	A1	2018年12月13日		
				AU	2017274442	B2	2021年8月19日		
				US	2020338208	A1	2020年10月29日		
				RS	62040	B1	2021年7月30日		
				US	2019262465	A1	2019年8月29日		
				US	10668167	B2	2020年6月2日		
				CA	3025377	A1	2017年12月7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		
				EP	4094779	A1	2022年11月30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	2015056221	A1	2015年2月26日	UY	35712	A	2015年3月27日		
				NZ	716612	A	2022年7月29日		
				EA	201600190	A1	2016年8月31日		
				AU	2014308920	A1	2016年3月3日		
				AU	2014308920	B2	2020年2月6日		
				EP	3036257	A1	2016年6月29日		
				EP	3036257	B1	2019年10月16日		
				US	2016251442	A1	2016年9月1日		
				US	9688764	B2	2017年6月27日		
				CL	2016000376	A1	2017年5月19日		
				TW	201542592	A	2015年11月16日		
				TWI	641620	B	2018年11月21日		
				IL	243974	A0	2016年4月21日		
				IL	243974	B	2018年6月28日		
				PH	12016500349	B1	2016年5月16日		
				JP	2020023511	A	2020年2月13日		
				KR	20160036630	A	2016年4月4日		
				KR	102343315	B1	2021年12月27日		
				US	2018094066	A1	2018年4月5日		
				US	10106616	B2	2018年10月23日		
				SG	11201601211	TA	2016年3月30日		
				HK	1220206	A1	2017年4月28日		
				BR	112016003441	A2	2017年12月5日		
				US	9302015	B2	2016年4月5日		
				WO	2015026907	A1	2015年2月26日		
				CA	2920369	A1	2015年2月26日		
				CA	2920369	C	2023年3月14日		
				JP	2016532703	A	2016年10月20日		
				JP	6621412	B2	2019年12月18日		

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073057

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)
				MX	2016002150	A	2016年6月28日
				MX	370787	B	2020年1月6日
				MY	179851	A	2020年11月18日
				US	2019241667	A1	2019年8月8日
				US	10683354	B2	2020年6月16日
US	2019167804	A1	2019年6月6日	LT	3658192	T	2021年7月12日
				CA	3082356	A1	2019年6月6日
				CL	2020001452	A1	2020年9月11日
				PT	3658192	T	2021年6月25日
				ZA	202003325	B	2021年7月28日
				UY	37991	A	2019年6月28日
				JP	2021054845	A	2021年4月8日
				SI	3658192	T1	2021年8月31日
				CL	2021001075	A1	2021年10月15日
				RS	61994	B1	2021年7月30日
				MA	49796	A	2020年6月3日
				KR	20200095477	A	2020年8月10日
				PE	20201286	A1	2020年11月24日
				JP	6813712	B2	2021年1月13日
				JP	2021501124	A	2021年1月14日
				AU	2018374634	A1	2020年5月28日
				US	2021015938	A1	2021年1月21日
				HRP	20210917	T1	2021年9月3日
				DK	3658192	T3	2021年6月21日
				PL	3658192	T3	2021年10月18日
				IL	274651	A	2020年6月30日
				IL	274651	B	2021年4月29日
				ECSP	20029001	A	2020年6月30日
				DOP	2020000116	A	2020年8月31日
				CO	2020006446	A2	2020年6月9日
				EP	3658192	A1	2020年6月3日
				EP	3658192	B1	2021年4月28日
				MX	2020005583	A	2020年11月25日
				ES	2877659	T3	2021年11月17日
				TW	201924723	A	2019年7月1日
				WO	2019106609	A1	2019年6月6日
				BR	112020010694	A2	2020年11月10日
				US	10772970	B2	2020年9月15日
				CR	20200239	A	2020年9月21日
				EP	3884962	A1	2021年9月29日
				RU	2020117698	A3	2022年1月4日
				HUE	054428	T2	2021年9月28日
				SG	11202004867	WA	2020年6月29日
US	2020164085	A1	2020年5月28日	US	11510993	B2	2022年11月29日
				US	2023099074	A1	2023年3月30日
				EP	3359194	A2	2018年8月15日
				EP	3359194	A4	2019年4月24日
				WO	2017062271	A2	2017年4月13日
				WO	2017062271	A3	2017年6月1日
WO	2020038454	A1	2020年2月27日	BR	112021002989	A2	2021年5月11日

国际申请号
PCT/CN2023/073057

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)
		KR 20210049792 A	2021年5月6日
		AU 2019324403 A1	2021年1月28日
		CA 3105527 A1	2020年2月27日
		MX 2021001143 A	2021年4月12日
		EP 3808774 A1	2021年4月21日
		EP 3808774 A4	2021年8月18日
		JP 2021533792 A	2021年12月9日
		TW 202023612 A	2020年7月1日
		US 2021238294 A1	2021年8月5日