ADC 的制剂处方设计和优化

赵文鹏
（沈阳药科大学，辽宁沈阳 110016）

摘要：抗体偶联药物（antibody-drug conjugate，ADC）结合了单克隆抗体的靶向性和小分子物质的强大杀伤力，成为当前生物制药领域的研究焦点。虽然全球已有多种 ADC 上市，但在配方和稳定性方面仍存在挑战。该文从 ADC 的抗体、连接子和小分子物质选择的角度，概述了 ADC 配方开发和临床应用中的关键和难点，并提出了 ADC 使用期间的稳定性研究方案，旨在为未来 ADC 的开发提供参考。

关键词：抗体偶联药物；单克隆抗体；小分子物质；处方开发；稳定性
中图分类号：R943　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2024)02-0176-11
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2024.02.002

Formulation Design and Optimization of ADC

ZHAO Wenpeng
(*Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016*)

ABSTRACT: Antibody-drug conjugates (ADC) combine the targeting ability of monoclonal antibodies and the potent cytotoxicity of small molecule substances, becoming a research focus in the current biopharmaceutical field. Although various ADCs have been marketed globally, challenges still exist in formulation and stability. This review outlines the key points and difficulties in ADC formulation development and clinical application from the perspectives of antibody, linker, and small molecule substance selection for ADC, and proposes a stability study plan during ADC use, aiming to provide references for the future ADC development.

Key Words: antibody-drug conjugate; monoclonal antibody; small molecule substance; formulation development; stability

恶性肿瘤已成为全球性的健康威胁，基于细胞毒性药物的化疗一直是治疗多种恶性肿瘤的主要方法。然而，大多数化疗药物的治疗指数较低，且非特异性药物暴露于脱靶组织会伴有严重的不良反应。与化疗相比，单克隆抗体对肿瘤细胞的致死率较低、疗效不够。因此，研究者提出了抗体药物偶联物（antibody-drug conjugate，ADC）的概念[1]。

2000 年，全球首款 ADC 药物吉妥单抗（gemtuzumab ozogamicin，Mylotarg®）在美国获批上市，标志着恶性肿瘤靶向治疗 ADC 时代的开始。目前，已获批上市的 ADC 药物主要被应用于造血系统恶性肿瘤和实体肿瘤的治疗。本综述通过梳理全球已上市 ADC 药物的处方和剂型，对 ADC 药物的处方设计和临床使用展开讨论。

1　ADC 制剂的基本信息

制剂的处方设计需考虑药物的组成。ADC 一般由 3 个部分组成，包括具有较强靶向能力的抗体或其他载体、小分子药物以及连接子。

抗体部分主要通过识别肿瘤细胞上异常表达的抗原，赋予 ADC 制剂靶向性，以避免脱靶导致的不良反应。ADC 制剂宜采用具有抗体依赖性的细胞介导细胞毒性作用（antibody dependent cell-mediated

收稿日期：2023-09-04
作者简介：赵文鹏(2003—)，男，2021级本科生。
E-mail：1192556601@qq.com

cytotoxicity，ADCC）和补体依赖性的细胞毒作用（complement dependent cytotoxicity，CDC）的抗体，可辅助小分子药物杀伤靶细胞。目前，80％已上市和临床阶段的 ADC 抗体都采用免疫球蛋白 G1（immunoglobulin G1，IgG1），因其稳定性和结合活性良好[2]。为进一步提高 ADC 药物的肿瘤靶向性或提高药物在实体肿瘤中的渗透性，抗体部分从单克隆抗体（mAb）发展到双特异性抗体（BsAb，以下简称“双抗”）、抗原结合片段（Fab），不断升级优化。较有代表性的双抗 ADC 是 zanidatamab zovodotin（加拿大 Zymeworks 公司），具有人表皮生长因子受体 -2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）的胞外结构域（extracellular domains，ECD）和 ECD4 抗原表位，目前已在Ⅰ期临床试验中取得一定效果[3]。REGN5093-M114（美国再生元公司）是偶联美登素衍生物（M24）和非对称型双抗［靶向表皮生长因子受体（EGFR）和间质上皮转化因子（MET）］的 ADC，药效高于未偶联双抗[4]。

抗体和小分子药物的连接方式可分为定点偶联与非定点偶联。据此，ADC 的连接子可分为 2 类（图 1）：可裂解型和不可裂解型[2]。不可裂解型连接子的稳定性更优[5—7]，有利于制剂处方的开发，且可有效延长货架期。可裂解型连接子根据机制可分为 pH 不稳定型、溶酶体蛋白酶不稳定型、β- 葡糖苷酸连接子和谷胱甘肽 - 二硫键连接子等[8—9]。值得注意的是，对 pH 或蛋白酶敏感的连接子，设计处方时应注意避开类似细胞溶酶体的缓冲环境（pH 5～6）[9]。与不可裂解型连接子相比，可裂解型连接子的优势是能高效、精准地释放药物，但其在稳定性方面会给处方开发带来一些挑战，需提前充分了解连接子的特性和药物的作用机制。

目前常见的偶联细胞毒性小分子物质有 3 类：微管抑制类化疗药、DNA 结合毒素和光敏剂[10]。微管抑制类化疗药中应用较广泛的是单甲基澳瑞他汀（monomethyl auristatins E and F，MMAE 和 MMAF），在目前上市和临床试验阶段的 ADC 中占比超过 50％[11]。还有美登素类衍生物（DM1 与

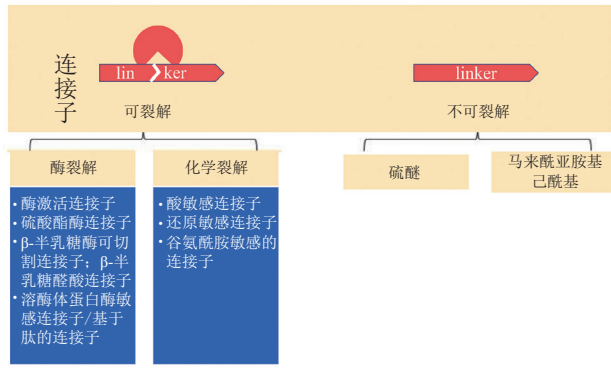


图 1　连接子的分类

Fig.1　Classification of Linkers

DM4），已应用于上市产品 Kadcyla®，用于治疗 HER2 阳性乳腺癌等[12—13]。DNA 结合毒素包括卡齐霉素（calicheamicin）和杜卡霉素（duocarmycin）等[14]。使用光敏性小分子的 Akalux® 已于 2021 年被日本厚生劳动省批准上市，利用光敏特性实现了高靶向性。

目前，世界范围内上市的 ADC 类药物共 15 种（表 1）[15—16]，考虑到稳定性问题，有 14 款 ADC 制剂采用了注射用冻干粉末的形式。

2　ADC 处方设计的考量

典型的配方包含 ADC、赋形剂（糖或盐）、缓冲液、表面活性剂和其他金属离子螯合剂。如表 1 所示，已上市的 15 个 ADC 中，即使连接子 - 小分子物质相同，如抗体不同，制剂的处方组成也各不相同[6]。为快速优化 ADC 处方，下面对制剂筛选过程及评价指标进行详细分析。

2.1　处方缓冲体系与 pH 值的选择

ADC 在不同缓冲体系下可能表现出不同性质，因此，处方中离子浓度和缓冲体系的 pH 值是重点考察因素。

由于偶联小分子，抗体表面的电荷分布发生了较大变化，尤其是以赖氨酸为偶联位点的药物。当单克隆抗体的表面电荷分布复杂、不均一时，抗体易发生聚集。因此，ADC 处方中的离子浓度不宜过高。研究[17]显示，大多数处方在离子浓度过高的缓冲体系中，ADC 的熔解温度（T_m）会降低，更易发生聚集和断裂。此外，常见的抗体脱酰胺、水

表 1　全球已上市 ADC 药物统计表

Tab.1　Global Approved ADCs

商品名	药品名称	公司	获批时间	国内研发进度	适应证	靶标	抗体	连接子[5)]	小分子物质	药物抗体比（DAR）	剂型	处方
Mylotarg	gemtuzmab ozogamicin	辉瑞	2000年5月[1)]；2010年6月撤市；2017年9月[1)]	无申报	急性髓系白血病	CD33	人源化IgG4	可裂解腙键	卡奇霉素	2～3	冻干粉	规格：每瓶4.5 mg；质量浓度：1 mg/mL；缓冲盐：5 mmol/L磷酸盐；赋形剂：14 mg/mL蔗糖，8 mg/mL葡聚糖40，5.2 mg/mL氯化钠；表面活性剂：无；pH值：7.4
Adcetris	维布妥昔单抗（brentuximab vedotin）	武田/Seagen	2011年8月[1)]；2020年5月[2)]	批准上市	霍奇金淋巴瘤等多种淋巴瘤	CD30	人鼠嵌合IgG1	可裂解二肽（Val-Cit）	MMAE	4	冻干粉	规格：每瓶50 mg；质量浓度：5 mg/mL；缓冲盐：20 mmol/L枸橼酸盐；赋形剂：70 mg/mL二水合海藻糖；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-80；pH值：6.6
Kadcyla	恩美曲妥珠单抗（trastuzumab emtansine）	罗氏	2013年2月[1)]；2020年[2)]	批准上市	HER2阳性乳腺癌	HER2	人源化IgG1	不可裂解硫醚连接体（MCC）	DM1	3.5	冻干粉	规格：每瓶100、160 mg；质量浓度：20 mg/mL；缓冲盐：10 mmol/L琥珀酸；赋形剂：60 mg/mL蔗糖；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-20；pH值：5.0
Besponsa	奥加伊妥珠单抗（inotuzumab ozogamicin）	辉瑞	2017年8月[1)3)]；2021年12月[2)]	批准上市	急性淋巴细胞白血病	CD22	人源化IgG4	可裂解腙键	卡奇霉素	6	冻干粉	规格：每瓶1 mg；质量浓度：0.25 mg/mL；缓冲盐：18 mmol/L氨丁三醇；赋形剂：45 mg/mL蔗糖，5 mg氯化钠；表面活性剂：0.1 mg/mL Tween-80；pH值：8.0
Lumoxiti	moxetumomab pasudotox	阿斯利康	2018年9月[1)]	无申报	毛细管白血病	CD22	鼠源IgG可变区人源化IgG1	可裂解Mc-Val-Cit-PAB	PE38	—	冻干粉	规格：每瓶1 mg；质量浓度：1 mg/mL；缓冲盐：25 mmol/L磷酸盐；赋形剂：40 mg/mL蔗糖，80 mg/mL甘氨酸；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-80；pH值：7.4
Polivy	polatuzumab vedotin	罗氏	2019年6月[1)]	申请上市	弥漫型大B细胞淋巴瘤	CD79b	人源化IgG1	可裂解二肽（Val-Cit）	MMAE	3.5	冻干粉	规格：每瓶140 mg；质量浓度：20 mg/mL；缓冲盐：8 mmol/L琥珀酸；赋形剂：40 mg/mL蔗糖；表面活性剂：1 mg/mL Tween-20；pH值：5.3

（续表 1）

商品名	药品名称	公司	获批时间	国内研发进度	适应证	靶标	抗体	连接子[5)]	小分子物质	药物抗体比（DAR）	剂型	处方
Padcev	enfortumab vedotin	安斯泰来/Seagen	2019年12月[1)]	Ⅲ期临床	尿路上皮癌	nectin-4	人源化IgG1	可裂解二肽（Val-Cit）	MMAE	3.8	冻干粉	规格：每瓶23、33 mg；质量浓度：10 mg/mL；缓冲盐：20 mmol/L组氨酸；赋形剂：55 mg/mL二水合海藻糖；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-20；pH值：6.0
Enhertu	trastuzumab deruxtecan	第一三共/阿斯利康	2019年12月[1)]；2023年2月[2)]	申请上市	HER2阳性乳腺癌、胃癌、胃食管交界处癌	HER2	人源化IgG1	可裂解GCFG四肽	DXd	8	冻干粉	规格：每瓶100 mg；质量浓度：20 mg/mL；缓冲盐：25 mmol/L组氨酸；赋形剂：90 mg/mL蔗糖；表面活性剂：0.3 mg/mL Tween-80；pH值：5.5
Trodelvy	sacituzumab gocitecan	Immunomedics（吉利德）	2020年4月[1)]；2022年6月[2)]	批准上市	三阴性乳腺癌、尿路上皮癌	TROP2	人源化IgG1	可裂解肽CL2A	SN-38	7.6	冻干粉	规格：每瓶180 mg；质量浓度：10 mg/mL；缓冲盐：18 mmol/L 2-吗啉乙磺酸（MES）；赋形剂：7.8 mg/mL二水合海藻糖；表面活性剂：0.1 mg/mL Tween-80；pH值：6.5
Blenrep	belantamab mafodotin	GSK	2020年8月[1)]；2022年11月撤市	Ⅲ期临床	多发性骨髓瘤	BCMA	人源化IgG1	不可裂解硫醚MC	MMAF	4	冻干粉	规格：每瓶100 mg；质量浓度：50 mg/mL；缓冲盐：20 mmol/L枸橼酸盐；赋形剂：75.6 mg/mL二水合海藻糖；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-80；其他：0.019 mg乙二胺四乙酸（EDTA）；pH值：6.2
Akalux	cetuximab saratolacan	Rakuten Medical	2020年09月[4)]	无申报	头颈部鳞状细胞癌	EGFR	人源化IgG1	未知	IRDye700DX	—	冻干粉	规格：每瓶250 mg；质量浓度：5 mg/mL；缓冲盐：10 mmol/L磷酸钠；赋形剂：90 mg/mL海藻糖；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-80；pH值：7.1
Zynlonta	loncastuximab tesirine	ADC Therapeutics	2021年4月[1)]	Ⅲ期临床	弥漫型大B细胞淋巴瘤	CD19	人源化IgG1	可裂解肽马来酰亚胺类	SG3199	2.3	冻干粉	规格：每瓶10 mg；质量浓度：5 mg/mL；缓冲盐：20 mmol/L组氨酸；赋形剂：59.9 mg/mL蔗糖；表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-20；pH值：6.0

（续表 1）

商品名	药品名称	公司	获批时间	国内研发进度	适应证	靶标	抗体	连接子[5)]	小分子物质	药物抗体比（DAR）	剂型	处方
爱地希	维迪西妥单抗	荣昌生物	2021年6月[2)]	批准上市	胃癌，胃食管交界处癌，尿路上皮癌	HER2	人源化IgG1	可裂解Mc-Val-Cit-PAB	MMAE	3.5	冻干粉	规格：每瓶60 mg； 质量浓度：10 mg/mL； 缓冲盐：10 mmol/L组氨酸； 赋形剂：43.72 mg/mL甘露醇， 20.54 mg/mL蔗糖 表面活性剂：0.2 mg/mL Tween-80； pH值：6.3
Tivdak	tisotumab vedotin	Genmab/ Seagen	2021年9月[1)]	申报临床	宫颈癌	TF	人源化IgG1	可裂解Mc-Val-Cit-PAB	MMAE	4	冻干粉	规格：每瓶40 mg； 质量浓度：10 mg/mL； 缓冲盐：30 mmol/L组氨酸； 赋形剂：30 mg/mL甘露醇， 30 mg/mL蔗糖； 表面活性剂：无； pH值：6.0
Elahere	mirvetuximab	ImmunoGen/ 华东医药	2022年11月[1)]	Ⅲ期临床	卵巢癌	FRα	人源化IgG1	可裂解 sulfo-SPDB	DM4	3.4	液体制剂	规格：每瓶100 mg； 浓度：5 mg/mL； 缓冲盐：10 mmol/L醋酸； 赋形剂：90 mg/mL蔗糖； 表面活性剂：0.1 mg/mL Tween-20； pH：5.0

注：[1)] 由 FDA 批准上市；[2)] 由 NMPA 批准上市；[3)] 由 EMA 批准上市；[4)] 由日本厚生劳动省批准上市；[5)] “连接子”列出现的 PAB 为对氨基苄，系自降解间隔子，用于限制有效荷载的空间位阻，促进酶的进入；PE38 为假单孢菌外毒素；nectin-4 为连接蛋白 4；DXd 和 SN-38 均为新型拓扑异构酶Ⅰ抑制剂喜树碱类衍生物；TROP2 为人滋养层细胞表面抗原 -2；BCMA 为 B 细胞成熟抗原；IRDye700DX 指 IR700，系一种光活性化学物质，能被 690 nm 的近红外光激发以破坏肿瘤细胞；SG3199 为吡咯苯二氮䓬二聚体，系细胞毒素，可诱导 DNA 小沟的链间交联，导致细胞周期停滞和细胞死亡；TF 为组织因子（tissue factor），也被称为凝血因子Ⅲ；FRα 为叶酸受体 α；sulfo-SPDB 是一种谷胱甘肽类连接子，通过在二硫键 α 位点引入甲基和磺酰基，改善其亲水性，以克服在血浆循环中不稳定的缺点。

解和异构化问题，往往与溶液缓冲体系中的 OH^- 数量有关，高浓度 OH^- 易降低抗体的稳定性[18]。不同连接子会使用不同的偶联方式，产生不同的偶联位点和偶联数目，影响药物整体的构象和疏水性，对缓冲体系的性质也会有不同的要求。

表 2 总结了处方缓冲液种类及 pH 值的筛选方案及评价指标。首先，需根据不同缓冲对的缓冲范围，设置 pH 梯度，分别配制临床拟用的 ADC 浓度；其次，在加速条件［(25±2)℃，相对湿度 (RH) (60±5)%，避光；(40±2)℃，RH (75±5)%，避光］下放置 14 d，分别于 0、3、7、14 d 取样，考察裸抗和 ADC 产品的外观、浓度、纯度、热稳定性 (DSC) 等。当确定适宜 pH 值范围后，选择该 pH 值范围内的 2 ～ 3 种缓冲剂，进行下一步筛选。

2.2 表面活性剂的筛选

ADC 与传统抗体相比，表面疏水性质不同，因此表面活性剂的选择就更加重要。目前大分子生物药物中常用的表面活性剂有化学惰性的 Tween-80 和 Tween-20，它们可与蛋白质稳定共存，有效避免蛋白类药物在运输、贮存和使用过程中在各类界面聚集和氧化。但 Tween-80 等表面活性剂在高温、强光照射或振荡的情况下会氧化降解，产生过氧化物，也可能引起蛋白类药物的氧化或聚集。

考虑到 ADC 的复杂性，不同连接子、DAR 值都对稳定性有较大的影响。制剂处方中可能需要更高含量的表面活性剂，以保持药物稳定性，但这并不代表表面活性剂的含量越高越好。对不同的 ADC，应基于制剂浓度、给药方式、贮存条件和成药稳定性等因素综合考量，筛选合适的表面活性剂种类和含量。

表面活性剂的初筛一般是将样品于 (25±2)℃、RH (60±5)%、避光条件下，以 250 ～ 300 r/min 搅拌 8 h 至更长时间，然后观察裸抗和 ADC 产品的澄清度、浊度、浓度、粒子数和聚体含量，得到初步的表面活性剂类型和适用比例。

2.3 赋形剂的筛选

已上市 ADC 制剂中，主要通过添加各种糖或盐作为赋形剂。

在冻干过程中，经过一次干燥和二次干燥，药物中的绝大多数水分逸散，使 ADC 的氢键等暴露在外，增加了结构和化学稳定性的风险。为减少 ADC 被破坏，需向制剂处方中加入冻干保护剂，以减少药物的聚集和变性。目前主流的冻干保护剂

表 2 ADC 药物缓冲体系的筛选方案

Tab.2 Screening Scheme of ADC Buffer System

缓冲体系	表面活性剂	处方编号[1)]	pH	考察指标[2)]		
				d0	(25±2)℃，RH(60±5)%，避光 (3、7、14 d)	(40±2)℃，RH(75±5)%，避光 (3、7、14 d)
乙酸/乙酸钠	加/不加	A4.5	4.5	x,y	x	x
		A5.0	5.0	x,y	x	x
		A5.5	5.5	x,y	x	x
枸橼酸/枸橼酸钠		C5.0	5.0	x,y	x	x
		C5.5	5.5	x,y	x	x
		C6.0	6.0	x,y	x	x
组氨酸/盐酸组氨酸		H5.5	5.5	x,y	x	x
		H6.0	6.0	x,y	x	x
		H6.5	6.5	x,y	x	x
磷酸氢二钠/磷酸二氢钠		P6.5	6.5	x,y	x	x
		P7.0	7.0	x,y	x	x
		P7.5	7.5	x,y	x	x
氨丁三醇/盐酸		T7.0	7.0	x,y	x	x
		T7.5	7.5	x,y	x	x
		T8.0	8.0	x,y	x	x

注：[1)]A—乙酸 / 乙酸钠缓冲体系；C—枸橼酸 / 枸橼酸钠缓冲体系；H—组氨酸 / 盐酸组氨酸缓冲体系；P—磷酸二氢钠 / 磷酸氢二钠缓冲体系；T—氨丁三醇 / 盐酸缓冲体系；[2)] x 为外观、pH 值、BCA 法测定的蛋白浓度、分子排阻色谱 (SEC)-HPLC、毛细管凝胶电泳法 (CE-SDS)；y 为 DSC。

包括糖醇类（蔗糖、海藻糖、甘露醇、乳糖、葡萄糖、麦芽糖等）、聚合物（羟乙基淀粉、PVP、PEG、葡聚糖、白蛋白等）、非水溶剂（乙烯乙二醇、甘油、DMSO、DMF 等）[19]。在已上市 ADC 制剂处方中，常用的冻干赋形剂与保护剂包括蔗糖、海藻糖和甘露醇。

筛选不同的糖、盐赋型剂组合时，方式和种类也非常多。可在缓冲液体系和表面活性剂基本确定的基础上，取质量浓度为 10%海藻糖、8%蔗糖、5%甘露醇等作为初步筛选基础配方。如果要组合，则二者含量各自缩减，进行 DOE 组合筛选。于振摇、反复冻融、避光条件下，置（5±3）、（25±2）和（40±2）℃环境中，观察外观、浓度、纯度、热稳定性、电荷异质体的变化等。表 3 展示了赋型剂筛选方案示例。

2.4 冻干工艺优化

由于 ADC 结构较复杂、稳定性较差，为维持较长时间的货架期，目前已上市的 ADC 剂型以冻干粉末为主[20]。

考虑到 ADC 药物的高靶向性、对肿瘤细胞的高杀伤效力，以及静脉注射给药的特征，可考虑低浓度贮存方式。并且，低浓度贮存可降低聚集风险，尤其是疏水性的药物。

冻干工艺一般分为冷冻控制、一次干燥和二次干燥。冻干后，样品应是包含了结晶态和非结晶态的、牢固的网状结构固体。在冻干过程中，完全固化温度应当低于共晶温度（T_e）或玻璃化转变温度（T_g）。崩解温度是在一次干燥过程中制剂所允许的最高温度，高于崩解温度时样品结构会发生坍塌甚至融化。因此，需根据崩解温度设置冻干工艺中样品的一次升华温度，从而防止样品塌陷。在一次干燥结束后，还会残存一部分吸附水（物理吸附在干燥物质的毛细管上和极性基团上）和结合水（或束缚在结晶产品的晶体表面，或包含在非晶型产品的内部），这部分水达到一定含量时会为微生物生长繁殖和某些化学反应提供条件。因此，为了改善产品贮存稳定性需进行二次干燥。表 4 列举了部分 ADC 产品的冻干工艺。

表 3　赋型剂筛选方案示例

Tab.3　Examples of Excipient Screening Scheme

处方编号	缓冲体系	表面活性剂浓度/%	赋型剂	考察指标[1)]					
				d0	振摇300 r/min、(25±2) ℃ (3 d)	反复冻融[2)]	2～8 ℃ (4周)	(25±2) ℃ (1、2周)	(40±2) ℃ (1、2周)
F1	体系1		—	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F2	体系2	0.02	—	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F3	体系3		—	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F4			8%蔗糖	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F5			10%海藻糖	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F6	体系1	0.02	5%甘露醇	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F7			1%甘氨酸	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F9			150 mmol/L氯化钠	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F10			8%蔗糖	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F11			10%海藻糖	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F12	体系2	0.02	5%甘露醇	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F13			1%甘氨酸	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F14			150 mmol/L氯化钠	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F15			8%蔗糖	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F16			10%海藻糖	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F17	体系3	0.02	5%甘露醇	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F18			1%甘氨酸	x,y	x,z	x,z	x	x	x
F19			150 mmol/L氯化钠	x,y	x,z	x,z	x	x	x

注：[1)]x 为外观、SEC-HPLC、CE-SDS、pH 值、蛋白质含量、电荷异质体；y 为 DSC；z 为不溶性微粒（MFI）；[2)] 是以样品在（－70±10）℃放置 24 h 后室温融解为一个循环，考察 3 和 6 个循环。

冻干工艺的优化过程就是根据样品崩塌温度和冻干状态，调整冷冻时间和温度，一次干燥温度、时间和真空度，二次干燥温度、时间和真空度。对于冻干产品，通常要选择较长的稳定性考察时间，2 周、4 周、1 个月、3 个月、6 个月甚至 1 年，除了常规的评价指标，还需增加水分、复溶时间、外观形状和活性等指标。

3 药物配伍中的使用稳定性

大多数 ADC 都是注射剂，目前较为主流的给药方式为静脉滴注，须与 5%葡萄糖注射液或 0.9%氯化钠注射液配伍使用[21]。由于不需要进行皮下或肌内注射，所以对渗透压的要求较宽，给选择辅料留下了更多的空间。

为保证药物在配伍使用期间的稳定性，在药物处方设计时就要考虑配伍方案。例如，在 0.9%氯化钠注射液中，静电电荷屏蔽可增强蛋白质 - 蛋白质相互作用，导致高 DAR 药物的溶解度降低或聚集趋势增加[23]。因此，可考虑采用蔗糖和氯化钠配伍使用。

配伍使用的模拟试验需依据临床方案中的爬坡剂量进行设计，考察药品在临床中常用的耗材、放置条件［(5±3)℃］和使用条件［(25±2)℃］下的稳定性，为临床使用提供数据支撑，指导临床安全用药。一般是设计高低 2 个浓度来覆盖临床使用的剂量范围，并考察输注系统对药品的吸附性。以每剂 1 ～ 90 μg 的临床使用剂量为例进行说明，试验方案如表 5、表 6 所示。

值得注意的是，不管是通过重力输注给药还是通过输液泵给药，与输液袋连接的输注系统是由输液管、在线过滤器和针头组成的，为排除吸附的干扰，取样前均需外排 6 mL 后再取样。可见异物评价结果通过直接观察输液袋中的药物可获得。对于初始样本，除不溶性微粒是由针头取样外，所有考察点的样本均直接从输液袋取样；4、8 和 24 h 时间点的样本由针头取样。

表 6 为输注系统的蛋白吸附研究。由于使用期间稳定性研究中的 1 μg/mL 浓度组使用了 2 套输注系统，在吸附研究中，需一并考察。为了模拟给药，要将稀释后的药物置注射器和输液袋中，在(25±2)℃条件下保存 4 h 以上再取样检测。

4 ADC 处方开发的注意要素

4.1 ADC 质量属性

ADC 质量属性研究包括抗体药物偶联物、游离小分子药物、裸抗部分的质量属性研究。ADC 的关键质量属性包括聚体、电荷异质体、交联碎片、药物的化学稳定性、DAR 值、药物分布和游离小分子药物等。这些属性可影响免疫原性、药效、药物代谢和安全性，带来潜在临床风险[24—25]。ADC 生产工艺参数、处方选择及贮存都可能会影响 ADC 的质量属性（图 2），在早期制剂工艺开发过程均需被系统评估。

4.2 抗体和 ADC 的稳定性

偶联前抗体自身的稳定性和偶联后更加严苛的 ADC 稳定性，是处方开发中面临的重要挑战。

表 4 ADC 产品冻干工艺示例

Tab.4 Examples of ADC Lyophilization Process

冻干工艺阶段	冻干工艺参数	爱地希[21]	Tivdak[21]	ARX788[7]	Padcev[19]	Kadcyla[22]
冷冻	温度/℃	－45	≤－40	－45	－45	－40
	时间/h	5	2	5	3	2
退火	温度/℃	—	－20～－15	—	—	—
	时间/h	—	3	—	—	—
一次干燥	温度/℃	－26	－30～－10	－23～－20	－45～－15	－25
	时间/h	40	/	升温0.5；保温40	升温1.5；保温45	76
	真空度/Pa	10～15	6.67～26.67	13	6.67	8
二次干燥	温度/℃	25	35～50	25～30	35	25
	时间/h	10	≥10	升温5；保温8	升温4；保温7	5
	真空度/Pa	10～15	6.67～26.67	13	6.67	8

在传统的单克隆抗体制剂中，较常见的问题是聚集体的生成，会影响药物的效力，并增加免疫原性风险。高浓度的抗体溶液在自由能的驱使下克服疏水作用，逐渐趋向于形成多聚体，从而影响药效和活性。对于 ADC，由于水溶性抗体偶联了脂溶性小分子物质[16]，整个大分子同时具有疏水和亲水基团，更倾向于聚集。此外，共轭位点周围的局部表面疏水作用变弱，进一步降低了 ADC 稳定性，导致其更易聚集。

抗体部分还存在化学稳定性风险，包括脱酰胺化、氧化、糖基化和断裂降解等。小分子药物也有独特的稳定性，在不同物理化学环境下体现不同的性质。为保证 ADC 的有效性，在制剂处方设计前应提前了解。

4.3 DAR 值

DAR 值指一个抗体上连接的小分子药物数量，是评价偶联小分子对药物影响的重要指标，可通过疏水相互作用色谱或紫外分光光度法来检测。与抗体相比，小分子的疏水性强，随着抗体上连接的小分子数目增加，ADC 整体的疏水性就会增加，也会增加抗体空间结构的变化，从而造成特异性识别抗原的能力及体内半衰期的降低。MOQUIST 等[26]研究[27—28]表明，DAR 值高的 ADC 通常更易聚集；ADC 的胶体稳定性和界面稳定性较差时，更易在固液界面或液气表面形成聚集体。但 DAR 值过低的 ADC 药效可能较差。不同 DAR 值的 ADC 具有不同的药动学特征，影响 ADC 在循环中的稳定性[29]，如图 3 所示，DAR 值为 2 ～ 4 是较为均衡的选择。

除了考虑 DAR 值以外，抗体与药物偶联的位置和氨基酸位点同样对药物稳定性影响较大。由于共轭位点的不同，即使偶联的小分子药物较少，也可能会由其他因素导致多种电荷异构体的形成，例如局部（结构）环境的影响、盐桥的潜在损失、静电环境的扰动和 pK_a 的影响等[30]。

5 总结

ADC 与传统单抗相比，疏水性更高、表面电荷不规则、构象稳定性差、异质性高，且小分子物

表 5 ADC 模拟使用期间稳定性研究方案示例

Tab.5 Examples of ADC In-use Stability Study

拟用剂量（每剂）/mg	使用浓度/（mg·mL^{-1}）	供应剂量体积/mL	考察时间点	考察指标	使用说明
0.001	0.000 03	34	(25±2)℃条件下，0、4、8 h；(5±3)℃条件下，0、24 h	外观、可见异物、不溶性微粒、浓度、CE-SDS、SEC-HPLC和生物学活性等	从输液袋中取出多余的体积，并通过重力输送剩余的体积
0.003	0.001 00	3			取量至输液器，通过输液泵给药
0.010		10			
0.020		20			
0.040		40			从输液袋中取出多余的体积，并通过重力输送剩余的体积
0.060		60			
0.090		90			

表 6 输液器的蛋白吸附研究

Tab.6 Protein Binding Assay of Infusion Set

输注方式	使用浓度	药液排出体积/mL	考察指标	使用说明
输液泵	1 μg/mL	0、2、4、6、8、10、12	浓度	体积0指从针尖开始排液，取药液0.5 mL进行浓度检测；
	30 ng/mL	0、2、4、6、8、10、12	浓度	体积2 mL指针尖继续外排1.5 mL后，于针尖取液0.5 mL进行浓度检测；
重力输注	1 μg/mL	0、2、4、6、8、10、12	浓度	体积4 mL指针尖继续外排1.5 mL后，于针尖取液0.5 mL进行浓度检测；体积6 mL针尖继续外排1.5 mL后，于针尖取液0.5 mL进行浓度检测；以此类推
对照	30 ng/mL			直接从输液袋取样检测浓度
	1 μg/mL			直接从输液袋取样检测浓度

质和连接子对其稳定性也会造成一定风险。在处方开发前，需充分了解以下几个问题：(1) 小分子物质对稳定性带来的影响；(2) 不同的连接子对处方开发的要求不同，需提前获得更多连接子的特性信息；(3) 通过不同的偶联药物和偶联机制得到的ADC具有不同的稳定性特性。

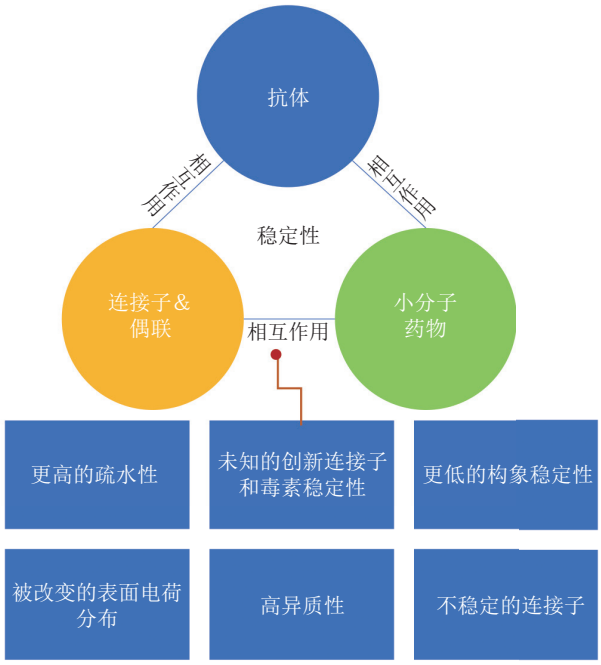


图 2 ADC 质量属性的形成因素

Fig.2 Forming Elements of ADC Quality Attributes

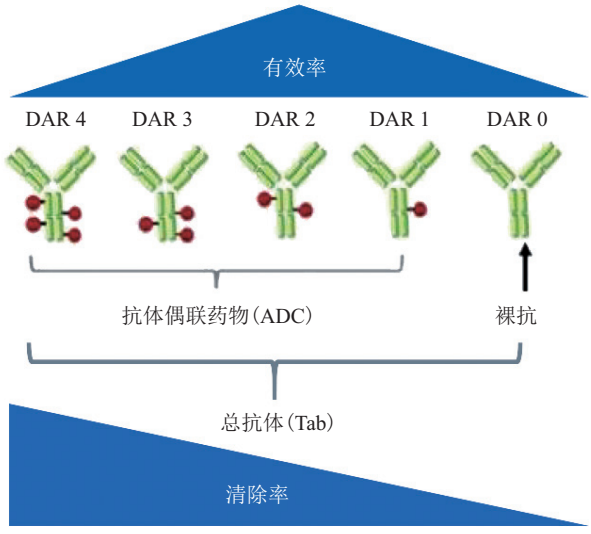


图 3 DAR 值与抗肿瘤作用及清除率的关系

Fig.3 Relationship between DAR Value and Antitumor Effect and Clearance Rate

ADC的制剂开发结合了抗体药物开发、小分子药物优化、制剂研发等多个领域的技术。2022年7月7日，NMPA发布了《ADC非临床研究技术指导原则（征求意见稿）》，意味着ADC在我国的研究逐渐正规化和规模化。在可预见的未来，ADC将是中国生物医药市场上一股不可忽视的力量。

参考文献：

[1] TSUCHIKAMA N, AN N. Antibody-drug conjugates: recent advances in conjugation and linker chemistries [J]. *Protein Cell*, 2018, **9**(1): 33-46.

[2] 刘文超, 李鸿峰, 胡朝红. 抗体偶联药物的技术现状和展望[J]. 生物化学与生物物理进展, 2023, **50**(5): 1167-1189.

[3] JHAVERI K, HAN H, DOTAN E, *et al*. 460MO Preliminary results from a phase Ⅰ study using the bispecific, human epidermal growth factor 2(HER2)-targeting antibody-drug conjugate(ADC) zanidatamab zovodotin(ZW49) in solid cancers [J]. *Ann Oncol*, 2022, **33**: S749-S750.

[4] OH S Y, LEE Y W, LEE E J, *et al*. Preclinical study of a biparatopic METxMET antibody-drug conjugate, REGN5093-M114, overcomes MET-driven acquired resistance to EGFR TKIs in EGFR-mutant NSCLC [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, **29**(1): 221-232.

[5] YU J F, FANG T, YUN C Y, *et al*. Antibody-drug conjugates targeting the human epidermal growth factor receptor family in cancers [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, **9**: 847835.

[6] LIM J, SARI-AK D, BAGGA T. Siglecs as therapeutic targets in cancer [J]. *Biology* (Basel), 2021, **10**(11): 1178.

[7] MCCOMBS J R, OWEN S C. Antibody drug conjugates: design and selection of linker, payload and conjugation chemistry [J]. *AAPS J*, 2015, **17**(2): 339-351.

[8] 浙江新码生物医药有限公司. 一种含有抗HER2-药物偶联物的冻干组合物、冻干制剂及其制备方法和用途: 中国, 113521018A [P]. 2021-10-22.

[9] DEAN A Q, LUO S, TWOMEY J D, *et al*. Targeting cancer with antibody-drug conjugates: promises and challenges [J]. *MABs*, 2021, **13**(1): 1951427.

[10] GOMES-DA-SILVA L C, KEPP O, KROEMER G. Regulatory approval of photoimmunotherapy: photodynamic therapy that induces immunogenic cell death [J]. *Oncoimmunology*,2020, **9**(1): 1841393.

[11] DUERR C, FRIESS W. Antibody-drug conjugates-stability and formulation [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, **139**: 168-176.

[12] BAROK M, JOENSUU H, ISOLA J. Trastuzumab emtansine: mechanisms of action and drug resistance [J]. *Breast Cancer Res*, 2014, **16**(2): 209.

[13] ELGERSMA R C, COUMANS R G E, HUIJBREGTS T, *et al*. Design, synthesis, and evaluation of linker-duo carmycin payloads: toward selection of HER2-targeting antibody-drug conjugate SYD985 [J]. *Mol Pharm*, 2015, **12**(6): 1813-1835.

[14] KUMAR R, GEORGE B, CAMPBELL M R, *et al*. HER family in cancer progression: from discovery to 2020 and beyond [J]. *Adv Cancer Res*, 2020, **147**: 109-160.

[15] LONDON M, GALLO E. Epidermal growth factor receptor (EGFR) involvement in epithelial‐derived cancers and its current antibody‐based immunotherapies [J]. *Cell Biol Int*, 2020, **44**(6): 1267-1282.

[16] JOUBERT N, BECK A, DUMONTET C, *et al*. Antibody-drug conjugates: the last decade [J]. *Pharmaceuticals*, 2020, **13**(9): 245.

[17] 根马布股份公司. 抗体-药物缀合物冻干制剂: 中国, 106163567B [P]. 2021-06-11.

[18] TONG J T W, HARRIS P W R, BRIMBLE M A, *et al*. An insight into FDA approved antibody-drug conjugates for cancer therapy [J]. *Molecules,* 2021, **26**(19): 5847.

[19] 田 烨, 吴明媛. 生物制品冻干保护方法研究进展[J]. 中国医药生物技术, 2018, **13**(1): 73-76.

[20] KHONGORZUL P, LING C J, KHAN F U, *et al*. Antibody-drug conjugates: a comprehensive review [J]. *Mol Cancer Res*, 2020, **18**(1): 3-19.

[21] DAN N, SETUA S, KASHYAP V K, *et al*. Antibody-drug conjugates for cancer therapy: chemistry to clinical implications [J]. *Pharmaceuticals* (Basel), 2018, **11**(2): 32.

[22] PACE A L, WONG R L, ZHANG Y T, *et al*. Asparagine deamidation dependence on buffer type, pH, and temperature [J]. *J Pharm Sci*, 2013, **102**(6): 1712-1723.

[23] BECKLEY N S, LAZZARESCHI K P, CHIH H W, *et al*. Investigation into temperature-induced aggregation of an antibody drug conjugate [J]. *Bioconjug Chem*, 2013, **24**(10): 1674-1683.

[24] 艾更斯司股份有限公司, 西进公司. 包含抗191P4D12抗体药物偶联物的药物组合物及其使用方法: 中国, 113677364A [P]. 2021-11-19.

[25] 霍夫曼-拉罗奇有限公司. 皮下抗 HER2 抗体配制剂: 中国, 115089704A [P]. 2022-09-23.

[26] MOQUIST P N, BOVEE T D, WAIGHT A B, *et al*. Novel auristatins with high bystander and cytotoxic activities in drug efflux-positive tumor models [J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, **20**(2): 320-328.

[27] ADEM Y T, SCHWARZ K A, DUENAS E, *et al*. Auristatin antibody drug conjugate physical instability and the role of drug payload [J]. *Bioconjug Chem*, 2014, **25**(4): 656-664.

[28] SINGH S K, LUISI D L, PAK R H. Antibody-drug conjugates: design, formulation and physicochemical stability [J]. *Pharm Res*, 2015, **32**(11): 3541-3571.

[29] ZUO P Y. Capturing the magic bullet: pharmacokinetic principles and modeling of antibody-drug conjugates [J]. *AAPS J*, 2020, **22**(5): 105.

[30] ADEM Y T, SCHWARZ K A, DUENAS E, *et al*. Auristatin antibody drug conjugate physical instability and the role of drug payload [J]. *Bioconjug Chem*, 2014, **25**(4): 656-664.