

抗体偶联药物药学研究与评价技术 指导原则

国家药品监督管理局药品审评中心

2024年02月

目 录

一、前言	1
二、适用范围	1
三、一般原则	2
四、风险评估与控制	5
五、生产用物料	6
六、生产工艺	7
(一) 生产工艺开发	8
(二) 生产工艺的确认与验证	15
七、质量研究与质量标准	16
(一) 质量研究	16
(二) 质量标准	25
八、稳定性研究	27
九、包装及容器密封系统	28
十、名词解释	29
十一、参考文献	30

一、前言

抗体偶联药物（Antibody-Drug Conjugate, ADC）是由靶向特异性抗原的抗体或抗体片段与有效载荷（payload）通过连接子（linker）偶联而成的一类创新型抗体药物。与传统抗体药物相比，ADC 产品兼具传统小分子药物强效作用及抗体药物的靶向性，以降低全身毒性并更有选择性地有效载荷递送至肿瘤细胞、肿瘤微环境或其他靶细胞中。近年来，随着抗体、有效载荷、连接子、偶联技术和分析技术等的快速发展，使 ADC 产品具有更高的均一性、稳定性和治疗指数，极大地促进了 ADC 产品的开发热潮。

考虑到 ADC 产品的复杂性和特殊性，为了规范和指导 ADC 产品的研发，制定本指导原则。本指导原则基于当前的科学认知，主要针对 ADC 产品申报上市阶段的药学研究提出建议性技术要求，旨在为研发单位提供技术指导。申请人亦可基于产品研发的实际情况，采用其他等同或更有效的技术和方法开展研究，但是应符合药物研发的规律，并提供证明其科学性和适用性的资料。随着技术的发展、认知的深入和经验的积累，本指导原则的相关内容将逐步完善和更新。

二、适用范围

本指导原则主要适用于由抗体/抗体片段和有效载荷（如小分子细胞毒药物）通过连接子偶联而成的 ADC 产品。

其他偶联药物如抗体偶联核素药物、多肽偶联药物、抗体寡核苷酸偶联药物等也可参考本指导原则。由于 ADC 产品的结构复杂多样，对于已有成熟的技术指导原则覆盖的组成部分（如小分子部分、抗体部分等），本指导原则将不再赘述，可参考相应的技术要求。

三、一般原则

ADC 产品的药学研究应符合《中华人民共和国药品管理法》、《药品注册管理办法》、《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）的相关要求，临床试验用样品的生产应符合现行版《药品生产质量管理规范》临床试验用药品（试行）附录的相关要求。

1. 一般要求

产品设计方面，ADC 产品虽然通常被认为是大分子药物，但其具有大分子和小分子的双重属性，靶抗原、抗体、有效载荷、连接子和偶联方式的选择均是影响 ADC 产品安全性和有效性的关键因素。因此，ADC 产品的安全性和有效性有赖于对上述组分的慎重选择、多方面优化以及合理的组合，需从靶向性、在体内循环中的稳定性以及生物学活性等多个方面进行综合考量。

生产工艺方面，ADC 产品的生产工艺通常涉及裸抗生产、小分子生产、ADC 原液生产和 ADC 制剂生产等多个生产环节。产品开发过程中，可基于“质量源于设计”和

“风险评估”等理念，开展工艺设计和工艺开发工作。需特别注意应将各个组分（裸抗、小分子、ADC 原液和 ADC 制剂）作为一个整体，综合考虑整体生产工艺的杂质、病毒安全性等风险及控制。

处方开发方面，与抗体药物相比，ADC 分子可能具有疏水性较高、表面电荷不规则、构象稳定性差、异质性强等特点，给处方开发带来了更多的复杂性和不稳定因素。此外，裸抗、小分子和 ADC 分子均具有不同的生物物理性质，偶联过程也可能影响蛋白质的稳定性（如导致构象变化、聚集和降解等），因此，制剂处方开发需找到合适的配方，平衡裸抗、小分子和偶联的稳定性，密切关注制剂中蛋白的聚集和颗粒形成、有效载荷的脱落等情况。

质量研究和控制方面，ADC 产品的分子结构、作用机制和质量研究与控制策略均具有其独特性，不同产品因设计理念和生产工艺不同，质量研究和质量控制方面也存在其特殊性，需视具体情况具体分析。由于 ADC 产品结构复杂、异质性强、包含多种产品相关杂质和工艺相关杂质，除了抗体药物具有的关键质量属性外，还会引入与小分子、偶联工艺等相关的其他关键质量属性，需采用适宜的技术手段或将多种分析手段相结合的策略，将结构特性、纯度和杂质、异质性、生物学活性、有效载荷分布等关键质量属性进行充分表征。

2. 不同研发阶段的考虑

ADC 产品作为创新型抗体药物，研发和生产需遵循药物研发的一般规律，在保证临床基本安全性的前提下逐步完善、持续优化。根据药物研发生命周期的规律，在不同研发阶段以及上市后的过程中，采用基于科学和风险评估的开发策略。

临床试验申报阶段，应重点关注影响临床安全性的因素，以保障临床受试者的安全。例如，外源因子的控制，应从起始物料（如细胞基质、其他生产用原材料等）、生产过程控制、放行检测等综合考虑，避免外源因子的污染；临床样品制备工艺应具备初步的稳健性，建立初步的中间体控制项目和标准，重点关注临床样品生产过程对病毒安全、微生物安全、无菌保障等方面的控制；采用代表性样品开展质量研究，安全性和活性等分析方法的开发和确认，结合平台经验、产品知识以及多批次检测数据拟定质量标准，基于产品特点和生产工艺对杂质进行合理控制；开展初步的稳定性研究，研究结果应能支持临床试验的开展；结合产品特点选择合适的容器密封系统，基于稳定性考察数据和供应商的可提取物数据等对相容性进行风险评估。非临床研究是评估产品在人体使用安全性的重要参考依据，需特别关注临床试验用样品与非临床研究用样品在生产工艺和质量方面的对比或桥接分析，原则上，临床试验用样

品的质量应不低于非临床研究用样品的质量或不低于经过研究证明具有人体安全性的临床试验样品的质量。

临床试验期间，基于工艺开发和对产品质量属性的理解，需逐步确认关键工艺步骤和工艺参数、生产过程中的控制项目和关键质量属性等，建立稳定的生产工艺和完善的质量控制体系。研发期间，生产用原材料、生产工艺、质量标准等可能会随着工艺开发或优化发生变更。ADC 产品的结构、生产工艺和供应链等的复杂性对评估变更的潜在影响提出了额外的挑战，变更计划的评估和实施应更为谨慎。各类变更方案的实施需建立在与研发阶段相适应的可比性研究基础上，可比性研究应基于风险评估原则并参考 ICH Q5E 等相关指导原则的要求进行，采用足够精密且灵敏的分析方法合理评估变更对产品质量的影响，尤其应关注上游工艺变更造成的裸抗、小分子的质量属性的差异是否会对后续偶联工艺或 ADC 关键质量属性产生不良影响。

上市申报阶段，经过工艺开发和系统完整的工艺验证，确定关键工艺步骤和关键工艺参数，并对关键质量属性进行控制，以确保商业化生产工艺能持续、稳定地生产出符合目标质量的产品。药学研究数据应能支持产品的安全、有效和质量可控性。同时，制定上市后生产工艺持续确认和优化的工作方案，以持续地保证产品质量。

四、风险评估与控制

ADC 产品是大分子和小分子结合的创新型抗体药物，从产品的设计、生产工艺和处方开发、质量研究和控制、稳定性研究等方面均面临诸多挑战。产品的开发从起始物料、工艺开发到质量控制等都涉及化学和生物学等多学科参与，其分子结构和生产过程复杂多样，产品异质性高，且不同的 ADC 产品也可能呈现出较大的差异，加上新的抗体形式、有效载荷、连接子以及新的偶联策略也在不断涌现，使得每个 ADC 产品的生产工艺和控制策略都具有个性化的特点。此外，ADC 产品的生产工艺包含多个生产环节，存在较高的变更复杂性。因此，需基于产品和工艺的特点，参考 ICH Q8、ICH Q9、ICH Q11 等相关指导原则的质量风险管理理念，科学利用风险评估工具，从分子设计、生产工艺、质量控制和稳定性等多因素进行风险评估。根据风险评估结果，结合对产品和工艺的理解制定相应的风险控制策略。风险控制策略的修订应贯穿于产品的全生命周期，随着新知识、生产经验的积累和对产品质量属性理解的深入不断更新。

五、生产用物料

生产用物料主要指 ADC 产品生产过程中使用的所有物料，包括起始物料、生产过程中使用或添加的物料（如培养基及其添加成分、纯化试剂、偶联试剂、偶联酶等）、辅料以及生产用耗材（如培养袋、储液袋、移液管路、滤

膜等)等。生产用物料与产品的质量、安全性和有效性密切相关,应建立良好、规范的质量管理体系,并参照《中国药典》等相关要求基于风险评估原则进行控制。

生产过程中使用的细胞基质应符合《中国药典》通则“生物制品生产检定用菌毒种管理及质量控制”和“生物制品生产检定用动物细胞基质制备及质量控制”的相关要求;使用的其他生产用物料应符合《中国药典》通则“生物制品生产用原材料及辅料质量控制”和 ICH Q11 的相关要求。对于化学结构和生产工艺较为复杂的起始物料,应结合起始物料的生产工艺,对其质量进行全面的分析和合理的控制。

生产过程中使用的耗材和容器,如一次性生物反应器、超滤膜包、过滤器、管路等,应具有稳定的物理和化学特性,耗材与直接接触的溶液、中间产物等有良好的相容性。基于耗材的材质、使用阶段、供应商检测报告等开展风险评估或相应的相容性研究。此外,ADC 生产过程中如果需要添加一定比例的有机溶剂,则生产过程中直接接触的材料(如一次性反应袋、超滤膜包、生产设备等)应能够耐受有机溶剂且浸出物需符合相关要求,同时需关注浸出物对产品质量的影响。对于疏水性较高的 ADC 产品,还需关注 ADC 分子与除菌滤膜的非特异性结合,选择合适的滤膜。

六、生产工艺

（一）生产工艺开发

ADC 产品的生产工艺通常包括裸抗生产、小分子生产、ADC 原液生产和制剂生产等多个生产环节。应遵循药物生产工艺开发的一般规律，基于对目标产品质量概况（Quality Target Product Profile, QTPP）的理解，结合生产工艺与质量之间的相关性，逐步完善工艺，完成从实验室到商业化规模生产的开发过程，逐步确定关键质量属性、工艺步骤和关键工艺参数。基于风险分析，建立全过程的控制策略，合理设定生产过程中的控制，尤其是生产过程中外源因子污染和关键中间产物的质量控制。产品生命周期中，生产工艺应随着工艺技术的进步和对产品理解的深入不断优化。工艺优化应基于变更类型和开发阶段，充分评估变更对产品安全性和有效性的影响，参考相关指导原则针对工艺优化开展相应的可比性研究，以保证产品质量。

对于光敏感性的小分子，在特定光照波段或高强度照射下会发生化学结构的变化，而这种化学结构变化可能会影响 ADC 产品的质量属性（如生物学活性等）。因此，需要在生产过程中采取适当的措施（如生产环境采用黄光替代白光，中间体储存容器避光等），并在制剂灌装过程以及储存条件和包装容器的选择上开展系统性研究。

1. 小分子部分

小分子（包括半合成来源）的生产工艺开发，应参照

化学原料药的要求开展，可参考《化学药物原料药制备和结构确证研究的技术指导原则》、“人用重组 DNA 蛋白制品总论”、ICH 等相关指导原则。

根据 ADC 修饰和偶联反应的化学特性，合理选择和设计连接子、有效载荷和 ADC 分子的合成/工艺路线，参照 ICH Q11 及其问答（Q&A）合理选择化学合成用起始物料，并制定小分子的合成工艺和质量控制策略。对于含有多手性中心的连接子和有效载荷，应关注手性中心是否会影响 ADC 产品的生物学活性，对手性杂质进行合理控制。小分子的关键质量属性应从其对 ADC 药物偶联工艺和最终产品的安全性、有效性等方面的影响，通过风险评估的方式进行确认。

2. 裸抗部分

裸抗的生产工艺开发应参考《中国药典》、《人用单克隆抗体质量控制技术指导原则》，以及 ICH、WHO 等国际通用有关技术要求开展研究。裸抗与常规抗体药物生产工艺类似，但是部分基因工程改造过的用于定点偶联的裸抗生产工艺可能会由于其修饰基团的特点而有所不同。因此，裸抗除了需关注常规抗体生产的风险点外，还需要从 ADC 产品分子的设计和生产的整个过程关注其对 ADC 原液生产过程的影响，以及对最终 ADC 产品质量的影响。如聚体种类和含量的控制需要考虑到 ADC 原液生产过程中聚体

的变化；而对于赖氨酸介导的偶联技术的 ADC 药物，需要考虑裸抗的 N 末端赖氨酸残基水平以及裸抗溶液中的氨基酸成分；对于半胱氨酸介导的偶联技术的 ADC 药物，需要关注裸抗的半胱氨酸相关变异体（如二硫键、三硫键、游离巯基等）水平。在裸抗（特别是双特异抗体或多特异抗体）的工艺开发和控制中，还需关注产品相关杂质（如二硫键错配杂质）对最终 ADC 产品的安全性和有效性等方面的影响。对于裸抗溶液组分的开发，除了需要确保裸抗本身的稳定性之外，还需要考虑与后续偶联工艺的兼容性，避免对后续 ADC 生产（包括偶联和制剂等）造成影响；若对后续 ADC 生产有影响，需在偶联前进行缓冲液置换等操作，以减少对后续工艺的影响。

3. ADC 原液

ADC 原液生产工艺的开发，可基于 ICH Q8 质量源于设计的理念，进行工艺设计和开发工作。ADC 原液的生产工艺通常包括抗体修饰（如适用）、偶联反应和 ADC 纯化等步骤。

抗体修饰部分根据采用的偶联技术不同可能各不相同，抗体修饰的主要目的是在抗体上引入可供反应的活性化学基团，如通过还原剂打开抗体二硫键产生活性自由巯基；也可通过生物酶对糖链进行结构改造，在糖链上引入活性反应基团等。抗体修饰是决定 ADC 药物载药量和载药分布

的关键步骤，因此需要根据偶联技术和修饰反应特点，开发合适的生产工艺，选择和设定合理的中控策略。如修饰后裸抗需要纯化的，应引入合理的纯化工艺；如在修饰过程中的试剂有引入外源病毒因子风险的，其纯化工艺应充分考虑外源病毒因子的去除，并参考 ICH Q5A 开展病毒清除研究；如修饰后裸抗按中间体管理的，还应制定合理的中间体质量标准并开展相应的稳定性研究，设定有效期等。

偶联反应相对于抗体修饰步骤而言，有多个比较相似的技术平台。通常是利用快速的化学反应或酶促反应将小分子偶联在修饰后的裸抗的活性位点上，或者利用化学反应和酶促反应的特异性直接将小分子偶联至裸抗的特定位点上。在此过程中，必须考虑裸抗、连接子和有效载荷的不同物理和化学特性。如抗体在缓冲水溶液中更稳定，而大多数小分子是疏水性的，因此通常会使用有机溶剂（如二甲基亚砜、二甲基乙酰胺、乙腈等）辅助提高小分子在水溶液中的溶解性，以提高偶联反应的效率，但有机溶剂的使用可能会导致裸抗的不稳定。偶联反应需特别关注有机溶剂的选择，小分子的投料比例、pH、温度、裸抗浓度等参数，控制聚体和非特异性偶联的产生。考虑到 ADC 产品的高异质性，建议关注偶联工艺中抗体二硫键的还原位点和还原比例（如适用）、偶联位点和结合数量的控制、有效载荷的分布、杂质的偶联情况等，从而确定合理的工

艺参数。定点偶联应基于其定点偶联原理，关注可能的非目标位点偶联发生概率及其他副反应情况。如涉及到酶催化的反应，还应关注酶催化剂引入的安全性风险及其在 ADC 原液中的残留风险。若偶联反应中出现过量投料的操作，需开展相应的工艺研究，并结合下游工艺进行风险评估。若涉及多步偶联反应，需关注影响各步偶联效率的参数（如投料比等），避免因偶联效率不高或投料不足产生高比例空载连接子偶联抗体、药物抗体偶联比（Drug-to-Antibody Ratio, DAR）偏低或游离有效载荷残留偏高等问题。对于双载荷 ADC 产品，偶联工艺更为复杂，还需在偶联过程中关注两种载荷的 DAR 值是否达到目标值，同时还应关注目标位点和非目标位点的偶联情况；若涉及过量投料，还需关注对药物载量分布和两种载荷 DAR 值控制的影响。

纯化的主要目的是去除生产工艺中所引入的工艺相关杂质和产生的产品相关杂质。工艺相关杂质主要包括残留的修饰用试剂（如还原剂等）、催化剂、反应酶、有机溶剂等；产品相关杂质主要为生产过程中所产生的聚体、片段、以及游离小分子及其衍生物、副反应产物等。有些生产工艺还可能通过纯化手段调整 ADC 药物的 DAR 值和载药分布。因此，应根据纯化的目的选择纯化手段和技术，并对生产过程中可能引入或产生的杂质进行全面评估以确定纯化效果。

4. ADC 制剂

ADC 产品剂型和处方的选择，需根据 ADC 产品的复杂性和特殊性进行剂型和处方的开发。由于 ADC 在溶液储存条件下容易发生降解、聚集等，应开展充分的研究选择合适的剂型。目前一般选择冻干制剂，为提高临床用药的便利性和安全性，基于对裸抗、小分子稳定性的不断研究与优化，开发 ADC 液体剂型也是 ADC 制剂的研究方向。

ADC 处方开发应基于对裸抗、有效载荷、连接子和 ADC 的理化性质的深入理解，科学设计处方开发策略，采用合适的方法（如设计空间等），兼顾考虑裸抗、小分子的稳定性，确定合适的制剂处方，以保持 ADC 原液和制剂的稳定。例如疏水性的小分子药物与亲水性的抗体偶联可能会引起 ADC 的聚集或其他物理化学性质不稳定，因此 ADC 产品通常需要选择合适的表面活性剂的类型和浓度，来减少因不均一性以及疏水性带来的聚集、降解等风险。

基于制剂的处方开发确定辅料的种类、用量和质量标准。辅料需符合《中国药典》通则“生物制品生产用原材料及辅料的质量控制”的相关要求。若使用新型辅料，应提交全面的研究资料，在缺乏人体安全性研究数据支持的情况下，需参照《新药用辅料非临床安全性评价指导原则》进行研究。

ADC 制剂生产工艺一般包括原液解冻、除菌过滤、无

菌灌装、冻干（如适用）等步骤。根据研究情况确定生产规模和批量，明确批次的定义，关注上下游规模的匹配性等。由于 ADC 产品的异质性高、工艺复杂，生产过程中应尽量避免混批操作。如果制剂工艺过程涉及冻干工艺，还应对冻干工艺参数进行研究。

5. 工艺优化

工艺开发期间随着工艺步骤和参数的不断优化、规模放大、提高产品质量和稳定性等进行生产工艺变更，变更的实施应基于充分的可比性研究。可比性研究可参考 ICH Q5E 等相关指导原则的要求，基于变更的风险评估结果建立可比性研究方案或桥接计划。在生产工艺放大和转移过程中，需充分评估工艺放大和转移对产品关键质量属性的影响，根据药物开发的阶段，参考相关指导原则开展基于风险的可比性研究。对于 ADC 原液生产工艺放大和转移过程，需特别关注放大和转移前后关键质量属性如载药分布、DAR 值和偶联位点的可比性，杂质的去除能力、生物学活性等。早期开发阶段，由于生产工艺还在开发和优化，且相关知识、经验和批次数量有限，可基于有限批次的研究数据进行可比性研究，但应关注安全性和有效性相关的质量属性（如杂质特征、DAR 值、生物学活性等）。后期开发阶段，随着生产经验的积累和对产品工艺、质量的深入理解，应开展全面和充分的可比性研究，设定有足够生产

经验和临床数据支持的可接受标准。

ADC 产品生产工艺和供应链的复杂性对评估变更的潜在影响提出了新的挑战。裸抗、小分子的可比性评估还需考虑是否需要对比 ADC 原液/制剂进行可比性研究或生产规模的工艺确认，并关注裸抗、小分子变更产生的质量属性的差异是否会对后续偶联工艺或 ADC 关键质量属性产生不良影响。

(二) 生产工艺的确认与验证

工艺开发过程中，根据阶段性研究目的不同，需开展与阶段相适应的生产工艺确认或验证研究。工艺验证的目的是证明已经确定的生产工艺能够按照拟定的工艺条件持续稳定生产出符合预期标准的产品。通过工艺表征识别每个工艺参数对产品质量或工艺性能表现的影响关系，制定工艺控制策略，确保工艺的稳健性。商业化生产工艺确定后，应在上市前采用至少 3 批代表性的商业化生产工艺进行规范的工艺验证。ADC 产品的工艺验证应包括裸抗、小分子以及 ADC 原液和制剂的工艺验证。上市后，应在商业化生产过程中开展持续的工艺确认。

裸抗、小分子的工艺验证可参考《中国药典》及国内外相关指导原则的要求开展，关注工艺的稳健性和产品质量属性批间一致性等。

ADC 原液和制剂的工艺验证是在充分理解生产工艺与

关键质量属性关系的基础上，确定生产工艺的关键工艺参数和控制策略，采用代表性商业化生产工艺开展规范的工艺验证。验证内容应根据产品的生产工艺和风险评估确定，一般包括工艺的一致性、工艺参数的稳定性、产品相关杂质和工艺相关杂质的去除、产品质量属性批间一致性等。此外，验证研究可能还包括（但不限于）无菌工艺验证、除菌过滤验证、填料和膜包的使用寿命研究、运输验证、清洁验证、设施和设备验证等，生产过程中若存在中间产物的暂存，还应对中间产物的暂存条件和时限进行研究。由于 ADC 分子的结构特点，在开展确认和验证时需同时考察采用不同批次的裸抗和小分子进行偶联的策略。此外，根据产品特点，还需重点关注小分子相关杂质的去除效果和残留限度。

七、质量研究与质量标准

（一）质量研究

质量研究需选择代表性批次（如非临床研究批次、临床研究批次和/或商业化工艺批次等）和/或适当生产阶段的样品作为研究对象，采用先进的分析方法进行研究，研究项目需全面、充分，尽可能涵盖所有可能与产品安全性、有效性相关的项目。分析方法还应关注样品的处理和分析过程，避免样品预处理等分析过程对检测结果产生影响，导致分析结果无法代表样品的实际质量。

ADC 产品质量研究包括小分子部分、裸抗部分和 ADC 原液/制剂部分，原液和制剂之间若存在质量特性的差异，应分别取样进行研究。

1. 小分子部分

小分子的质量研究可参考化学药物相关指导原则开展，如《化学药物原料药制备和结构确证研究技术指导原则》、《化学药物杂质研究技术指导原则》、《化学药物残留溶剂研究技术指导原则》、《化学药物质量标准建立的规范化过程技术指导原则》、《手性药物质量控制研究技术指导原则》以及 ICH 等相关指导原则。

除常规的杂质分析外，还应结合杂质的结构等研究分析对后续工艺和终产品质量的影响。基于杂质的类型、结构等特点，结合去向（杂质是否参与偶联反应）研究和清除（杂质是否通过后续工艺被去除）研究等综合评估风险，制定合理的杂质控制策略。由于在偶联反应完成后，可偶联杂质极难量化且难以去除，需重点关注可偶联杂质的风险，应制定严格的控制标准，并提供合理的依据。不可偶联杂质可根据后续工艺清除能力等建立合理的控制策略，提供充足的研究数据。

2. 裸抗部分

裸抗质量研究可参考《中国药典》及相关指导原则，如《人用单克隆抗体质量控制技术指导原则》、ICH 等。原

则上，裸抗的质量研究要求和抗体药物的要求基本一致，此外，还需对可能影响偶联工艺的质量属性，如抗体的氧化水平等，进行充分的研究和适当的控制。对于通过基因工程技术在抗体特定位点引入半胱氨酸或包含活性反应基团的非天然氨基酸进行抗体修饰的，需对修饰位点进行确证。虽然抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用(Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity, ADCC)、补体依赖的细胞毒性作用(Complement Dependent Cytotoxicity, CDC)或抗体依赖的细胞吞噬作用(Antibody Dependent Cellular Phagocytosis, ADCP)一般不是 ADC 产品的主要作用机理，但可能也有一定的作用效力，应基于抗体的类型、结构改造等开展 Fc 功能研究，若对终产品的安全性或有效性产生影响，则应进行适当的控制。

3. ADC 原液/制剂

ADC 产品综合了抗体药物的靶向性和小分子药物的强效作用（如细胞毒性等）的优势，但二者的偶联也改变了彼此的物理化学特性，可能会引起药物分子结构、电荷等变化。因此，ADC 产品除了需要关注大分子蛋白的质量属性和小分子相关的质量属性外，还需要增加偶联引起的关键质量属性，如 DAR、载药分布、偶联位点（包括非目标偶联位点）、未偶联的裸抗、游离小分子及其衍生物（如降解产物和/或与淬灭剂的反应产物）、异质性等的研究和

控制。应采用适宜的、先进的分析技术，从结构确证、理化性质、生物学活性和杂质研究等角度进行全面的表征，并结合对裸抗的特性分析充分了解偶联前后的相关特性变化（如高级结构、翻译后修饰、分子大小变异体、电荷变异体、抗原结合活性、Fc 功能活性等），提供尽可能详尽的信息以反映终产品的质量属性。质量研究应至少包括以下范畴：

3.1 结构确证与理化特性

结构确证研究应结合 ADC 产品的结构特点，采用适宜的分析方法对一级结构、二级结构、高级结构、偶联位点及各位点偶联比例等进行表征。此外，开展 ADC 结构确证时需结合偶联反应的机理，采用适宜的分析方法，如肽图谱法和质谱分析法等，评估偶联工艺对裸抗的结构（如氨基酸序列覆盖率完整性、二硫键连接、热稳定性等）、糖基化修饰和其他翻译后修饰等的影响，尤其需关注包括互补决定区在内的影响产品功能的关键位点。

鉴于 ADC 分子结构的复杂性，基于产品特点可采用酶解、还原等方式结合液质联用或串联质谱法（LC-MS/MS）技术分步骤、分段降低 ADC 分子结构的复杂性，以提高分析方法的分辨率和结果的可靠性。对于修饰发生在半胱氨酸残基上或工艺过程中使用了还原剂的产品，还应考虑二硫键、三硫键、游离巯基和巯基氧化等情况。

抗体通常具有复杂的异质性（如电荷变异体、分子大小变异体、糖基化和其他翻译后修饰等），裸抗本身的异质性及偶联造成的异质性的叠加会导致 ADC 的复杂程度大幅增加。对于具有高度异质性的 ADC 产品（即使是利用定点偶联技术的产品），需采用具有足够分辨率的可靠分析方法进行全面表征，以阐明产品相关物质的多样性。研究中需根据有效载荷和连接子的化学性质、偶联方式以及产品的异质性等选择合适的特性分析方法。

3.1.1 一级结构和药物偶联位点

采用适当的分析方法，如肽图谱法和质谱分析法，评估偶联工艺对抗体一级结构、糖基化修饰和其他翻译后修饰等的影响。偶联位点可能影响 PK/PD 和分子稳定性，可通过酶解后采用 LC-MS 法对偶联位点进行鉴定和分析。

3.1.2 高级结构

高级结构是抗体类药物结构稳定、发挥作用的基础。高级结构表征方法一般包括圆二色谱（CD）、傅里叶变换红外光谱（FTIR）、荧光光谱、差示扫描量热法（DSC）、分析型超速离心（AUC）等。相对于常规抗体，ADC 的高级结构分析可能会因为偶联了化学药物而变得更加复杂。如偶联的有效载荷可能产生红外、紫外或荧光响应，则可能影响结果分析。偶联前后的高级结构若存在差异，在利用生物物理手段对比结构差异的同时，需重点关注差异对

生物学活性的影响。

3.1.3 DAR 值

DAR 值表示每个抗体分子上偶联的有效载荷的平均数量，直接与产品的有效性和安全性相关，是 ADC 产品的关键质量属性。根据连接子和有效载荷的化学性质、偶联方式以及 DAR 异质性高低选择适宜的分析手段，常用的方法包括紫外-可见分光光度法（UV）、疏水高效液相色谱法（HIC-HPLC）、反相高效液相色谱法（RP-HPLC）、MS 等。其中，小分子的疏水性和吸光度贡献可能会干扰 DAR 值的测定，在结果分析时应考虑。对于双载荷 ADC 产品，除了总的 DAR 值以外，还应对两种载荷的 DAR 值进行表征。

3.1.4 药物载量分布

ADC 产品，尤其是采用非定点偶联方式的 ADC 产品，通常是包含了不同位点偶联和连接不同数量有效载荷的 ADC 分子混合物。药物载药量分布表示偶联有不同数量的有效载荷的 ADC 分子分别占总的药物分子的比例。应采用适当方法，如 HIC-HPLC、RP-HPLC、毛细管电泳（CE）或 MS 等，鉴定不同载药量组分的分布。

3.1.5 分子大小变异体

分子大小变异体直接影响产品的有效性和安全性，与抗体药物相比，由于偶联了小分子可能引起 ADC 药物疏水

性增加、表面电荷分布改变以及热稳定性降低，导致 ADC 产品有更强的聚集倾向。应采用适宜的方法，如分子排阻色谱法（SEC-HPLC）、十二烷基磺酸钠-毛细管电泳（CE-SDS）、分子排阻-多角度静态光散射（SEC-MALS）、AUC、动态光散射（DLS）、粒子测量和 LC-MS 等多种方法对 ADC 的分子大小变异体进行研究。目前 SEC-HPLC 和 CE-SDS 是比较常用的放行检测方法。SEC 对聚集体分辨率较好，而 CE-SDS 法对片段分辨率较好，两种方法有一定的互补性。可基于产品结构特点等采用多种分析方法对分子大小变异体进行充分表征。

3.1.6 电荷变异体

常规抗体药物通常采用毛细管区带电泳（CZE）、离子交换色谱（IEX-HPLC）、毛细管等电聚焦电泳（CIEF）或全柱成像毛细管等电聚焦电泳（iCIEF）等方法研究电荷变异体。对于 ADC 产品，电荷变异体分析方法的开发需要结合产品特性，如小分子的特性（尤其是电荷）以及偶联位点的选择（如赖氨酸、链间巯基、半胱氨酸等）等，考虑小分子可能与分离介质产生非特异性的相互作用等情况，选择适宜的一种或多种方法进行分析。此外，偶联过程可能会消耗裸抗上的电荷（如赖氨酸偶联）或有效载荷-连接子引入电荷基团，部分小分子存在结构特殊性（如疏水性强、不同结构间动态转化等），导致单一的分析方法可能

无法全面地反映电荷异质性。应在充分理解分析方法深层原理的基础上，科学解读分析结果，必要时可采用其他分析方法进行补充分析，如采用肽图谱法分析样品不同的离子交换收集组分，间接评估偶联对抗体本身电荷异质性的影响等。对于双载荷的 ADC 产品，电荷异质性的复杂程度和检测难度可能更高，可采用 iCIEF 或其他分析方法监测电荷异质性的批间一致性。

3.2 生物学活性

生物学活性是反映产品质量和临床有效性的重要指标。可基于产品特点和作用机制等，建立可反映体内药效机制的生物学活性分析方法，用于产品的功能活性研究。ADC 产品的主要作用机制是通过裸抗与靶抗原结合，在靶细胞内或细胞外释放有效载荷并发挥其生物学活性功能。应采用适当的分析方法（如 ELISA、表面等离子体共振法或生物层干涉法等）评估与目标抗原的结合活性。选择合适的表达目标抗原的细胞株开发基于细胞的生物学活性方法。生物学活性应能体现 ADC 的特异性杀伤活性。若 Fc 介导的效应子功能（ADCC, CDC, ADCP 等）可能影响药物的有效性，或表现出效应子结合功能相关的非特异性毒性，则应进行相应的生物学活性评估。

3.3 杂质分析

3.3.1 产品相关杂质

产品相关杂质是指生产或储存过程中产生的非预期产物。ADC 产品潜在的产品相关杂质一般包括聚集体、片段、二硫键错配变异体（如适用）、未偶联裸抗、杂质偶联 ADC（如适用）、游离小分子及其衍生物（来源可能是工艺添加或降解产物）、副反应产物等。为控制产品质量，建议采用适宜的方法对各类产品相关杂质进行分离和/或鉴定，参考 ICH Q6B 的理念评估其安全性风险，根据评估结果综合考虑杂质的控制策略。

未偶联裸抗与 ADC 终产品竞争靶细胞结合并最终减少输送到靶细胞的药物量，可能直接影响产品的有效性，且未偶联裸抗含量的变化可能会导致疗效发生变化。在放行检测和稳定性研究中，应依据偶联的有效载荷的性质（如电荷、疏水性）选择合适的分析方法对未偶联裸抗的百分含量进行监测。

3.3.2 工艺相关杂质

工艺相关杂质是指生产过程中引入的杂质，应结合生产用原材料、生产工艺等鉴定潜在的工艺相关杂质并根据情况进行定性和/或定量研究，评估杂质残留的安全性风险，必要时将具有潜在安全性风险的杂质残留纳入质量标准进行控制。可能包括有机溶剂、生物酶（如适用）、元素杂质、偶联试剂、亚硝胺（如适用）等。

3.3.3 污染物

污染物系指生产过程中引入的颗粒物、微生物或其相关组分（如细菌内毒素等）。生产过程中需采取措施避免引入污染物并对其进行相应的控制，同时原液和制剂的放行检测和稳定性研究中对必要的指标进行相应的监测。

3.4 含量

采用适宜的物理、化学或免疫学方法测定含量。如采用分光光度法在 280 nm 处测定，还应考察小分子、缓冲液组分等对 280 nm 处吸光度测量值的潜在贡献，如发现明显干扰，在供试品浓度计算中应纳入适当的校正因子或引入其他定量方法。

3.5 其他特性

其他特性分析需结合产品类型及剂型进行控制，可能包括性状、可见异物、异常毒性（如适用）、不溶性微粒、pH 值、渗透压摩尔浓度、装量、复溶时间（如适用）、水分（如适用）、辅料含量等。

（二）质量标准

质量标准作为产品质量控制的重要组成部分，一般基于产品特点和质量研究而确定。鉴于 ADC 产品复杂的结构和特殊的质量属性，质量控制策略应基于对裸抗和小分子的开发经验、质量研究、对终产品关键质量属性的理解以及对工艺认识的不断积累，结合非临床和临床数据，通过风险评估手段综合制定。

裸抗、小分子部分的控制策略与单独作为抗体药物或化学原料药的常规控制策略基本一致，不再赘述。

1. 检验项目

质量标准中的检验项目通常是在充分的质量研究基础上确定的，在保证产品安全有效方面有重要影响的质量属性。ADC 原液和制剂一般包括性状（如外观、颜色）、鉴别、DAR 值和药物载量分布、纯度和杂质、生物学活性、含量、一般检项等，特殊剂型需根据剂型特点增加额外的检项。具体检验项目还应基于产品类型、生产工艺、稳定性和风险评估等确定。

2. 标准限度

质量标准的标准限度通常基于安全性和有效性的考虑，其制定应有合理的依据，一般需考虑产品特点、非临床和临床试验暴露情况、各个阶段研究用批次数据、批间一致性研究数据、稳定性研究等，还应考虑所使用的分析方法的灵敏度和变异度等。

3. 分析方法

分析方法的开发和验证应遵循药品开发的一般方法学规律，随着经验积累和研究的不断深入逐步优化完善并验证，以适应各阶段的质量控制要求。基于具体产品建立的新方法应进行全面的验证；药典方法应进行适用性确认；若采用经修改的药典方法或药典替代方法，应进行对比研

究确认其合理性。基于不同研发阶段产品质量控制和对比研究的需要，临床试验开展前应完成安全性和生物学活性相关检项的分析方法的确认研究。上市申请前应完成全面的方法学验证，建议尽量在确证性临床试验开展前完成方法学的开发和验证，以确保确证性临床试验用样品与商业化生产产品的质量控制保持一致。研发期间若发生了方法学变更或转移，应开展相应的方法学桥接研究和方法学确认或验证。

4. 标准品/对照品

标准品/对照品的建立和制备可参照《中国药典》“生物制品国家标准物质制备和标定”的相关要求。建议采用代表性批次样品建立标准品/对照品，根据用途进行活性和含量等标定并开展相应的稳定性研究。

八、稳定性研究

稳定性研究是贯穿整个药品研发、上市以及上市后质量研究的重要内容，是产品有效期或复验期设定的依据，为产品的生产工艺、制剂处方、包装材料等方面提供依据，同时也是产品质量标准制定的基础。

稳定性研究可参照《生物制品稳定性研究技术指导原则（试行）》和 ICH Q5C、ICH Q1A 等指导原则的相关要求开展，并应符合《中国药典》中“生物制品贮藏和运输规程”相关规定的要求。ADC 产品的稳定性研究对象一般

包括裸抗、小分子、ADC 原液和 ADC 制剂，研究方案应结合产品自身的特点、生产工艺、临床用药方案等情况设计，一般包括长期试验、加速试验、影响因素试验、运输稳定性试验和使用中稳定性试验等，研究条件应充分考虑生产、贮存、运输和使用中可能遇到的情况。考察项目应全面、合理，根据产品剂型的特点，选择对产品的安全性、有效性等有重要指示意义的项目，检测方法应具备指示能力，能够充分检测出产品质量的变化特征。

有效载荷和连接子通常具有活性较高的基团，除长期和加速稳定性研究外，还应根据产品特点开展高温、高湿、光照、氧化等条件下的稳定性研究，关注小分子在生产、运输以及贮藏中的稳定性。

ADC 原液和制剂由于分子结构的特殊性和复杂性，其蛋白不稳定性风险较高，因此在稳定性研究过程中应密切关注制剂中蛋白的聚集和颗粒形成、有效载荷脱落以及输液袋等容器对药物的吸附。

九、包装及容器密封系统

包装及容器密封系统一般包括用于储存裸抗、小分子、ADC 原液和制剂的包装容器。ADC 产品的疏水性可能会导致对密封容器的非特异性粘附，应基于产品特性选择合适的包装容器。为避免储存容器或密封系统对产品的质量产生非预期影响，可参考国内外相关指导原则对容器和密封

系统开展相容性研究，并对密封系统开展密封性研究。对于具有特殊功能的包装材料（如遮光材料），应对其功能进行研究和验证。

十、名词解释

裸抗：靶向特异性抗原的抗体或抗体片段，如单克隆抗体（包括单抗、双特异性抗体或多特异性抗体、纳米抗体等）、抗体融合蛋白、Fab/ScFv 片段等。

有效载荷（payload）：ADC 药物到达肿瘤细胞、肿瘤微环境或其他靶细胞后发挥作用的小分子，目前最常见的是小分子细胞毒药物。

小分子：在 ADC 产品中，与裸抗连接的连接子、有效载荷或有效载荷-连接子，如裸抗首先与连接子反应后，进一步与有效载荷反应形成 ADC 原液，则连接子、有效载荷均为小分子。若首先合成有效载荷-连接子复合物，然后进一步与裸抗反应获得 ADC 原液，则有效载荷-连接子为小分子。

十一、参考文献

- [1] 国家药典委员会. 《中华人民共和国药典》（2020年版）. 2020.
- [2] CDE. 人用单克隆抗体质量控制技术指导原则. 2003.
- [3] CDE. 生物制品稳定性研究技术指导原则. 2015.
- [4] CDE. 化学药物原料药制备和结构确证研究的技术指导原则. 2005.
- [5] CDE. 化学药物杂质研究技术指导原则. 2005.
- [6] CDE. 化学药物残留溶剂研究技术指导原则. 2005.
- [7] CDE. 化学药物质量标准建立的规范化过程技术指导原则. 2005.
- [8] CDE. 手性药物质量控制研究技术指导原则. 2012.
- [9] ICH Q5A. Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin. 1999.
- [10] ICH Q5E. Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in Their Manufacturing Processes. 2004.
- [11] ICH Q5C. Stability Testing of Biotechnological and Biological Products. 1996.
- [12] ICH Q6B. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products. 1999.

[13] ICH Q7. Good Manufacturing Practice for Active Pharmaceutical Ingredients. 2000.

[14] ICH Q8. Pharmaceutical Development. 2009.

[15] ICH Q9. Quality Risk Management. 2005.

[16] ICH Q11. Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological Entities). 2011.