



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201332565 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 08 月 16 日

(21)申請案號：101104952

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 02 月 15 日

(51)Int. Cl. : A61K38/16 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(71)申請人：國立交通大學(中華民國) NATIONAL CHIAO TUNG UNIVERSITY (TW)

新竹市大學路 1001 號

(72)發明人：廖光文 LIAO, KUANG WEN (TW)；何姝怡 HO, SHU YI (TW)

(74)代理人：吳冠賜；林志鴻；蘇建太

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：6 共 36 頁

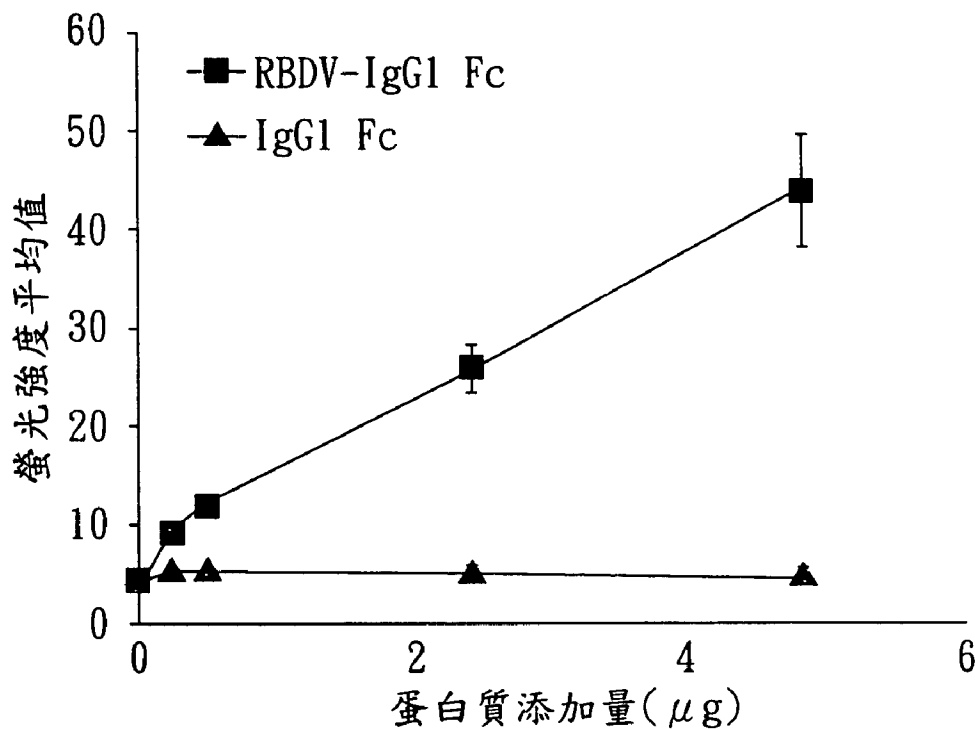
(54)名稱

抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物

PHARMACEUTICAL CARRIER AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR INHIBITING ANGIOGENESIS

(57)摘要

本發明係有關於一種抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物，其中抑制血管新生之醫藥載體係包括：一藥物載體；以及一多肽，連接於藥物載體表面，多肽包括血管內皮生長因子之受器結合區塊。



發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 101104952 A61K 38/16 (2006.01)
※申請日： 101. 2. 15 ※IPC分類： A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物

Pharmaceutical carrier and pharmaceutical composition for inhibiting angiogenesis

二、中文發明摘要：

本發明係有關於一種抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物，其中抑制血管新生之醫藥載體係包括：一藥物載體；以及一多肽，連接於藥物載體表面，多肽包括血管內皮生長因子之受器結合區塊。

三、英文發明摘要：

A pharmaceutical carrier and a pharmaceutical composition for inhibiting angiogenesis are disclosed. The pharmaceutical carrier of the present invention comprises: a drug carrier; and a polypeptide connecting on a surface of the drug carrier, wherein the polypeptide comprises receptor binding domain of vascular endothelial growth factor.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：圖 (1) 。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物，尤指一種可標靶腫瘤細胞並抑制腫瘤血管新生之醫藥載體及醫藥組成物。

【先前技術】

血管新生為生理上常見的現象之一，如傷口癒合、女性經期、胎兒生長發育等，均可觀察到血管新生的現象。

然而，血管新生卻也是腫瘤發展的重要關鍵之一。當腫瘤形成後，癌細胞本身或是附近的組織，會分泌出多種促進血管新生的物質；且癌細胞本身亦透過新生的血管取得養分。除此之外，癌細胞亦可透過新生的血管進入到循環系統，並在新的器官上成長新的血管，以發展出轉移腫瘤。因此，癌細胞的轉移也與血管新生有密切關係。

有鑒於癌症發展與血管新生息息相關，目前已有各種治療方式企圖抑制血管新生發展，以達到抑制腫瘤生長目的。如癌思停(Avastin)之單株抗體藥物，則為目前以標靶方式抑制血管新生之藥物之一。然而，此藥物卻面臨可能中途被代謝掉、或是到達不需要組織而造成浪費等問題。

由於血管內皮生長因子為目前已知促進血管新生的物質之一，因此各種研究均企圖抑制血管內皮生長因子作用或生成，以達到抑制血管新生之目的，甚至達到抑制癌細胞生長之目的。

因此，若能發展出一種針對血管內皮生長因子所設計之藥物或治療方法，特別是具有標靶效果之藥物或治療方法，則可達到抑制腫瘤生長並治療癌症之功效。

【發明內容】

本發明之主要目的係在提供一種抑制血管新生之醫藥載體，俾能辨識血管內皮生長因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)，以達到於特定位置釋放藥物之目的。

本發明之另一目的係在提供一種抑制血管新生之醫藥組成物，其具有標靶血管內皮生長因子之特性，而可達到治療與血管新生相關疾病之功效。

為達成上述目的，本發明之抑制血管新生之醫藥載體，包括：一藥物載體；一多肽，連接於藥物載體表面，且多肽係包括一血管內皮生長因子之受器結合區塊(Receptor binding domain of VEGF, RBDV)。

此外，本發明之抑制血管新生之醫藥組成物，包括：一醫藥載體及一活性成分。其中，醫藥載體包括：一藥物載體；以及一多肽，連接於藥物載體表面，多肽包括血管內皮生長因子之受器結合區塊；而活性成分係包含於醫藥載體中。

於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，藥物載體之表面係連接有一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之多肽，故透過此多肽可標靶至血管內皮生長因子，特別是腫瘤細胞上之血管內皮生長因子，以進行

後續之治療。較佳為，此多肽係以吸附方式，特別是以靜電吸附方式，連接於藥物載體表面。

於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，多肽對藥物載體之重量比係為0.002-1.0；較佳為多肽對藥物載體之重量比係為0.02-0.6；更佳為多肽對藥物載體之重量比係為0.1-0.4，即更佳為每50 μg 之藥物載體可攜帶5-20 μg 之多肽。

於本發明之抑制血管新生之醫藥組成物中，活性成分可為一抗癌藥物、或一核酸分子。其中，核酸分子可為具有治療功效之基因，如一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列。

此外，於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，醫藥載體可更包括一核酸分子，其係連接於藥物載體表面，且該核酸分子包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列。其中，核酸分子可以化學連接或其他方式連接於藥物載體表面，較佳係以吸附方式，特別是以靜電吸附方式，連接於藥物載體表面。

於本發明之藥物載體表面更連接有一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之核酸分子之情況下，或者是於本發明之醫藥組成物之活性成分為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之核酸分子之情況下，當醫藥載體或醫藥組成物透過包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之多肽辨識到細胞後，包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之核酸分子可進入細胞

內，進而於細胞內表現對應此核酸分子之蛋白質或多肽。透過於細胞內表現血管內皮生長因子之受器結合區塊之蛋白質或多肽，可做為一血管內皮生長因子之競爭物，與血管內皮生長因子相互競爭血管內皮生長因子受器(包括受器1及受器2)，而可達到抑制血管新生之目的。由於腫瘤細胞生長與血管新生有重大關係，故本發明之醫藥載體除了可抑制血管新生外，若標靶至腫瘤細胞之血管內皮生長因子時，更可達到抑制腫瘤生長或治療癌症之功效。

於本發明之藥物載體表面更連接有一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之核酸分子之情況下，核酸分子對藥物載體之重量比係為0.01-1.0；較佳為核酸分子對藥物載體之重量比係為0.1-0.6；更佳為核酸分子對藥物載體之重量比係為0.2-0.3，即更佳為每50 μg 之藥物載體可攜帶10-15 μg 之核酸分子。

此外，於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，多肽可更包括一免疫球蛋白片段，且該免疫球蛋白片段係與該血管內皮生長因子之受器結合區塊連接。

再者，於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，核酸分子可為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之質體、或一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列、及免疫球蛋白片段之核酸序列之質體。較佳為，核酸分子為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列、及免疫球蛋白片段之核酸序列

之質體；且更佳係設計成可使血管內皮生長因子之受器結合區塊與免疫球蛋白片段一起表現，而形成一融合蛋白。

於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，上述之血管內皮生長因子之受器結合區塊較佳為血管內皮生長因子A之受器結合區塊；且更佳為人類之血管內皮生長因子A之受器結合區塊。

此外，於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，上述之免疫球蛋白片段較佳為免疫球蛋白G (immunoglobulin G1, IgG)之多肽片段，更佳為免疫球蛋白G之固定區域片段(constant region fragment, Fc)；最佳為人類免疫球蛋白G之固定區域片段。由於免疫球蛋白G，特別是其固定區域片段具有良好免疫特性，故可增強醫藥載體或醫藥組成物之癌症治療效果。

於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，藥物載體係選自由微脂體、微胞體、微米球、奈米顆粒、樹枝狀聚合物及其組合所組群組其中一者。較佳為，藥物載體係為微脂體。

由於不同物種之血管內皮生長因子之受器結合區塊亦有些許不同，因此本領域通常知識者可藉由序列比對(sequence alignment)，例如ClustalW或NCBI BLAST，了解不同物種血管內皮生長因子之受器結合區塊與本發明SEQ ID NO: 1之間的序列相似性。倘若各種物種血管內皮生長因子之受器結合區塊之序列中有性質類似的胺基酸變更，如精胺酸(arginine)與天門冬醯胺酸(asparagine)兩者之間的

互換，且不影響結合區塊與血管內皮生長因子之間作用的胺基酸變更，應皆屬於本發明的範疇。在上述前提下，與SEQ ID NO: 1之序列相似性(sequence similarity)達70%以上之蛋白質或多肽分子，應皆可以達到本發明的功效。較佳為，本發明之血管內皮生長因子之受器結合區塊之多肽之胺基酸序列具有與SEQ ID NO: 1序列之70-100%一致性(sequence identity)。較佳為，於本發明之抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物中，血管內皮生長因子之受器結合區塊之胺基酸序列較佳如SEQ ID NO: 1所示，核酸序列較佳如SEQ ID NO: 2所示。

於本發明中，所謂之「相似性」係指相似成分的百分比，除了完全相同的胺基酸殘基外，性質相近的胺基酸殘基都歸屬於相似胺基酸殘基，而所謂之「一致性」則指完全相同成分的百分比，即必須是完全相同的胺基酸殘基或核苷酸。

於本發明之醫藥組成物中，可更包括一醫藥上可接受之載體，如活性劑、輔劑、分散劑、潤濕劑、或懸浮劑。

上述載體必須為「可接受性」，即其必須與醫藥組成物中之活性藥物相容(較佳係能穩定活性藥物)，並且不能對被治療之試體造成傷害。於此所使用的「治療」一詞，係指將本發明之醫藥組成物，投予待檢測或待治療之主體，以期達到抑制、醫治、改善、改進、治癒、減輕、減緩、改變或影響血管新生或腫瘤生長之傾向。

依據藥物載體所攜帶之活性成分不同，而可達到治療不同血管新生疾病或癌症之功效。舉例而言，若藥物載體係搭載5-FU，則可用於治療大腸癌上。

本發明之醫藥載體及醫藥組成物可經由非口服、噴霧吸入、局部、經直腸、經鼻、舌下、陰道、或經由植入型藥盒(implanted reservoir)等方式投藥。於此使用之「非口服」(“parenteral”)係指皮下注射、皮內注射、靜脈內注射、肌肉內注射、關節腔內注射、動脈內注射、關節液內注射、胸腔內注射、脊髓內注射、疾病部位內注射、及顱內注射或注入技術。

【實施方式】

以下係藉由特定的具體實施例說明本發明之實施方式，熟習此技藝之人士可由本說明書所揭示之內容輕易地了解本發明之其他優點與功效。本發明亦可藉由其他不同的具體實施例加以施行或應用，本說明書中的各項細節亦可基於不同觀點與應用，在不悖離本發明之精神下進行各種修飾與變更。

製備例1-製備包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列及免疫球蛋白片段固定區域片段之核酸序列之質體(pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc)、及包含免疫球蛋白片段固定區域片段之核酸序列之質體(pAAV-MCS/ IgG1 Fc)

由人類上皮癌細胞A431萃取出RNA，以如SEQ ID NO: 3 (5'-TGG TGA GAG ATC TGG TTC CCG AAA-3')及SEQ

ID NO: 4 (5'-TTT CGG GAA CCA GAT CTC TCA CCA-3') 所示之引子，透過反轉錄聚合酶鏈反應(RT-PCR)取得血管內皮生長因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)之cDNA片段，並作為後續聚合酶鏈反應之模板。

而後，以分別含有 *Bam*HI 限切酶位點及 *Xho*I限切酶位點之引子，如 SEQ ID NO: 5所示之順向引子(5'-AGG ATC CAT GAA CTT TCT GCT GTC TTG G-3')及 SEQ ID NO: 6所示之逆向引子(5'-ACT CGA GTT AGA TCC GCA TAA TCT GCA TGG T-3')，進行聚合酶鏈反應(PCR)，以得到人類血管內皮生長因子之受器結合區塊(Receptor binding domain of VEGF, RBDV)之核酸序列，其對應於VEGF蛋白質為胺基酸序列1-109。

免疫球蛋白G之固定區域片段(constant region fragment, Fc) (IgG Fc)，則由載有Fc及IL-2序列之pcDNA3.1表現載體(Invitrogen, USA)中，使用如 SEQ ID NO: 7所示(5'-CGC ATC ATC ACC ATC ACC ATT GAA-3')之順向引子、及如 SEQ ID NO: 8所示(5'-AGC TTT CAA TGG TGA TGG TGA TGA TGC GGG CC-3')之反向引子，以聚合酶鏈反應取得。

上述之取得RBDV及IgG Fc核酸序列之聚合酶鏈反應之樣品配製係如下所述。取1 μ l之模板(50 ng/ μ l)、1 μ g之順向引子(10 mM)、1 μ g之反向引子(10 mM)、0.5 μ l之Pfu聚合酶、1 μ l之dNTP(25 mM)、5 μ l之PCR緩衝溶液，並添加去離子水至50 μ l。

而後，將聚合酶鏈反應之樣品於94 °C下反應30秒。接著，於54°C下進行引子煉合反應30秒，並於72°C下進行引子延長反應2分鐘，並重複引子鏈合反應及延長反應34次。最後，再於72°C下反應10分鐘，並於4°C下保存，則完成聚合酶鏈反應。

將PCR所得之RBDV片段，以*Bam*HI及*Xho*I限切酶進行切割，而後接合至IgG Fc之N端。將所得到之RBDV及IgG Fc融合片段，以*Bam*HI及*Apa*I限切酶進行切割，而後建構至pAAV-MCS載體上(Stratagene, USA)，且C端連接有聚組氨酸標籤。其中，聚組氨酸標籤之順向引子如SEQ ID NO: 7所示(5'-CGC ATC ATC ACC ATC ACC ATT GAA-3')，反向引子如SEQ ID NO: 8所示(5'-AGC TTT CAA TGG TGA TGG TGA TGA TGC GGG CC-3')。最後，以定序方式確認pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc序列正確性。

在此，更以含有聚組氨酸標籤之pAAV-MCS/IgG1 Fc之建構質體，以做為控制組。

製備例2-表現RBDV-IgG1 Fc及IgG1 Fc蛋白

將上述得到之pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc及pAAV-MCS/IgG1 Fc建構質體，分別轉殖到人腎小管上皮細胞系(HEK)293T細胞(其係取自台灣新竹食品工業發展研究所)，並於含有5%胎牛血清(fetal bovine serum qualified, FBS; Invitrogen)及1%青黴素-鏈黴素之兩性黴素B (PSA; Biological industries, NY, USA)之培養基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM; Invitrogen, Gaithersburg, MD, USA)，於37°C且含有5% CO₂下，培養48小時。

經破菌後，收集上清液，並以蛋白 G-瓊脂膠體 (protein G-Agarose, Upstate Inc., Lake Placid, NY, USA) 進行純化，再以鎳離子螯合組氨酸標籤親合性管柱 (nickel-charged His-Trap Hp affinity column, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA) 進行進一步純化。最後，以 Sephadex G-25 管柱 (Sephadex G-25 prepacked column, Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden) 將置換成磷酸鹽緩衝溶液 (PBS)，並以離心式過濾器 (Microcon Centrifugal Filter Unit, Millipore, Bedford, MA, USA) 進行濃縮。

製備例 3-製備微脂體 (LPPC)

在此，係依照先前發表文獻合成微脂體 (Yen-Ku Liu, et al., 2011. A Unique and Potent Protein Binding Nature of Liposome Containing Polyethylenimine and Polyethylene Glycol: A Nondisplaceable Property. *Biotechnology and Bioengineering.*)。簡而言之，係使用兩種脂類及兩種聚合物合成微脂體，其中兩種脂類分別為二油醯磷酯醯膽鹼 (1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DOPC) 及二月桂醯磷酯醯膽鹼 (1,2-dilauroyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DLPC) (均購自 Avanti Polar Lipids; Alabaster, AL)，而兩種聚合物則分別為聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG, MW 15000 及 8000) 及聚醚醯亞胺 (Polyetherimide, PEI, MW 25000)，磷脂類:PEG:PEI 之混合莫耳比例約為 13:5:5。

製備例 4-製備 DiO 標記之微脂體 (DiO-LPPC 複合物)

取100 μl 之製備例3所製得之微脂體及10 μl 之2.5 mM之DiO混合均勻，並靜置30分鐘。而後，加入1 ml之去離子水，並離心樣品以移除上清液。其中，DiO係為一螢光物質。

接著，以100 μl 之去離子水回溶沉澱物，則可製得本製備例之DiO標記之微脂體(DiO-LPPC複合物)。

試驗例1-測量RBDV-IgG1 Fc蛋白與DiO-LPPC複合物之標靶特性

取50 μg 之DiO-LPPC複合物，並與不同量(0、0.24、0.48、2.4、4.8 μg)之RBDV-IgG1 Fc蛋白或IgG1 Fc蛋白混合30分鐘。而後，將蛋白與DiO-LPPC所形成之複合物與B16/F10細胞反應，並以流式細胞儀測量DiO之螢光強度。其中，B16/F10細胞為可表現VEGFR-1及VEGFR-2之細胞。

結果係如圖1所示，其中X軸為蛋白添加量，而Y軸為DiO所放出之螢光強度。如圖所示，相較於IgG1 Fc蛋白與微脂體所形成之複合物，隨著蛋白添加量增加，RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體所形成之複合物可結合之細胞數量也隨之增加。此結果代表RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體所形成之複合物具有標靶細胞之能力，且係透過RBDV-IgG1 Fc蛋白標靶細胞上之VEGFR。

試驗例2-測量含有RBDV-IgG1 Fc核酸序列之質體於細胞內表現蛋白之特性

在此，係使用B16/F10細胞及Balb3T3細胞進行試驗，其中Balb3T3細胞係為不表現VEGFR之細胞。

以 pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc (pRBDV) 、 與 pAAV-MCS/IgG1 Fc (pIgG1 Fc) 感染 B16/F10 及 Balb3T3 細胞。使用與前述相同之培養基及培養方法，經 48 小時培養後，並於不同時間點取培養基，以 ELISA 進行分析。

ELISA 分析步驟係如下所述。首先，將組氨酸標籤抗體 (His-tag antibody) 塗佈在 96 孔盤中，並反應隔夜。接著，使用 PBST 清洗三次，並拍乾 96 孔盤內水分。而後，以脫脂奶粉固定反應 1 小時，再以 PBST 清洗三次，並拍乾 96 孔盤內水分。

將培養有以 pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc (pRBDV) 或 pAAV-MCS/IgG1 Fc (pIgG1 Fc) 感染 B16/F10 及 Balb3T3 細胞之培養基加入 96 孔盤內反應 1 小時，以使組氨酸標籤抗體辨識細胞所表現的蛋白；並以 PBST 清洗三次，並拍乾 96 孔盤內水分。

而後，加入抗人類 IgG HRP 抗體 (anti-human IgG HRP antibody)，並反應 1 小時；再以 PBST 清洗三次，並拍乾 96 孔盤內水分。接著，加入 TMB 緩衝溶液進行呈色 20 分鐘，再加入 1N HCl 終止反應，並使用 ELISA 測讀儀於 450 nm 波長下進行分析。

ELISA 分析結果係如圖 2 所示，其中 X 軸為培養時間，而 Y 軸為蛋白質表現濃度。於 B16/F10 細胞中，pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc 可穩定表現出 RBDV-IgG1 Fc 蛋白之表現；而於 Balb3T3 細胞中，則未見有蛋白之表現。此

結果代表，當以RBDV-IgG1 Fc感染可表現VEGFR之細胞時，可於細胞中表現RBDV-IgG1 Fc蛋白。

製備例5-製備攜帶有脂溶性藥物(DiI)之微脂體

取100 μ l之製備例3所製得之微脂體及10 μ l之10 mM之DiI混合均勻，並靜置30分鐘。而後，加入1 ml之去離子水，並離心樣品以移除上清液。其中，DiI係為一可放螢光之脂溶性藥物。

接著，以100 μ l之去離子水回溶沉澱物，則可製得本製備例之攜帶有脂溶性藥物(DiI)之微脂體。

試驗例3-RBDV-IgG1 Fc蛋白與LPPC複合物活體標靶腫瘤細胞試驗

取20 μ g之RBDV-IgG1 Fc蛋白與1mg之攜帶有DiI微脂體混合，以得到攜帶有DiI之RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體複合物。其中，DiI係為一可發紅色螢光之脂溶性藥物。

在此，係使用C57/BL6老鼠進行試驗。於老鼠之右側注射B16/F10細胞，於左側注射Balb3T3細胞。待腫瘤大小達50 mm³時，以靜脈注射方式施予RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體複合物。於注射後0、48、72小時，以Caliper IVIS影像系統(IVIS光譜)觀察老鼠中RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體複合物之分佈情形。在此，觀察DiI用之吸收波長為600 nm，放射波長為465 nm。

影像結果顯示，RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體結合後，可攜帶脂溶性藥物DiI至B16/F10細胞。此外，實驗結果亦

顯示，RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體之複合物，並不會標靶至其他器官，僅標靶至B16/F10細胞。

由此實驗結果顯示，RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體之複合物具有標靶癌細胞之能力，特別是可標靶至表現VEGFR細胞之能力；且更可利用微脂體攜帶藥物至目標位置。因此，當使用RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體之複合物做為一醫藥載體時，可透過RBDV-IgG1 Fc蛋白做為一標靶分子，並以微脂體做為一藥物載體以攜帶藥物，而達到治療癌症或血管新生相關疾病之功效。

試驗例4-RBDV-IgG1 Fc蛋白與LPPC複合物活體標靶腫瘤細胞試驗

取100 µg之可發紅光之DNA與1mg之微脂體混合，並再與20 µg之RBDV-IgG1 Fc蛋白混合，其中可發紅光之DNA係為pAsRed2-N1質體，其在CMV啟動子下可表現紅色螢光蛋白。

在此，係使用C57/BL6老鼠進行試驗。於老鼠之右側注射B16/F10細胞，於左側注射Balb3T3細胞。待腫瘤大小達50 mm³時，以靜脈注射方式施予攜帶有可發紅光DNA之RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體複合物。

於注射後0、2、3、6天，以Caliper IVIS影像系統(IVIS光譜)觀察老鼠中RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體複合物之分佈情形。在此，觀察pAsRed2-N1質體所表現之紅色螢光蛋白用之吸收波長為600 nm，放射波長為465 nm。

影像結果顯示，RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體結合後，可標靶至B16/F10細胞，且不會標靶至其他器官。

由此實驗結果顯示，RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體之複合物具有標靶癌細胞之能力；且更攜帶DNA至目標位置。因此，當使用RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體之複合物做為一醫藥載體時，可更攜帶DNA，而達到以基因療法或其他方式治療癌症或血管新生相關疾病之功效。

試驗例5-體內表現RBDV-IgG1 Fc蛋白

在此，係使用LPPC與RBDV-IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/RBDV蛋白)、LPPC與pAAV-MCS/IgG1 Fc質體及RBDV-IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/IgG1質體/RBDV蛋白)、LPPC與pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc及IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/RBDV質體/IgG1蛋白)、LPPC與pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc及RBDV-IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白)進行試驗，並以磷酸鹽緩衝溶液(PBS)做為控制組。其中，蛋白：質體：微脂體之混合比例為1 μ g:5 μ g:50 μ g。

將LPPC/RBDV蛋白、LPPC/IgG1質體/RBDV蛋白、LPPC/RBDV質體/IgG1蛋白、LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白PBS以靜脈注射方式注射至C57/BL6老鼠(6-8週大)，而後於注射後不同時間點收集老鼠血清，並以ELISA方式進行分析。

結果係如圖3所示，其中X軸為蛋白添加量，而Y軸為DiO所放出之螢光強度。如圖所示，帶有IgG1質體或RBDV

質體之複合物，即LPPC/IgG1質體/RBDV蛋白、LPPC/RBDV質體/IgG1蛋白與LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白，均可穩定表現出蛋白。特別是帶有RBDV質體之複合物，即LPPC/RBDV質體/IgG1蛋白與LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白，亦可穩定表現出RBDV-IgG1 Fc蛋白。

試驗例6-體內表現RBDV-IgG1 Fc蛋白抑制腫瘤生長功效

首先，以皮下注射方式，注射約 1×10^6 個B16/F10細胞(溶於PBS中)至C57/BL6老鼠(6-8週大)；當腫瘤大小達約 30 mm^3 時(腫瘤注射後第9天)，以靜脈注射方式注射與試驗例6相同之複合物，並以PBS做為控制組。

而後，於不同時間點量測腫瘤大小，結果係如圖4所示，其中X軸為注射腫瘤後之天數，Y軸為腫瘤體積大小。其中，當施打帶有RBDV質體之複合物時，即LPPC/RBDV質體/IgG1蛋白與LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白，可明顯抑制腫瘤生長；特別是當施打LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白時，腫瘤生長速度係大幅降低。

此結果表示，以微脂體攜帶含有RBDV核酸序列之質體時，因RBDV核酸序列之質體可於老鼠體內表現RBDV蛋白，故可達到抑制腫瘤生長之功效。此外，若微脂體更攜帶RBDV-IgG1 Fc蛋白，因可達到標靶腫瘤細胞之功效，故更可提升抑制腫瘤生長之效果。

試驗例7-體內表現RBDV-IgG1 Fc蛋白抑制腫瘤生長功效

本試驗例之實施方式係與試驗例6相同，除了於腫瘤大小達約 30 mm^3 時(腫瘤注射後第9天)，以靜脈注射方式注射

複合物、PBS或空的微脂體；並於腫瘤注射後第11天，再第二次施打複合物、PBS或空的微脂體。此外，當腫瘤大小達約2500 mm³時，則犧牲老鼠。

於本試驗例中，係使用LPPC與RBDV-IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/RBDV蛋白)、LPPC與IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/IgG1蛋白)、LPPC與pAAV-MCS/RBDV-IgG1 Fc及RBDV-IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白)、及LPPC與pAAV-MCS/IgG1 Fc質體及RBDV-IgG1 Fc蛋白之複合物(LPPC/IgG1質體/RBDV蛋白)。

結果係如圖5及圖6所示。如圖5所示，只有帶有RBDV質體之複合物，即LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白複合物可展現顯著的腫瘤生長抑制效果。此外，如圖6所示，只有施打帶有RBDV質體之複合物，即LPPC/RBDV質體/RBDV蛋白複合物，其老鼠存活率於40天內可達100%。

由圖5及圖6結果可知，透過於體內表現RBDV-IgG1蛋白，可展現顯著的腫瘤抑制效果，並同時提高存活率。

綜上所述，除了透過RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體之複合物上之RBDV-IgG1 Fc蛋白達到標靶癌細胞之功效外，更可透過微脂體攜帶可表現RBDV蛋白之DNA或質體。因此，當使用RBDV-IgG1 Fc蛋白、可表現RBDV蛋白之DNA或質體與微脂體之複合物做為一醫藥組成物時，藉由於細胞中表現RBDV蛋白，而可達到抑制血管新生、抑制腫瘤大小、提升癌症存活率之功效。

上述實施例僅係為了方便說明而舉例而已，本發明所主張之權利範圍自應以申請專利範圍所述為準，而非僅限於上述實施例。

【圖式簡單說明】

圖1係本發明一試驗例1之RBDV-IgG1 Fc蛋白與微脂體結合後標靶細胞特性結果圖。

圖2係本發明一試驗例2之含有RBDV-IgG1 Fc核酸序列之質體於細胞內表現蛋白之特性測量結果圖。

圖3係本發明一試驗例5之體內表現RBDV-IgG1 Fc蛋白之結果圖。

圖4係本發明一試驗例6之體內表現RBDV-IgG1 Fc蛋白抑制腫瘤生長之功效。

圖5係本發明一試驗例7之體內表現RBDV-IgG1 Fc蛋白抑制腫瘤生長之功效。

圖6係本發明一試驗例7之老鼠存活率統計圖。

【主要元件符號說明】

無。

序列表

- <110> 國立交通大學/National Chiao Tung University
- <120> 抑制血管新生之醫藥載體及醫藥組成物/Pharmaceutical carrier and pharmaceutical composition for inhibiting angiogenesis
- <130> S4957
- <160> 8
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> Artificial
- <220>
- <223> fusion protein containing the receptor binding domain of human VEGF-A and the constant region fragment of human IgG1
- <400> 1
- Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Ser Leu Ala Leu Leu Leu Tyr Leu His
1 5 10 15
- His Ala Lys Trp Ser Gln Ala Ala Pro Met Ala Glu Gly Gly Gly Gln
 20 25 30
- Asn His His Glu Val Val Lys Phe Met Asp Val Tyr Gln Arg Ser Tyr
 35 40 45
- Cys His Pro Ile Glu Thr Leu Val Asp Ile Phe Gln Glu Tyr Pro Asp
 50 55 60
- Glu Ile Glu Tyr Ile Phe Lys Pro Ser Cys Val Pro Leu Met Arg Cys
65 70 75 80
- Gly Gly Cys Cys Asn Asp Glu Gly Leu Glu Cys Val Pro Thr Glu Glu
 85 90 95

Ser Asn Ile Thr Met Gln Ile Met Arg Ile Ile Ser Ser Glu Pro Lys
 100 105 110

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
 115 120 125

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
 130 135 140

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
 145 150 155 160

Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
 165 170 175

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser
 180 185 190

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
 195 200 205

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
 210 215 220

Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
 225 230 235 240

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln
 245 250 255

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
 260 265 270

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 275 280 285

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
 290 295 300

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 305 310 315 320

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

325 330 335
 Leu Ser Pro Gly Lys Val Asp Glu Gly Pro His His His His His His
 340 345 350

<210> 2
 <211> 5700
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> cloned plasmid containing the receptor binding domain of human VEGF-A and the constant region fragment of human IgG1

<400> 2

```

cctgcaggca gctgcgcgct cgctcgctca ctgaggccgc ccgggcaaag cccgggcgtc      60
gggcgacctt tggtcgcccc gcctcagtga gcgagcgagc gcgcagagag ggagtggcca      120
actccatcac taggggttcc tgcggccgca cgcggtggagc tagttattaa tagtaatcaa      180
ttacggggtc attagttcat agcccatata tggagtcccg cgttacataa cttacggtaa      240
atggcccgcc tggctgaccg cccaacgacc cccgccatt gacgtcaata atgacgtatg      300
ttccatagt aacgtcaata gggactttcc attgacgtca atgggtggag tatttacggt      360
aaactgccca cttggcagta catcaagtgt atcatatgcc aagtacgccc cctattgacg      420
tcaatgacgg taaatggccc gcctggcatt atgccagta catgacctta tgggactttc      480
ctacttgga gtacatctac gtattagtca tcgctattac catggtgatg cggttttggc      540
agtacatcaa tgggcgtgga tagcggtttg actcacgggg atttccaagt ctccacccca      600
ttgacgtcaa tgggagtttg ttttgcacca aaatcaacgg gactttccaa aatgtcgtaa      660
caactccgcc ccattgacgc aaatgggcgg taggcgtgta cgggtgggagg tctatataag      720
cagagctcgt ttagtgaacc gtcagatcgc ctggagacgc catccacgct gttttgacct      780
ccatagaaga caccgggacc gatccagcct ccgcggattc gaatcccggc cgggaacggt      840

```


gcattggaac gcggattccc cgtgccaaga gtgacgtaag taccgcctat agagtctata 900
 ggcccacaaa aatgctttc ttcitttaat ataccttttt gtttatctta tttctaatac 960
 tttccctaata ctctttcttt cagggcaata atgatacaat gtatcatgcc tctttgcacc 1020
 attctaaaga ataacagtga taatttctgg gttaaggcaa tagcaatatt tctgcatata 1080
 aatatttctg catataaatt gtaactgatg taagaggitt catattgcta atagcagcta 1140
 caatccagct accattctgc ttttatttta tggttgggat aaggctggat tattctgagt 1200
 ccaagctagg cccttttgct aatcatgttc atacctctta tcttccctccc acagctcctg 1260
 ggcaacgtgc tggctctgtg gctggcccat cactttggca aagaattggg attcgaacat 1320
 cgattgaatt ccccggggat ccatgaactt tctgctgtct tgggtgcatt ggagccttgc 1380
 cttgctgctc tacctccacc atgccaagtg gtcccaggct gcacccatgg cagaaggagg 1440
 agggcagaat catcacgaag tggatgaagt catggatgtc tatcagcgca gctactgcca 1500
 tccaatcgag accctgggtg acatcttcca ggagtaccct gatgagatcg agtacatctt 1560
 caagccatcc tgtgtgcccc tgatgcatg cgggggctgc tgcaatgacg agggcctgga 1620
 gtgtgtgccc actgaggagt ccaacatcac catgcagatt atgcggatca tctcgagtga 1680
 gcccaaatct tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcaccg aactcctggg 1740
 gggaccgtca gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac 1800
 ccctgaggtc acatgcgtgg tggtaggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttaa 1860
 ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta 1920
 caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg 1980
 caaggagtac aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat 2040
 ctccaaagcc aaggggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc calcccggga 2100
 tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga 2160

catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc 2220
cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag 2280
gtggcagcag gggaacgtct tctcatgtc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta 2340
cacgcagaag agcctctccc tgtctccggg taaagtcgac gagggcccgc atcatcacca 2400
tcaccattga aagcttgcct cgagcagcgc tgctcgagag atctacgggt ggcatccctg 2460
tgaccctcc ccagtgcctc tcttggcctt ggaagtggc actccagtgc ccaccagcct 2520
tgtcctaata aaattaagtt gcatcatttt gtctgactag gtgtccttct ataataattat 2580
ggggtggagg ggggtggat ggagcaagg gcaagtggg aagacaacct gtagggcctg 2640
cggggtctat tgggaaccaa gctggagtgc agtggcacia tcttggctca ctgcaatctc 2700
cgctctctgg gttcaagcga ttctctgcc tcagcctccc gagttgttgg gattccaggc 2760
atgcatgacc aggctcagct aattttgtt tttttgtag agacggggtt tcaccatatt 2820
ggccaggctg gtctccaact cctaactca ggtgatctac ccaccttggc ctcccaaatt 2880
gctgggatta caggcgtgaa ccaactgtcc ctccctgtc ctctgattt ttaggtaac 2940
cacgtgcgga ccgagcggcc gcaggaacct ctagtgatgg agttggccac tccctctctg 3000
cgcgctcgtc cgctcactga ggccgggca ccaaaggtcg cccgacgccc gggetttgcc 3060
cgggcggcct cagtgagcga gcgagcgcgc agctgcctgc aggggcgcct gatgcggtat 3120
tttctctta cgcactctgtg cggtatttca caccgatac gtcaaagcaa ccatagtacg 3180
cgccctgtag cggcgcatta agcgcggcgg gtgtgggtgt tacgcgcagc gtgaccgcta 3240
cacttggcag cgccctagcg cccgctcctt tcgctttctt ccttccitt ctcgccagct 3300
tcgccggctt tccccgtcaa gctctaaatc gggggctccc tttagggttc cgatttagtg 3360
ctttacggca cctcgacccc aaaaaacttg atttgggtga tggttcacgt agtgggcat 3420

cgccctgata gacggttttt cgcccttga cgttggagtc cacgttcttt aatagtggac 3480
 tcttgttcca aactggaaca aactcaacc ctatctcggg ctattctttt gatttataag 3540
 ggattttgcc gatttcggcc tattggftaa aaaatgagct gatttaacaa aaatttaacg 3600
 cgaattttaa caaaatatta acgtttacaa ttttatggtg cactctcagt acaatctgct 3660
 ctgatgccgc atagttaagc cagccccgac acccgccaac acccgctgac gcgccctgac 3720
 gggcttgtct gctcccggca tccgcttaca gacaagctgt gaccgtctcc gggagctgca 3780
 tgtgtcagag gtttcaccg tcatcaccga aacgcgcgag acgaaagggc ctctgtgatac 3840
 gcctatTTTT ataggftaat gtcatgataa taatggtttc ttagacgtca ggtggcactt 3900
 ttcggggaaa tgtgcgcgga acccctattt gtttattttt ctaaatacat tcaaatatgt 3960
 atccgctcat gagacaataa ccctgataaa tgcitcaata atattgaaaa aggaagagta 4020
 tgagtattca acatttccgt gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg 4080
 tttttgctca cccagaaacg ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac 4140
 gagtgggtta catcgaactg gatctcaaca gcggttaagat ccttgagagt tttcgccccg 4200
 aagaacgttt tccaatgatg agcactttta aagtctctgt atgtggcgcg gtattatccc 4260
 gtattgacgc cgggcaagag caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg 4320
 ttgagtactc accagtcaca gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat 4380
 gcagtgtctc cataaccatg agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg 4440
 gaggaccgaa ggagctaacc gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg 4500
 atcgttggga accggagctg aatgaagcca taccaaagca cgagcgtgac accacgatgc 4560
 ctgtagcaat ggcaacaacg ttgcgcaaac tattiaactgg cgaactactt actctagctt 4620
 cccggcaaca attaatagac tggatggagg cggataaagt tgcaggacca ctctcgcgct 4680
 cggcccttcc ggctggctgg tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc 4740

gcggtatcat tgcagcactg gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca 4800
 cgacggggag tcaggcaact atggatgaac gaaatagaca gatcgcctgag ataggtgcct 4860
 cactgattaa gcattggtaa ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt 4920
 taaaacttca ttttlaattt aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga 4980
 ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca 5040
 aaggatcttc ttgagatcct tttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac 5100
 caccgctacc agcggtggtt tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg 5160
 taactggctt cagcagagcg cagataccaa aactgtcct tctagtgtag ccgtagttag 5220
 gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac 5280
 cagtggctgc tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt 5340
 taccggataa ggcgcagcgg tcgggctgaa cgggggggtc gtgcacacag cccagcttgg 5400
 agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcggccacgc 5460
 ttcccgaagg gagaaaggcg gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc 5520
 gcacgaggga gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc 5580
 acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa 5640
 acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt 5700

<210> 3
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthesized primer

<400> 3

tggtgagaga tctggttccc gaaa 24

<210> 4

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthesized primer

<400> 4

tttcgggaac cagatctctc acca 24

<210> 5

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthesized primer

<400> 5

aggatccatg aactttctgc tgtcttgg 28

<210> 6

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthesized primer

<400> 6

actcgagtta gatccgcata atctgcatgg t 31

<210> 7

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthesized primer

<400> 7

cgcatcatca ccatcaccat tga

24

<210> 8

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthesized primer

<400> 8

agctttcaat ggtgatggtg atgatgcggg cc

32

七、申請專利範圍：

1. 一種抑制血管新生之醫藥載體，包括：
一藥物載體；以及
一多肽，連接於該藥物載體表面，該多肽包括血管內皮生長因子之受器結合區塊。
2. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥載體，其中該血管內皮生長因子之受器結合區塊係為血管內皮生長因子A之受器結合區塊。
3. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥載體，其中該多肽更包括一免疫球蛋白片段，且該免疫球蛋白片段係與該血管內皮生長因子之受器結合區塊連接。
4. 如申請專利範圍第3項所述之醫藥載體，其中該免疫球蛋白片段係為免疫球蛋白G之固定區域片段。
5. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥載體，更包括一核酸分子，連接於該藥物載體表面，且該核酸分子包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列。
6. 如申請專利範圍第5項所述之醫藥載體，其中該核酸分子係為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之質體。
7. 如申請專利範圍第6項所述之醫藥載體，其中該核酸分子係為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列、及免疫球蛋白片段之核酸序列之質體。
8. 如申請專利範圍第7項所述之醫藥載體，其中該免疫球蛋白片段係為免疫球蛋白G之固定區域片段。

9. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥載體，其中該多肽係以吸附方式連接於該藥物載體表面。

10. 如申請專利範圍第5項所述之醫藥載體，其中該核酸分子係以吸附方式連接於該藥物載體表面。

11. 如申請專利範圍第1項所述之醫藥載體，其中該藥物載體係選自由微脂體、微胞體、微米球、奈米顆粒、樹枝狀聚合物及其組合所組群組其中一者。

12. 一種抑制血管新生之醫藥組成物，包括：

一醫藥載體，包括：一藥物載體；以及一多肽，連接於該藥物載體表面，該多肽包括血管內皮生長因子之受器結合區塊；以及

一活性成分，包含於該醫藥載體中。

13. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該血管內皮生長因子之受器結合區塊係為血管內皮生長因子A之受器結合區塊。

14. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該多肽更包括一免疫球蛋白片段，且該免疫球蛋白片段係與該血管內皮生長因子之受器結合區塊連接。

15. 如申請專利範圍第14項所述之醫藥組成物，其中該免疫球蛋白片段係為免疫球蛋白G之固定區域片段。

16. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該醫藥載體更包括一核酸分子，該核酸分子連接於該藥物載體表面，且該核酸分子包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列。

17. 如申請專利範圍第16項所述之醫藥組成物，其中該核酸分子係為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之質體。

18. 如申請專利範圍第17項所述之醫藥組成物，其中該核酸分子係為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列、及免疫球蛋白片段之核酸序列之質體。

19. 如申請專利範圍第18項所述之醫藥組成物，其中該免疫球蛋白片段係為免疫球蛋白G之固定區域片段。

20. 如申請專利範圍第16項所述之醫藥組成物，其中該核酸分子係以吸附方式連接於該藥物載體表面。

21. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該活性成分係為一抗癌藥物、或一核酸分子，其中該核酸分子包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列。

22. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該藥物載體係選自由微脂體、微胞體、微米球、奈米顆粒、樹枝狀聚合物及其組合所組群組其中一者。

八、圖式 (請見下頁)：

17. 如申請專利範圍第16項所述之醫藥組成物，其中該核酸分子係為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列之質體。

18. 如申請專利範圍第17項所述之醫藥組成物，其中該核酸分子係為一包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列、及免疫球蛋白片段之核酸序列之質體。

19. 如申請專利範圍第18項所述之醫藥組成物，其中該免疫球蛋白片段係為免疫球蛋白G之固定區域片段。

20. 如申請專利範圍第16項所述之醫藥組成物，其中該核酸分子係以吸附方式連接於該藥物載體表面。

21. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該活性成分係為一抗癌藥物、或一核酸分子，其中該核酸分子包括血管內皮生長因子之受器結合區塊之核酸序列。

22. 如申請專利範圍第12項所述之醫藥組成物，其中該藥物載體係選自由微脂體、微胞體、微米球、奈米顆粒、樹枝狀聚合物及其組合所組群組其中一者。

八、圖式 (請見下頁)：

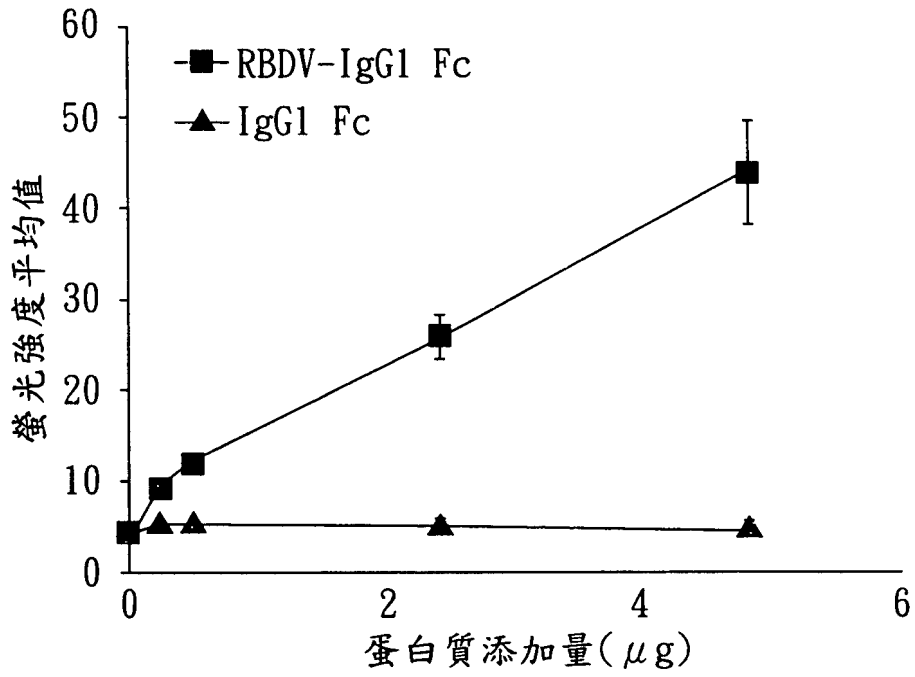


圖1

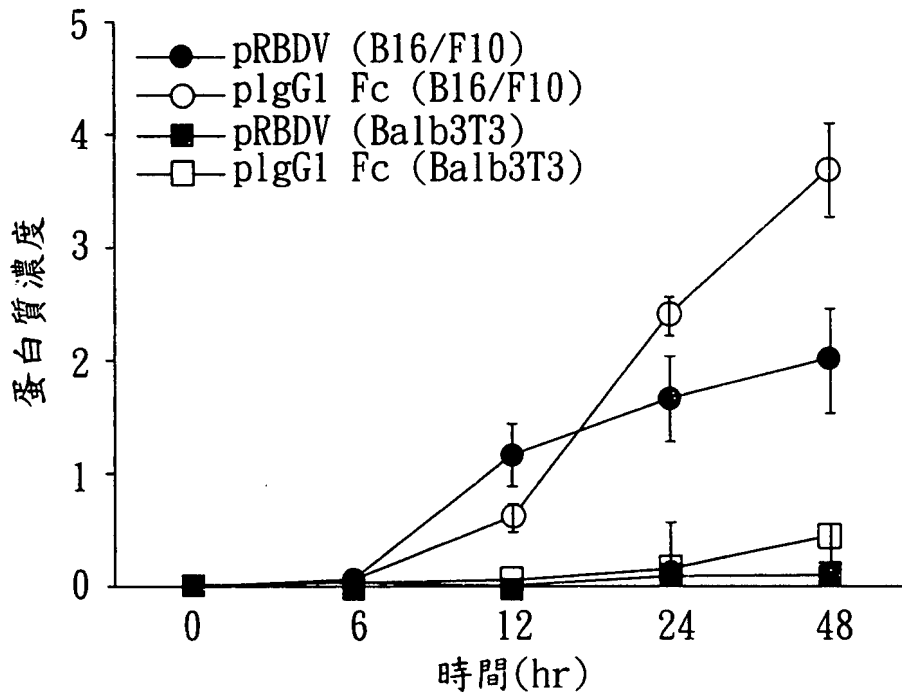


圖2

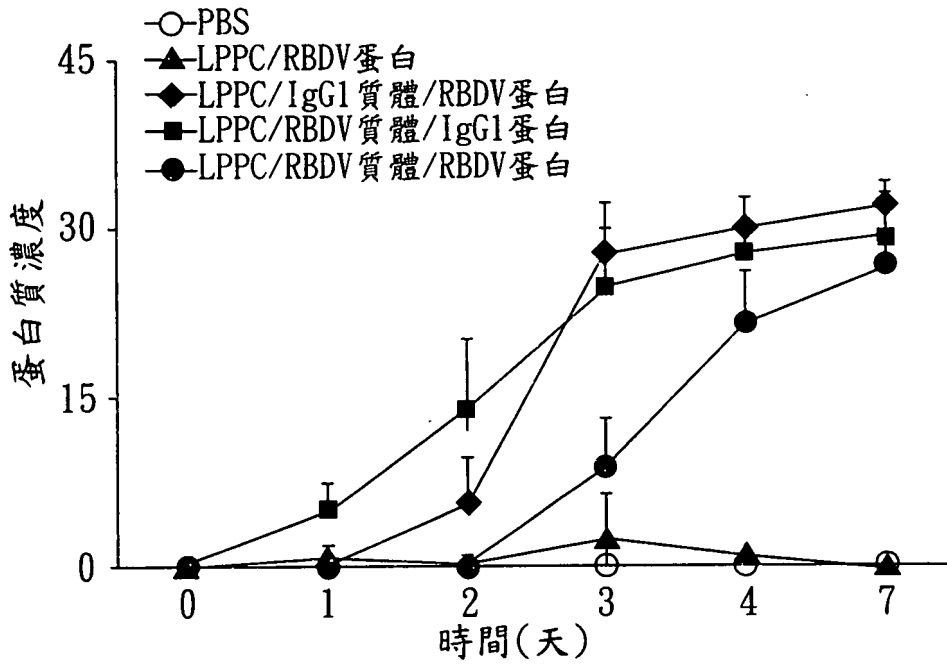


圖3

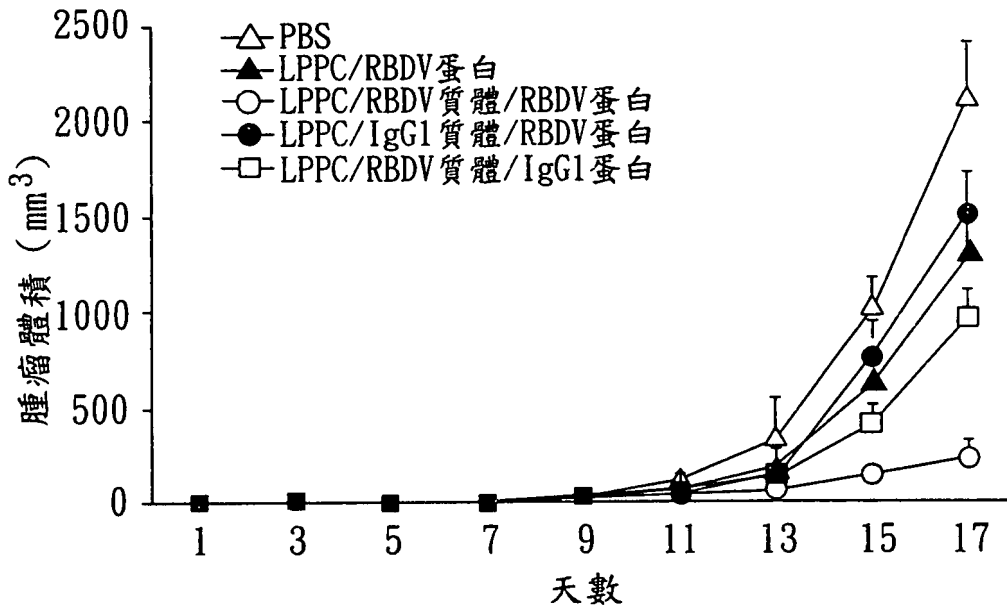


圖4

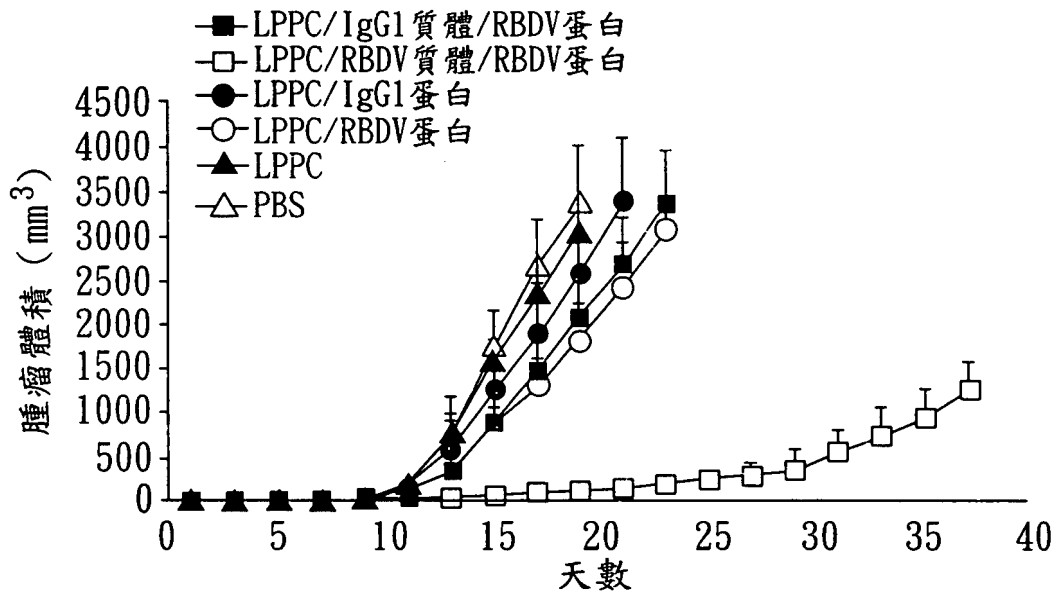


圖5

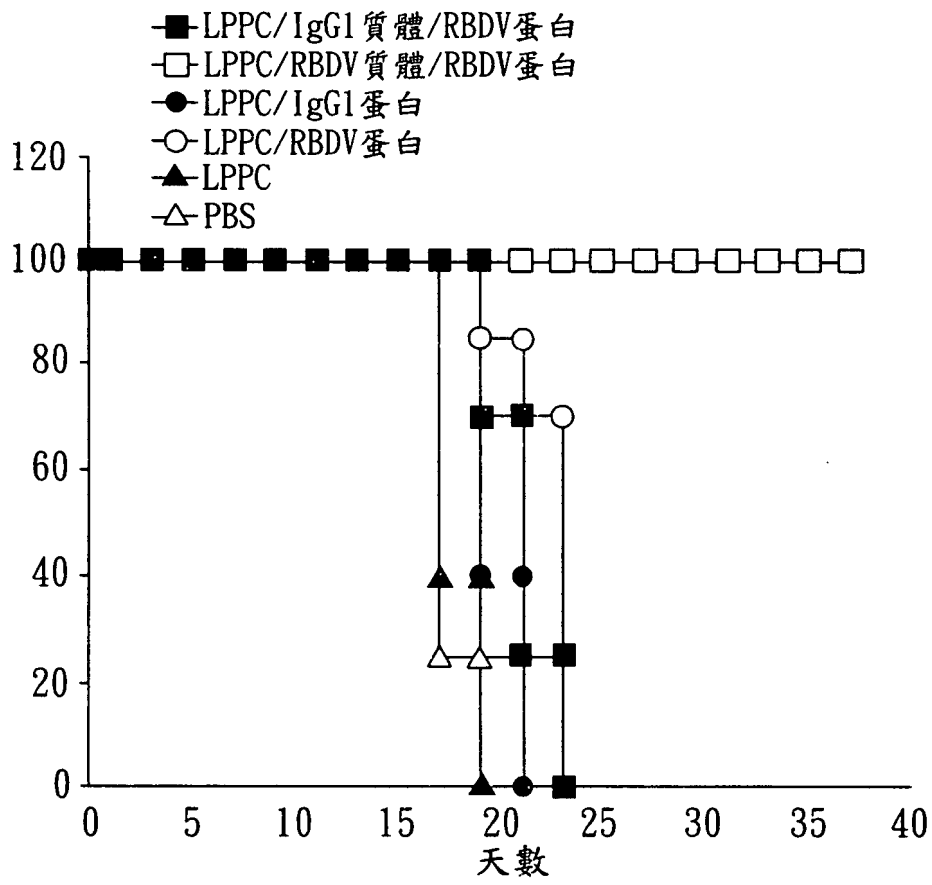


圖6