

申請日期: 92-9-5	IPC分類
申請案號: 92124568	A61K38/21

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

200410709

一、發明名稱	中文	唾液酸-干擾素及肝癌治療
	英文	ASIALO-INTERFERONS AND THE TREATMENT OF LIVER CANCER
二、發明人 (共2人)	姓名 (中文)	1. 尼可拉斯 P. 巴克 2. 丹尼爾 K. 伯多斯吉
	姓名 (英文)	1. Nicholas P. BARKER 2. Daniel K. PODOLSKY
	國籍 (中英文)	1. 英國 GB 2. 美國 US
	住居所 (中文)	1. 美國麻薩諸塞州01772, 南自治市鎮, 依斯特布魯克, 農場巷10號 2. 美國麻薩諸塞02481, 衛斯里坡艾德蒙路157號
	住居所 (英文)	1. 2.
三、申請人 (共1人)	名稱或姓名 (中文)	1. 綜合醫院股份有限公司
	名稱或姓名 (英文)	1. The General Hospital Corporation
	國籍 (中英文)	1. 美國 US
	住居所 (營業所) (中文)	1. 美國麻薩諸塞州, 波士頓福瑞特街55號 (本地址與前向貴局申請者相同)
	住居所 (營業所) (英文)	1.
	代表人 (中文)	1. 大衛J. 葛雷斯
	代表人 (英文)	1. DAVID J. GLASS



10x4-5x56-PE(N)37-huimeow.prd

一、本案已向

國家(地區)申請專利

申請日期

案號

主張專利法第二十四條第一項優先權

美國 US

2002/09/05

60/408,265

有

二、☐主張專利法第二十五條之一第一項優先權：

申請案號：

無

日期：

三、主張本案係符合專利法第二十條第一項☐第一款但書或☐第二款但書規定之期間

日期：

四、☐有關微生物已寄存於國外：

寄存國家：

寄存機構：

無

寄存日期：

寄存號碼：

☐有關微生物已寄存於國內(本局所指定之寄存機構)：

寄存機構：

寄存日期：

無

寄存號碼：

☐熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

五、發明說明 (1)

[發明所屬之技術領域]

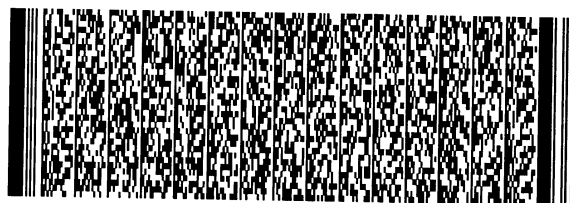
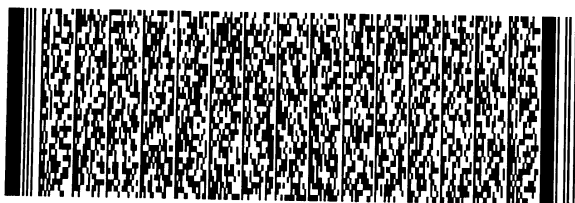
本發明係關於肝癌的治療。

[先前技術]

當異常的肝細胞進行不受控制的生長會發生初級肝癌。與其他許多型態的肝癌相反，罹患並死於肝癌的人數正在增加。許多病人罹患慢性肝病者，包括肝硬化及肝炎，具有較高風險發展成為肝癌。在美國，初級肝癌的罹病率在1975~1995年間增加了71%，且被診斷為肝癌的人數每年持續在增加。美國癌症學會估計在2002年美國有16600件初級肝癌及膽管癌會被診斷出，且14100個美國人會因死於該疾病。

在孩童及成人最普遍的初級肝癌形式為肝細胞癌，佔了所有肝癌的80~90%。數種明確的肝細胞癌臨床型態包括瀰漫性(diffuse-type)肝細胞癌、發熱型(febrile-type)肝細胞癌及膽汁鬱積性(cholestatic)肝細胞癌。

對大部分的肝癌來說，預後皆不佳。目前的治療法對肝癌治療上僅具有有限的效果。雖然，干擾素已成功的被使用於治療其他型式的癌症，例如髮狀細胞白血病、慢性骨髓增生性白血病、及黑色素瘤，但癌症之硬腫瘤對干擾素的治療較不敏感，這可能是因為干擾素可從血液中迅速清除的原因。此外，干擾素在用於癌症治療所需劑量時常易導致不利副作用及毒性，因此，需要開發治療藥劑以預防或治療肝癌。



五、發明說明 (2)

[發明 內 容]

(發 明 之 概 要)

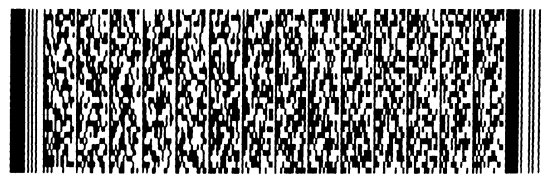
本發明之一型態係提供一種治療肝癌病人的方法，係利用投予一有效量之藥學組合物，其中含有哺乳類唾液酸-干擾素。於某些較佳具體例，肝癌會表現唾液酸-糖蛋白受體。於大多數較佳具體例，肝會大量表現唾液酸-糖蛋白受體。

於本發明之另一型態，係提供一種治療肝癌病人的方法，係利用表現唾液酸-糖蛋白受體，步驟為(a)測試可表現唾液酸-糖蛋白受體之肝癌，及(b)對病人投予有效量組合物，其中含有哺乳類唾液酸-干擾素。於一具體例中，肝癌的測試係於組織樣本上進行，該組織樣本係取自病人的生檢樣本。於另一具體例，唾液酸-糖蛋白受體被大量表現且肝癌的測試係使用非侵入性影像技術。

適於上述方法之一治療的肝癌包括，例如，瀰漫性肝細胞癌、發熱型肝細胞癌及膽汁鬱積性肝細胞癌、肝母細胞瘤、肝樣腺癌及肝局灶性結節性增生。於該等方法的具體例，唾液酸-干擾素為人類唾液酸-干擾素。適當的唾液酸-干擾素包含唾液酸-干擾素- α 、- β 、- γ 。

於其他具體例的方法尚包含第2抗癌治療法。適當的抗癌治療法包括例如，手術介入(即，腫瘤切除)、化學治療及雷射治療。

本發明之治療法亦可用於治療轉移性肝癌。適用於治



五、發明說明 (3)

療的轉移性肝癌包括，如，轉移性前列腺癌、轉移性直腸結腸癌、轉移性乳癌、轉移性肺癌、轉移性脾臟癌、轉移性黑色素瘤及轉移性白血病及淋巴瘤。

"干擾素"意指一群高度同源品系蛋白質、稱為干擾素(interferon)者，其具有抑制病毒增殖及細胞增生及調控免疫反應的作用，且大致與干擾素- α 、- β 、- γ 或其生物上活性片段為相同。用以評估干擾素生物活性的方法是周知的(如Monkarsh et al., Anal. Biochem. 247:434-440, 1997; Grace et al., J. Interferon Cytokine Res. 21:1103-1115, 2001; Bailon et al., Bioconj. Chem. 12:195-202, 2001; Pepinsky et al., J. Pharmacol. Exp. Therap. 297:1059-66, 2001)。人類干擾素可依細胞來源及分子結構分組為3類：干擾素- α (白血球)、干擾素- β (纖維母細胞)、干擾素- γ (淋巴細胞)。

"干擾素- α "意指一蛋白質，其包含的胺基酸序列與干擾素- $\alpha 2$ 成熟多肽(登錄號:P01563之胺基酸24-188;序列識別號:1)或其生物上活性片段為相同。故，干擾素- α 包括干擾素- $\alpha 2$ 前驅物多肽(登錄號:P01563;序列識別號:1)及保留有成熟干擾素- α 生物活性(即，抗增生活性)的片段。本定義尚包含干擾素- $\alpha 2$ 之變異體，包括，例如干擾素- $\alpha 2b$ (序列識別號:1之R46K突變體)及干擾素- $\alpha 2c$ (序列識別號:1之R57H突變體)。干擾素- $\alpha 2b$ 為一氧-連結的糖蛋白。干擾素- $\alpha 14c$ 為一氮-連結的糖蛋白，其在

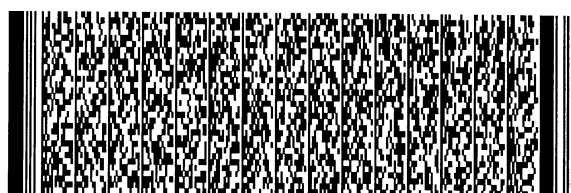
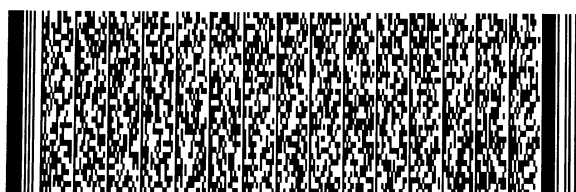


五、發明說明 (4)

Asn-72處被糖化。天然的干擾素已有市售品，名稱有衛飛隆(wellferon, Glaxo-SmithKline)、歐飛隆(Alferon, Interferon)、蘇米飛隆(Sumiferon, Sumitomo)及摩提飛隆(Multifeon, Viragen)。非糖化干擾素- α 亦有市售品，例如重組干擾素- $\alpha 2a$ ，名稱為羅飛隆(Roferon® -A, Roche)、重組干擾素- $\alpha 2b$ ，名稱為因特隆(Intron® -A, Schering Plough)及重組干擾素- $\alpha 2c$ ，名稱為貝洛佛阿法2(Berofor-alpha 2, Boehringer Ingelheim)。重組相同干擾素- $\alpha 1$ 商品名有因飛金(infergen, Amgen)。當然，在使用本發明方法及組合物前，任何非糖化的干擾素皆需以具末端半乳糖殘基之寡糖糖化。

"干擾素- β "意指一蛋白質，其包含的胺基酸序列與干擾素- β 成熟多肽(登錄號:P01574之胺基酸22-187;序列識別號:2)或其生物上活性片段為相同。故，干擾素- β 除未包含單一肽類之干擾素- β 蛋白質，尚包括包含單一肽類之干擾素- β 前驅物多肽(登錄號:P01574;序列識別號:2)及有干擾素- β 生物活性(即，抗增生活性)的片段。干擾素- β 為一糖蛋白，其在成熟干擾素- β 蛋白質之Asn-80處被糖化。重組型之干擾素- β 已被開發並已市售化。干擾素- $\beta 1a$ 商品名有阿福尼克司(Avonex®, Biogen)及尼比福(Rebif®, Serono)。干擾素- $\beta 1b$ 商品名有比他習隆(Betaseron, Berlex)。

"干擾素- γ "意指一蛋白質，其包含的胺基酸序列與



五、發明說明 (5)

干擾素- γ 成熟多肽(登錄號:P01579之胺基酸21-166;序列識別號:3)或其生物上活性片段為相同。故,干擾素- γ 除未包含單一肽類之干擾素- γ 蛋白質,尚包括包含單一肽類之干擾素- γ 前驅物多肽(登錄號:P01579;序列識別號:3)及有干擾素- γ 生物活性(即,抗增生活性)的片段。干擾素- γ Asn-48處及二元體Asn120處被糖化。干擾素- γ 市售商品名有阿丁母因(Actimmune®, Intermune)。

"唾液酸-干擾素"意指一糖化之干擾素,其缺乏天然糖化干擾素中所具有的末端唾液酸基。末端唾液酸殘基之移除使潛在的半乳糖基露出來。該末端半乳糖基可被唾液酸糖蛋白受體辨識。較佳的情形為唾液酸-干擾素包括天然干擾素中所具有之碳水化合物基團至少50%、70%、80%、90%或甚至95%。更佳情形為,唾液酸干擾素僅缺乏末端的唾液酸殘基。X可利用由糖化干擾素,例如干擾素- α 、- β 或- γ 移除一或多個唾液酸基團來製造。移除可以用例如,輕微的水解或以純化的神經胺基酶處理天然的糖化甘擾素,如干擾素- α 、- β 或- γ 。對含有多於一個糖鏈之干擾素,可以利用特異性神經胺基酶(唾液酸酶)進行選擇性去唾液酸基化。本定義特別排除完全去糖化的干擾素,包括典型由原核細胞所產生的干擾素及真核生物所生產的並被酵素性或化學性去糖化的干擾素。當然,因移除唾液酸的目的為創造在寡糖鏈上具有至少一個末端半乳糖殘基的糖化干擾素,故末端半乳糖殘基可利用任何其他適當方法設計,包括例如將寡糖以共價方式附著到去糖化的



五、發明說明 (6)

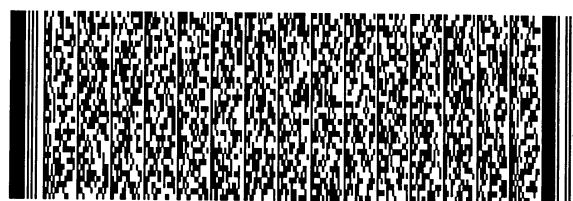
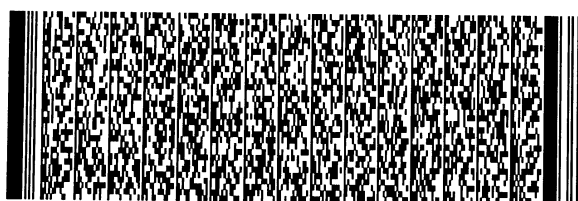
干擾素上。

"抗癌治療法"意指用於部分或完全抑制腫瘤增生的任何醫療程序或處理。典型上，抗癌治療法包括手術程序，其係由病人移除某些或全部的腫瘤細胞(例如，肝切除)、雷射治療及化學治療。可以與本發明之唾液酸-干擾素併用之特別有用抗癌化學治療類別包括例如，烷化劑、抗新陳代謝劑、亞硝基脲及植物鹼。

"肝癌"意指肝的組織或細胞(例如，肝細胞歷經異常之不受控制增生的疾病。肝癌包括，但不限定於，肝細胞癌，例如，瀰漫性肝細胞癌、發熱型肝細胞癌及膽汁鬱積性肝細胞癌、肝母細胞瘤、肝樣腺癌及肝局灶性結節性增生。

有表現唾液酸-糖蛋白受體的肝癌病人適於以唾液酸-干擾素治療；該等病人可利用該領域標準技術的方法診斷(例如Burgess et al., Hepatology 15:702-706, 1992; Hirose et al., Biochem. And Biophys. Research Comm. 287:675-681, 2001; Hyodo et al., Liver 13:80-5, 1993; Trere et al., Br. J. Cancer 81:404-8, 1999)。

"唾液酸-糖蛋白受體表現性肝癌"意指具有可表現可檢測程度唾液酸-糖蛋白受體蛋白質(登錄號:NP_001662或P07307)或功能同等蛋白質之腫瘤細胞的任何肝癌。腫瘤可藉任何適當之活體內(in vivo)、活體外(ex vivo)或體外(in vitro)技術用於表現肝細胞唾液酸-糖蛋白受體。



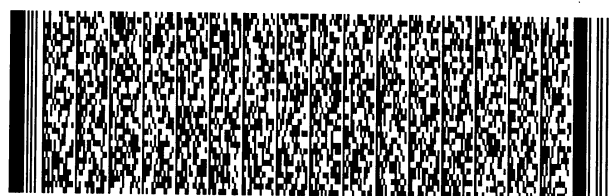
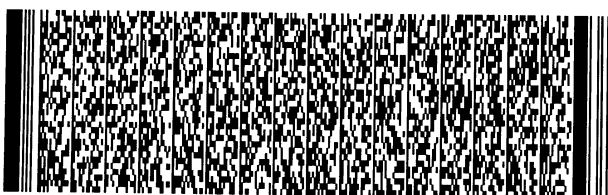
五、發明說明 (7)

例如，於生檢或手術切除時由病人身上取出的細胞可利用標準免疫組織化學法、北方或西方墨點技術或ELISA(酵素連結免疫吸附法)鑑定唾液酸-糖蛋白受體之表現。唾液酸-糖蛋白受體是熟練的技術人員所周知的(如，Spiess et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 82:6465-6469, 1985; Spiess et al., J. Biol. Chem. 260:1979-1982, 1985; Terer et al., Br. J. Cancer, 81:404-8, 1999)。

"大體純的"意指已被由天然與其伴隨之成分分離之一核酸、多肽或其他分子。典型上，當多肽以重量計至少有60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%不含有天然上與其伴隨之蛋白質及天然產生的有機分子，可以稱為大體為純的。例如，一大體為純的多肽可由天然來源萃取得到、由使重組核酸表現於正常情況下不會表現該蛋白質的細胞而得到，或利用化學合成得到。

"大體相同"意指一多肽或核酸與一參考胺基酸或核酸顯示至少75%的相同度，但較佳為85%，更佳為90%，更佳為95%或甚至99%。對多肽而言，比對序列之長度通常至少為20個胺基酸，較佳為至少30個胺基酸，更佳為至少40個胺基酸，最佳為50個胺基酸。對核酸而言，比對序列之長度通常至少為60個胺基酸，較佳為至少90個胺基酸，更佳為至少120個胺基酸。

序列同一性典型上係以序列分析軟體測量(例如，遺傳電腦群之序列分析軟體包(Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group),



五、發明說明 (8)

威斯康辛大學生物科技中心，麥迪遜，大學路1710，WI 53705，BLAST，BESTFIT，GAP 或PILEUP/PRETTYBOX 程式)。該種程式利用指定各種取代、刪除及/或其他修飾之同源度以比對相同或相似的序列。

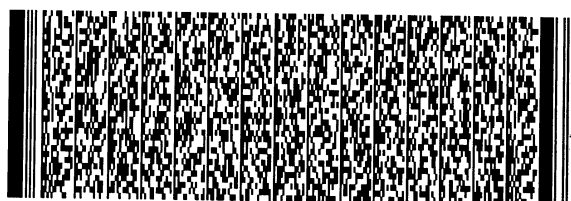
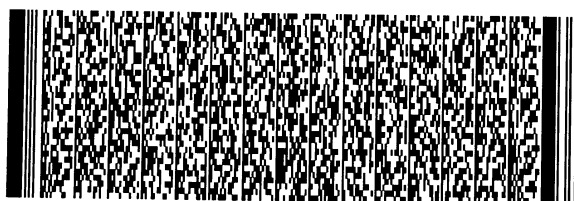
"有效量"意指依本發明，抑制體內腫瘤細胞生長所需之單獨或組合之化合物量。用以執行本發明以治療腫瘤(即，癌症)之活性化合物有效量與投予方式、年齡、體重及主體之一般健康情況有關。照料之醫師或獸醫可決定恰當量及劑量療法。用以治療肝癌之唾液酸-干擾素有效量少則為每次劑量0.005、0.01、0.02、0.025、0.05、0.075、0.1、0.133mg，多則為每次劑量0.15、0.399、0.5、0.57、0.6、0.7、0.8、1.0、1.25、1.5、2.0或2.5mg。此劑量可以每天投予1次，每2天投予1次、3天、4天、7天、14天或21天投予一次。治療肝癌所投予之唾液酸-干擾素量係以唾液酸-干擾素的活性為準。此量係足以有效減低細胞增生或使腫瘤變小。

"片段"意指與參考蛋白質或核酸大體相同之一部分蛋白質或核酸，其保留參考蛋白質或核酸之生物活性(例如，抗增生活性)的至少50%、75%、80%、90%或95%或甚至99%。

本發明之其他特性及優點將由詳細敘述及申請專利範圍中顯明。

(詳細敘述)

腫瘤肝細胞時常會表現唾液酸-糖蛋白受體及一或多



五、發明說明 (9)

個其他的干擾素受體。唾液酸-干擾素- α 、- β 或- γ 可用於比熟悉該領域者所使用之人類干擾素天然型以相似或更少的劑量下有效治療肝癌。腫瘤肝細胞包含兩個唾液酸-干擾素的結合位，一為唾液酸-糖蛋白受體，一為干擾素受體。比起天然型干擾素，唾液酸-干擾素可在相同或更低劑量下得到同等或更佳的效力；且，毒性及不利的副作用可減少。

唾液酸-糖蛋白受體

唾液酸-糖蛋白受體為一穿膜蛋白質，幾乎僅在肝細胞以高密度表現(50000-500000位/細胞)，其調節缺乏末端唾液酸殘基之胞外糖蛋白的結合及內化。唾液酸-糖蛋白受體為一低親和性受體，其對於配體的親和性依配體上存在的半乳糖叢集數而不同(Lee et al., J. Biol. Chem. 258:199-202, 1983)。該受體對具有2個半乳糖殘基叢集(雙觸角型)之配體親和性較低($K_D \sim 10^{-6}$)於具有3個半乳糖殘基叢集(三觸角型)之配體($K_D \sim 10^{-8} \sim 10^{-8}$)。

唾液酸-糖蛋白受體之表現在許多肝細胞癌中會增高。Eisenberg等人(J. Hepatol., 13:305-309, 1991)曾證實健康肝每個細胞具有140000+/-65000個唾液酸-糖蛋白結合位，但在罹患纖維化、肝硬化、肝細胞癌的病肝，每個細胞結合位增加到300000+/-1250000(即，受體為大量表現)。Trere等人證實80%之分化良好肝細胞癌(一級及二級癌)及20%分化不佳之肝細胞癌(第三級及第四級)將唾液酸-糖蛋白質受體表現於其細胞膜上。用以辨別癌細胞



五、發明說明 (10)

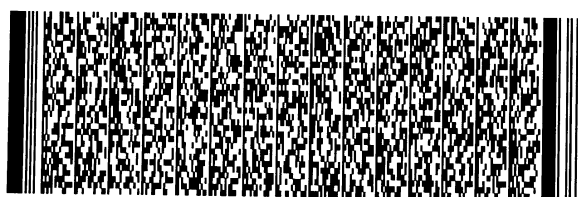
上是否存在唾液酸-糖蛋白受體的方法是熟悉技術者周知的(如Hyodo et al., Liver 13:80-5, 1993 Trere et al., Br. J. Cancer 81:404-8, 1999)。Shuke 等人(Shuke et al., J. Nucl. Med. 44:475-82, 2003)敘述了一種用於以單一光子發射同軸X光斷層照相法對局部肝唾液酸-糖蛋白受體量進行非侵入性功能定位的方法。

干擾素之肝傳遞

將唾液酸基團由任何天然的干擾素移除將會暴露出末端半乳糖殘基(第1圖),並產生一唾液酸-糖蛋白受體的辨識位,使唾液酸-干擾素得以選擇性瞄準肝細胞。此對於罹病肝特別有用,因為唾液酸-糖蛋白受體結合位在罹病的肝會增加。唾液酸基團的移除對唾液酸-干擾素提供了一些重要的治療益處,使其比天然干擾素為佳。首先,唾液酸-干擾素會選擇性瞄準肝臟。第二,唾液酸-干擾素比起天然干擾素或結合干擾素為小,故可以較為有效的穿透肝小口。第三,與唾液酸-糖蛋白受體結合及受體複合體的內化似乎可增加唾液酸-干擾素活化胞內干擾素受體池的能力。最後,唾液酸-干擾素瞄準唾液酸-糖蛋白質受體似乎可以增加唾液酸-干擾素在細胞表面局部的濃度,因而增加唾液酸-干擾素結合至干擾素受體的機會。

細胞表面干擾素受體之結合

透過結合至唾液酸-糖蛋白質受體,會增加唾液酸-干擾素在肝細胞表面的局部濃度,因而增加肝停留時間及增加唾液酸-干擾素- α 、- β 或- γ 與干擾素 α/β 受體或干



五、發明說明 (11)

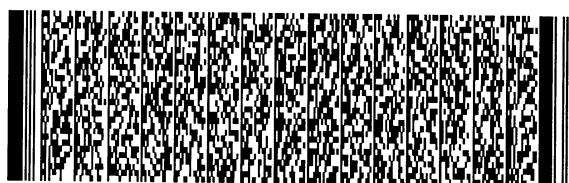
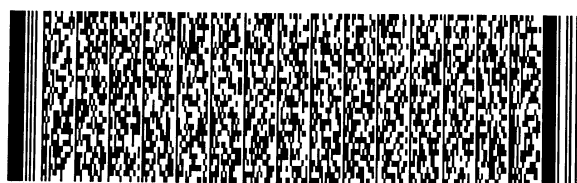
擾素 γ 受體作用的機會。高親和性之干擾素受體 α / β ($K_D \sim 10^{-12} \sim 10^{-31}$)，例如，係以低密度於肝細胞存在 (100~5000 位/細胞)。因為唾液酸-糖蛋白質受體對於唾液酸-干擾素之親和性低於干擾素受體，故唾液酸-干擾素可以有效的由較多唾液酸-糖蛋白質受體處轉移到較少之干擾素受體處。唾液酸-糖蛋白質受體對於配體的親和性依配體上存在的半乳糖叢集數而不同 (Lee et al., J. Biol. Chem. 258:199-202, 1983)

唾液酸-糖蛋白質受體對雙觸角型之配體親和性較低 ($K_D \sim 10^{-6}$) 於三觸角型之配體 ($K_D \sim 10^{-8} \sim 10^{-8}$)。例如干擾素- β 中碳水化合物之延伸形構形 (Karpusas et al., Proc. Natl. Acad. Sci 94:11813-11818, 1997) 很可能會與唾液酸-糖蛋白質受體及干擾素 α / β 受體同時作用。因此，較多的唾液酸-糖蛋白質受體可將唾液酸-干擾素 β 集中於細胞表面，在此處其可與較少的干擾素 α / β 受體同時作用。

胞內干擾素受體之結合

干擾素- α 、- β 或- γ 與胞內干擾素受體之結合可能會觸發干擾素信號。包含至微脂體之干擾素- α 可產生比游離干擾素- α 顯著較大的活性，此可支持干擾素不需到達細胞表面以產生活性的假說。再者，結合至唾液酸-糖蛋白質受體之配體會誘發受體-配體複合體之內化，以使唾液酸-干擾素接近胞內干擾素受體。

干擾素製造

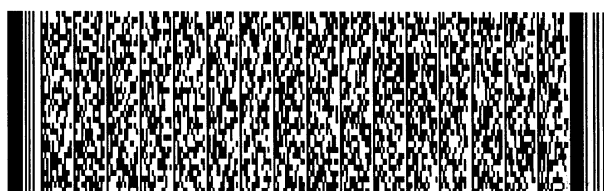
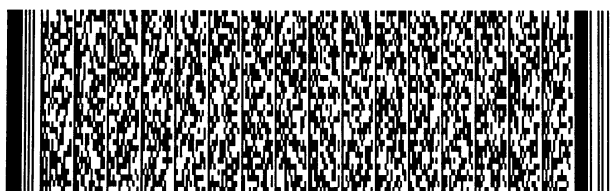


五、發明說明 (12)

一般而言，本發明之多肽，例如干擾素- α (第2A圖)、- β (第3A圖)或- γ (第4A圖)可利用於適當之表現載體上之編碼為多肽之部分或全部的核酸分子，例如，第2B圖所示編碼為干擾素- α 之核酸、第2B圖所示編碼為干擾素- β 之核酸、第4B圖所示編碼為干擾素- γ 之核酸或其片段，對適當寄主細胞(例如，真核細胞)轉形以生產。

熟悉分子生物領域技術者將理解任何廣泛的表現系統皆可用於提供重組蛋白質。真核干擾素肽類表現系統可利用使干擾素肽類基因引入質體或其他載體來產生，其可接著用於將活細胞轉形。干擾素肽類互補去氧核糖核酸中包含以正確方向插入於表現載體之完整開放讀取框架的建構物可用於表現蛋白質。真核表現系統可表現及回收干擾素肽類融合蛋白質，其中干擾素肽類融合蛋白質係以共價鍵結於可促進鑑定及/或純化之標記分子上。可以設計酵素性或化學性切開位於干擾素肽類及標記分子間，以使標記可以在之後的純化過程中移除。

典型的表現載體包括促進子，其依帶質體細胞中插入之干擾素肽類核酸指引合成大量傳訊核糖核酸。表現載體可包括一複製起始序列，以使其於寄主生物內自我複製，包括編碼為遺傳特性之序列可使含載體細胞可於存在不同有毒唾液酸-干擾素下被挑選，包括使合成的傳訊核糖核酸被轉譯效率增加的序列。安定之長期性載體可利用調節要素維持為游離之複製體，調節要素例如有病毒(例如，愛潑斯坦-巴爾病毒 (Epstein-Barsvirus, EBV) 基因



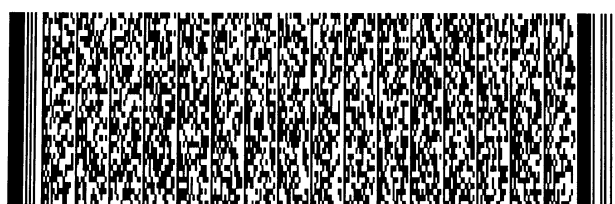
五、發明說明 (13)

體由來之序列)。亦可生產載體嵌入基因體去氧核糖核酸之細胞株，以此方法，可以持續產生遺傳產物。

本發明不嚴格限制所使用之寄主細胞。本發明之多肽可以在任意真核細胞生產(例如，糖化酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))、昆蟲細胞，如Sf21細胞，或哺乳動物細胞，如NIH3T3、HeLa、COS細胞或纖維母細胞)。該等細胞可由廣泛來源得到(如，美國菌種中心(American Type Culture Collection (ATCC)，洛藍, MD; 亦可見例如Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience, NY, 2001)。轉形及轉染的方法及選擇表現載體依所選的寄主系統而定。轉形及轉染方法敘述於例如Ausubel等人(前揭); 表現載體可由例如Cloning Vectors: A Laboratory Manual (P.H. Pouwels et al., 1985, Supp. 1987)所提供者挑選。

天然之糖化干擾素可由會天然產生天然糖化干擾素之人類細胞單離，或由被設計表現重組干擾素基因之轉基因真核細胞產生。用以生產天然或重組干擾素的方法被一般性敘述於美國專利第4758510號、第5827694號、第4680261號、第5795779號、第5376567號及第4130641號。

一旦建構了適當的表現載體，就會以轉形技術引入適當寄主細胞，轉形技術包括，但不限定於磷酸鈣轉染、DEXTRAN-葡聚糖轉染、電極法(electroporation)、微注射、原生質體融合或微脂體調節性轉染。



五、發明說明 (14)

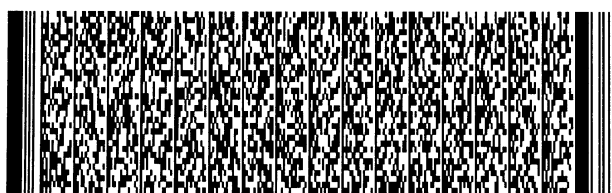
當本發明之重組多肽被表現，便以例如親和性層析法單離。於一實施例中，可將對抗本發明多肽之抗體(如，依此處所述所產生)附著至管柱並用以單離重組多肽。可利用標準方法(見，例如前揭Ausubel等人)在親和性層析前使帶有多肽的細胞溶解及破碎。重組蛋白質可以利用任何適當的技術純化，包括例如高效能液相層析或其他層析法(見，例如Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology, eds., Work and Burdon, Elsevier, 1980)。

本發明之多肽，特別是短的肽類片段，亦可以化學合成生產(例如，利用Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., 1984. The Pierce Chemical Co., Rockford, IL所敘述的方法)。

該等一般性多肽表現及純化的技術亦可用於生產及單離有用的肽類片段或類似物(此處所敘述者)。或者，單離及純化之人類干擾素可由市售取得(例如Sigma Chemical Co. 目錄號:I 2396, I2271, i1640 及I 6507)。

製備唾液酸-干擾素

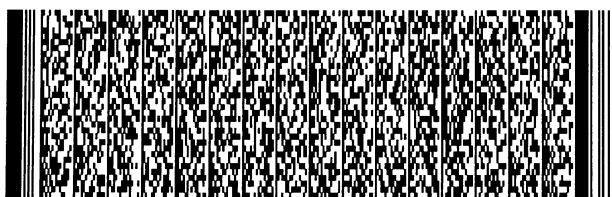
已有許多方法已知可用於產生具有雙觸角複合體不同部分之干擾素。例如，由纖維母細胞所產生之干擾素比起由中國倉鼠卵巢細胞(CHO)所產生之干擾素具有較高比例之雙觸角複合體。特別是，於人類纖維母細胞所生產之人類唾液酸-干擾素- β 包含約82%雙觸角半乳糖-末端寡糖及約18%三觸角半乳糖-末端寡糖。



五、發明說明 (15)

唾液酸-干擾素可利用由干擾素移除一末端唾液酸殘基而生產，該干擾素係因於真核細胞內生產而糖化(亦參見美國專利第4184917號及其所提及之參考文件，及 Kasama et al., J. Interfer. Cyto. Res. 15:407-415, 1995)。末端唾液酸殘基可利用以例如輕微之酸水解或將天然糖化干擾素以單離並純化之細菌或病毒神經胺酶(如 Drxenieck et al., Microbiol Immunol. 59:35, 1975 所述)處理來移除。神經胺酶可以很方便由Sigma化學公司購得(St. Louis, Mo)(目錄號N3642、N5146、N7771、N5271、N6514、N7885、N2876、N2904、N3001、N5631、N2133、N6021、N5254及N4883)。其他生產唾液酸-干擾素之方法被一般敘述在美國專利第6296844號(此處引入作為參考)。

例如，要生產人類唾液酸-干擾素- β ，可將附著在顆粒狀瓊脂(約0.22單位)之不溶性神經胺酶20mg暫時懸浮於1ml蒸餾水並放在微量離心管內使水合化。可將瓊脂以離心為小球狀再以含154mM氯化鈉及9mM氯化鈣之乙酸钠緩衝液(pH5.5)1ml清洗3次，並將膠體(約72 μ l)再懸浮於150 μ l乙酸钠緩衝液。例如，可將糖化人類干擾素- β (3×10^6 IU/vial，約0.15mg)懸浮於150 μ l乙酸钠緩衝液。然後，可將膠體與干擾素- β 混合並以37°C溫育於旋轉平台3小時，再將此混合物利用離心式過濾法通過0.2 μ m濾膜將其與神經胺酶分離。此唾液酸-干擾素可長期存放於-80°C。



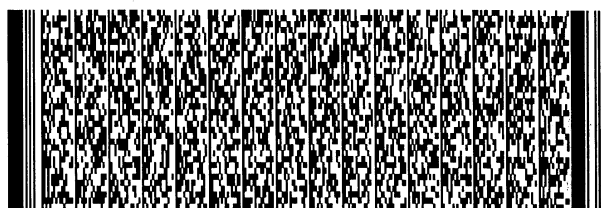
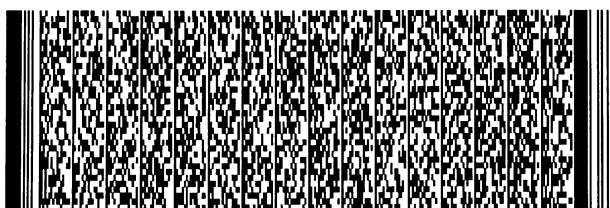
五、發明說明 (16)

關於製備唾液酸-干擾素更進一步之實施法牽涉將天然人類干擾素- β 於37℃於5mM甲酸(pH3.5)1ml內以1單位衍生自脲節桿菌(*Arthrobacter ureafaciens*)之神經胺酶分解3小時。水解後，可將去唾液酸化之干擾素- β 藉C18逆相管柱(如Zorbax® PR-10)以乙腈之0.1%三氟乙酸溶液做線性梯度分離。其他生產唾液酸-干擾素的方法被一般性敘述於美國專利第6296844號(此處引入作為參考)

藥學組合物之配方

唾液酸-干擾素可利用任何適當的方法投予使其與其他成分組合之濃度能在到達目標區時有抗癌效果。該化合物可以任何適當量被包括於任何適當攜帶物，其一般以組合物重量計，為總重之1~95%。該組合物所提供之劑型可為適用於注射(如，皮下、靜脈內、肌內或腹膜內)投予途徑者。該藥學組合物可依習知之製藥方法配方(參見，如 Remington: The Science and Practice of Pharmacy(20th ed), ed. A. R. Gennaro, Lippincott Williams & Wilkins, 2000 and Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, 1988-1999, Marcel Dekker, NY)。

本發明之藥學組合物可配方為在投予時立刻釋放實體活性化合物，或是在投予後任何既定時間或時期才釋放者。後者的化合物形式一般稱為控制性釋放配方，包括 (i) 一種配方，其可使體內長時間唾液酸-干擾素大致為恆定濃度；(ii) 一種配方，其可使體內在經過一段遲滯期



五、發明說明 (17)

後，長時間唾液酸-干擾素大致為恆定濃度；(iii)一種配方，利用維持體內唾液酸-干擾素在相當恆定之有效水平以持續唾液酸-干擾素的作用，並使因活性唾液酸-干擾素物質在細胞質內的變動(鋸齒狀動力樣式)造成之不欲副作用減到最低；(iv)一種配方，其可利用例如對控制性釋放化合物作空間配置，以將唾液酸-干擾素的作用定位在緊鄰於罹病組織或器官；(v)一種配方，其便於投予，例如，可每週或每兩週投予一次；及(vi)一種配方，其利用攜帶物或化學衍生物傳遞唾液酸-干擾素至特定目標細胞類型以導向唾液酸-干擾素的作用。將唾液酸-干擾素化合物以控制性釋放配方的形式投予對於在腸胃道具有狹窄吸收窗(narrow absorption window)或極短生物半生期的唾液酸-干擾素來說是特別好的。對這些情形，控制性釋放配方的形式可排除需要為維持細胞質內藥物在治療水平而需要頻繁投藥。

有許多策略可用於產生控制性釋放，其中該化合物釋放速度比其代謝更為重要。於一實施例中，係從各種配方參數及成分中，包括例如各種控制性釋放的組合物及覆膜物選擇適當者以產生控制性釋放。故，與適當賦型劑配方為藥學組合物之唾液酸-干擾素在投予時，會以受控制的方式釋出唾液酸-干擾素。實例例如有，單一單位或多單位錠片或膠囊組合物、油狀溶液、懸浮液、乳化液、微膠囊、微球體、分子複合物、奈米粒子、貼片及微脂體。

注射組合物



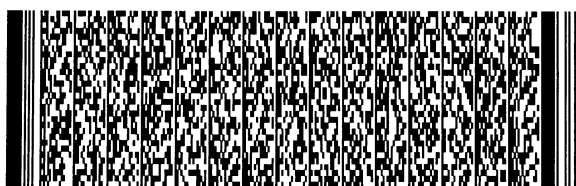
五、發明說明 (18)

藥學組合物可以將劑型、配方、含習知無毒之藥學上可接受載體及佐劑之適當裝置或植入體以注射、灌流、或植入(皮下、靜脈內、肌肉內、腹腔內等)等注射性方式投予。配方及該種組合物之製備是熟悉製藥配方領域者周知的。配方可見於Remington:The Science and Practice of Pharmacy, 前揭。

注射投予用組合物可以提供為單位劑型(例如, 單次針劑)或在小瓶中含有數次劑量者, 小瓶中可添加適當保存劑(見下述)。該組合物之形式可為溶液、懸浮液、乳化液、灌流裝置、或用於植入的傳遞裝置, 或可為乾粉, 在使用前加水或其他適當載體還原。除活性唾液酸-干擾素, 該組合物可包括適當的注射性攜帶物及/或賦形劑。活性唾液酸-干擾素可被包含於微球體、微膠囊、奈米粒子、微脂體或類似物以用於控制性釋放。再者, 該組合物可包括懸浮劑、溶解劑、安定劑、酸鹼值調整劑、等張調整劑及/或分散劑。

如上所示, 本發明之藥學組合物可為適於無菌注射的形式。要製備此種組合物, 可將適當的活性唾液酸-干擾素溶解或懸浮於注射用可接受的液體載體內。可使用之可接受的載體及溶劑有水、懸浮劑、安定劑、酸鹼值調整劑、等張調整劑及/或分散劑。

如上所述, 本發明之藥學組合物可為適於無菌注射的形式。要製備這樣的組合物, 可將適當的活性唾液酸-干擾素溶解或懸浮於注射可接受的液體載體。可使用的載體



五、發明說明 (19)

及溶劑有水、以適量鹽酸、氫氧化鈉或適當緩衝劑調整為適當pH的水、1,3-丁二醇、林格氏液、及等張氯化鈉溶液及葡萄糖溶液。水溶性配方亦可含有一或多種保存劑(如, 甲基、乙基、或正丙基對羥基苯甲酸酯)。如果化合物中有僅微溶或稍溶於水, 可加入溶解增進劑或溶解劑, 或溶劑可含有10-60重量%的丙二醇或類似物。

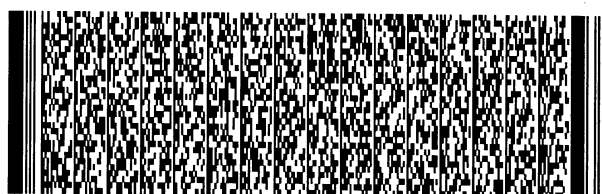
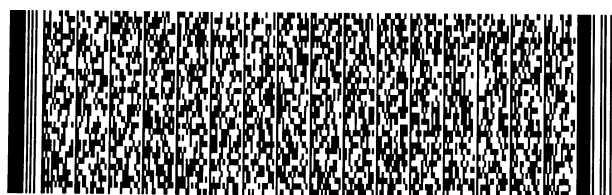
控制性釋放注射組合物

控制性釋放注射組合物之形式可為水溶性懸浮物、微球體、微膠囊、磁性微球體、油狀溶液、油狀懸浮物或乳化物。或者, 活性唾液酸-干擾素可被包含在生體可相容性載體、微脂體、奈米粒子、植入物或灌流裝置。

用於製備微球體及/或微膠囊的材料例如生物可分解性/可物可食性聚合物, 如聚乳素(polygalactin)、聚-(異丁基氰基丙烯酸酯)、聚(2-羥基乙基-L-谷醯胺)及聚(乳酸)。可用於調配控制性釋放注射配方的生體可相容性載體有碳水化合物(例如, 葡聚糖)、蛋白質(例如, 白蛋白)、脂蛋白或抗體。可用於植入物的材料可為非生物可分解性(如, 聚二甲基矽氧烷)或生物可分解性(如, 聚(己內酯)、聚(乳酸)、聚(甘醇酸)或聚(鄰位酯)或其組合)。

口服用之固體劑型

用於口服的干擾素配方包括含有活性成分與無毒製藥可接受賦形劑之混合物的錠片。該等配方為熟於技術者所知(如, 美國專利第5824300號、第5817307號、第5830456號、第5846526號、第5882640號、第5910304號、第



五、發明說明 (20)

6036949 號、第6372218 號，此處引入作為參考)。賦形劑可為例如，惰性稀釋劑或填充劑(如，蔗糖、山梨糖醇、糖、甘露醇、微結晶纖維素、澱粉，澱粉包括馬鈴薯澱粉、碳酸鈣、氯化鈉、乳糖、磷酸鈣、硫酸鈣或磷酸鈉)；造粒及崩散劑(如，纖維衍生物，包括微結晶纖維素、澱粉，澱粉包括馬鈴薯澱粉、羥甲基纖維素(croscarmellose sodium)、藻酸鹽或藻酸)；結合劑(例如，蔗糖、葡萄糖、山梨糖醇、金合歡屬(acacia)、藻酸、藻酸鈉、明膠、澱粉、預糊化澱粉、微結晶纖維素、鋁鎂矽酸、羧基甲基纖維素鉀、甲基纖維素、羥基丙基纖維素、乙基纖維素、聚乙烷基吡咯烷酮或聚乙二醇)；及潤滑劑、滑動劑及抗黏著劑(例如，硬脂酸鎂、硬脂酸鋅、硬脂酸、矽土、氫化蔬菜油或滑石)。其他製藥可接受賦形劑可為著色劑、香味劑、塑形劑、保濕劑、緩衝劑等。

該等錠片可為未覆膜，或可利用已知技術覆膜以選擇性的使在胃腸道的崩散及吸收延緩以能長時間作用。可採用之覆膜為能以預定模式釋放活性唾液酸-干擾素物質者(如，可達到控制性釋放的配方)，或是可採用在通過胃前不釋放活性唾液酸-干擾素者(腸膜衣)。覆膜可為糖衣、膜衣(例如以羥基丙基甲基纖維素、甲基纖維素、甲基羥基乙基纖維素、羥基丙基纖維素、羧基甲基纖維素、丙烯酸共聚物、聚乙二醇及/或聚乙烷基吡咯烷酮為主體)，或者為腸膜衣(例如，以甲基丙烯酸共聚物、纖維素乙酸鄰



五、發明說明 (21)

苯二甲酸、羥基丙基甲基纖維素鄰苯二甲酸、羥基丙基甲基纖維素乙酸琥珀酸、聚乙烯基乙酸鄰苯二甲酸、蟲漆、及/或乙基纖維素)。再者，可使用時間延遲物，如甘油單硬脂酸酯或甘油二硬脂酸酯。

固體錠片組合物可包括覆膜以保護組合物免受不欲之化學變化(例如，在活性唾液酸-干擾素物質釋放前進行化學性分解)。如前揭製藥技術百科(Encyclopedia of Pharmaceutical Technology)所述之覆膜可以用類似方式適用到固體劑型。

兩種唾液酸-干擾素可混合在錠片中或可分部存於錠片。於一實施例，第1唾液酸-干擾素係包含於錠片內層，第2唾液酸-干擾素係包含於錠片外層，如此會使第2唾液酸-干擾素會在第1唾液酸-干擾素釋放前被大部分釋出。

口服用的配方亦可作成可嚼錠或硬明膠膠囊，硬明膠膠囊中活性成分係與惰性的固體稀釋劑混合(例如，馬鈴薯澱粉、乳糖、微結晶纖維素、碳酸鈣、磷酸鈣或高嶺土)，或作成軟明膠膠囊，其中活性成分係與水或油性基質混合，例如，花生油、液體石蠟或橄欖油。製為錠片及膠囊前的粉末及顆粒可利用習知方式以例如混合機、流動床設備或噴霧乾燥設備製備。

控制性釋放口服劑型

口服用之控制性釋放組合物可設計成利用例如控制活性唾液酸-干擾素物質的溶解及/或擴散以釋出唾液酸-干擾素。

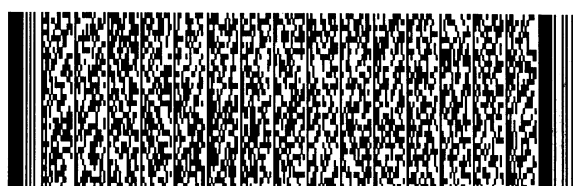


五、發明說明 (22)

溶解或擴散之控制釋出可利用適當的錠片覆膜、膠囊、丸劑、或化合物的顆粒或將該化合物包在適當基質來達成。控制性釋放覆膜可包括上述一或多種覆膜物質及/或蟲漆、蜜蠟、蓖麻蠟、巴西棕櫚蠟、硬脂醇、甘油單硬脂酸酯、甘油二硬脂酸酯、甘油棕櫚醯基硬脂酸酯、乙基纖維素、丙烯酸基樹脂、dl-聚乳酸、纖維素乙酸丁酸、聚氯乙烯、聚乙烯基乙酸、乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯、聚甲基丙烯酸酯、甲基甲基丙烯酸酯、2-羥基甲基丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯水凝膠、1,3-丁二醇、乙二醇甲基丙烯酸酯及/或聚乙二醇。於控制性釋放基質的組成，基質材料可包括，如水合甲基纖維素、巴西棕櫚蠟、硬脂醇、卡玻波(carbopol)934、矽酮、甘油三硬脂酸酯、甲基丙烯酸-甲基甲基丙烯酸酯、聚氯乙烯、聚乙烯及/或鹵化氟碳化合物。

含有一或多種本發明申請範圍內組合之控制性釋放組合物亦可為浮體型錠片或膠囊的形態(即，當口服投予時，錠片或膠囊會在某一段時期內浮於胃內容物上)。化合物之浮體型錠片配方可利用將唾液酸-干擾素與賦形劑的混合物與20-75%的水凝膠(如羥基乙基纖維素、羥基丙基纖維素或羥基丙基甲基纖維素)造粒製備。當與胃液接觸時，錠片會在其周圍形成水大致不可通透的膠體障壁。此膠體障壁會參與使密度低於1，故會使錠片可在胃液中浮起來。

組合式治療



五、發明說明 (23)

唾液酸-干擾素可以與任何標準的癌症治療法組合投予；該等標準治療法係熟於技術者所知(如，Wadler et al., Cancer Res. 50:3473-86, 1990)，包括，但不限定於化學治療、雷射治療及其他用於治療癌症的方法。

[實施方式]

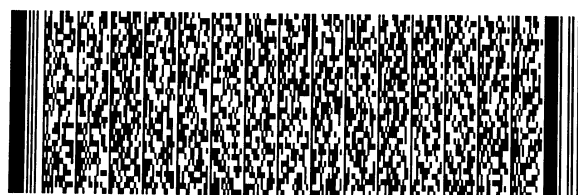
實施例1

要生產人類唾液酸-干擾素- β ，可將附著在顆粒狀瓊脂(約0.22單位)之不溶性神經胺酶20mg暫時懸浮於1ml蒸餾水並放在微量離心管內使水合化。可將瓊脂離心為小球狀再以含154mM氯化鈉及9mM氯化鈣之乙酸鈉緩衝液(pH5.5)1ml清洗3次。將膠體(約72 μ l)重新懸浮於150 μ l乙酸鈉緩衝液。將糖化人類干擾素- β (3×10^6 IU/vial, 約0.15mg)懸浮於150 μ l乙酸鈉緩衝液。將膠體與干擾素- β 混合並以37°C溫育於旋轉平台3小時，再將此混合物利用離心式過濾法通過0.2 μ m濾膜與神經胺酶分離。此唾液酸-干擾素可長期存放於-80°C。

以上所述的方法亦可用於製備干擾素- α 及干擾素- γ 的唾液酸型。其他製備唾液酸糖蛋白質的方法也是周知的，例如，酸水解(如，Duk et al., Glyconj J. 9:148-53, 1992)

其他具體例

本說明書所引到的出版物及專利申請案被包含於此作為參考，就如同各出版物或專利申請案被特別及各自指出



五、發明說明 (24)

並被包含以作為參考。雖本發明已利用圖解、說明及實施例在某種程度做了詳述以供理解，然而，對於一般此領域的技術人員在本發明的指導下很明顯的對於本發明作某些改變或修改而不偏離以下所附申請專利範圍的精神及範圍。



圖式簡單說明

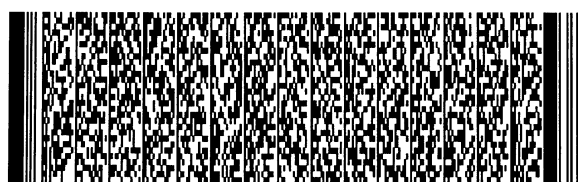
第1圖表示天然人類干擾素之結構示意圖。並顯示天然干擾素- β 之典型雙觸角(biantennary)複合型糖鏈以神經胺基酶作用的切開位置。符號說明：Fucose~岩藻糖；GlcNac~N-乙醯基葡萄糖胺；Man~甘露糖；Gal~半乳糖；NeuAc~N-乙醯基神經胺基酸(唾液酸)；Neuramidase~神經胺酶；Asn~天門冬醯胺；hIFN- β ~人類干擾素- β 。

第2A圖為人類干擾素 α -2前驅物多肽(登錄號:P01563)(序列識別號:1)之胺基酸序列，包含其信息肽類(胺基酸第1-23，粗體字)。成熟的干擾素 α -2多肽(細體字)由胺基酸24-188延伸。劃底線之胺基酸129蘇胺酸係氧-連結糖化部位。

第2B圖為編碼為人類干擾素 α -2前驅物多肽之傳訊核糖核酸的核酸序列(登錄號:NM_000605)(序列識別號:4)。編碼序列由核酸69延伸到核酸635。起始密碼子及終止密碼子下有底線。此核酸序列存在有數種變異形，包括以下之核酸變動：核酸205的A變成G；核酸667的A變G；核酸909的C變T；及/或核酸949的A變G。

第3A圖為人類干擾素- β 前驅物多肽(登錄號:P01574)(序列識別號:2)之胺基酸序列，包含其信息肽類(胺基酸1-21，粗體字)。成熟的干擾素- β (細體字)多肽由胺基酸24-187延伸。劃底線之胺基酸101精醯胺係氮-連結糖化部位。一人類干擾素- β 變異體多肽於胺基酸162(C變Y)包括酪胺酸。

第3B圖為編碼為人類干擾素- β 前驅物多肽之傳訊核

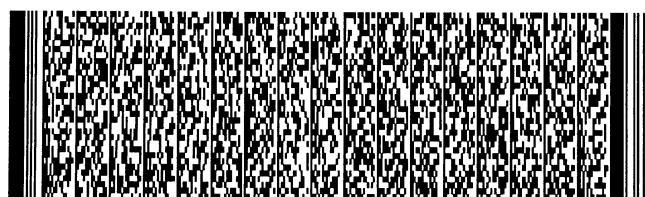


圖式簡單說明

糖核酸的核酸序列(登錄號:NM_002176)(序列識別號:5)。編碼序列由核酸1延伸到核酸564。起始密碼子及終止密碼子下有底線。此核酸序列存在有數種變異形,包括以下之核酸變動:核酸153的C變成T;核酸228的C變T。

第4A圖為人類干擾素- γ 前驅物蛋白質(登錄號:P01579)(序列識別號:3)之胺基酸序列,包含其信息肽類(胺基酸1-20,粗體字)。成熟的干擾素- γ (細體字)多肽由胺基酸21-166延伸。干擾素- γ 前驅物蛋白質劃底線之胺基酸48及120的精醯胺係氮-連結糖化部位(雖Asn120僅在二元體處被糖化)。

第4B圖為編碼為人類干擾素- γ 前驅物蛋白質之傳訊核糖核酸的核酸序列(登錄號:NM_000619)(序列識別號:6)。編碼序列由核酸109延伸到核酸609。起始密碼子及終止密碼子下有底線。此核酸序列存在有數種變異形,包括以下之核酸變動:核酸624的A變成G;核酸705的A變G;核酸732的A變T;核酸789的C變T;核酸986的C變T;及核酸1148的A變G。



四、中文發明摘要 (發明名稱：唾液酸-干擾素及肝癌治療)

本發明特徵為製備及使用唾液酸-干擾素以治療肝癌的方法，唾液酸-干擾素包括唾液酸-干擾素- α 、唾液酸-干擾素- $\alpha 2a$ 、唾液酸-干擾素- $\alpha 2b$ 、唾液酸-干擾素- β 、唾液酸-干擾素- $\beta 1a$ 、唾液酸-干擾素- $\beta 1b$ 及唾液酸-干擾素- γ 。唾液酸-干擾素治療法可以單獨使用或與其他抗癌治療組合使用。

五、(一)、本案代表圖為：第1圖

(二)、本案代表圖之元件代表符號簡單說明：

GlcNac~N-乙醯基葡萄糖胺； Fucose~岩藻糖；

Man~甘露糖；

Gal~半乳糖；

Neuramidase~神經胺酶；

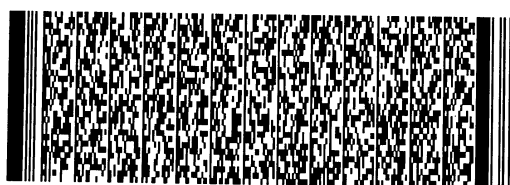
Asn~天門冬醯胺；

hIFN- β ~人類干擾素- β ；

NeuAc~N-乙醯基神經胺基酸(唾液酸)。

六、英文發明摘要 (發明名稱：ASIALO-INTERFERONS AND THE TREATMENT OF LIVER CANCER)

This invention features methods for preparing and using asialo-interferons, including asialo-interferon- α , asialo-interferon- $\alpha 2a$, asialo-interferon- $\alpha 2b$, asialo-interferon- β , asialo-interferon- $\beta 1a$, asialo-interferon- $\beta 1b$ and asialo-interferon- γ , for treating liver cancer. Asialo-interferon therapy may be used alone or in combination with other antineoplastic therapies.



六、申請專利範圍

1. 一種治療罹患肝癌病人的方法，包括對病人投予有效量之一藥學組合物，該藥學組合物包括一哺乳動物唾液酸-干擾素。

2. 如申請專利範圍第1項之方法，其中該肝癌會表現唾液酸-糖蛋白質受體。

3. 如申請專利範圍第1項或第2項之方法，其中該肝癌會大量表現唾液酸-糖蛋白質受體。

4. 如申請專利範圍第1-3項任一項之方法，其中肝癌係擇自由瀰漫性肝細胞癌、發熱型肝細胞癌、膽汁鬱積性肝細胞癌、肝母細胞瘤、肝樣腺癌及肝局灶性結節性增生所構成之群。

5. 如申請專利範圍第1-4項任一項之方法，其中該唾液酸-干擾素為一人類唾液酸-干擾素。

6. 如申請專利範圍第5項之方法，其中該人類唾液酸-干擾素為唾液酸-干擾素- α 。

7. 如申請專利範圍第5項之方法，其中該人類唾液酸-干擾素為唾液酸-干擾素- β 或唾液酸-干擾素- γ 。

8. 如申請專利範圍第1-7項任一項之方法，其中的有效量0.05-1.5mg/週。

9. 如申請專利範圍第1-8項任一項之方法，其中該方法進一步包含第2抗癌治療法。

10. 如申請專利範圍第9項之方法，其中該第2抗癌治療法為化學治療或雷射治療。

11. 一種治療罹患肝癌病人的方法，其包含的步驟



六、申請專利範圍

為：

(a) 測試該肝癌之唾液酸-糖蛋白質受體表現；

(b) 若測試步驟(a)顯示該肝癌表現了唾液酸-糖蛋白質受體，則對該病人投予有效量之一組合物，上述組合物包括一哺乳動物唾液酸-干擾素。

12. 如申請專利範圍第11項之方法，其中測試步驟(a)包含實施一肝臟生檢。

13. 如申請專利範圍第11項或第12項之方法，其中該肝癌會大量表現唾液酸-糖蛋白質受體。

14. 如申請專利範圍第11-13項任一項之方法，其中測試步驟(a)包含對病人進行非侵入性肝造影。

15. 如申請專利範圍第11-14項任一項之方法，其中肝癌係擇自由瀰漫性肝細胞癌、發熱型肝細胞癌、膽汁鬱積性肝細胞癌、肝母細胞瘤、肝樣腺癌及肝局灶性結節性增生所構成之群。

16. 如申請專利範圍第11-15項任一項之方法，其中該唾液酸-干擾素為一人類唾液酸-干擾素。

17. 如申請專利範圍第16項之方法，其中該人類唾液酸-干擾素為唾液酸-干擾素- α 。

18. 如申請專利範圍第16項之方法，其中該人類唾液酸-干擾素為唾液酸-干擾素- β 或唾液酸-干擾素- γ 。

19. 如申請專利範圍第11-18項任一項之方法，其中的有效量0.05-1.5mg/週。

20. 如申請專利範圍第11-19項任一項之方法，其中該



六、申請專利範圍

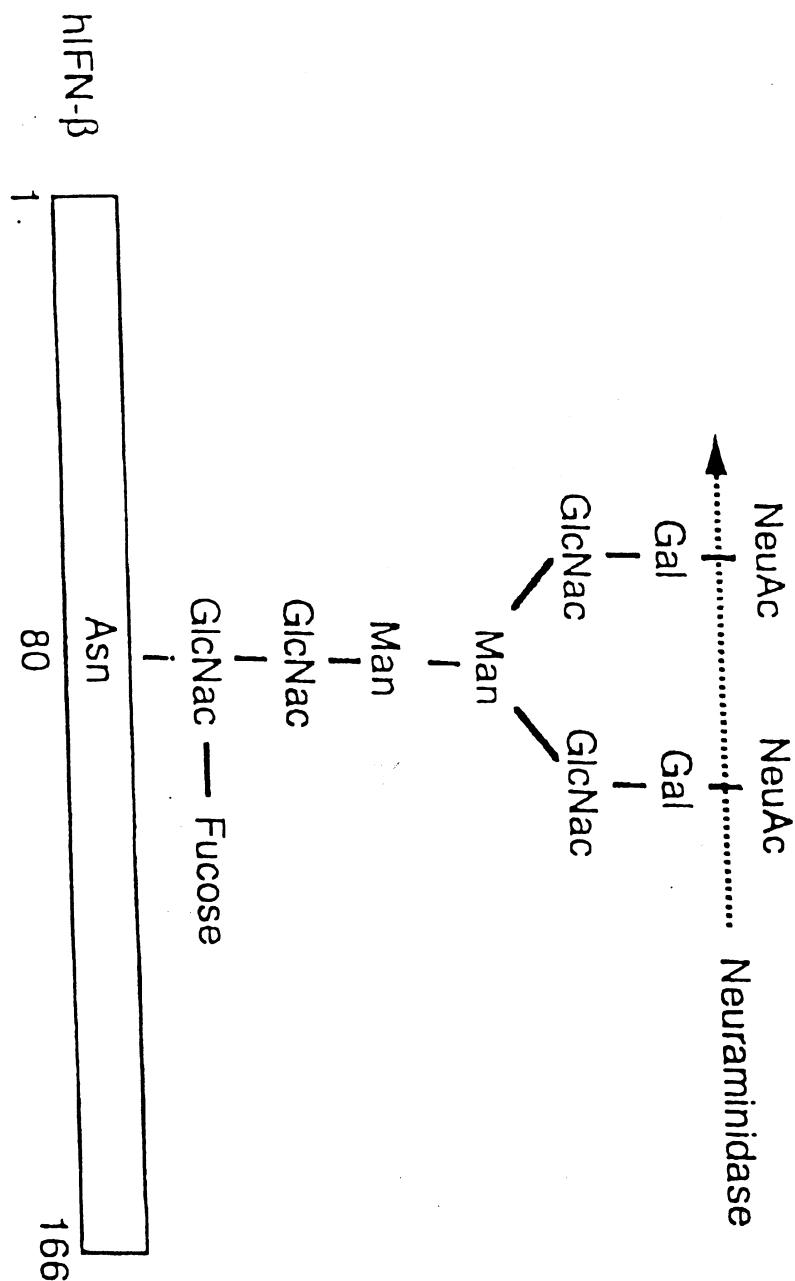
方法進一步包含第2抗癌治療法。

21. 一種用於治療肝轉移性癌症的方法，包括對病人投予有效量之一藥學組合物，上述藥學組合物包括一哺乳動物唾液酸-干擾素。

22. 如申請專利範圍第21項的方法，其中該轉移性癌症係擇自由轉移性前列腺癌、轉移性直腸結腸癌、轉移性乳癌、轉移性肺癌、轉移性脾臟癌、轉移性黑色素瘤及轉移性白血病及轉移性淋巴瘤所構成之群。

23. 如申請專利範圍第21項或第22項的方法，其中該人類唾液酸-干擾素為唾液酸-干擾素- α 、唾液酸-干擾素- β 或唾液酸-干擾素- γ 。





第 1 圖

1 **MALTFALLVA LLVLSCKSSC** SVGCDLPQTH SLGSRRTLML LAQMRKISLF SCLKDRHDFG
61 FPQEEFGNQF QKAETIPVLH EMIQQIFNLF STKDSSAAWD ETLLDKFYTE LYQQLNDLEA
121 CVIQGVGVTE TPLMKEDSIL AVRKYFQRIT LYLKEKKYSP CAWEVVRAEI MRSFSLSTNL
181 QESLRSKE

第 2A 圖

1 gagaacctgg agcctaaggt ttaggctcac ccatttcaac cagtctagca gcatctgcaa
61 catctacaat ggccttgacc tttgctttac tgggtggccct cctgggtgctc agctgcaagt
121 caagetgctc tgtgggctgt gatctgcctc aaaccacag cctgggtagc aggaggacct
181 tgatgctcct ggcacagatg aggagaatct ctcttttctc ctgcttgaag gacagacatg
241 actttggatt tccccaggag gagtttggca accagttcca aaaggctgaa accatccctg
301 tccctccatga gatgatccag cagatcttca atctcttcag cacaaaggac tcatctgctg
361 cttgggatga gaccctccta gacaaattct acactgaact ctaccagcag ctgaatgacc
421 tgggaagcctg tgtgatacag ggggtggggg tgacagagac tcccctgatg aaggaggact
481 ccattctggc tgtgaggaaa tacttccaaa gaatcactct ctatctgaaa gagaagaaat
541 acagcccttg tgccctgggag gttgtcagag cagaaatcat gagatctttt tctttgtcaa
601 caaacttgca agaaagtta agaagtaagg aatgaaaact ggttcaacat ggaaatgatt
661 ttcattgatt cgtatgccag ctaccccttt tatgatctgc catttcaaag actcatgttt
721 ctgctatgac catgacacga tttaaatctt ttcaaagtgt tttaggagta ttaatcaaca
781 ttgtattcag ctcttaaggc actagtcctt tacagaggac catgctgact gatccattat
841 ctattttaaat atttttaaaa tattatttat ttaactattt ataaaaaac ttatttttgt
901 tcataattat tcatgtgcac ctttgcacag tggttaatgt aataaaatgt gttctttgta
961 tttggtaaat ttattttgtg ttgttcattg aacttttgct atggaacttt tgtacttggt
1021 tattcttttaaat aatgaaattc caagcctaatt tgtgcaacct gattacagaa taactggtag
1081 acttcatttg tccatcaata ttatttcaa gatataagta aaaataaact ttctgtaaac
1141 ca

第 2B 圖

1 MTNKCLLQIA LLLCFSTTAL SMSYNLLGFL QRSSNFQCQK LLWQLNGRLE YCLKDRMNFD
61 IP~~E~~EIKQLQQ FQKEDAA~~L~~TI YEMLQNI~~F~~AI FRQDSSSTGW NETI~~V~~ENLLA NVYHQINHLK
121 TVLEEKLEKE DFTRGKLMSS LHLKRYYGRI LH~~Y~~LKAKEYS HCAWTIVRVE ILRNFYFINR
181 LTGYLRN

第 3A 圖

1 atgaccaaca agtgtctcct ccaaattgct ctctgttgt gcttctccac tacagctctt
61 tccatgagct acaacttgct tggattccta caaagaagca gcaat~~t~~ttca gtgtcagaag
121 ctctgtggc aattgaatgg gaggcttgaa tattgcctca aggacaggat gaactttgac
181 atccctgagg agattaagca gctgcagcag ttccagaagg aggacg~~c~~gc attgaccatc
241 tatgagatgc tccagaacat ctttgctatt ttcagacaag attcatctag cactggctgg
301 aatgagacta ttgttgagaa cctcctggct aatgtctatc atcagataaa ccatctgaag
361 acagtcctgg aagaaaaact ggagaaagaa gat~~t~~ttacca ggggaaaact catgagcagt
421 ctgcacctga aaagatatta tgggaggatt ctgcattacc tgaaggccaa ggagtacagt
481 cactgtgcct ggaccatagt cagagtggaa atcctaagga act~~t~~ttactt cattaacaga
541 cttacagg~~t~~t acctccgaaa ctgaagatct cctagcctgt ccctctggga ctggacaatt
601 gcttcaagca ttcttcaacc agcagatgct gtttaagtga ctgatggcta atgtactgca
661 aatgaaagga cactagaaga ttttgaaatt tttattaaat tatgagttat ttttatttat
721 ttaaatttta ttttgaaaa taaattattt ttggtgc

第 3B 圖

1 MKYTSYILAF QLCIVLGS LG CYCQDPYVKE AENLK KYFNA GHSDVADNGT LFLGILKNWK
61 EESDRKIMQS QIVSFYFKLF KNFKDDQSIQ KSVETIKEDM NVKFFNSNKK KRDDFEKL TN
121 YSVTDLNVQR KAIHELIQVM AELSPA AKTG KRKRSQMLFR GRRASQ

第 4A 圖

1 tgaagatcag ctattagaag agaaagatca gttaagtcct ttggacctga tcagcttgat
61 acaagaacta ctgatttcaa cttctttggc ttaattctct cggaaacgat gaaatataca
121 agttatatct tggcttttca gctctgcac gttttgggtt ctcttggctg ttactgccag
181 gaccatata taaaagaagc agaaaacctt aagaaatatt ttaatgcagg tcattcagat
241 gtagcggata atggaactct tttcttaggc attttgaaga attggaaaga ggagagtgc
301 agaaaaataa tgcagagcca aattgtctcc ttttacttca aactttttaaa aaactttaaa
361 gatgaccaga gcatccaaaa gagtgtggag accatcaagg aagacatgaa tgtcaagttt
421 ttcaatagca acaaaaagaa acgagatgac ttcgaaaagc tgactaatta ttcggttaact
481 gacttgaatg tccaacgcaa agcaatacat gaactcatcc aagtgatggc tgaactgtcg
541 ccagcagcta aaacagggaa gcgaaaaagg agtcagatgc tgtttcaagg tcgaagagca
601 tcccagtaat ggttgtcctg cctgcaatat ttgaatttta aatctaaatc tatttattaa
661 tatttaacat tatttatatg gggaatatat ttttagactc atcaatcaaa taagtattta
721 taatagcaac ttttgtgtaa tgaaaatgaa tatctattaa tatatgtatt atttataatt
781 cctatatcct gtgactgtct cacttaatcc tttgttttct gactaattag gcaaggctat
841 gtgattacaa ggctttatct caggggccaa ctaggcagcc aacctaagca agatcccatg
901 ggttgtgtgt ttattttact tgatgataca atgaacactt ataagtgaag tgatactatc
961 cagttactgc cggtttgaaa atatgcctgc aatctgagcc agtgctttta tggcatgtca
1021 gacagaactt gaatgtgtca ggtgaccctg atgaaaacat agcatctcag gagatttcac
1081 gcctgggtgt tccaaatatt gttgacaact gtgactgtac ccaaattggaa agtaactcat
1141 ttgttaaaat tatcaatato taatatatat gaataaagtg taagttcaca act

第 4B 圖

申請日期：	IPC分類
申請案號： 92124568	

(以上各欄由本局填註)

發明專利說明書

一、 發明名稱	中 文	唾液酸-干擾素及肝癌治療
	英 文	ASIALO-INTERFERONS AND THE TREATMENT OF LIVER CANCER
二、 發明人 (共2人)	姓 名 (中文)	1. 尼可拉斯 P. 巴克 2. 丹尼爾 K. 伯多斯吉
	姓 名 (英文)	1. Nicholas P. BARKER 2. Daniel K. PODOLSKY
	國 籍 (中英文)	1. 英國 GB 2. 美國 US
	住居所 (中 文)	1. 美國麻薩諸塞州01772, 南自治市鎮, 依斯特布魯克, 農場巷10號 2. 美國麻薩諸塞02481, 衛斯里坡艾德蒙路157號
	住居所 (英 文)	1. 2.
三、 申請人 (共2人)	名稱或 姓 名 (中文)	1. 綜合醫院股份有限公司 2. GI股份有限公司
	名稱或 姓 名 (英文)	1. The General Hospital Corporation 2. The GI Company, Inc.
	國 籍 (中英文)	1. 美國 US 2. 美國 US
	住居所 (營業所) (中 文)	1. 美國麻薩諸塞州, 波士頓福瑞特街55號 (本地址與前向貴局申請者相同) 2. 美國麻薩諸塞州01701, 福雷明瀚市, 烏賽斯特路1661號, 204室 (本地址與前向貴局申請者相同)
	住居所 (營業所) (英 文)	1. 2.
	代表人 (中文)	1. 大衛J. 葛雷斯 2. 尼可拉斯 P. 巴克
	代表人 (英文)	1. DAVID J. GLASS 2. Nicholas P. BARKER

