

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：95107930

※申請日期：95.3.9

※IPC 分類：C07H 2/64.

A61K 38/21.

C07K 14/555, 14/56

C12P 21/06.

一、發明名稱：(中文/英文)

重組型超化合物干擾素之用途

USES OF RECOMBINANT SUPER-COMPOUND INTERFERONS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

輝陽科技美國公司 / HUIYANGTECH (USA), INC.

代表人：(中文/英文)

魏光文 / WEI, GUANGWEN

住居所或營業所地址：(中文/英文)

美國紐約州白石市·第 20 街 141-07 號世界廣場 604 室

World Plaza, Suite 604, 141-07 20th Avenue, Whitestone, NY 11357, U. S. A.

國籍：(中文/英文)

美國 / U. S. A.

三、發明人：(共 1 人)

姓名：(中文/英文)

魏光文 / WEI, GUANGWEN

國籍：(中文/英文)

中國 / CHINA

四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項 第一款或 第二款規定之事實，其事實發生日期為：。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國、 2005/03/09、 60/659,925

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

本申請案是2005年3月9日提申之美國申請案案號60/659,925的一個部分繼續申請案，該案之全部內容於此被併入至本申請案中以作為參考資料。

- 5 遍佈本申請案，各種公開刊物係參考的。此等公開刊物之全部揭示於此被併入至本申請案中以作為參考資料，俾以更完全地說明本發明所屬技藝之狀態。

【發明所屬之技術領域】

發明領域

- 10 本發明係關於一生物工程的領域。特別地，本發明關於一種重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其具有改變的空間構形、高功效與低副作用之均等物。因此，高劑量的rSIFN-co可以被使用。本發明亦關於一種生產該超化合物
- 15 干擾素(rSIFN-co)或一含有該超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物之藥學組成物的方法，以及該干擾素或組成物供用於抗病毒和抗腫瘤療法之用途。

【先前技術】

發明背景

- IFN-con是一種新穎的干擾素分子，其係使用基因工程
- 20 的方法，以於天然的人類IFN- α 亞型中存在最普遍的守恆性胺基酸(conservative amino acid)予以建構。美國專利案案號4,695,623與4,897,471已經說明它。IFN-con已經被證實具有廣效的(broad-spectrum)IFN活性以及病毒和腫瘤的抑制與自然殺手細胞(natural killer cell)活性。Amgen, Inc.的美國

專利案案號 5,372,808 提出治療 Infergen[®](干擾素 alfacon-1)。Amgen, Inc.的中華人民共和國專利案案號 97193506.8提出Infergen[®](干擾素 alfacon-1)於C型肝炎的再治療。Shenzhen Jiusheng Bio-engineering Ltd.的中華人民共和國專利案案號98114663.5提出供用於B型肝炎和C型肝炎的重組型人類一致的干擾素- α 治療。

在1997年底時，美國食品與藥物管理局(FDA)許可Amgen以大腸桿菌(*E. Coli.*)生產Infergen[®](干擾素 alfacon-1)用於臨床的C型肝炎治療。

10 當偵測HbsAg與HbeAg時，可以鑑定出B型肝炎病人。IFN- α 被普遍地使用在診所中以治療B型肝炎。IFN- α 結合表面的細胞膜受體，藉此抑制DNA與RNA(核糖核酸)複製並誘導某些酵素以防止肝炎感染的細胞內的病毒之複製。所有的IFN能抑制病毒的DNA複製，但是其等無法抑制e和s
15 抗原的表現。

非典型肺炎的爆發，被稱為嚴重急性呼吸道徵候群(severe acute respiratory syndrome, SARS)且首次在中國廣東省(Guangdong Province, China)被鑑定出，已經散佈至數個國家。自2003年的二月至三月，在香港、越南，以及加
20 拿大的病人偵測到相似的病例。世界衛生組織(WHO)對該疾病發出一全球的警訊。於2003年的三月中旬，在遠東地區的保健工作者與曾經照顧嚴重呼吸道疾病病人的家庭成員證實了SARS。這些病例的許多病例經由多條傳播鏈能被追蹤到一個來自廣東省、曾經造訪過香港的保健工作

者，在香港他因肺炎住院治療並且死亡。至2003年四月末，在世界上超過25個國家中，上千件SARS病例與上百件SARS相關的死亡被通報至WHO。這些病例的多數係於家庭或保健的安置經由暴露至SARS病人而發生。本發明提供一種預防及/或治療SARS的方法。

本揭示描述重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)，生產該重組型超化合物干擾素的方法及其用途。特別地，本文中揭示的超化合物干擾素能夠抑制、預防及/或治療肝炎病毒、SARS病毒，或病毒誘發的上呼吸道疾病，流行性感
冒病毒，例如鳥類流行性感
冒病毒，以及伊波拉病毒(Ebola virus)。

此外，相較於其他可得的干擾素，rSIFN-co在預防及/或治療病毒疾病與腫瘤是有效且較少副作用的。

15 【發明內容】

發明概要

本發明提供一種重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)及其具有改變的空間構形、高功效與低副作用之均等物。因此，高劑量的rSIFN-co可以被使用。

20 本發明提供一種包含載體的表現系統，該載體含有編碼該超化合物干擾素或其均等物的基因。本發明亦提供一宿主細胞，該宿主細胞包含該含有編碼該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物的基因之載體。該宿主細胞可以是真核或原核的，諸如：大腸桿菌。

本發明提供一種供用於抑制、預防或治療一個體體內的病毒疾病，或是用於抑制或治療一個體體內的腫瘤的方法，其包含對該個體投藥以一有效量的該超化合物干擾素或其均等物。

- 5 本發明提供上述的方法，其中超化合物干擾素被口服投藥，經由靜脈注射、肌肉注射、腹膜注射、皮下注射、鼻或黏膜投藥，或是經由一呼吸器藉由吸入予以投藥。

- 本發明提供預防或治療病毒疾病的方法，其中該病毒疾病是A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、其他型的肝炎、由
- 10 下列病毒所造成的感染：愛氏頓病毒(Epstein-Barr virus)、人類免疫不全病毒(HIV)、伊波拉病毒(Ebola virus)、嚴重急性呼吸道徵候群病毒(SARS)、流行性感冒病毒、細胞巨大病毒(Cytomegalovirus)、單純疱疹病毒，或是其他類型的疱疹病毒、乳多空病毒(papovavirus)、痘病毒(poxvirus)、
- 15 細小核糖核酸病毒(picornavirus)、腺病毒(adenovirus)、鼻病毒(rhinovirus)、第I型人類T-細胞白血症病毒，或第II型人類T-細胞白血症病毒，或第III型人類T-細胞白血症病毒。

本發明提供預防或治療病毒疾病的方法，其中該病毒疾病是人類免疫不全病毒(HIV)與伊波拉病毒。

- 20 本發明提供一種用於抗肝炎活性的方法。其能抑制HBV-DNA的複製、HbsAg與HBeAg的產生。

本發明提供一種預防或治療上呼吸道感染疾病的方法。

本發明提供一種預防或治療腫瘤或癌症的方法，其中

該腫瘤是皮膚癌、基底細胞癌和惡性黑色素瘤、腎細胞癌、肝癌、胸腺癌、鼻咽癌、固態癌、攝護腺癌、胃/腹癌、食道癌、直腸癌、胰臟癌、乳癌、卵巢癌，以及淺膀胱癌、血管瘤、表皮癌(epidermoid carcinoma)、子宮頸癌、非小

5 細胞肺癌、小細胞肺癌、神經膠質瘤、白血病(leucocythemia)、急性白血病和慢性白血病、慢性骨髓性白血病、毛樣細胞白血病(Hairy Cell Leukemia)、淋巴腺瘤、多發性骨髓瘤、真性紅血球過多症(polycythemia vera)，或是卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)。

10 本發明提供一種用於預防或治療於一個體體內的病毒誘發的疾病的方法，其包含對該個體投藥以一有效量的重組型超化合物干擾素或是其之一種功能性均等物。

該超化合物干擾素(rSIFN-co)可以被口服投藥，經由靜脈注射、肌肉注射、腹膜注射、皮下注射、鼻或黏膜投藥，

15 或是經由一呼吸器藉由吸入予以投藥。

本發明提供一種用於抑制病毒誘發的疾病之致病劑的方法，其包含接觸該致病劑與一有效量的超化合物干擾素或其均等物。

本發明亦提供一種用於抑制病毒誘發的疾病之方法，其包含接觸一有效量的該超化合物干擾素與該病毒或細胞。此接觸能是直接或間接的。

20

本發明提供一種組成物，其含有能夠抑制、預防或治療病毒誘發的疾病之一有效量的該超化合物干擾素，以及一合適的載劑。

本發明提供一藥學組成物，其含有能夠抑制、預防或治療一個體體內的病毒誘發的疾病之一有效量的該重組型超化合物干擾素，以及一藥學上可接受的載劑。

5 本發明提供一種用於預防或治療一個體體內的腫瘤的方法，其含有對該個體投藥以一有效量的重組型超化合物干擾素或是其之一種功能性均等物。

本發明提供一種用於抑制腫瘤的方法，其包含接觸該致病劑與一有效量的超化合物干擾素或其均等物。

10 本發明也提供一種用於抑制腫瘤的方法，其包含接觸一有效量的該超化合物干擾素與該病毒或細胞。此接觸能是直接或間接的。

本發明提供一種組成物，其含有能夠抑制、預防或治療腫瘤之一有效量的該超化合物干擾素，以及一合適的載劑。

15 本發明提供一藥學組成物，其含有能夠抑制、預防或治療一個體體內的腫瘤之一有效量的該重組型超化合物干擾素，以及一藥學上可接受的載劑。

圖式簡單說明

20 第1圖：依據大腸桿菌密碼子的使用所設計的rSIFN-co cDNA序列以及所推論的rSIFN-co胺基酸序列。

第2A-B圖：另一個超化合物干擾素的序列。

第3圖：rSIFN-co的野生型HIV之抑制作用的圖。

使用 EXCEL 且以螢光素酶 (Luciferase) 作 Y 軸以及

rSIFN-co的濃度作X軸。清楚的逆向劑量依賴反應已經顯示。

第4圖：rSIFN-co的抗藥性HIV之抑制作用的圖，使用EXCEL且以螢光素酶作Y軸與rSIFN-co的濃度作X軸。清楚的逆向劑量依賴反應已經顯示。

第5圖：流行性感冒病毒的rSIFN-co抑制作用：於左方，控制井係顯示以添加流行性感冒病毒而不添加干擾素，該等細胞具有明顯的CPE，諸如：細胞的圓形化、細胞壞死、反射光的減少以及脫落。於右方，實驗井係顯示包括流行性感冒病毒以及10奈克/毫升(ng/ml)濃度的rSIFN-co具有相當於正常細胞的型態。

【實施方式】

較佳實施例之詳細說明

重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)

本發明提供一種重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或是其之一種具有改變的空間構形之均等物。本發明顯示帶有相同的一級序列之蛋白質具有不同的生物物活性。如本申請案所說明的，具有完全相同的胺基酸序列之蛋白質可以能具有不同的活性。此等蛋白質的效力有時候可以被改進，有時候，具有改變的空間構形之蛋白質將顯示出新的功能。Wei (2005；公開案案號WO 2005/02177 A2；國際申請案案號 PCT/US2004/028068)提供一套用於調整蛋白質空間構形的方法。

如本文中所述定義的，均等物是在功能上相似於該化合

物干擾素的分子。一種均等物可以是原始序列的一刪失、取代，或代替性突變體。任擇地，本發明的意圖亦涵蓋該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的仿效物。仿效物可以是一胜肽、多肽或一個小的化學實體。

5 本文中所描述的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)包括，但不限於：干擾素 α 、 β 、 γ 或 ω 。於一實施例中，其為IFN-1 α 、IFN-2 β 或其他的突變體。

於其他的實施例中，所揭示的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)比 α 、 β 、 γ 、 ω 或其等之一組合，以及當相較於揭示於美國專利案案號4,695,623與4,897,471之干擾素時，具有更高的功效。此重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)據信具有獨特的二級或三級結構，其中3維的變化是其生產方法中變化的結果。Wei (2004；US 2004/0202641 A1；美國申請案案號10/650,365)也描述此重組型超化合物。

15 本文中所描述的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)具有由其生產方法的改變所導致的空間結構的變化。

較低的副作用

當與其他的干擾素相比較時，該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)擁有較低的副作用。此等較低的副作用允許較高的劑量被使用在需要干擾素治療的病人上。此等較低的副作用開啟了使用rSIFN-co用於其他疾病的預防及/或治療之機會。因此，本發明提供當被投藥至一個體時，具有較少副作用的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)。

本發明提供相較於所有現在可得的干擾素，具有較少

副作用的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)。

本發明進一步提供一種用於治療或預防於一個體體內的病毒疾病或腫瘤的方法，其包含對該個體投藥以一有效量的相較於所有現在可得的干擾素，具有較少副作用的
5 rSIFN-co。因此，高劑量的rSIFN-co可以被使用。於一實施例中，該有效量的重組型超化合物干擾素係於奈克位準。

生產 rSIFN-co 的方法

人造基因

本發明亦提供編碼該超化合物干擾素或其均等物之人
10 造基因。設計一人造基因是在通常技藝範圍內的。許多用於產生核苷酸序列的方法與其他的分子生物技術先前已經被描述。參見，例如，Joseph Sambrook and David W. Russell, Molecular Cloning: A laboratory Manual, December 2000，由 Cold Spring Harbor Laboratory Press所發行。

15 該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)也可以依據大腸桿菌的密碼子偏好(codon preference)，以它的基因而被生產為帶有自野生型之序列的調整之人工合成的cDNA。該密碼子的使用(偏好)之廣泛的討論可以於美國專利案案號 4,695,623中找到。參見，例如，第6欄，第41行-第7欄，第
20 35行。

載體

本發明提供一包含編碼該超化合物干擾素或其均等物的基因之載體。

本發明提供一種包含載體的表現系統，該載體含有編

碼該超化合物干擾素或其均等物的基因。該等細胞包括，但不限於：原核或真核細胞。本發明亦提供一宿主細胞，該宿主細胞包含該含有編碼該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物的基因之載體。

5 本發明提供一種用於生產一具有改變的空間構形與提高的抗病毒活性之重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的方法，其含有下列步驟：

- (a) 導入編碼有偏好的用於表現之密碼子的干擾素的核酸分子至一適合的宿主內；以及
- 10 (b) 將該經導入的宿主置於允許該干擾素表現的條件下。

本發明提供用於生產重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的方法，其進一步包含該經表現的干擾素之回收。

表現系統

15 上述的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)可以以一高效率的表現系統予以生產，其使用一特定的啟動子、增強子或其他的調節元素。於一實施例中，啟動子是可誘導的。該可誘導的啟動子包括，但不限於： P_{BAD} 、熱休克啟動子或重金屬可誘導的啟動子。熱休克啟動子係藉由物理手段，然而其他的啟動子係藉由化學手段，例如IPTG或四環素(Tetracyclin)，而被活化。IPTG係被添加至細胞以活化下游的基因或被移除以去活化該基因。四環素是被使用以誘導啟動子或調控啟動子的強度。參見，

20 <http://www.bio.davidson.edu/courses/genomics/method/>

[plasmid_inducible.html](#)。

於一實施例中，啟動子是PBAD。自九十年代早期，PBAD藉由AraC的表現與抑制之機制的性質已經被廣泛地研究，以及其等之相互作用已經於分子位準被仔細分析。

- 5 參見，Schleif, R. S. 1992 DNA looping. *Annu. Rev. Biochem.* 61:199-223。AraC蛋白質是一種正向與負向調控子，當存在時，其開啟來自PBAD 啟動子的轉錄，當不存在時，轉錄以非常低的速率發生。參見，Guzman, L. M. et al. (1995) *J. Bact.* 177: 4121-4130。PBAD啟動子的功效與機制是其他
- 10 的熟悉此藝者所熟知的且是商業上可得的。參見，
http://www.invitrogen.com/content/sfs/brochures/710_01619_pBAD_bro.pdf。

- 商業上可得的Invitrogen表現套組包括pBAD載體的，被設計以提供表現位準之精確的控制。araBAD 啟動子係
- 15 起始基因的表現。其被araC基因的產物正向與負向地調控，一種與L-阿拉伯糖形成一複合物之轉錄調控子。缺少阿拉伯糖，AraC二聚物接觸araBAD 操縱子的半側，形成一210 bp DNA套環。為了最大轉錄活化作用，二件事是需要的：第一，阿拉伯糖結合至AraC。蛋白質釋放O2位置且
- 20 結合I2位置，其係相鄰I1位置。此釋放DNA套環以及允許轉錄開始。第二，cAMP活化子蛋白質(CAP)-cAMP複合物結合至DNA以及刺激AraC結合至I1與I2。基礎表現位準能藉由導入葡萄糖至生長培養基而被抑制。葡萄糖作用為降低cAMP位準，其依次減少CAP的結合。當cAMP位準被降

低，轉錄活化作用被降低。Invitrogen 的 pBAD 載體特別地為了最大表現與容易使用而被設計。

9 種 pBAD 載體是現時可得的：pBAD102/D-TOPO®, pBAD202/D-TOPO®, pBAD-TOPO®, pBAD/Thio-TOPO®,
5 pBAD/His, pBAD/Myc-His, pBAD-DEST49, pBAD/gIII 與 pBAD/Thio-E。所有的 pBAD 載體均具有下列特徵：

1. 用於劑量依賴調控的 *araBAD* 啟動子
2. 用於 *araBAD* 啟動子之嚴密控制的 *araC* 基因
3. 用於增加的轉譯效率之最佳化的核糖體結合位置
- 10 4. 用於有效的轉錄之 *rrnB* 轉錄終止區域

該等可誘導的啟動子包括，但不限於：熱休克啟動子或重金屬可誘導的啟動子。

本發明提供一種用於重組型超化合物干擾素 (rSIFN-co) 的生產之方法，其包含導入一具有經選擇的密碼子偏好之人造基因至一適合的宿主內，於一適合於該化合物干擾素的表現之條件下培養該經導入的宿主，以及收穫該經表現的化合物干擾素。
15

該方法可以包含超重組型超化合物干擾素 (rSIFN-co) 自發酵肉湯 (broth) 的萃取，包涵體的收集、被收穫的蛋白質之變性與復性 (renaturation)。
20

該方法可以維持高功效，即使當該重組型超化合物干擾素 (rSIFN-co) 是與一製劑一起被使用以及在一特定的濃度下。該方法也包含該重組型超化合物干擾素 (rSIFN-co) 之分離與純化。該方法進一步包含該經純化的重組型超化

合物干擾素(rSIFN-co)之冷凍乾燥。該方法包含重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)之液體注射液的產生。

於一實施例中，重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)以重組技術予以生產。在固定的胺基酸序列的情況下，IFN DNA 依據大腸桿菌而被重新設計。密碼子的使用且繼之 rSIFN-co 基因被人工合成。rSIFN-co cDNA 藉由 DNA 重組技術被選殖至大腸桿菌的高-表現載體，以及 rSIFN-co 的高表現係藉由使用 L-阿拉伯糖的誘導/活化-機制而得到以活化 PBAD 啟動子的轉錄。

與基因工程一般的熱誘導、pH 誘導與 IPTG 誘導系統相比之下，阿拉伯糖誘導/活化系統具有幾個優點：(1) 一般的系統係藉由創造一個“去抑制(derepression)”態樣而解除啟動子功能。啟動子接而誘導下游的基因表現。溫度和 pH 的變化以及 IPTG 的添加無法直接地活化 e 啟動子。於本文所揭示的系統中，L-阿拉伯糖不只是去活化與抑制，而且也活化 PBAD 啟動子的轉錄，其誘導 rSIFN-co 的高表現。因此，阿拉伯糖誘導/活化系統是一更有效率的表現系統。(2) 介於外源性的與 L-阿拉伯糖劑量的關係是線性的。此意指阿拉伯糖的濃度能被改變以調整外源性基因的表現位準。因此，比起改變溫度和 pH 值而言，藉由阿拉伯糖是較容易地去控制大腸桿菌內之外源性的基因表現位準。此特性對於包涵體的形成是重要的。(3) L-阿拉伯糖是資源豐富、便宜又安全的，該等的相反是其他的誘導劑，諸如：IPTG，的缺點。

此實施例創造一個有效且抗性的具有一L-阿拉伯糖誘導/活化系統之rSIFN-共表現大腸桿菌工程株。此菌株係於合適的條件下被培養與發酵以收穫細菌體。包涵體在細菌被毀壞之後繼之被純化並重複地清洗。最終的成果，供用於本發明與臨床治療之高純度、空間構形改變的rSIFN-co蛋白質團塊係自包涵體的變性與復性以及一系列的純化步驟而被得到。該純化將不影響該經純化的蛋白質之生物活性。

上述的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)擁有抗病毒或抗腫瘤活性，以及；因此，在抑制、預防和治療病毒疾病，抑制或治療腫瘤，或癌症上是有用的。

病毒疾病

本發明提供一種用於治療或預防一個體體內的病毒疾病或腫瘤的方法，其包含對該個體投藥以一有效量的該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物。Wei (2005；國際公開案案號WO 2005/034853 A2)提供一種用於預防或治療一個體體內的嚴重急性呼吸道徵候群的方法。

當被使用本文中，病毒疾病包括，但不限於：A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、其他型的肝炎，由下列病毒所造成的感染：愛氏頓病毒、人類免疫不全病毒(HIV)、伊波拉病毒、嚴重急性呼吸道徵候群病毒(SARS)、流行性感冒病毒、細胞巨大病毒、單純疱疹病毒，或是其他類型的疱疹病毒、乳多空病毒(papovavirus)、痘病毒(poxvirus)、細小核糖核酸病毒(picornavirus)、腺病毒(adenovirus)、鼻病毒

(rhinovirus)、第I型人類T-細胞白血症病毒，或第II型人類T-細胞白血症病毒，或第III型人類T-細胞白血症病毒。

於一實施例中，有效量係於奈克位準。於其他的實施例中，病毒是人類免疫不全病毒以及有效量是如4奈克/毫升一般低。於其他的實施例中，病毒是流行性感冒以及有效量是如10奈克/毫升一般低。

B型肝炎病毒的DNA的複製與HbsAg和HBeAg的分泌之抑制

該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)抑制B型肝炎病毒的DNA的複製與HbsAg和HBeAg的分泌。

嚴重急性呼吸道徵候群病毒 (SARS)

本發明提供一種用於預防或治療一個體的嚴重急性呼吸道徵候群，或是病毒誘發的上呼吸道疾病之方法，其包含對該個體投藥以一有效量的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或是其之一種功能性均等物。於上述方法的一實施例中，干擾素是 α 、 β 、 γ 、 ω 或其等之一組合。

該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)可以被口服投藥，經由靜脈注射、肌肉注射、腹膜注射、皮下注射、鼻或黏膜投藥，或是經由一噴霧或是一呼吸機藉由吸入予以投藥。於一實施例中，rSIFN-co係以一高於或等於10百萬國際單位/平方米的表面積之劑量被皮下地或肌肉內地投藥。於其他的實施例中，rSIFN-co係以一高於或等於20百萬國際單位/平方米的表面積之劑量被皮下地或肌肉內地投藥。於一實施例中，該干擾素以一噴霧設備遞送。於一

特定的實施例中，該設備是如第11圖中所描述的。於該等實施例的其中一個，該干擾素被冷凍乾燥。

本發明提供一種用於抑制嚴重急性呼吸道徵候群，或病毒誘發的上呼吸道疾病之致病劑的方法，其包含接觸該劑與一有效量的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物。

已經被確定SARS的致病劑是一病毒。參見，例如Rota et al (2003), Characterization of a Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome. Science 1085952 www.sciencexpress.org和Marra, et al. (2003), The Genome Sequence of the SARS-Associated Coronavirus. Science 1085853 www.sciencexpress.org。

本發明也提供一種用於抑制嚴重急性呼吸道徵候群病毒或嚴重急性呼吸道徵候群病毒感染的細胞，或是病毒誘發的上呼吸道疾病，或感染能夠誘導上呼吸道疾病的病毒的細胞之方法，其包含接觸一有效量的該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)與該病毒或細胞。此接觸能是直接或間接的。

本發明提供一種組成物，其含有一有效量的能夠抑制嚴重急性呼吸道徵候群病毒或嚴重急性呼吸道徵候群病毒感染的細胞，或是病毒誘發的上呼吸道疾病，或感染能夠誘導上呼吸道疾病的病毒的細胞之重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)，以及一合適的載劑。

本發明提供一種組成物，其含有一有效量的能夠預防

或治療一個體的嚴重急性呼吸道徵候群，或是病毒誘發的上呼吸道疾病之超化合物干擾素，以及一合適的載劑。

本發明提供一藥學組成物，其含有一有效量的能夠抑制嚴重急性呼吸道徵候群病毒或嚴重急性呼吸道徵候群病毒感染的細胞，或是病毒誘發的上呼吸道疾病之重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)，以及一藥學上可接受的載劑。

本發明提供一藥學組成物，其含有一有效量的能夠預防或治療一個體體內的嚴重急性呼吸道徵候群，或是病毒誘發的上呼吸道疾病之重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)，以及一藥學上可接受的載劑。

本發明提供一設備以遞送該上述的藥學組成物。

於一較佳的實施例中，該個體是一人類。能很容易明瞭的，該超化合物干擾素能被使用於其他的動物或哺乳動物。

本發明提供一種用於預防人類體內的嚴重急性呼吸道徵候群或病毒誘發的上呼吸道疾病的方法，其包含經由一噴霧器施用該超化合物干擾素一天三次，其於3毫升中包括20微克的干擾素，等同於一千萬單位的活性。

病毒上呼吸道感染(VURI)

病毒上呼吸道感染，任擇地名為感冒(common cold)、傷風(colds)。此為一種上呼吸(respiratory)道的接觸性傳染的病毒感染，其特徵在於黏膜發炎、打噴嚏(sneezing)，以及喉嚨痛(sore throat)。其通常是由超過200種不同的病毒所造成，已知為鼻病毒。傷風不是由造成流行性感冒(Influenza)

相同的病毒所造成。傷風是經由其他有傷風的人咳嗽 (coughing) 或打噴嚏的小滴或是藉由手的接觸被某個有傷風的人所污染的物品而散佈的。傷風的發生率在小孩是最高的，以及發生率隨著年齡而下降，因為對造成傷風的病毒之免疫力 (immunity) 在疾病後產生。逐漸地，對造成傷風的廣泛種類病毒的免疫力於成人體內發展。孩童可能一年有10次傷風，而成人可能一年有3次傷風。

設若一病人呈現一病毒性URI，攝生法的範圍是廣泛的。因為多數此等感染是自限的 (self-limiting)，臨床醫生通常建議休息與多喝水，但是其他的治療包括環境與營養療法，不用處方箋與處方箋的去充血藥與抗組織胺產物、新的抗組織胺與抗膽鹼的鼻配方，以及抗生素。

參

見

<http://www.physsportsmed.com/issues/1998/02feb/swain.htm>

15 (2005)。

感染上呼吸道感染 (URI) 的預防與治療

差不多 70~80% 的 URI 是由病毒所造成的，諸如：呼吸道合胞病毒 (respiratory Syncytical virus)、腺病毒 (adenovirus)、鼻病毒 (rhinovirus)、柯薩奇病毒 (cox-sackie virus)、冠狀病毒 (corona virus) 及其變異株、流行性感 A 型病毒及其變異株、流行性感 B 型病毒及其變異株、副流行性感病毒及其變異株，或是腸病毒 (enterovirus) 及其變異株。成人 URI 的一個主要成因是來自鼻病毒。關於孩童，呼吸道合胞病毒與副流行性感病毒是 URI 的二個主

要成因。

重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)在對抗造成URI的病毒上扮演一重要的角色。超化合物干擾素主要經由二個機制得到其抗病毒的作用：

- 5 1. 附著至感受性細胞的表面並誘導它們生產抗病毒蛋白質，接而封阻活體內病毒的複製與生殖。
2. 重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)能調節免疫反應，包括T-細胞免疫反應、NK細胞的活動、單核細胞(monokaryon)的吞噬功能，以及一些抗體活體內的形成。

10 於URI的治療上，重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)能經由一噴霧器或一呼吸而直接地被施用至罹病的區域。此治療方法允許該干擾素直接地到達標的細胞。結果，以一噴霧器售出用品，而不是經由口腔或注射，會更安全且更有效地投藥該干擾素。

SARS的預防與治療

15 在四川(中國境內的一省)SARS預防與控制事務委員會(*Sichuan working group on SARS prevention and control*)的同意下，重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的分布於2003年5月開始。超化合物干擾素噴霧器被分派給醫院內的醫生與護士，具有SARS高風險的居住地區，以及SARS預防與控制國家研究小組

20 (*National research group on prevention and control of SARS*)。在2003年12月的3000個使用者中，沒有任何與該噴霧器相關的副作用被報告。而且，沒有任何一個已經使用該超化合物干擾素噴霧器醫生與護士，四川省的人民，或是其他的機構的人已經被SARS感染。

因此，本發明提供一種用於抑制、預防或治療病毒的複製或病毒感染的細胞的方法，其係藉由接觸該病毒或感染的細胞與一有效量的該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物。

5 腫瘤之預防與治療

此重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)在抑制、預防或治療下列的癌症或腫瘤上是有用的：

癌症	皮膚癌	基底細胞癌 惡性黑色素瘤	
	腎細胞癌		
	肝癌		
	胸腺癌		
	鼻咽癌		
	固態癌	攝護腺癌	
		胃/腹癌	
		食道癌	
		直腸癌	
		胰臟癌	
		乳癌	
	卵巢癌 & 淺膀胱癌		
	血管瘤		
	表皮癌(epidermoid carcinoma)	子宮頸癌	
		非小細胞肺癌	
小細胞肺癌			
神經膠質瘤			
惡性血液疾病	白血病(leucocythemia)	急性白血病	
		慢性白血病	
	慢性骨髓性白血病		
	毛樣細胞白血病		
	淋巴腺瘤		
多發性骨髓瘤			

	真性紅血球過多症 (polycythemia vera)	
其他	卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)	

因此，本發明提供一種用於抑制腫瘤或癌細胞生長的方法，其係藉由接觸該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物與該等腫瘤或癌細胞。

投藥的配方與途徑

5 本發明亦提供藉由以上方法而被生產的超化合物干擾素。

本發明提供一種組成物，其包含重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物與一合適的載劑。

10 本發明提供一藥學組成物，其包含該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物以及一藥學上可接受的載劑。

本發明提供上述的方法，其中重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)被口服投藥，經由靜脈注射、肌肉注射、腹膜注射、皮下注射、鼻或黏膜投藥，或是經由一噴霧或是一呼吸機藉由吸入予以投藥。

15 本發明提供上述的方法，其中重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)被投藥遵照以下注射的程序：每二天 9 μ g、15 μ g 或 24 μ g，一周 3 次，歷時 24 周。

20 驚訝地發現已經改變的空間結構之重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)，不只是抑制 B 型肝炎的 DNA 複製之製備物，也是抑制 HbsAg 與 HbeAg 於 2.2.15 細胞上的分泌之製備物。

本發明的一個目的是要提供一種重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的製備物，以直接地抑制 B 型肝炎病毒的 DNA 複製與 B 型肝炎的 HbsAg 與 HbeAg 的分泌並降低它們至正常的位準。

5 配方

以下是一些 rSIFN-co 的製備物：口服的錠劑、膠囊、液體，貼片、注射品、噴霧、栓劑，以及溶液。注射品是推薦的。皮下地注射或靜脈注射藥品是普遍的。藥品載劑可以是任何可接受的藥品載劑，包括碳水化合物、纖維素
10 (cellulosum)、黏合劑、崩解劑、軟化劑、填充劑、添加-溶解劑、緩衝劑(amortization)、保存劑、增稠劑、配對劑(matching)等等。

本發明也提供一種含有上述的組成物以及一藥學上可接受的載劑之藥學組成物。

15 為本發明之目的，“藥學上可接受的載劑”意指任何標準的藥學載劑。合適的載劑之實例是本技藝中熟知的，以及可以包括，但不限於：任何標準的藥學載劑，諸如：一磷酸緩衝鹽水溶液與各種不同的濕潤劑。其他的載劑可以包括被使用於錠劑、顆粒、膠囊等等的添加劑。典型地，
20 此等載劑包括賦形劑，諸如：澱粉、牛奶、糖、某些種類的黏土、明膠、硬脂酸或其鹽類、硬脂酸鎂或鈣、滑石、植物油脂或油、膠、乙二醇或其他已知的賦形劑。此等載劑也可以包括調味與色彩添加劑或其他的成分。含有此等載劑之組成物係藉由熟知的慣用方法予以配方。

rSIFN-co 半衰期的增加

聚乙二醇化(Pegylation)

聚乙二醇化是藉由聚乙二醇鏈被附著至蛋白質與胜肽藥物以增加藥物動力學的方法，透過遮蔽蛋白質分解酵素以保護此等蛋白質與胜肽藥物。參見， Harris and Chess, *Effect of pegylation on pharmaceuticals*. Nat Rev Drug Discov. 2003 Mar; 2(3):214-21。

聚乙二醇化是一種相當為大家接受的用於增加的蛋白質與脂質體藥學的循環的半衰期之方法，根據聚乙二醇之大的流體動力學體積。此等聚乙二醇遮蔽蛋白質與胜肽藥物以避免腎臟廓清，酵素的降解以及免疫系統辨識，因而其等之半衰期且使得它們為病人更可接受的。參見， Molineux, *Pegylation: engineering improved pharmaceuticals for enhanced therapy*. Cancer Treat Rev. 2002 Apr; 28 Suppl A: 13-6。作者結論聚乙二醇化對於癌症病人的生命品質有有益的作用。

干擾素的聚乙二醇化增加該干擾素維持於身體內的時間的量，藉由增加該干擾素分子的大小，藉由減低吸收速率，延長半衰期與干擾素廓清的速率。因此，具有聚乙二醇化的干擾素之生物活動的持續期間被增加超越非聚乙二醇化的干擾素，因而提供一超越非聚乙二醇化的干擾素的優點，較不頻繁地投藥與可匹敵的容忍度(tolerability)。作者聲明以聚乙二醇化的干擾素之單獨療法比以非聚乙二醇化的配方之單獨療法於某些病人產生一較佳的反應。參

見，Baker, *Pegylated interferons*. *Rev Gastroenterol Disord*. 2001;1(2):87-99。

持續的釋放或經控制的釋放

持續的釋放遞送基質與脂質體可能隨著 rSIFN-co 被使用以創造持續的釋放與經控制的釋放配方。參見，Robinson and Talmadge, *Sustained Release of Growth Factors*. *In Vivo* 2002 Nov-Dec; 16(6): 535-40。作者聲明聚乙二醇化以及持續的釋放遞送基質與脂質體二者均改進重組型分子的藥物動力學與藥物動力(pharmacodynamic)性質，以及因而藉由改進臨床功效此等方針增加病人的順從性(compliance)。

本發明提供含有含有一製劑或被一製劑包封的重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)，該製劑能夠影響該干擾素的半衰期或遞送。於一實施例中，此製劑是聚乙二醇(PEG)。

本發明進一步提供一種用於治療或預防一個體體內的病毒疾病或腫瘤的方法，其包含對該個體投藥以一有效量的該重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)或其均等物，其含有一製劑或是被一製劑包封，該製劑能夠影響該干擾素的半衰期或遞送。於一實施例中，此製劑是聚乙二醇(PEG)。

由以下之實例，本發明將更被了解。然而，一個在本技藝中具有技藝者將容易地了解所討論之特定的方法與結果僅是如於之後的申請專利範圍所更完整地說明的本發明的例示說明。

實驗詳細說明

IFN-con 是一種依據人類 IFN- α 亞型的守恆性胺基酸，使用基因工程的方法予以建構之新穎的干擾素分子。已經被證實 IFN-con 具有廣效的 IFN 活性，諸如：高的抗病毒與腫瘤抑制活性，特別地用於有效地治療 C 型肝炎。

- 5 大腸桿菌密碼子被使用來重新設計 rSIFN-co cDNA，並接而自公開的 Infergen[®](干擾素 alfacon-1)DNA 序列人工合成 rSIFN-co 的 cDNA 與推論的胺基酸序列(第 1 圖)。

為了得到純的 rSIFN-co 蛋白質，rSIFN-co cDNA 被選殖至大腸桿菌高表現載體，以及 L-阿拉伯糖，其能活化載體內強的 P_{BAD} 啟動子，被用來誘導高的 rSIFN-co 基因表現。

實施例 1

重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)對於伊波拉病毒的作用

背景：伊波拉病毒是一種造成可怕症狀的惡名昭彰的致命性病毒，最顯著的是高燒和大量的內出血。伊波拉病毒引起 90% 一樣多的其感染的人的死亡。其是能夠造成出血性(流血性)發燒的病毒之一。該疾病沒有特效的治療法。目前，病人接受支持性療法。此係由下列構成：平衡病人的體液與電解質、維持他們的氧位準與血壓，以及治療他們的任何的併發感染。死亡能在症狀開始的 10 天之內發生。

20 1.材料

1.1 藥物：rSIFN-co，由 Sichuan Biotechnology Research Center 提供。

1.2 病毒：伊波拉，由 The Academy of Military Medical Science, Institute of Microbiology Epidemiology 供應。

1.3 實驗的安全位準：病毒實驗係於生物實驗安全系統位準 3 之下進行。

1.4 動物：60 隻 BALB/c 小鼠

2 方法

2.1 60 隻小鼠被隨機地分成 6 組，各組由 10 隻小鼠構成。第 1 組於接種以伊波拉病毒的該天被治療以 1 μ g/的 rSIFN-co。第 2 組在接種以伊波拉病毒的第 1 天(1)被治療以 1 μ g/的 rSIFN-co。第 3 組在接種以伊波拉病毒的第 2 天(2)被治療以 1 μ g/的 rSIFN-co。第 4 組在接種以伊波拉病毒的第 3 天(3)被治療以 1 μ g/的 rSIFN-co。第 5 組在接種以伊波拉病毒的第 4 天(4)被治療以 1 μ g/的 rSIFN-co。第 6 組不以 rSIFN-co 治療，並且被選定作為對照組。

2.2 藥物的投藥：1 μ g/的 rSIFN-co 一天被投藥一次持續連續的六(6)天。

3 結果

第 6 組(對照組)中所有的十(10)隻小鼠均死亡。於第 1 組(1)、第 2 組(2)以及第 3 組(3)中所有的小鼠均存活且沒有任何可觀察到的毒性反應。於第 4 組(4)以及第 5 組(5)中顯示一些作用。

4 結論

清楚地，此等結果顯示rSIFN-co對抗伊波拉病毒的有效性。

實施例 2

重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的抗 HIV 作用

5 1. 材料

1.1 野生型 HIV

1.2 抗藥性 HIV

1.3 293-CD4-CCR5 細胞

1.4 DMEM, Gibco

10 1.5 小牛血清, Gibco

1.6 rSIFN-co, 由 Sichuan Biotechnology Research
Center 提供

1.7 96-井平盤, NUNC

1.8 CO₂ 培養箱

15 1.9 層流通風櫥

1.10 螢光計

1.11 UV 吸收計

1.12 其他

2. 方法

20 2.1 於指數(log)期的 293-CD4-CCR5 細胞被取得, 以 0.25% 胰酶予以消化, 以錐藍(Trypan blue)染料予以染色以判定細胞數目, 以及以 DMEM 予以稀釋至每毫升 2.0×10^5 個細胞(cell/ml)的濃度。

- 2.2 96-井平盤的各井被裝入 100 μ l(微升)的 293-CD4-CCR5- DMEM 懸浮液。平盤被放到攝氏 37 度的 5%二氧化碳培養箱內以及隔天觀察到井的基部區域的 70 百分比(70%)被恢復。
- 5 2.3 在上澄液被移除之後，100 μ l(微升)的不同濃度的 rSIFN-co 被添加至各井中。使用二個對照：磷酸緩衝食鹽水(PBS)與生長培養基。
- 2.4 平盤被放到攝氏 37 度的二氧化碳培養箱內歷時大概 18 至 20 小時。
- 10 2.5 實驗井：不同濃度的野生型 HIV 與抗藥性 HIV 病毒以 100 μ l(微升)每個井被放到各井中。對照井：無病毒被添加，只有每個井 100 μ l(微升)的 DMEM。
- 2.6 平盤被放到攝氏 37 度的二氧化碳培養箱內歷時大概 24 小時。
- 15 2.7 進行例行的螢光素酶分析以及上澄液的蛋白質濃度被測量。螢光素酶係以 RLU/mg 單位予以測量。

3 結果

- 20 rSIFN-co 以 ≥ 4 奈克/毫升(ng/ml)的位準能抑制 HIV。參見，表4與第3-4圖。當使用螢光素酶為Y軸且 rSIFN-co 的濃度作X軸時，使用 EXCEL，清楚地在 rSIFN-co >4 奈克/毫升(ng/ml)的位準，螢光素酶活性的位準明顯地低於PBS與培養基對照組。清楚的逆向劑

量依賴反應已經顯示。

表 4

rSIFN-co對於野生型HIV與抗藥性HIV的抑制作用之比較

5

rSIFN-co 的 濃度	螢光素酶分析	
	野生型 HIV	抗藥性 HIV
培養基	13500+2000	18000+2000
1 µg/ml	3000+200	2800+800
500 ng/ml	3000+600	2800+900
250 ng/ml	3400+400	4000+600
125 ng/ml	4300+200	4100+600
62.5 ng/ml	4300+400	4100+1000
31 ng/ml	5000+800	5100+800
15 ng/ml	7200+400	6000+1500
7.5 ng/ml	7000+800	7700+1300
4 ng/ml	9000+2000	8900+2000
PBS	13000+3000	15100+2300
培養基	16000+3600	19000+2500

4 結論：rSIFN-co對抗二者是有效的：野生型HIV
與抗藥性HIV。

實施例 3

重組型超化合物干擾素(rSIFN-co)的抗流行性感冒作用

10 1. 材料

1.1.10 天大的雞胚膜細胞

- 1.2. 由 Sichuan Biotechnology Research Center 提供的
SIFN-co
 - 1.3. 由 Molecular Biology Department of Institute of
microbiology and epidemiology, Academy of
5 Military Medical Science 提供的流行性感冒病毒
 - 1.4. DMEM, Gibco
 - 1.5. 新生小牛血清
 - 1.6. 96-井平盤, NUNC
 - 1.7. CO₂ 培養箱
 - 10 1.8. 層流通風櫥
 - 1.9. 倒立式顯微鏡
 - 1.10. 其他
2. 方法
- 2.1 於指數(log)期的 10 天大的雞胚膜細胞被取
15 得, 以 0.25% 胰酶予以消化, 以錐藍染料予以
染色以判定細胞數目, 以及以 DMEM 予以稀釋
至每毫升 2.0×10^5 個細胞(cell/ml)的濃度。
 - 2.2 96-井平盤的各井被裝入 100 μ l(微升)的
293-CD4-CCR5- DMEM 懸浮液。平盤被放到攝
20 氏 37 度的 5% 二氧化碳培養箱內。隔天細胞長
成一單層。
 - 2.3 在上澄液被移除之後, 100 μ l(微升)的不同濃度
的 rSIFN-co 被添加至各井中。使用二個對照
井: 不添加 rSIFN-co。

2.4 平盤被放到攝氏 37 度的二氧化碳培養箱內歷時大概 18 至 20 小時。

2.5 實驗井：不同濃度的流行性感冒病毒以 100 μ l(微升)每個井被放到各井中。

5 對照井：無流行性感冒病毒被添加，只有每個井 100 μ l(微升)的 DMEM。

2.6 平盤被放到攝氏 37 度的二氧化碳培養箱內歷時大概 24 小時。

2.7 細胞在倒立式顯微鏡下被觀察。

10 3. 結果

3.1 在倒立式顯微鏡下，於對照井中添加流行性感冒病毒且無干擾素的細胞具有明顯的 CPE，諸如：細胞的圓形化、細胞壞死、反射光的減少以及脫落。

15 3.2 含有濃度 ≥ 10 奈克/毫升(ng/ml)的 rSIFN-co 之實驗井中的細胞沒有 CPE 且相當於正常細胞的型態。參見，第 5 圖。

3.3 無添加流行性感冒病毒且無干擾素之對照井沒有任何 CPE。

20 4 結論

濃度 ≥ 10 奈克/毫升(ng/ml)的rSIFN-co對抗流行性感冒病毒是有效的。

實施例 4

一個肺癌個體的臨床觀察

一個體於2005年10月7日被認為有非小細胞肺癌。在一個月的化療治療之後，於2005年10月22日與2005年10月25日的成像檢查中沒有觀察到改善。於2006年1月4日的檢查中也沒有進展。該個體以超化合物干擾素予以治療歷時1個月。攝生法如下：該個體每隔一天被給予注射。第一次，該個體被給予9微克的劑量。後續的注射中，劑量被加倍至18微克。於2006年2月23日的檢查顯示出快速的改進。

【圖式簡單說明】

第1圖：依據大腸桿菌密碼子的使用所設計的rSIFN-co cDNA序列以及所推論的rSIFN-co胺基酸序列。

第2A-B圖：另一個超化合物干擾素的序列。

第3圖：rSIFN-co的野生型HIV之抑制作用的圖。

使用EXCEL且以螢光素酶(Luciferase)作Y軸以及rSIFN-co的濃度作X軸。清楚的逆向劑量依賴反應已經顯示。

第4圖：rSIFN-co的抗藥性HIV之抑制作用的圖，使用EXCEL且以螢光素酶作Y軸與rSIFN-co的濃度作X軸。清楚的逆向劑量依賴反應已經顯示。

第5圖：流行性感冒病毒的rSIFN-co抑制作用：於左方，控制井係顯示以添加流行性感冒病毒而不添加干擾素，該等細胞具有明顯的CPE，諸如：細胞的圓形化、細胞壞死、反射光的減少以及脫落。於右方，實驗井係顯示包括流行性感冒病毒以及10奈克/毫升(ng/ml)濃度的rSIFN-co具有相當於正常細胞的型態。

【主要元件符號說明】(無)



五、中文發明摘要：

本發明提供重組型超化合物干擾素(rSIFN-cos)和其具有改變的空間構形、高功效與低副作用之均等物的不同的用途。因此，高劑量的rSIFN-co可以被使用。rSIFN-co的一個特性是其於活體外藥學研究中抑制HBV DNA複製與HbsAg和HBeAg的分泌之能力。rSIFN-co的細胞毒殺作用只是現在可得的干擾素的八分之一(1/8)，但是其抗病毒作用大概是高於五至二十(5-20)倍，以及當被使用於活體內時，其具有廣範圍的臨床應用與較長的生物回饋反應。本發明進一步提供超化合物干擾素或其均等物，編碼該rSIFN-co具有密碼子偏好之人造基因的合成，其編碼該rSIFN-co和其均等物，含有該基因之載體以及用於該rSIFN-co之表現之適合的表現系統。最後，本發明提供該超化合物干擾素(rSIFN-co)和其均等物，一種用於生產其等之方法以及其等之用途。

六、英文發明摘要：

This invention provides different uses of recombinant super-compound interferons (rSIFN-cos) and its equivalent with changed spatial configuration, high efficacy and low side effects. Therefore, high dose of rSIFN-co may be used. One characteristic of rSIFN-co is its ability to inhibit the HBV DNA duplication and secretion of HBsAg and HBeAg in *in vitro* pharmacological studies. The cytotoxic effect of rSIFN-co is only one-eighth (1/8) of currently clinically available interferons but its anti-viral effect is approximately five to twenty (5-20) times higher, and when used *in vivo* it has a broader spectrum of clinical applications and longer biofeedback response. This invention further provides super-compound interferon or its equivalent, synthesis of artificial gene with codon preference which codes for said rSIFN-co and its equivalent, vector comprising said gene and appropriate expression system for expression of said rSIFN-co. Finally this invention provides the super-compound interferon (rSIFN-co) and its equivalent, a process to produce same and uses thereof.

第 2 B 圖

5' 11 21 31 41 51
 +1 M C D L P Q T H S L G N R R A L I L L A
 1 ATGTGTGATT TACCTCAAAC TCATTCTCTT GGTAACCGTC GCGCTCTGAT TCTGCTGGCA
 TACACACTAA ATGGAGTTTG AGTAAGAGAA CCATTGGCAG GCGGAGACTA AGACGACCGT

5' 71 81 91 1 11
 +1 Q M R R I S P F S C L K D R H D F G F P
 61 CAGATGCGTC GTATTTCCCC GTTAGCTGCG CTGAAAGACC GTCACGACTT CCGCTTTCCG
 GTCTACGCAG CATAAAGGGG CAAATCGACG GACTTTCTGG CAGTGCTGAA GCCGAAAGGC

5' 31 41 51 61 71
 +1 Q E E F D G N Q F Q K A Q A I S V L H E
 121 CAAGAAGAGT TCGATGGCAA CCAATTCCAG AAAGCTCAGG CAATCTCTGT ACTGCACGAA
 GTTCTTCTCA AGCTACCGTT GGTTAAGGTC TTTGAGTCC GTTAGAGACA TGACGTGCTT

5' 91 1 11 21 31
 +1 M I Q Q T F N L F S T K D S S A A W D E
 181 ATGATCCAAC AGACCTTCAA CCTGTTTTCC ACTAAAGACA GCTCTGCTGC TTGGGACGAA
 TACTAGGTTG TCTGGAAGTT GGACAAAAGG TGATTTCTGT CGAGACGACG AACCTGCTT

5' 51 61 71 81 91
 +1 S L L E K F Y T E L Y Q Q L N D L E A G
 241 AGCTTGCTGG AGAAGTTCTA CACTGAACTG TATCAGCAGC TGAACGACCT GGAAGCATGC
 TCGAACGACC TCTTCAAGAT GTGACTTGAC ATAGTCGTCG ACTTGCTGGA CCTTCGTACG

5' 11 21 31 41 51
 +1 V I Q E V G V E E T P L M N V D S I L A
 301 GTAATCCAGG AAGTTGGTGT AGAAGAGACT CCGCTGATGA ACGTCGACTC TATTCTGGCA
 CATTAGGTCC TTCAACCAGA TCTTCTCTGA GCGGACTACT TGCAGCTGAG ATAAGACCGT

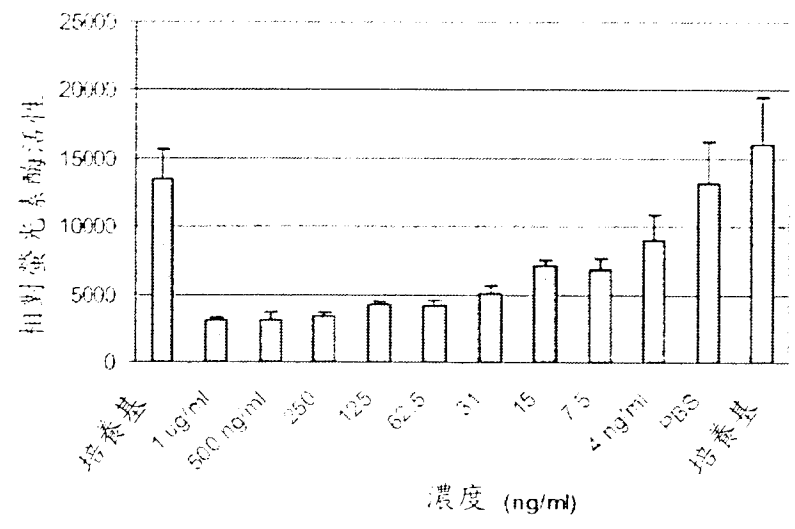
5' 71 81 91 1 11
 +1 V K K Y F Q R I T L Y L T E K K Y S P C
 361 GTTAAAAAGT ACTTCCAGCG TATCACTCTG TACCTGACCG AAAAGAAATA TTCTCCGTGC
 CAATTTTCA TGAAGGTGCG ATAGTGAGAC ATGGACTGGC TTTTCTTTAT AAGAGGCACG

5' 31 41 51 61 71
 +1 A W E V V R A E I M R S F S L S T N L Q
 421 GCTTGGGAAG TAGTTCGCGC TGA AATTATG CGTTCTTTCT CTCTGTCTAC TAACCTGCAG
 CGAACCTTC ATCAAGCGCG ACTTTAATAC GCAAGAAAGA GAGACAGATG ATTGGACGTC

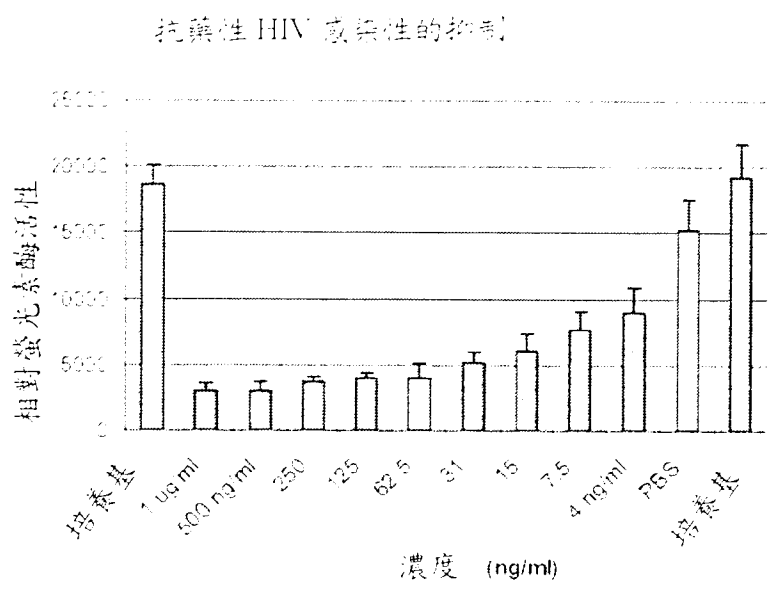
5' 91 1
 +1 E R L R R K E # @
 81 GAGCGTCTGC GCGTAAAGA ATAATAG
 CTCGCAGACG CGGCATTCT TATTATC

第 3 圖

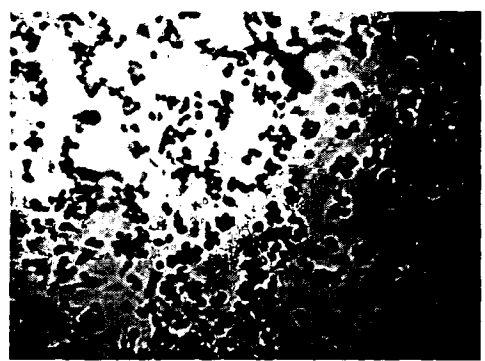
野生型 HIV 感染性的抑制



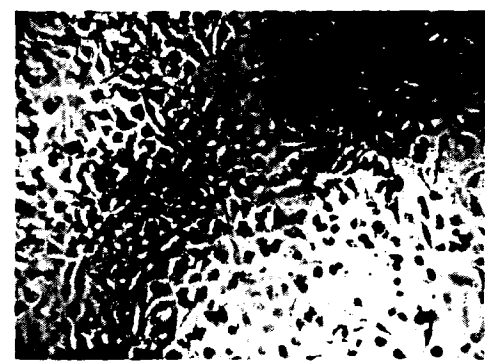
第 4 圖



流行性感冒病毒的抑制(24 小時)



未處理



10 ng/ml

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(無)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

補充序列表

101.10.29
年 月 日 修(更)正 頁

<110> 輝陽科技美國公司 (HUIYANGTECH (USA), INC)

<120> 重組型超化合物干擾素之用途

<130> 1005-B-TW

<140> 95107930

<141> 2006-03-09

<150> 60/659,925

<151> 2005-03-09

<160> 6

<210> 1

<211> 167

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重組人類干擾素之序列

<400> 1

Met Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Asn Arg Arg Ala Leu
1 5 10 15

Ile Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Lys
20 25 30

Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Asp Gly Asn Gln
35 40 45

Phe Gln Lys Ala Gln Ala Ile Ser Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
50 55 60

Thr Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
65 70 75 80

Ser Leu Leu Glu Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Glu Val Gly Val Glu Glu Thr Pro Leu
100 105 110

Met Asn Val Asp Ser Ile Leu Ala Val Lys Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
115 120 125

98年1月24日修(更)正本 (2-5頁)

Thr Leu Tyr Leu Thr Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 130 135 140

Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
 145 150 155 160

Glu Arg Leu Arg Arg Lys Glu
 165

- <210> 2
- <211> 504
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <221> CDS
- <223> 編碼重組人類干擾素

<400> 2
 atg tgc gac ctg ccg cag acc cac tcc ctg ggt aac cgt cgt gct ctg 48
 Met Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Asn Arg Arg Ala Leu
 1 5 10 15

atc ctg ctg gct cag atg cgt cgt atc tcc ccg ttc tcc tgc ctg aaa 96
 Ile Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Lys
 20 25 30

gac cgt cac gac ttc ggt ttc ccg cag gaa gaa ttc gac ggt aac cag 144
 Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Asp Gly Asn Gln
 35 40 45

ttc cag aaa gct cag gct atc tcc gtt ctg cac gaa atg atc cag cag 192
 Phe Gln Lys Ala Gln Ala Ile Ser Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 50 55 60

acc ttc aac ctg ttc tcc acc aaa gac tcc tcc gct gct tgg gac gaa 240
 Thr Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 65 70 75 80

tcc ctg ctg gaa aaa ttc tac acc gaa ctg tac cag cag ctg aac gac 288
 Ser Leu Leu Glu Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 85 90 95

ctg gaa gct tgc gtt atc cag gaa gtt ggt gtt gaa gaa acc ccg ctg 336
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Glu Val Gly Val Glu Glu Thr Pro Leu
 100 105 110

atg aac gtt gac tcc atc ctg gct gtt aaa aaa tac ttc cag cgt atc 384
 Met Asn Val Asp Ser Ile Leu Ala Val Lys Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
 115 120 125

acc ctg tac ctg acc gaa aaa aaa tac tcc ccg tgc gct tgg gaa gtt 432
 (2)

Thr Leu Tyr Leu Thr Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 130 135 140

gtt cgt gct gaa atc atg cgt tcc ttc tcc ctg tcc acc aac ctg cag 480
 Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
 145 150 155 160

gaa cgt ctg cgt cgt aaa gaa taa 504
 Glu Arg Leu Arg Arg Lys Glu
 165

<210> 3
 <211> 504
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> CDS
 <223> 編碼重組人類干擾素

<400> 3
 tacacgctgg acggcgtctg ggtgaggac ccattggcag cacgagacta ggacgaccga 60
 gtctacgcag catagagggg caagaggac gactttctgg cagtgctgaa gccaaagggc 120
 gtccttctta agctgccatt ggtcaaggtc tttcgagtcc gatagaggca agacgtgctt 180
 tactaggctg tctggaagt ggacaagagg tggtttctga ggaggcgacg aaccctgctt 240
 agggacgacc ttttaagat gtggcttgac atggctcgtc acttgctgga ccttcgaacg 300
 caataggctc tcaaccaca acttctttgg ggcgactact tgcaactgag gtaggaccga 360
 caatTTTTTA tgaaggctgc atagtgggac atggactggc ttttttttat gaggggcacg 420
 cgaacccttc aacaagcacg acttttagtac gcaaggaaga gggacaggtg gttggacgtc 480
 cttgcagacg cagcatttct tatt 504

<210> 4
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 重組人類干擾素之序列

<400> 4

Met Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Asn Arg Arg Ala Leu
 1 5 10 15

Ile Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Lys
 20 25 30

Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Asp Gly Asn Gln
 35 40 45

Phe Gln Lys Ala Gln Ala Ile Ser Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 50 55 60

Thr Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 65 70 75 80

Ser Leu Leu Glu Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 85 90 95

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Glu Val Gly Val Glu Glu Thr Pro Leu
 100 105 110

Met Asn Val Asp Ser Ile Leu Ala
 115 120

<210> 5
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> CDS
 <223> 編碼重組人類干擾素

<400> 5
 atg tgt gat tta cct caa act cat tct ctt ggt aac cgt cgc gct ctg 48
 Met Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Asn Arg Arg Ala Leu
 1 5 10 15

att ctg ctg gca cag atg cgt cgt att tcc ccg ttt agc tgc ctg aaa 96
 Ile Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Ser Cys Leu Lys
 20 25 30

gac cgt cac gac ttc ggc ttt ccg caa gaa gag ttc gat ggc aac caa 144
 Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Asp Gly Asn Gln
 35 40 45

ttc cag aaa gct cag gca atc tct gta ctg cac gaa atg atc caa cag 192
 Phe Gln Lys Ala Gln Ala Ile Ser Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 50 55 60

acc ttc aac ctg ttt tcc act aaa gac agc tct gct gct tgg gac gaa 240
 Thr Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 65 70 75 80

agc ttg ctg gag aag ttc tac act gaa ctg tat cag cag ctg aac gac 288
 Ser Leu Leu Glu Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 85 90 95

ctg gaa gca tgc gta atc cag gaa gtt ggt gta gaa gag act ccg ctg 336
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Glu Val Gly Val Glu Glu Thr Pro Leu
 100 105 110

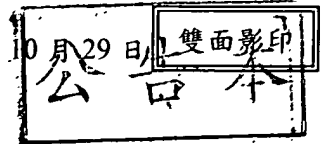
atg aac gtc gac tct att ctg gca
 Met Asn Val Asp Ser Ile Leu Ala
 115 120

360

<210> 6
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <221> CDS
 <223> 編碼重組人類干擾素

<400> 6
 tacacactaa atggagttag agtaagagaa ccattggcag cgcgagacta agacgaccgt 60
 gtctacgcag cataaagggg caaatcgacg gactttctgg cagtgctgaa gccgaaaggc 120
 gttcttctca agctaccggt ggtaaggtc ttctgagtcg gttagagaca tgacgtgctt 180
 tactagggtg tctggaagtt ggacaaaagg tgatttctgt cgagacgacg aaccctgctt 240
 tcgaacgacc tcttcaagat gtgacttgac atagtcgtcg acttgctgga ccttcgtacg 300
 cattaggctc ttcaaccaca tcttctctga ggcgactact tgcagctgag ataagaccgt 360



十、申請專利範圍：

1. 一種用於製作治療嚴重急性呼吸道徵候群的醫藥組成物的重組干擾素的用途，其中該干擾素由 SEQ ID NO. 2 所示的多核苷酸序列編碼而成，其中該重組干擾素與具有如 SEQ ID NO. 1 所示相同氨基酸序列但並不是由 SEQ ID NO. 2 所示之多核苷酸序列編碼構成的干擾素相比，重組型干擾素具有不同的空間構象和強化生物活動的能力。
2. 一種用於製作治療人類免疫不全病毒的醫藥組成物的重組干擾素的用途，其中該干擾素由 SEQ ID NO. 2 所示的多核苷酸序列編碼而成，其中該重組干擾素與具有如 SEQ ID NO. 1 所示相同氨基酸序列但並不是由 SEQ ID NO. 2 所示之多核苷酸序列編碼構成的干擾素相比，重組型干擾素具有不同的空間構象和強化生物活動的能力。
3. 一種用於製作治療伊波拉病毒的醫藥組成物的重組干擾素的用途，其中該干擾素由 SEQ ID NO. 2 所示的多核苷酸序列編碼而成，其中該重組干擾素與具有如 SEQ ID NO. 1 所示相同氨基酸序列但並不是由 SEQ ID NO. 2 所示之多核苷酸序列編碼構成的干擾素相比，重組型干擾素具有不同的空間構象和強化生物活動的能力。
4. 一種用於製作治療流行性感冒病毒的醫藥組成物的重組干擾素的用途，其中該干擾素由 SEQ ID NO. 2 所示的多核苷酸序列編碼而成，其中該重組干擾素與具有如

SEQ ID NO. 1 所示相同氨基酸序列但並不是由 SEQ ID NO. 2 所示之多核苷酸序列編碼構成的干擾素相比，重組型干擾素具有不同的空間構象和強化生物活動的能力。

5. 如申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之用途，其特徵是該干擾素被口服投藥，經由靜脈注射、腹膜注射、皮下注射、鼻或黏膜投藥，或是經由一呼吸器藉由吸入予以投藥。

公告本

第 1 圖

5' 11 21 31 41 51

+1 M C D L P Q T H S L G N R R A L I L L A
 1 ATGTGCGACC TGCCGCAGAC CCACTCCCTG GGTAACCGTC GTGCTCTGAT CCTGCTGGCT
 TACACGCTGG ACGGCGTCTG GGTGAGGGAC CCATTGGCAG CACGAGACTA GGACGACCGA

5' 71 81 91 101 111

+1 Q M R R I S P F S C L K D R H D F G F P
 61 CAGATGCGTC GTATCTCCCC GTTCTCCTGC CTGAAAGACC GTCACGACTT CGGTTTCCCG
 GTCTACGCAG CATAGAGGGG CAAGAGGACG GACTTTCTGG CAGTGCTGAA GCCAAAGGGC

5' 131 141 151 161 171

+1 Q E E F D G N Q F Q K A Q A I S V L H E
 121 CAGGAAGAAT TCGACGGTAA CCAGTTCCAG AAAGCTCAGG CTATCTCCGT TCTGCACGAA
 GTCCTTCTTA AGTGCCATT GGTCAAGGTC TTTCGAGTCC GATAGAGGCA AGACGTGCTT

5' 191 201 211 221 231

+1 M I Q Q T F N L F S T K D S S A A W D E
 181 ATGATCCAGC AGACCTTCAA CCTGTTCTCC ACCAAAGACT CCTCCGCTGC TTGGGACGAA
 TACTAGGTCG TCTGGAAGTT GGACAAGAGG TGGTTTCTGA GGAGGCGACG AACCTGCTT

5' 251 261 271 281 291

+1 S L L E K F Y T E L Y Q Q L N D L E A C
 241 TCCCTGCTGG AAAAATTCTA CACCGAAGTAC TACCAGCAGC TGAACGACCT GGAAGCTTGC
 AGGGACGACC TTTTAAAGAT GTGGCTTGAC ATGGTCGTCG ACTTGCTGGA CCTTCGAACG

5' 311 321 331 341 351

+1 V I Q E V G V E E T P L M N V D S I L A
 301 GTTATCCAGG AAGTTGGTGT TGAAGAAACC CCGCTGATGA ACGTTGACTC CATCCTGGCT
 CAATAGGTCC TTCAACCACA ACTTCTTTGG GGC GACTACT TGCAACTGAG GTAGGACCGA

5' 371 381 391 401 411

+1 V K K Y F Q R I T L Y L T E K K Y S P C
 361 GTTAAAAAAT ACTTCCAGCG TATCACCTG TACCTGACCG AAAAAAATA CTCCCCGTC
 CAATTTTTTA TGAAGGTCGC ATAGTGGGAC ATGGACTGGC TTTTTTTTAT GAGGGGCACG

5' 431 441 451 461 471

+1 A W E V V R A E I M R S F S L S T N L Q
 421 GCTTGGGAAG TTGTTCTGTC TGAATCATG CGTTCCTTCT CCCTGTCCAC CAACCTGCAG
 CGAACCTTC AACAGCAGC ACTTTAGTAC GCAAGGAAGA GGGACAGGTG GTTGACGTC

5' 491 501

+1 E R L R R K E # (SEQ ID NO.1)
 481 GAACGTCTGC GTCGTAAAGA ATAA (SEQ ID NO.2)
 CTGCAGACG CAGCATTTCT TATT (SEQ ID NO.3)

第 2A 圖

```

5'           11           21           31           41           51
+1 M C D L P Q T H S L G N R R A L I L L A
1 ATGTGTGATT TACCTCAAAC TCATTCTCTT GGTAACCGTC GCGCTCTGAT TCTGCTGGCA
  TACACACTAA ATGGAGTTTG AGTAAGAGAA CCATTGGCAG CGCGAGACTA AGACGACCGT

5'           71           81           91           101          111
+1 Q M R R I S P F S C L K D R H D F G F P
61 CAGATGCGTC GTATTTCCCC GTTTAGCTGC CTGAAAGACC GTCACGACTT CGGCTTTCCG
  GTCTACGCAG CATAAAGGGG CAAATCGACG GACTTTCTGG CAGTGCTGAA GCCGAAAGGC

5'           131          141          151          161          171
+1 Q E E F D G N Q F Q K A Q A I S V L H E
121 CAAGAAGAGT TCGATGGCAA CCAATTCCAG AAAGCTCAGG CAATCTCTGT ACTGCACGAA
  GTTCTTCTCA AGCTACCGTT GGTAAAGGTC TTTTCGAGTCC GTTAGAGACA TGACGTGCTT

5'           191          201          211          221          231
+1 M I Q Q T F N L F S T K D S S A A W D E
181 ATGATCCAAC AGACCTTCAA CCTGTTTTCC ACTAAAGACA GCTCTGCTGC TTGGGACGAA
  TACTAGGTTG TCTGGAAGTT GGACAAAAGG TGATTTCTGT CGAGACGACG AACCTGCTT

5'           251          261          271          281          291
+1 S L L E K F Y T E L Y Q Q L N D L E A C
241 AGCTTGCTGG AGAAGTTCTA CACTGAACTG TATCAGCAGC TGAACGACCT GGAAGCATGC
  TCGAACGACC TCTTCAAGAT GTGACTTGAC ATAGTCGTCG ACTTGCTGGA CCTTCGTACG

5'           311          321          331          341          351
+1 V I Q E V G V E E T P L M N V D S I L A (SEQ ID NO.4)
301 GTAATCCAGG AAGTTGGTGT AGAAGAGACT CCGCTGATGA ACGTCGACTC TATTCTGGCA (SEQ ID NO.5)
  CATTAGGTCC TTCAACCACA TCTTCTCTGA GGCGACTACT TGCAGCTGAG ATAAGACCGT (SEQ ID NO.6)

```