



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년12월15일
 (11) 등록번호 10-1472600
 (24) 등록일자 2014년12월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 31/47 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
 A61P 1/04 (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2009-7005657
 (22) 출원일자(국제) 2007년08월27일
 심사청구일자 2012년07월13일
 (85) 번역문제출일자 2009년03월19일
 (65) 공개번호 10-2009-0043578
 (43) 공개일자 2009년05월06일
 (86) 국제출원번호 PCT/JP2007/067088
 (87) 국제공개번호 WO 2008/026748
 국제공개일자 2008년03월06일
 (30) 우선권주장
 JP-P-2006-230816 2006년08월28일 일본(JP)
 (56) 선행기술조사문헌
 KR100589032 B1*
 WO2003033472 A1*
 *는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
 에자이 알앤디 매니지먼트 가부시킴가이사
 일본국 도쿄도 분쿄구 코이시가와 4초메 6반 10고
 (72) 발명자
 야마모토 유지
 일본 이바라키켄 츠쿠바시 도코다이 5초메 1반치
 3 에자이 가부시킴가이사 츠쿠바켄큐쇼 나이
 마츠시마 도모히로
 일본 이바라키켄 츠쿠바시 도코다이 5초메 1반치
 3 에자이 가부시킴가이사 츠쿠바켄큐쇼 나이
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
 특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 3 항

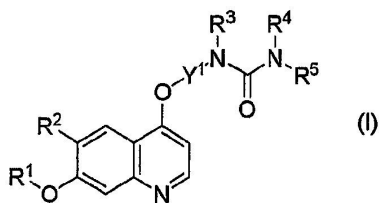
심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 **미분화형 위암에 대한 항종양제**

(57) 요약

본 발명은 하기 일반식 (I) 로 나타내는 치료제, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 관한 것이다.

일반식 (I)



상기 치료제는 선유아세포 증식 인자 리셉터 2 (「FGFR2」) 의 키나아제 활성을 저해하는 활성을 갖는 물질을 함유한다. 상기 치료제는 미분화형 위암을 치료하는데 사용할 수 있고, 또 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 또는 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포, 또는 둘 다를 포함하는 생체를 치료하는데 사용할 수 있다. 또한, 본 발명은 FGFR2 저해 물질을 함유하는 의약 조성물 및 그것을 사용한 치료 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 환자에 대한 FGFR2 저해 물질의 효과를 예측하는 방법에 관한 것이다.

(72) 발명자

츠루오카 아키히코

일본 이바라키켄 츠쿠바시 도코다이 5쵸메 1반치 3
에자이 가부시키키가이샤 츠쿠바켄큐쇼 나이

오바이시 히로시

일본 이바라키켄 츠쿠바시 도코다이 5쵸메 1반치 3
에자이 가부시키키가이샤 츠쿠바켄큐쇼 나이

나카가와 다카유키

일본 이바라키켄 츠쿠바시 도코다이 5쵸메 1반치 3
에자이 가부시키키가이샤 츠쿠바켄큐쇼 나이

특허청구의 범위

청구항 1

4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 약리학적으로 허용되는 염이 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 메탄술폰산염인 치료제.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

미분화형 위암이 저분화선암, 인환세포암, 점액암 및 스킨스 위암으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 위암을 포함하는 치료제.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

명세서

기술분야

- [0001] 본 발명은 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제 및 치료 방법에 관한 것이다. 상기 치료제는 선유아세포 증식 인자 리셉터 2 (Fibroblast growth factor receptor 2 (「FGFR2」))의 키나아제 활성을 저해하는 활성을 갖는 물질을 함유한다. 이러한 저해 활성을 갖는 물질은 이하 「FGFR2 저해 물질」이라고 칭하는 경우가 있다. 또한, 본 발명은 상기 치료제의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용 및 상기 치료제를 위한 FGFR2 저해 물질에 관한 것이다.
- [0002] 또, 본 발명은 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 또는 변이형 FGFR2 를 발현하는 세포를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한, FGFR2 키나아제 활성을 저해하는 화합물을 함유하는 의약 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 생체에 대해 FGFR2 저해 물질을 유효량 투여하는 것을 포함하는 질환의 치료 방법, 상기 의약 조성물의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용 및 상기 의약 조성물을 위한 FGFR2 저해 물질에 관한 것이다.
- [0003] 나아가, 본 발명은 FGFR2 저해제에 관한 것이다.
- [0004] 또, 본 발명은 세포 중의 FGFR2 의 발현량 또는 FGFR2 의 변이의 유무를 지표로 하여, 환자에 대한 FGFR2 저해 물질의 효과를 예측하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [0005] 위암은, 암에 의한 사망 원인이 되는 주요한 암종의 하나이다. 위암은, 병리 조직학적으로 분화형 위암 (differentiated gastric cancer) 과 미분화형 위암 (undifferentiated gastric cancer) 으로 분류되고, 미분화형 위암에는, 저분화선암 (poorly differentiated adenocarcinoma), 인환세포암 (signet-ring cell carcinoma), 점액암 (mucinous carcinoma) 등이 포함된다.
- [0006] 미분화형 위암에서는, 암 세포가 확산하기 쉽고, 또, 섬유화되어 스킨스 위암 (scirrhous gastric cancer) 이 되기 쉽다. 그리고, 미분화형 위암은, 특히 젊은층에서 관찰되고, 침윤성 증식 및 전이를 일으켜, 예후 불량으로 되는 것이 알려져 있다 (Clinical Cancer Research. 2 (8), 1373-1381, 1996).
- [0007] FGFR2 (K-sam 이라고도 한다) 는, 미만성 위암 (diffuse-type gastric cancer), 즉, 미분화형 위암에서 증폭되어 있고, 암의 악성화에 관여하고 있는 것이 알려져 있다 (Clinical Cancer Research. 2 (8), 1373-1381, 1996, Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 127, 207-216, 2001). 그리고, FGFR2 유전자는, 미분화형 위암의 33% 의 환자에게 증폭되어 있고 (Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 127, 207-216, 2001), FGFR2 는, 미분화형 위암의 약 50% 의 환자에게, 양성되었던 것이 보고되어 있다 (Clinical Cancer Research. 2 (8), 1373-1381, 1996).
- [0008] FGFR2 유전자는, NIH3T3 세포를 형질 전환시킬 수 있고, 형질 전환된 세포는, 누드 마우스에 있어서 조 (造) 종양성을 나타냈던 것이 보고되어 있다 (Cancer Research. 54, 3237-3241, 1994). 또, FGFR2 의 C 말 결실체는, 형질 전환 활성이 강하고, 그리고, 미분화형 위암 세포주에 주로 발현하고 있는 것이 보고되어 있다 (Clinical Cancer Research. 2 (8), 1373-1381, 1996, Cancer Research. 54, 3237-3241, 1994). 예를 들어, 769 번째의 티로신 이후를 결실한 FGFR2 는, 높은 형질 전환 활성을 가지고 있는 것이 보고되어 있다 (Cancer Research. 54, 3237-3241, 1994).
- [0009] 또, FGFR2 유전자는, 저분화형 위암, 특히 스킨스 위암에 있어서 증폭되어 있고, 티로신 잔기 780, 784, 813 을 포함하는 C 말 결실된 FGFR2 단백질은, 스킨스 위암에 있어서 특히 발현하고 있는 것이 보고되어 있다 (Cancer Research. 59 (24), 6080-6086, 1999). 그리고, 활성화된 FGFR2 의 증폭은, 스킨스 위암의 중앙 증식에 기여하고 있는 것이 보고되어 있다 (Cancer Research. 59 (24), 6080-6086, 1999).
- [0010] FGFR2 저해 물질인 디페닐아민 유도체는, 인간 스킨스 위암 세포주의 세포 증식을 용량 의존적으로 억제하고, 인간 스킨스 위암 세포주 피하 이식 모델에 있어서, 항종양 효과를 나타냈던 것이 보고되어 있다 (Bioorganic

and Medicinal Chemistry Letters. 14 (4), 875-879, 2004).

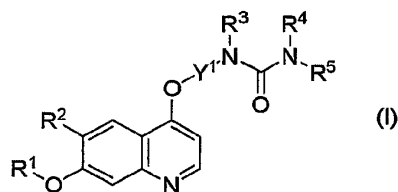
- [0011] 또, FGFR2 저해 물질인 4-[(4-플루오로-2-메틸인돌-5-일)옥시]-6-메톡시-7-[3-(피롤리딘-1-일)프로폭시]퀴나졸린은, K-sam 을 과잉 발현하고 있는 위암에 대해 유효하다는 것이 시사되어 있다 (Proceeding of the American Association for Cancer Research. 47, 890, 2006).
- [0012] 이와 같이, FGFR2 저해 물질은, 미분화형 위암, 바람직하게는 저분화선암, 인환세포암, 점액암 및 스킨스 위암에 대해, 증식 억제 작용 및 항종양 효과를 나타내는 것이 시사되어 있다.
- [0013] 여기서, 혈관 신생 저해 물질로서, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물이 알려져 있다 (국제 공개 제02/32872호 팜플렛, 국제 공개 제2004/080462호 팜플렛 및 국제 공개 제2005/063713호 팜플렛). 그러나, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물이 FGFR2 저해 활성을 갖는 것에 대해서는 일절 보고되어 있지 않다.

발명의 상세한 설명

- [0014] 발명의 개시
- [0015] 발명이 해결하고자 하는 과제
- [0016] 본 발명은 이와 같은 상황을 감안하여 이루어진 것으로, 그 해결하고자 하는 과제는, 미분화형 위암에 대한 치료제 및 치료 방법을 제공하는 것, 그리고, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 보다 유효하게 효과를 발휘하는 의약 조성물 및 치료 방법을 제공하는 것에 있다.
- [0017] 또, 본 발명의 해결하고자 하는 과제는, FGFR2 저해 물질의 효과를 예측하는 방법을 제공하는 것에 있다.
- [0018] 과제를 해결하기 위한 수단
- [0019] 본 발명자들은, 상기 과제를 해결하기 위해 예의 검토를 거듭한 결과, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물이 FGFR2 저해 활성을 갖는 것을 발견하였다. 그리고, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물은, 미분화형 위암에 대해, 보다 유효하게 효과를 발휘하는 것을 발견하였다. 또, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해, 보다 유효하게 효과를 발휘하는 것을 발견하였다. 또한, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 효과는, 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 함으로써 예측할 수 있는 것을 발견하였다.
- [0020] 즉 본 발명은, 이하에 관한 것이다.
- [0021] (1) 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제.
- [0022] (2) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 의약 조성물.
- [0023] (3) 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, 미분화형 위암의 치료 방법.
- [0024] (4) 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, FGFR2 의 활성화 저해 방법.
- [0025] (5) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 유효량 투여하는 것을 포함하는 질환의 치료 방법.
- [0026] (6) 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제의 제조를 위한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 사용.
- [0027] (7) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는

적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물의 제조를 위한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 사용.

- [0028] (8) 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제를 위한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물.
- [0029] (9) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물을 위한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물.
- [0030] (10) 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 FGFR2 저해제.
- [0031] (11) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 하여, 환자가 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대해 고감수성인지의 여부를 예측하는 방법.
- [0032] (12) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대한 세포의 감수성을 분석하는 방법.
- [0033] (13) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대해 고감수성을 나타내는 세포를 선택하는 방법.
- [0034] (14) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대해 고감수성을 나타내는 환자를 선택하는 방법.
- [0035] (15) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정함으로써, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대한 감수성을 분석하여, 얻어지는 결과에 따라 환자를 분류하는 방법.
- [0036] (16) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하여, 얻어지는 측정 결과로부터, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 갖는 환자를 선택하는 것을 포함하는, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 투여 대상으로 되는 환자를 선택하는 방법.
- [0037] (17) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 환자에 대한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 치료 효과를 예측하는 방법.
- [0038] (18) 환자의 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대한 감수성의 정도를 예측하기 위해서, 당해 환자 유래의 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 방법.
- [0039] 상기 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물은, 이하와 같다.



- [0040]
- [0041] [식 (I) 중, R¹ 은 식 -V¹-V²-V³ (식 중, V¹ 은 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬렌기를 의미한다 ; V² 는 단결합, 산소 원자, 황 원자, 카르보닐기, 술폰닐기, 술포닐기, 식 -CONR⁶- 으로 나타내는 기, 식 -SO₂NR⁶- 으로

나타내는 기, 식 $-NR^6SO_2-$ 로 나타내는 기, 식 $-NR^6CO-$ 로 나타내는 기, 또는 식 $-NR^6-$ 으로 나타내는 기를 의미한다 (식 중, R^6 은 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기를 의미한다) ; V^3 은 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{6-10} 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다 ;

[0042] R^2 는 시아노기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알콕시기, 카르복실기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-7} 알콕시카르보닐기, 또는 식 $-CONV^{a11}V^{a12}$ (식 중, V^{a11} 은 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{6-10} 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 의미한다 ; V^{a12} 는 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{6-10} 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기, 수산기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알콕시기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알콕시기를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다 ;

[0043] Y^1 은 식



[0044] (식 중, R^7 및 R^8 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자, 시아노기, 니트로기, 아미노기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알콕시기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬티오기, 포르밀기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-7} 아실기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-7} 알콕시카르보닐기, 또는 식 $-CONV^{d1}V^{d2}$ (식 중, V^{d1} 및 V^{d2} 는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다 ;

[0045] W^1 및 W^2 는 각각 독립적으로 치환기를 가지고 있어도 되는 탄소 원자 또는 질소 원자를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다 ;

[0046] R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-7} 아실기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-7} 알콕시카르보닐기를 의미한다 ;

[0047] R^5 는 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{6-10} 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 3

~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 의미한다] 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물.

- [0049] 또, 본 발명은, 바람직하게는 이하에 관한 것이다.
- [0050] (19) 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제.
- [0051] (20) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 의약 조성물.
- [0052] (21) 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, 미분화형 위암의 치료 방법.
- [0053] (22) 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, FGFR2 의 활성화 저해 방법.
- [0054] (23) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 유효량 투여하는 것을 포함하는 질환의 치료 방법.
- [0055] (24) 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제의 제조를 위한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 사용.
- [0056] (25) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물의 제조를 위한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 사용.
- [0057] (26) 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제를 위한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물.
- [0058] (27) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물을 위한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물.
- [0059] (28) 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 FGFR2 저해제.
- [0060] (29) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 하여, 환자가 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대해 고감수성인지의 여부를 예측하는 방법.
- [0061] (30) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대한 세포의 감수성을 분석하는 방법.
- [0062] (31) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대해 고감수성을 나타내는 세포를 선택하는 방법.
- [0063] (32) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하

는 것을 포함하는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대해 고감수성을 나타내는 환자를 선택하는 방법.

- [0064] (33) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정함으로써, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대한 감수성을 분석하여, 얻어지는 결과에 따라 환자를 분류하는 방법.
- [0065] (34) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하여, 얻어지는 측정 결과로부터, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 갖는 환자를 선택하는 것을 포함하는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 투여 대상으로 되는 환자를 선택하는 방법.
- [0066] (35) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 환자에 대한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 치료 효과를 예측하는 방법.
- [0067] (36) 환자의 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 대한 감수성의 정도를 예측하기 위해서, 당해 환자 유래의 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 방법.
- [0068] 또, 본 발명은, 이하에 관한 것이다.
- [0069] (37) FGFR2 저해 물질을 함유하는 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제.
- [0070] (38) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 FGFR2 저해 물질을 함유하는 의약 조성물.
- [0071] (39) FGFR2 저해 물질을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, 미분화형 위암의 치료 방법.
- [0072] (40) FGFR2 저해 물질을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, FGFR2 의 활성화 저해 방법.
- [0073] (41) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 FGFR2 저해 물질을 유효량 투여하는 것을 포함하는 질환의 치료 방법.
- [0074] (42) 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용.
- [0075] (43) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용.
- [0076] (44) 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제를 위한 FGFR2 저해 물질.
- [0077] (45) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물을 위한 FGFR2 저해 물질.
- [0078] (46) FGFR2 저해 물질을 함유하는 FGFR2 저해제.
- [0079] (47) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 하여, 환자가 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성인지의 여부를 예측하는 방법.
- [0080] (48) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, FGFR2 저해 물질에 대한 세포의 감수성을 분석하는 방법.
- [0081] (49) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성을 나타내는 세포를 선택하는 방법.
- [0082] (50) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성을 나타내는 환자를 선택하는 방법.

- [0083] (51) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정함으로써, FGFR2 저해 물질에 대한 감수성을 분석하여, 얻어지는 결과에 따라 환자를 분류하는 방법.
- [0084] (52) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하여, 얻어지는 측정 결과로부터, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 갖는 환자를 선택하는 것을 포함하는, FGFR2 저해 물질의 투여 대상으로 되는 환자를 선택하는 방법.
- [0085] (53) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 것을 포함하는, 환자에 대한 FGFR2 저해 물질의 치료 효과를 예측하는 방법.
- [0086] (54) 환자의 FGFR2 저해 물질에 대한 감수성의 정도를 예측하기 위해서, 당해 환자 유래의 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 방법.
- [0087] 상기 FGFR2 저해 물질은, 상기 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 들 수 있다.
- [0088] 또, 상기 FGFR2 저해 물질은,
- [0089] N-(3-트리플루오로메틸-4-클로로페닐)-N'-(4-(2-메틸카르바모일피리딘-4-일)옥시페닐)우레아,
- [0090] 6-[2-(메틸카르바모일)페닐술폰과닐]-3-E-[2-(피리딘-2-일)에테닐]인다졸,
- [0091] 5-(5-플루오로-2-옥소-1,2-디히드로인돌-3-일리텐메틸)-2,4-디메틸-1H-피롤-3-카르복실산(2-디에틸아미노에틸)아미드
- [0092] 및
- [0093] N-{2-클로로-4-[(6,7-디메톡시-4-퀴놀릴)옥시]페닐}-N'-(5-메틸-3-이소옥사졸릴)우레아로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 들 수 있다.
- [0094] 발명의 효과
- [0095] 본 발명에 의해, FGFR2 저해 물질을 함유하는 미분화형 위암에 대한 치료제, 치료 방법, 상기 치료제의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용 및 상기 치료제를 위한 FGFR2 저해 물질이 제공된다.
- [0096] 또, 본 발명에 의해, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한, FGFR2 저해 물질을 함유하는 의약 조성물, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 FGFR2 저해 물질을 유효량 투여하는 것을 포함하는 질환의 치료 방법, 상기 의약 조성물의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용 및 상기 의약 조성물을 위한 FGFR2 저해 물질이 제공된다.
- [0097] 나아가 본 발명에 의해, FGFR2 저해제가 제공된다.
- [0098] 또, 본 발명에 의해, FGFR2 저해 물질의 효과를 예측하는 방법이 제공된다.
- [0099] 보다 상세하게는, FGFR2 저해 물질의 효과는, 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 함으로써 예측하는 것이 가능해졌다.
- [0100] 본 발명에 관련된 예측 방법에 의해, 환자에게 화합물을 투여하지 않고, 효과를 예측하는 것이 가능해지기 때문에, 당해 화합물에 의한 효과를 보다 기대할 수 있는 환자를 선택할 수 있어, 환자의 QOL 에 공헌하는 것이 가능해졌다.

실시예

- [0408] 이하에, 구체적인 예를 가지고 본 발명을 나타내는데, 본 발명은 이것에 한정되는 것은 아니다.
- [0409] [실시예 1] FGFR2 저해 물질의 FGFR2 의 키나아제 저해 활성의 측정
- [0410] 피검 물질의 FGFR2 키나아제 저해 활성은, Upstate 사 (영국) 에 대한 위탁 시험으로서 실시되었다. FGFR2 키나아제 저해 활성은, 구체적으로는 하기와 같이 측정하였다.

- [0411] FGFR2 리컴비넨트 단백질 5-10mU, 8mM MOPS (pH 7.0), 0.2mM EDTA, 2.5mM MnCl₂, 0.1mg/ml poly (Glu, Tyr) 4 : 1, 10mM MgAcetate, 500cpm/pmol [γ -³³P]-ATP, 피검 물질을 함유하는 용액 25 μ l 에 MgATP 를 첨가하여 반응을 개시하였다.
- [0412] 피검 물질에는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (메탄술폰산염), 1-(4-클로로아닐리노)-4-(4-피리딜메틸)프탈라진 (이하, 「PTK787/ZK222584」 라고 칭하는 경우가 있다), SU11248, BAY 43-9006, AG013736 또는 KRN951 를 사용하였다.
- [0413] 또한, PTK787/ZK222584 는, VEGF 리셉터 키나아제 저해 물질로서 알려져 있는 화합물이다.
- [0414] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 국제 공개 제 02/32872호 팜플렛 (W002/32872) 및 국제 공개 제2005/063713호 팜플렛 (W02005/063713) 의 기재에 기초하여 제조하였다.
- [0415] 또, PTK787/ZK222584 는, 국제 공개 제98/035958호 팜플렛의 기재에 기초하여 제조하였다. SU11248 은, 국제 공개 제01/060814호 팜플렛의 기재에 기초하여 제조하였다. BAY 43-9006 은, 국제 공개 제00/42012호 팜플렛의 기재에 기초하여 제조하였다. AG013736 은, 국제 공개 제01/002369호 팜플렛의 기재에 기초하여 제조하였다. KRN951 은, 국제 공개 제02/088110호 팜플렛의 기재에 기초하여 제조하였다.
- [0416] 실온에서 40 분간 반응한 후, 3% phosphoric acid 5 μ l 를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 10 μ l 를 Filtermat A 에 스포트하여, Filtermat A 를 75mM phosphoric acid 로 5 회, 에탄올로 1 회 세정한 후, 건조시켰다. 그 스포트 부분의 방사 활성을 측정하였다.
- [0417] FGFR2 키나아제 활성을 50% 저해하는 데에 필요한 피검 물질의 농도 (IC₅₀) 는, 각 농도에 있어서의 ³³P 비방사 활성을 이용하여 산출하였다.
- [0418] 그 때, FGFR2 리컴비넨트 단백질을 함유하지 않고 기질 Poly (Glu, Tyr) 4 : 1 만을 넣은 조건을 0% 값으로 하고, 피검 물질을 넣지 않고 FGFR2 리컴비넨트 단백질과 기질 Poly (Glu, Tyr) 4 : 1 을 넣은 경우의 값을 100% 값으로 하였다.
- [0419] 각 농도의 피검 물질 존재 하에 있어서의 키나아제 활성은, 각각의 방사 활성의 값으로부터 0% 값을 뺀 값이, 100% 값으로부터 0% 값을 뺀 값에 대해 몇 퍼센트에 상당하는지를 산출하고, 이 비율 (%) 에 따라 FGFR2 키나아제 활성을 50% 저해하는 데에 필요한 피검 물질의 농도 (IC₅₀) 를 산출하였다.
- [0420] 그 결과, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, FGFR2 키나아제 저해 활성을 갖는 것 (IC₅₀ < 10nM) 이 명백해졌다. 또, SU11248, BAY 43-9006, AG013736, KRN951 은, FGFR2 키나아제 저해 활성을 갖는 것 (각각 IC₅₀ = 83, 168, 17, 124nM) 이 명백해졌다. PTK787/ZK222584 는 IC₅₀ = 54200nM 이었다.
- [0421] [실시예 2] 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III, HSC-39, SNU-16) 에 있어서의 FGFR2 인산화에 대한 FGFR2 저해 물질의 효과
- [0422] 1. 세포 추출액의 조제
- [0423] 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III (ATCC 로부터 구입), SNU-16 (ATCC 로부터 구입), HSC-39 (면역 생물 연구소로부터 구입)) 를 10% FBS (fetal bovine serum) 를 함유하는 RPMI1640 배지 (Sigma 사로부터 구입) 에 현탁하였다. 또한, KATO-III, SNU-16 및 HSC-39 는, FGFR2 gene amplification 을 일으키고 있는 세포로서 (Laboratory Investigation, 78, 1143-1153, 1998), 인간 스킨스 위암 세포주로서도 알려져 있다. 각 세포 현탁액 (5 × 10⁵ 개/ml) 10ml 를 세포 배양용 75cm² 플라스크 (FALCON 사로부터 구입) 에 첨가하여 5% CO₂ 인큐베이터 중 (37℃) 에서 하룻밤 배양하였다. 단, KATO-III 는, 1% FBS 를 함유하는 RPMI1640 배지로 치환하였다. 거기에, 1% 또는 10% FBS 를 함유하는 RPMI1640 배지로 희석한 피검 물질 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (메탄술폰산염) 10ml 를 첨가하여, 5% CO₂ 인큐베이터 중 (37℃) 에서 1 시간 배양하였다. 배양액을 회수하여, 각 플라스크를 PBS 5ml 로 세정하고, 회수한 배양액과 세정액을 합친 것을 4℃, 5 분, 1,000rpm 으로 원심하였다. 침전에 가용화 완충액

(50mM Hepes (pH 7.4), 150mM NaCl, 10% (v/v) 글리세롤, 1% Triton X-100, 1.5mM MgCl₂, 1mM EDTA (pH 8.0), 100mM NaF, 1mM PMSF, 10 μ g/ml Aprotinin, 50 μ g/ml Leupeptin, 1 μ g/ml Pepstatin A, 1mM Na₃VO₄) 를 100 μ l 첨가하여 세포를 가용화시켰다. 이 용액을 회수하여, 4 $^{\circ}$ C, 15 분, 15,000rpm 에서 처리하여, 상청을 세포 추출액으로 하여 1000 μ g/1000 μ l (KATO-III), 800 μ g/500 μ l (SNU-16), 1000 μ g/500 μ l (HSC-39) 로 조제하였다.

[0424] 2. 면역 침강

[0425] 상기 세포 추출액에 항 FGFR2 항체 (Sigma 사로부터 구입) 10 μ l 와 protein A agarose (Upstate 사로부터 구입) 100 μ l 를 첨가하여 4 $^{\circ}$ C 에서 하룻밤 교반하였다. 이 용액을 인산 완충액 1ml 에서 3 회 세정하고, SDS buffer 를 첨가한 후에 94 $^{\circ}$ C, 5 분 처리를 행함으로써 단백질을 가용화시켜, 그것을 세포 샘플액으로 조제 하였다.

[0426] 3. 전기 영동 및 웨스턴 블롯팅

[0427] 상기 세포 샘플액 15 μ l 를 4-20% gradient polyacrylamide gel (다이이치 화학 약품 주식회사로부터 구입) 로 전기 영동을 행하였다. 영동 후, 통상적인 방법에 따라, PVDF 막 (Amersham pharmacia biotech 사로부터 구입) 에 트랜스퍼하였다. 그리고, 트랜스퍼한 멤브레인에 대해, 1 차 항체로서 항 FGFR2 항체 또는 항티로신 인산화 항체 (4G10, Upstate 사로부터 구입) 를, 2 차 항체로서 horse radish peroxidase 표식 항토끼 IgG 항체 (anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody (Cell Signaling 사로부터 구입)) 또는 horse radish peroxidase 표식 항마우스 IgG 항체 (anti-mouse IgG, HRP-linked Antibody (Cell Signaling 사로부터 구입)) 를 이용하여 면역 블롯 (immuno blot) 을 행하였다. 멤브레인을 세정 후, Super Signal (PIERCE 사로부터 구입) 로 발색시켰다.

[0428] 그 결과, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 어느 세포에 있어서도 1 μ M 로 거의 완전하게 FGFR2 의 인산화를 저해하였다 (도 1).

[0429] [실시에 3] 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III, HSC-39, SNU-16) 의 세포 증식에 대한 FGFR2 저해 물질의 효과

[0430] 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III (ATCC 로부터 구입), SNU-16 (ATCC 로부터 구입), HSC-39 (면역 생물 연구소로부터 구입)) 를 10% FBS 를 함유하는 RPMI1640 배지 (Sigma 사로부터 구입) 에 현탁하였다. 단, KATO-III 는, 1% FBS 를 함유하는 RPMI1640 배지에 현탁하였다. 그 세포 현탁액 (KATO-III, 6 \times 10⁴ 개/ml, SNU-16, HSC-39, 2 \times 10⁴ 개/ml) 을 세포 배양용 96 웰 플레이트 (NUNC 사로부터 구입) 에 0.1ml/well 로 첨가하여 5% CO₂ 인큐베이터 중 (37 $^{\circ}$ C) 에서 하룻밤 배양하였다. 배양 후, 각 웰에 1% 또는 10% FBS 를 함유하는 RPMI1640 배지로 희석한 피검 물질 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (메탄술폰산염) 0.1ml 를 첨가하고, 추가로 5% CO₂ 인큐베이터 중 (37 $^{\circ}$ C) 에서 3 일 간 배양하였다. 배양 후, 각 웰에 Cell Counting Kit-8 (DOJINDO 사로부터 구입) 20 μ l 를 첨가하여 5% CO₂ 인큐베이터 중 (37 $^{\circ}$ C) 에서 발색 후, 측정 파장을 450nm, 대조 파장을 660nm 로 하여 각 웰의 흡광도를 플레이트 리더 MTP-500 (코로나 전기사 제조) 을 이용하여 측정하였다. 피검 물질을 첨가하지 않은 웰의 흡광도에 대한 피검 물질을 첨가한 각 웰의 흡광도의 비율 (%) 을 구하고, 이 비율로부터 세포 증식을 50% 저해하는 데에 필요한 피검 물질의 농도 (IC₅₀) 를 산출하였다.

[0431] 그 결과, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III, SNU-16, HSC-39) 의 증식에 대해 각각 IC₅₀ = 141, 251, 157nM 의 저해 활성을 갖는 것이 명백해졌다.

[0432] [실시에 4] 인간 미분화형 위암 세포주 (HSC-39) 의 아포토시스에 있어서의 FGFR2 저해 물질의 효과

[0433] 1. 세포 추출액의 조제

[0434] 인간 미분화형 위암 세포주 HSC-39 (면역 생물 연구소로부터 구입) 를 10% FBS 를 함유하는 RPMI1640 배지 (Sigma 사로부터 구입) 에 현탁하였다. 세포 현탁액 (4 \times 10⁵ 개/ml) 5ml 를 세포 배양용 75cm² 플라스크 (FALCON 사로부터 구입) 에 첨가하였다. 거기에, 10% FBS를 함유하는 RPMI1640 배지로 희석한 피검 물질 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (메탄술폰산염) 를

5ml 첨가하여, 5% CO₂ 인큐베이터 중 (37°C) 에서 1 일간 또는 3 일간 배양하였다. 배양액을 회수하여, 각 플라스크를 PBS 5ml 로 세정하고, 회수한 배양액과 세정액을 합한 것을 4°C, 5 분, 1,000rpm 으로 원심하였다.

침전에 가용화 완충액 (50mM Hepes (pH 7.4), 150mM NaCl, 10% (v/v) 글리세롤, 1% Triton X-100, 1.5mM MgCl₂, 1mM EDTA (pH 8.0), 100mM NaF, 1mM PMSF, 10µg/ml Aprotinin, 50µg/ml Leupeptin, 1µg/ml Pepstatin A, 1mM Na₃VO₄) 를 100µl 첨가하여 세포를 가용화시켰다. 이 용액을 회수하여, 4°C, 15 분, 15,000rpm 에서 처리하고, 상청을 SDS buffer 를 첨가하여 25µg/15µl 로 조제한 후, 94°C, 5 분 처리를 행함으로써 단백질을 가용화시켜, 그것을 세포 샘플액으로서 조제하였다.

[0435] 2. 전기 영동 및 웨스턴 블롯팅

[0436] 상기 세포 샘플액 15µl 를 4-20% gradient polyacrylamide gel (다이이치 화학 약품 주식회사로부터 구입) 로 전기 영동을 행하였다. 영동 후, 통상적인 방법에 따라, PVDF 막 (Amersham pharmacia biotech 사로부터 구입) 에 트랜스퍼하였다. 그리고, 트랜스퍼한 멤브레인에 대해, 1 차 항체로서 항 PARP 항체 (Cell Signaling 사로부터 구입) 또는 항 Cleaved-caspase-3 항체 (Cell Signaling 사로부터 구입) 를, 2 차 항체로서 horse radish peroxidase 표식 항토끼 IgG 항체 (anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody (Cell Signaling 사로부터 구입)) 를 이용하여 면역 블롯을 행하였다. 여기서, PARP (Poly-ADP-Ribose-Polymerase) 는, 아포토시스의 유도시에 caspase 에 의해 단편화 되기 때문에, 아포토시스의 마커로서 알려져 있는 단백질이다. 또, caspase-3 도, 아포토시스의 유도시에 단편화되는 것이 알려져 있다.

[0437] 멤브레인을 세정 후, Super Signal (PIERCE 사로부터 구입) 로 발색시켰다.

[0438] 그 결과, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 1µM 로 Cleaved-PARP, Cleaved-caspase-3 이 명확하게 검출되었다 (도 2). 따라서, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 아포토시스를 유도하는 작용을 갖는 것이 밝혀졌다.

[0439] [실시예 5] 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III, HSC-39, SNU-16) 피하 이식 모델에 있어서의 FGFR2 저해 물질의 항종양 효과

[0440] 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III (ATCC 로부터 구입), SNU-16 (ATCC 로부터 구입), HSC-39 (면역 생물 연구소로부터 구입)) 를 37°C 하에서, 5% 탄산 가스 인큐베이터 내에 있어서 RPMI1640 (10% FBS 함유) 에서 배양하여, 통상적인 방법에 따라 트립신-EDTA 에 의해 세포를 회수하였다. 세포를 인산 완충액으로 현탁하고, 5 × 10⁷ cells/ml 현탁액을 조제하였다. 그리고, 얻어진 세포 현탁액을 0.1ml 씩 누드 마우스 (찰즈 리버사로부터 구입) 체측 피하에 이식하였다.

[0441] 이식 후, 종양 체적이 약 100-200mm³ 로 된 시점으로부터, 주사용 증류수 (오오츠카 제약으로부터 구입) 에 용해시킨 피검 물질 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (메탄술폰산염) 를 1, 3, 10, 30 또는 100mg/kg, 1 일 1 회, 4 주간의 스케줄 (KATO-III 만 30 또는 100mg/kg, 1 일 1 회, 2 주간의 스케줄) 로 경구투여하였다. 종양 장경 및 단경을 데지마틱 캐리퍼 (Mitsutoyo) 로 측정하여, 이하의 식에서 종양 체적을 산출하였다.

[0442] 종양 체적 (TV) = 종양 장경 (mm) × 종양 단경² (mm²)/2

[0443] 그 결과, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 인간 미분화형 위암 세포주 (KATO-III, SNU-16, HSC-39) 피하 이식 모델에 있어서, 용량 의존적으로 항종양 효과를 갖는 것이 명백해졌다 (도 3).

[0444] [실시예 6] 인간 미분화형 위암 세포주 (HSC-39, SNU-16) 피하 이식 모델에 있어서의 FGFR2 인산화에 대한 FGFR2 저해 물질의 효과

[0445] 1. 종양의 제작 및 종양의 가용화

[0446] 인간 미분화형 위암 세포주 (SNU-16 (ATCC 로부터 구입), HSC-39 (면역 생물 연구소로부터 구입)) 를 37°C 하에서, 5% 탄산 가스 인큐베이터 내에 있어서 RPMI1640 (10% FBS 함유) 에서 배양하여, 통상적인 방법에 따라 트립신-EDTA 에 의해 세포를 회수하였다. 세포를 인산 완충액으로 현탁하여, 5 × 10⁷ cells/ml 현탁액을 조제하였다. 그리고, 얻어진 세포 현탁액을 0.1ml 씩 누드 마우스 (찰즈 리버사로부터 구입) 체측 피하에 이식

하였다.

- [0447] 이식 후, 종양 체적이 약 400-800mm³ 로 된 시점에 있어서, 주사용 증류수 (오오즈카 제약으로부터 구입) 에 용해시킨 피검 물질 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (메탄술폰산염) 10, 30 또는 100mg/kg 을 경구 투여하였다. 투여 후, 2 시간 동안 종양을 적출하여, 적출한 종양에 가용화 완충액 (50mM Hepes (pH7.4), 150mM NaCl, 10% (v/v) 글리세롤, 1% Triton X-100, 1.5mM MgCl₂, 1mM EDTA (pH 8.0), 100mM NaF, 1mM PMSF, 10 μ g/ml Aprotinin, 50 μ g/ml Leupeptin, 1 μ g/ml Pepstatin A, 1mM Na₃VO₄), 25mM β -glycerophosphate, phosphatase inhibitor cocktail II (SIGMA)) 를 첨가하여 호모지나이저하였다. 4 $^{\circ}$ C, 15 분, 15,000rpm 에서 처리하여, 상청을 종양 추출액으로서 1000 μ g/500 μ l 로 조제하였다.
- [0448] 2. 면역 침강
- [0449] 상기 종양 추출액에 항 FGFR2 항체 (Sigma 사로부터 구입) 10 μ l 와 protein A agarose (Upstate 사로부터 구입) 100 μ l 를 첨가하여 4 $^{\circ}$ C 에서 하룻밤 교반하였다. 이 용액을 인산 완충액 1ml 로 3 회 세정하여, SDS buffer 를 첨가한 후에 94 $^{\circ}$ C, 5 분 처리를 행함으로써 단백질을 가용화시켜, 그것을 종양 샘플액으로서 조제하였다.
- [0450] 3. 전기 영동 및 웨스턴 블롯팅
- [0451] 상기 종양 샘플액 15 μ l 를 4-20% gradient polyacrylamide gel (다이이치 화학 약품 주식회사로부터 구입) 로 전기 영동을 행하였다. 영동 후, 통상적인 방법에 따라, PVDF 막 (Amersham pharmacia biotech 사로부터 구입) 에 트랜스퍼하였다. 그리고, 트랜스퍼한 멤브레인에 대해, 1 차 항체로서 항 FGFR2 항체 또는 항티로신 인산화 항체 (4G10, Upstate 사로부터 구입) 를, 2 차 항체로서 horse radish peroxidase 표식 항토끼 IgG 항체 (anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody (Cell Signaling 사로부터 구입)) 또는 horse radish peroxidase 표식 항마우스 IgG 항체 (anti-mouse IgG, HRP-linked Antibody (Cell Signaling 사로부터 구입)) 를 이용하여 면역 블롯을 행하였다. 멤브레인을 세정 후, Super Signal (PIERCE 사로부터 구입) 로 발색시켰다.
- [0452] 그 결과, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드는, 인간 미분화형 위암 세포주 (SNU-16, HSC-39) 피하 이식 모델에 있어서, 항종양 효과가 인정된 투여량으로 FGFR2 의 인산화를 저해하는 것이 명백해졌다 (도 4).
- [0453] 이상의 결과로부터, 본 발명의 FGFR2 저해 물질은, 미분화형 위암에 대해, 보다 유효한 효과를 기대할 수 있는 것이 밝혀졌다.
- [0454] 또, 본 발명의 FGFR2 저해 물질은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해, 보다 유효한 효과를 기대할 수 있는 것이 밝혀졌다.
- [0455] 또, 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하여, 측정한 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무의 어느 것, 또는 이들의 조합을 지표로 함으로써, 환자에게 화합물을 투여하지 않고, 본 발명의 화합물의 효과를 예측하는 것이 가능해졌다. 그 때문에, 본 발명에 관련된 방법은, 환자에게 화합물을 투여하지 않고, 당해 화합물에 의한 효과를 보다 기대할 수 있는 환자를 선택할 수 있어, 환자의 QOL 에 공헌하는 것이 가능해졌다.
- [0456] [참고예]
- [0457] FGFR2 저해 물질의 하나인 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 제제의 제조법을 이하에 참고예로서 기재한다.
- [0458] (의약 조성물의 제조)
- [0459] (1) 1mg 정
- [0460] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 메탄술폰산염의 결정 (C) (이하, 「결정 (C)」이라고 칭하는 경우가 있다. 또한, 결정 (C) 은, WO2005/063713 의 실시예 7 에 기재된 방법에 따라 제조한 것이다) 24g 과 무수 경질규산 (겔화 방지제, 상품명 AEROSIL (등록 상표) 200,

닛폰 아에로질 주식회사) 192g 을 20 l 슈퍼 믹서로 혼합 후, 추가로 D-만니톨 (부형제, 토와 화성 공업 주식회사) 1236g, 결정 셀룰로오스 (부형제, 상품명 아비셀 PH101, 아사히 화성 공업 주식회사) 720g, 히드록시프로필셀룰로오스 (결합제, 상품명 HPC-L, 닛폰 소다 주식회사) 72g 을 첨가하여 혼합하였다. 그 후, 무수 에탄올을 적당량 첨가하여 결정 (C) 을 함유하는 조립물을 얻었다. 이 조립물을 선반식 건조기 (60℃) 에서 건조 후, 파워밀을 이용하여 정립 (整粒) 하여, 과립을 얻었다. 이 과립과 함께, 크로스카르멜로스나트륨 (붕괴제, 상품명 Ac-Di-Sol, FMC International Inc.) 120g, 푸마르산 스테아릴나트륨 (활택제, JRS Pharma LP) 36g 을 20 l 텀블러 믹서에 넣어 혼합 후, 타정기로 제정하여, 1 정당 총질량 100mg 의 정제를 얻었다. 추가로 정제 코팅기에서, 코팅액으로서 10% 오파드라이 옐로우 (OPADRY 03 F42069 YELLOW, 닛폰 카라콘 주식회사) 수용액을 이용하여 정제에 코팅하여, 1 정당 총질량 105mg 의 코팅정을 얻었다.

[0461] (2) 10mg 정

[0462] 결정 (C) 60g 과 무수 경질규산 (겔화 방지제, 상품명 AEROSIL (등록 상표) 200, 일본 아에로질 주식회사) 192g 을 20 l 슈퍼 믹서로 혼합 후, 추가로 D-만니톨 (부형제, 토와 화성 공업 주식회사) 1200g, 결정 셀룰로오스 (부형제, 상품명 아비셀 PH101, 아사히 화성 공업 주식회사) 720g, 히드록시프로필셀룰로오스 (결합제, 상품명 HPC-L, 닛폰 소다 주식회사) 72g 을 첨가하여 혼합하였다. 그 후, 무수 에탄올을 적당량 첨가하여 결정 (C) 을 함유하는 조립물을 얻었다. 이 조립물을 선반식 건조기 (60℃) 에서 건조 후, 파워 밀을 이용하여 정립 하여, 과립을 얻었다. 이 과립과 함께, 크로스카르멜로스나트륨 (붕괴제, 상품명 Ac-Di-Sol, FMC International Inc.) 120g, 푸마르산 스테아릴나트륨 (활택제, JRS Pharma LP) 36g 을 20 l 텀블러 믹서에 넣어 혼합 후, 타정기로 제정하여, 1 정당 총질량 400mg 의 정제를 얻었다. 추가로 정제 코팅기에서, 코팅액으로서 10% 오파드라이 옐로우 (OPADRY 03 F42069 YELLOW, 닛폰 카라콘 주식회사) 수용액을 이용하여 정제에 코팅하여, 1 정당 총질량 411mg 의 코팅정을 얻었다.

[0463] (3) 100mg 정

[0464] 결정 (C) 31.4g 과 무수 경질규산 (겔화 방지제, 상품명 AEROSIL (등록 상표) 200, 닛폰 아에로질 주식회사) 4g 을 1 l 슈퍼 믹서로 혼합 후, 추가로 무수 인산 수소 칼슘 (부형제, 교와 화학 공업 주식회사) 40.1g, 저치환도 히드록시프로필셀룰로오스 (결합제, 상품명 L-HPC (LH-21), 신에츠 화학 공업 주식회사) 10g, 히드록시프로필셀룰로오스 (결합제, 상품명 HPC-L, 닛폰 소다 주식회사) 3g 을 첨가하여 혼합하였다. 그 후, 무수 에탄올을 적당량 첨가하여 결정 (C) 을 함유하는 조립물을 얻었다. 이 조립물을 선반식 건조기 (60℃) 에서 건조 후, 파워 밀을 이용하여 정립하여, 과립을 얻었다. 이 과립과 함께, 크로스카르멜로스나트륨 (붕괴제, 상품명 Ac-Di-Sol, FMC International Inc.) 10g, 푸마르산 스테아릴나트륨 (활택제, JRS Pharma LP) 1.5g 을 혼합 후, 타정기로 제정하여, 1 정당 총질량 400mg 의 정제를 얻었다.

산업상 이용 가능성

[0465] 본 발명에 의해, FGFR2 저해 물질을 함유하는 미분화형 위암에 대한 치료제, 치료 방법, 상기 치료제의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용 및 상기 치료제를 위한 FGFR2 저해 물질이 제공된다.

[0466] 또, 본 발명에 의해, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한, FGFR2 저해 물질을 함유하는 의약 조성물, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 FGFR2 저해 물질을 유효량 투여하는 것을 포함하는 질환의 치료 방법, 상기 의약 조성물의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용 및 상기 의약 조성물을 위한 FGFR2 저해 물질이 제공된다.

[0467] 나아가, 본 발명에 의해, FGFR2 저해제가 제공된다.

[0468] 또, 본 발명에 의해, FGFR2 저해 물질의 효과를 예측하는 방법이 제공된다.

[0469] 보다 상세하게는, FGFR2 저해 물질의 효과는, 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무 가운데, 적어도 하나를 지표로 함으로써 예측하는 것이 가능해졌다.

[0470] 본 발명에 관련된 예측 방법에 의해, 환자에게 화합물을 투여하지 않고 효과를 예측하는 것이 가능해지기 때문에, 당해 화합물에 의한 효과를 보다 기대할 수 있는 환자를 선택할 수 있어, 환자의 QOL 에 공헌하는 것이 가능해졌다.

도면의 간단한 설명

- [0101] 도 1 은, 인간 미분화형 위암 세포주 배양 하에 있어서의 FGFR2 의 활성화 (인산화를 지표) 에 대한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 효과를 나타낸 것이다. (A) KATO-III, (B) SNU-16, (C) HSC-39
- [0102] 도 2 는, 인간 미분화형 위암 세포주 HSC-39 배양 하에 있어서의 아포토시스 (PARP 또는 caspase-3 의 단편화를 지표) 에 대한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 효과를 나타낸 것이다.
- [0103] 도 3 은, 인간 미분화형 위암 세포주 피하 이식 모델에 있어서의 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 항종양 효과를 나타낸 것이다. (A) KATO-III, (B) SNU-16, (C) HSC-39
- [0104] 도 4 는, 인간 미분화형 위암 세포주 피하 이식 모델에 있어서의 종양 조직내의 FGFR2 의 활성화 (인산화를 지표) 에 대한 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 효과를 나타낸 것이다. (A) SNU-16, (B) HSC-39
- [0105] 발명을 실시하기 위한 최선의 형태
- [0106] 이하에 본 발명의 실시형태에 대해 설명한다. 이하의 실시형태는, 본 발명을 설명하기 위한 예시이며, 본 발명을 이 실시형태에만 한정하는 취지는 아니다. 본 발명은, 그 요지를 일탈하지 않는 한, 다양한 형태로 실시할 수 있다.
- [0107] 또한, 본 명세서에서 인용한 모든 간행물, 예를 들어, 선행 기술 문헌 및 공개 공보, 특허 공보 그 밖의 특허 문헌은, 그 전체가 본 명세서에서 참조로서 도입된다. 본 명세서는, 본원 우선권 주장이 되는 일본 특허출원 2006-230816호 명세서의 내용을 포함한다.
- [0108] 1. 본 발명의 의약 조성물, 치료제 및 치료 방법
- [0109] (1) FGFR2
- [0110] 본 발명에 있어서, FGFR2 란, 배열 번호 : 2 (GenBank 역세션 번호 : NP_075259) 로 나타내는 아미노산 배열 중 제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열과 동일하거나 또는 실질적으로 동일한 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 것이다. 또, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드는, 예를 들어, 배열 번호 : 1 (GenBank 역세션 번호 : NM_022970 의 648 번째 내지 3116 번째의 염기 배열) 로 나타내는 염기 배열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코드된다. 또한, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열로 이루어지는 폴리펩티드는, 통상적으로, 프로세싱을 받아 성숙체 (배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 중 제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 로 된다.
- [0111] 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 과 실질적으로 동일한 아미노산 배열을 갖는 폴리펩티드로서는, 예를 들어, 하기 (a) ~ (d) 로 이루어지는 군에서 선택되는 것을 들 수 있다 :
- [0112] (a) 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 을 포함하는 폴리펩티드,
- [0113] (b) 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 에 있어서, 1 또는 복수개 (예를 들어, 1 개 또는 몇 개) 의 아미노산이 결실, 치환 혹은 부가되거나, 또는 그들의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열을 포함하고, 또한, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드,
- [0114] (c) 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코드되는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드,
- [0115] (d) 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 에 대해 90% 이상, 바람직하게는 약 95% 이상, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 동일성 (상동성이라고 하는 경우도 있다) 을 갖는 아미노산 배열로 이루어지는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드.
- [0116] 여기서, 「FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는」 이란, 리간드 (예를 들어, FGF 등) 가 결합했을 때에 야기

되는 세포내 시그널의 적어도 하나가, 배열 번호 : 2 에 기재된 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 로 이루어지는 단백질에 의한 시그널의 하나와 동일하고, 또한, 당해 세포내 시그널의 활성화 정도가 배열 번호 : 2 에 기재된 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 로 이루어지는 단백질과 비교하여 동일한 정도인 것을 나타낸다. 또, 「동일한 정도」란, 예를 들어, 리간드 (예를 들어, FGF 등) 가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널의 활성화 정도가, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 로 이루어지는 단백질이 갖는 세포내 시그널의 활성화 정도의 10% 이상, 바람직하게는 30% 이상 갖는 경우를 말하고, 이 때 실질적으로 동일한 활성을 갖는다고 할 수 있다. 리간드가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널로는, 예를 들어, FGFR2 의 인산화, FGFR2 인산화에서 기인되는 Raf, MEK, ERK1 및 ERK2 의 인산화, phosphatidylinositol 3 kinase 의 인산화, Akt 의 인산화, phospholipase C- γ 의 인산화, inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) 의 증가, diacylglycerol (DAG) 의 증가 등을 들 수 있다.

- [0117] 리간드가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널의 활성화의 측정 방법은, 면역 침강법, 웨스턴 블롯 등의 관용된 방법에 따라 측정할 수 있다.
- [0118] 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 에 있어서, 1 또는 복수개 (예를 들어, 1 개 또는 몇 개) 의 아미노산이 결실, 치환 혹은 부가되거나, 또는 그들의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열로서는, 예를 들어,
- [0119] (i) 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 아미노산이 결실된 아미노산 배열,
- [0120] (ii) 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 에 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 아미노산이 부가된 아미노산 배열,
- [0121] (iii) 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 배열,
- [0122] (iv) 상기 (i) ~ (iii) 의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열 등을 들 수 있다.
- [0123] 여기서, 아미노산의 「결실」은, 배열 중의 아미노산 잔기의 하나 이상이 결실된 변이를 의미하고, 결실에는, 아미노산 배열의 단으로부터 아미노산 잔기가 결실된 것 및 아미노산 배열의 도중의 아미노산 잔기가 결실된 것이 포함된다.
- [0124] 여기서, 아미노산의 「부가」는, 배열 중에 아미노산 잔기의 하나 이상이 부가된 변이를 의미하고, 부가에는, 아미노산 배열의 단에 아미노산 잔기가 부가된 것 및 아미노산 배열의 도중에 아미노산 잔기가 부가된 것이 포함된다. 또한 도중에 부가된 것은, 「삽입」이라고 할 수도 있다.
- [0125] 여기서, 아미노산의 「치환」은, 배열 중의 아미노산 잔기의 하나 이상이, 상이한 종류의 아미노산 잔기로 변경된 변이를 의미한다. 이와 같은 치환에 의해 FGFR2 의 아미노산 배열을 개변하는 경우, 단백질의 기능을 유지하기 위해서는, 보존적인 치환을 실시하는 것이 바람직하다. 보존적인 치환이란, 치환 전의 아미노산과 유사한 성질의 아미노산을 코드하도록 배열을 변화시키는 것이다. 아미노산의 성질은, 예를 들어, 비극성 아미노산 (Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val), 비하전성 아미노산 (Asn, Cys, Gln, Gly, Ser, Thr, Tyr), 산성 아미노산 (Asp, Glu), 염기성 아미노산 (Arg, His, Lys), 중성 아미노산 (Ala, Asn, Cys, Gln, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val), 지방족 아미노산 (Ala, Gly), 분지 아미노산 (Ile, Leu, Val), 히드록시 아미노산 (Ser, Thr), 아미드형 아미노산 (Gln, Asn), 함황 아미노산 (Cys, Met), 방향족 아미노산 (His, Phe, Trp, Tyr), 복소 고리형 아미노산 (His, Trp), 이미노산 (Pro, 4 Hyp) 등으로 분류할 수 있다.
- [0126] 따라서, 예를 들어, 비극성 아미노산끼리, 혹은 비하전성 아미노산끼리로 치환시키는 것이 바람직하다. 그 중에서도, Ala, Val, Leu 및 Ile 사이, Ser 및 Thr 사이, Asp 및 Glu 사이, Asn 및 Gln 사이, Lys 및 Arg 사이, Phe 및 Tyr 사이의 치환은, 단백질의 성질을 유지하는 치환으로서 바람직하다. 변이되는 아미노산의 수 및 부위는 특별히 제한되지 않는다.

- [0127] 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 과 실질적으로 동일한 아미노산 배열을 갖는 폴리펩티드로서는, 상기 서술한 바와 같이, 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코드되는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드를 들 수 있다.
- [0128] 본 명세서에서, 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드란, 구체적으로는, FASTA, BLAST, Smith-Waterman [Meth. Enzym., 164, 765 (1988)] 등의 상동성 검색 소프트웨어에 의해, 디폴트 (초기 설정) 의 파라미터를 이용하여 계산했을 때, 예를 들어 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열과 적어도 90% 이상, 바람직하게는 95% 이상, 보다 바람직하게는 97% 이상, 더욱 바람직하게는 98% 이상, 한층 더 바람직하게는 99% 이상의 동일성을 갖는 염기 배열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 들 수 있다. 또 여기서, 스트린젠트한 조건으로서, 예를 들어, 「2 × SSC, 0.1% SDS, 50℃」, 「2 × SSC, 0.1% SDS, 42℃」, 「1 × SSC, 0.1% SDS, 37℃」, 보다 스트린젠트한 조건으로서, 예를 들어 「2 × SSC, 0.1% SDS, 65℃」, 「0.5 × SSC, 0.1% SDS, 42℃」, 「0.2 × SSC, 0.1% SDS, 65℃」 등의 조건을 들 수 있다.
- [0129] 하이브리다이제이션은, 공지된 방법에 따라 실시할 수 있다. 또, 시판된 라이브러리를 사용하는 경우, 첨부된 사용 설명서에 기재된 방법에 따라 실시할 수 있다.
- [0130] 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드로서는, 예를 들어, 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열과 90% 이상, 바람직하게는 95% 이상, 보다 바람직하게는 98% 이상의 동일성을 갖는 염기 배열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 들 수 있다.
- [0131] 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드로서는, 예를 들어, 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 있어서 1 개 또는 복수개 (예를 들어 1 개 또는 몇 개) 의 핵산에 결실, 치환 또는 부가 등의 변이가 일어난 염기 배열을 들 수 있다.
- [0132] 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드로서는, 예를 들어,
- [0133] (i) 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 핵산이 결실된 염기 배열,
- [0134] (ii) 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열에 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 핵산이 부가된 염기 배열,
- [0135] (iii) 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 핵산이 다른 핵산으로 치환된 염기 배열,
- [0136] (iv) 상기 (i) ~ (iii) 의 조합에 의해 변이된 염기 배열 등을 들 수 있다.
- [0137] 본 발명에 있어서, FGFR2 란, 또 배열 번호 : 4 (GenBank 역세션 번호 : NP_000132) 로 나타내는 아미노산 배열 중 제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열과 동일하거나 또는 실질적으로 동일한 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 것이다. 또, 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드는, 예를 들어, 배열 번호 : 3 (GenBank 역세션 번호 : NM_000141 의 648 번째 내지 3113 번째의 염기 배열) 로 나타내는 염기 배열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코드된다. 또한, 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열로 이루어지는 폴리펩티드는, 통상적으로, 프로세싱을 받아 성숙체 (배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 중 제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 로 된다.
- [0138] 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 과 실질적으로 동일한 아미노산 배열을 갖는 폴리펩티드로서는, 예를 들어, 하기 (a) ~ (d) 로 이루어지는 군에서 선택되는 것을 들 수 있다 :
- [0139] (a) 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 을 포함하는 폴리펩티드,
- [0140] (b) 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 에 있어서, 1 또는 복수개 (예를 들어, 1 개 또는 몇 개) 의 아미노산이 결실, 치환 혹은 부가되거나, 또는 그들의 조합에 의

해 변이된 아미노산 배열을 포함하고, 또한, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드,

- [0141] (c) 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드,
- [0142] (d) 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 에 대해 90% 이상, 바람직하게는 약 95% 이상, 보다 바람직하게는 약 98% 이상의 동일성 (상동성이라고 하는 경우도 있다) 을 갖는 아미노산 배열로 이루어지는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드.
- [0143] 여기서, 「FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는」 이란, 리간드 (예를 들어, FGF 등) 가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널의 적어도 하나가, 배열 번호 : 4 에 기재된 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 로 이루어지는 단백질에 의한 시그널의 하나와 동일하고, 또한, 당해 세포내 시그널의 활성화 정도가 배열 번호 : 4 에 기재된 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 로 이루어지는 단백질과 비교하여 동일한 정도인 것을 나타낸다. 또, 「동일한 정도」란, 예를 들어, 리간드 (예를 들어, FGF 등) 가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널의 활성화 정도가, 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 로 이루어지는 단백질이 갖는 세포내 시그널의 활성화 정도의 10% 이상, 바람직하게는 30% 이상 갖는 경우를 말하고, 이 때 실질적으로 동일한 활성을 갖는다고 할 수 있다. 리간드가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널로서는, 예를 들어, FGFR2 의 인산화, FGFR2 인산화에서 기인되는 Raf, MEK, ERK1 및 ERK2 의 인산화, phosphatidylinositol 3 kinase 의 인산화, Akt 의 인산화, phospholipase C- γ 의 인산화, inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3) 의 증가, diacylglycerol (DAG) 의 증가 등을 들 수 있다.
- [0144] 리간드가 결합했을 때에 야기되는 세포내 시그널의 활성의 측정 방법은, 면역 침강법, 웨스턴 블롯 등의 관용된 방법에 따라 측정할 수 있다.
- [0145] 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 에 있어서, 1 또는 복수개 (예를 들어, 1 개 또는 몇 개) 의 아미노산이 결실, 치환 혹은 부가되거나, 또는 그들의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열로서는, 예를 들어,
- [0146] (i) 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 아미노산이 결실된 아미노산 배열,
- [0147] (ii) 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 에 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 아미노산이 부가된 아미노산 배열,
- [0148] (iii) 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 배열,
- [0149] (iv) 상기 (i) ~ (iii) 의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열 등을 들 수 있다.
- [0150] 여기서, 아미노산의 「결실」은, 배열 중의 아미노산 잔기의 하나 이상이 결실된 변이를 의미하고, 결실에는, 아미노산 배열의 단으로부터 아미노산 잔기가 결실된 것 및 아미노산 배열의 도중의 아미노산 잔기가 결실된 것이 포함된다.
- [0151] 여기서, 아미노산의 「부가」는, 배열 중에 아미노산 잔기의 하나 이상이 부가된 변이를 의미하고, 부가에는, 아미노산 배열의 단에 아미노산 잔기가 부가된 것 및 아미노산 배열의 도중에 아미노산 잔기가 부가된 것이 포함된다. 또한 도중에 부가된 것은, 「삽입」이라고 할 수도 있다.
- [0152] 여기서, 아미노산의 「치환」은, 배열 중의 아미노산 잔기의 하나 이상이, 상이한 종류의 아미노산 잔기로 변경된 변이를 의미한다. 이와 같은 치환에 의해 FGFR2 의 아미노산 배열을 개변하는 경우, 단백질의 기능을 유지하기 위해서는, 보존적인 치환을 실시하는 것이 바람직하다. 보존적인 치환이란, 치환 전의 아미노산과 유사한 성질의 아미노산을 코딩하도록 배열을 변화시키는 것이다. 아미노산의 성질은, 예를 들어, 비극성 아미노산 (Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val), 비하전성 아미노산 (Asn, Cys, Gln, Gly, Ser, Thr, Tyr), 산성 아미노산 (Asp, Glu), 염기성 아미노산 (Arg, His, Lys), 중성 아미노산 (Ala, Asn, Cys, Gln,

Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val), 지방족 아미노산 (Ala, Gly), 분지 아미노산 (Ile, Leu, Val), 히드록시 아미노산 (Ser, Thr), 아미드형 아미노산 (Gln, Asn), 황황 아미노산 (Cys, Met), 방향족 아미노산 (His, Phe, Trp, Tyr), 복소 고리형 아미노산 (His, Trp), 이미노산 (Pro, 4 Hyp) 등으로 분류할 수 있다.

- [0153] 따라서, 예를 들어, 비극성 아미노산끼리, 혹은 비하전성 아미노산끼리 치환시키는 것이 바람직하다. 그 중에서도, Ala, Val, Leu 및 Ile 사이, Ser 및 Thr 사이, Asp 및 Glu 사이, Asn 및 Gln 사이, Lys 및 Arg 사이, Phe 및 Tyr 사이의 치환은, 단백질의 성질을 유지하는 치환으로서 바람직하다. 변이되는 아미노산의 수 및 부위는 특별히 제한되지 않는다.
- [0154] 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 과 실질적으로 동일한 아미노산 배열을 갖는 폴리펩티드로서는, 상기 서술한 바와 같이, 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드에 의해 코드되는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드를 들 수 있다.
- [0155] 본 명세서에서, 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드란, 구체적으로는, FASTA, BLAST, Smith-Waterman [Meth. Enzym., 164, 765 (1988)] 등의 상동성 검색 소프트웨어에 의해, 디폴트 (초기 설정) 의 파라미터를 이용하여 계산했을 때에, 예를 들어 배열 번호 : 1 로 나타내는 염기 배열과 적어도 90% 이상, 바람직하게는 95% 이상, 보다 바람직하게는 97% 이상, 더욱 바람직하게는 98% 이상, 한층 더 바람직하게는 99% 이상의 동일성을 갖는 염기 배열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 들 수 있다. 또 여기서, 스트린젠트한 조건으로서, 예를 들어, 「2 × SSC, 0.1% SDS, 50℃」, 「2 × SSC, 0.1% SDS, 42℃」, 「1 × SSC, 0.1% SDS, 37℃」, 보다 스트린젠트한 조건으로서, 예를 들어 「2 × SSC, 0.1% SDS, 65℃」, 「0.5 × SSC, 0.1% SDS, 42℃」, 「0.2 × SSC, 0.1% SDS, 65℃」 등의 조건을 들 수 있다.
- [0156] 하이브리다이제이션은, 공지된 방법에 따라 실시할 수 있다. 또, 시판된 라이브러리를 사용하는 경우, 첨부된 사용 설명서에 기재된 방법에 따라 실시할 수 있다.
- [0157] 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드로서는, 예를 들어, 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열과 90% 이상, 바람직하게는 95% 이상, 보다 바람직하게는 98% 이상의 동일성을 갖는 염기 배열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 들 수 있다.
- [0158] 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드로서는, 예를 들어, 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 있어서 1 개 또는 복수개 (예를 들어 1 개 또는 몇 개) 의 핵산에 결실, 치환 또는 부가 등의 변이가 일어난 염기 배열을 들 수 있다.
- [0159] 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 상보적인 염기 배열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건 하에서 하이브리다이징하는 폴리뉴클레오티드로서는, 예를 들어,
- [0160] (i) 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 핵산이 결실된 염기 배열,
- [0161] (ii) 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열에 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 핵산이 부가된 염기 배열,
- [0162] (iii) 배열 번호 : 3 으로 나타내는 염기 배열 중의 1 ~ 9 개 (예를 들어, 1 ~ 5 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 ~ 2 개, 더욱 바람직하게는 1 개) 의 핵산이 다른 핵산으로 치환된 염기 배열,
- [0163] (iv) 상기 (i) ~ (iii) 의 조합에 의해 변이된 염기 배열 등을 들 수 있다.
- [0164] 본 명세서에서, 아미노산 배열에 대해 「동일성」 (상동성이라고 하는 경우도 있다) 이란, 비교되는 배열간에 있어서, 각각의 배열을 구성하는 아미노산 잔기의 일치 정도의 의미로 사용된다. 비교 대조의 아미노산 배열에 대한 소정의 아미노산 배열의 갖는 동일성을 계산하는 경우에는, 갭의 존재 및 아미노산의 성질이 고려된다 (Wilbur, Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80 : 726-730 (1983)). 동일성의 계산에는, 시판된 소프트인 BLAST (Altschul : J. Mol. Biol. 215 : 403-410 (1990)), FASTA (Pearson : Methods in Enzymology 183 : 63-69 (1990)) 등을 사용할 수 있다.

- [0165] 「동일성」의 수치는 모두, 당업자에게 공지된 상동성 검색 프로그램을 이용하여 산출되는 수치이면 되고, 예를 들어 전미 (全米) 바이오 테크놀로지 정보 센터 (NCBI) 의 상동성 알고리즘 BLAST (Basic local alignment search tool) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> 에 있어서 디폴트 (초기 설정) 의 파라미터를 사용함으로써 산출할 수 있다.
- [0166] 본 발명에 있어서, FGFR2 는, 후술하는 변이형 FGFR2 를 포함하는 것이다.
- [0167] (2) FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포
- [0168] 본 발명에 있어서, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포란, 예를 들어, 정상 세포에 비해 FGFR2 가 상당량 발현하고 있는 세포를 들 수 있다. 또, 본 발명에 있어서, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포란, 예를 들어, 정상 세포에 비해 FGFR2 가 1.5 배 이상, 바람직하게는 2 배 이상, 보다 바람직하게는 3 배 이상, 더욱 바람직하게는 4 배 이상 발현하고 있는 세포를 들 수 있다. 여기서, 본 발명에 있어서, 「정상 세포」는, 예를 들어, 암 (예를 들어, 미분화형 위암 등) 세포 이외의 세포를 들 수 있다.
- [0169] 본 발명에 있어서, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포는, 바람직하게는 미분화형 위암의 세포이며, 보다 바람직하게는 저분화선암, 인환세포암, 점액암 및 스킨스 위암으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 세포이다.
- [0170] FGFR2 의 발현량은, 예를 들어, 세포에 발현하는 FGFR2 의 단백질 및/또는 mRNA 를 측정함으로써 해석할 수 있다.
- [0171] 단백질의 측정은, 예를 들어, 면역화학적 방법 (예를 들어, 면역 조직화 학문적 방법, 면역 침강법, 웨스턴 블롯, 플로우사이토메트리, ELISA, RIA 등), 질량 분석에 의한 방법 등을 들 수 있고, 바람직하게는 면역화학적 방법을 들 수 있으며, 특히 바람직하게는 플로우사이토메트리를 들 수 있다. 이들 방법은, 통상적인 방법에 따라 실시할 수 있다.
- [0172] 한편, mRNA 의 측정은, 예를 들어, in situ 하이브리다이제이션, 노던 블롯 해석, DNA 마이크로 어레이, RT-PCR, 정량적 RT-PCR 등의 방법을 들 수 있고, 바람직하게는 RT-PCR 또는 정량적 RT-PCR 을 들 수 있다. 이들 방법은, 통상적인 방법에 따라 실시할 수 있다.
- [0173] (3) 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포
- [0174] 본 발명에 있어서, 변이형 FGFR2 는, 야생형의 FGFR2 의 아미노산 배열, 예를 들어, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 또는 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 가운데, 1 혹은 몇 개의 아미노산이 결실, 치환 혹은 부가되거나, 또는 그들의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드를 들 수 있다. 또, 변이형 FGFR2 는, 바람직하게는, 야생형의 FGFR2 의 아미노산 배열, 예를 들어, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 또는 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 가운데, 1 혹은 몇 개의 아미노산이 결실, 치환 혹은 부가되거나, 또는 그들의 조합에 의해 변이된 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드로서, FGFR2 와 실질적으로 동일한 활성을 갖는 폴리펩티드를 들 수 있다. 본 발명에 있어서, 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로서는, 상기의 폴리펩티드를 발현하고 있는 세포를 들 수 있다.
- [0175] 변이형 FGFR2 는, 예를 들어, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 또는 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 가운데, 267 번째의 세린이 다른 아미노산, 바람직하게는 프롤린으로 치환된 아미노산 배열로 나타내는 배열을 포함하는 폴리펩티드를 들 수 있다 (Cancer Research. 61, 3541-3543, 2001).
- [0176] 또, 변이형 FGFR2 는, 야생형의 FGFR2 의 아미노산 배열, 예를 들어, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 중 제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열, 또는 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 중 제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열에 있어서, C 말측의 몇 개의 아미노산이 결실된 변이 부위를 포함하는 폴리펩티드를 들 수 있다. 변이형 FGFR2 는, 예를 들어, 배열 번호 : 2 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열) 에 있어서 적어도 813 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열에서는 제 792 번째의 Tyr), 바람직하게는 적어도 784 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열에서는 제 763 번째의 Tyr), 보다 바람직하게는 적어도 780 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 822 번째의 아미노산 배열에서는 제 759 번째의 Tyr), 더욱 바람직하게는 적어도 770 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제

822 번째의 아미노산 배열에서는 제 749 번째의 Tyr) 이후의 아미노산 배열이 결실된 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드를 들 수 있다. 또 배열 번호 : 4 로 나타내는 아미노산 배열 (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열) 에 있어서 적어도 812 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열에서는 제 791 번째의 Tyr), 바람직하게는 적어도 783 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열에서는 제 762 번째의 Tyr), 보다 바람직하게는 적어도 779 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열에서는 제 758 번째의 Tyr), 더욱 바람직하게는 적어도 769 번째의 Tyr (제 22 번째 내지 제 821 번째의 아미노산 배열에서는 제 748 번째의 Tyr) 이후의 아미노산 배열이 결실된 아미노산 배열을 포함하는 폴리펩티드를 들 수 있다.

[0177] 또, 변이형 FGFR2 는, 활성화 변이형 FGFR2 가 바람직하다. 활성화 변이형 FGFR2 란, 리간드 비의존적으로 자기 인산화를 일으켜, 세포내 시그널을 활성화하는 변이형 FGFR2 를 말한다.

[0178] FGFR2 의 변이의 유무는, FGFR2 의 유전자 배열 또는 FGFR2 의 전사 산물인 mRNA 의 배열을 해석함으로써 조사할 수 있다. 배열의 해석 방법은, 예를 들어, 디데옥시뉴클레오티드 체인 터미네이션법 (Sanger et al. (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74 : 5463) 등을 들 수 있다. 적당한 DNA 시퀀서를 이용하여 배열을 해석하는 것도 가능하다.

[0179] 또, FGFR2 의 변이의 유무는, 예를 들어, in situ 하이브리다이제이션, 노던 블롯 해석, DNA 마이크로 어레이, RT-PCR, SSCP-PCR (Single-Strand Conformation Polymorphism-PCR) 등의 방법에 의해 해석할 수도 있다. 이들 방법은, 통상적인 방법에 따라 실시할 수 있다.

[0180] 또, FGFR2 의 변이의 유무는, 예를 들어, 면역화학적 방법 (예를 들어, 면역 조직화 학문적 방법, 면역 침강법, 웨스턴 블롯, 플로우사이토메트리, ELISA, RIA 등) 에 의해 해석할 수도 있다. 이들 방법은, 통상적인 방법에 따라 실시할 수 있다.

[0181] 본 발명에 있어서, 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포는, 바람직하게는 미분화형 위암의 세포이며, 보다 바람직하게는 저분화선암, 인환세포암, 점액암 및 스킨스 위암으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 세포이다.

[0182] (4) 본 발명의 FGFR2 저해 물질

[0183] 본 명세서에서, 「할로겐 원자」란, 불소 원자, 염소 원자, 브롬 원자 또는 요오드 원자를 의미한다.

[0184] 「할로겐 원자」의 바람직한 예로는, 불소 원자, 염소 원자를 들 수 있다.

[0185] 본 명세서에서, 「C₁₋₆ 알킬기」란, 탄소수가 1 ~ 6 개의 직사슬형 또는 분지 사슬형의 알킬기를 의미하고, 구체예로는, 메틸기, 에틸기, 1-프로필기 (n-프로필기), 2-프로필기 (i-프로필기), 2-메틸-1-프로필기 (i-부틸기), 2-메틸-2-프로필기 (t-부틸기), 1-부틸기 (n-부틸기), 2-부틸기 (s-부틸기), 1-펜틸기, 2-펜틸기, 3-펜틸기, 2-메틸-1-부틸기, 3-메틸-1-부틸기, 2-메틸-2-부틸기, 3-메틸-2-부틸기, 2,2-디메틸-1-프로필기, 1-헥실기, 2-헥실기, 3-헥실기, 2-메틸-1-펜틸기, 3-메틸-1-펜틸기, 4-메틸-1-펜틸기, 2-메틸-2-펜틸기, 3-메틸-2-펜틸기, 4-메틸-2-펜틸기, 2-메틸-3-펜틸기, 3-메틸-3-펜틸기, 2,3-디메틸-1-부틸기, 3,3-디메틸-1-부틸기, 2,2-디메틸-1-부틸기, 2-에틸-1-부틸기, 3,3-디메틸-2-부틸기, 2,3-디메틸-2-부틸기 등을 들 수 있다.

[0186] 「C₁₋₆ 알킬기」의 바람직한 예로는, 메틸기, 에틸기, 1-프로필기, 2-프로필기, 2-메틸-1-프로필기, 2-메틸-2-프로필기, 1-부틸기, 2-부틸기를 들 수 있다.

[0187] 본 명세서에서, 「C₁₋₆ 알킬렌기」란, 상기 정의 「C₁₋₆ 알킬기」로부터 추가로 임의의 수소 원자를 1 개 제거하여 유도되는 2 개의 기를 의미하고, 구체예로는, 메틸렌기, 1,2-에틸렌기, 1,1-에틸렌기, 1,3-프로필렌기, 테트라메틸렌기, 펜타메틸렌기, 헥사메틸렌기 등을 들 수 있다.

[0188] 본 명세서에서, 「C₂₋₆ 알케닐기」란, 이중 결합을 1 개 갖는, 탄소수가 2 ~ 6 개인 직사슬형 또는 분지 사슬형의 알케닐기를 의미하고, 구체예로는, 에테닐기 (비닐기), 1-프로페닐기, 2-프로페닐기 (알릴기), 1-부테닐기, 2-부테닐기, 3-부테닐기, 펜테닐기, 헥세닐기 등을 들 수 있다.

[0189] 본 명세서에서, 「C₂₋₆ 알키닐기」란, 삼중 결합을 1 개 갖는, 탄소수가 2 ~ 6 개인 직사슬형 또는 분지 사슬형의 알키닐기를 의미하고, 구체예로는, 에티닐기, 1-프로피닐기, 2-프로피닐기, 1-부티닐기, 2-부티닐기, 3-부티닐기, 펜티닐기, 헥시닐기 등을 들 수 있다.

- [0190] 본 명세서에서, 「C₃₋₈ 시클로알킬기」란, 탄소수가 3 ~ 8 개의 단고리 또는 2 고리의 포화 지방족 탄화수소기를 의미하고, 구체예로는, 시클로프로필기, 시클로부틸기, 시클로펜틸기, 시클로헥실기, 시클로헵틸기, 시클로옥틸기, 비시클로[2.1.0]펜틸기, 비시클로[3.1.0]헥실기, 비시클로[2.1.1]헥실기, 비시클로[4.1.0]헵틸기, 비시클로[2.2.1]헵틸기 (노르보르닐기), 비시클로[3.3.0]옥틸기, 비시클로[3.2.1]옥틸기, 비시클로[2.2.2]옥틸기 등을 들 수 있다.
- [0191] 「C₃₋₈ 시클로알킬기」의 바람직한 예로는, 시클로프로필기, 시클로부틸기, 시클로펜틸기를 들 수 있다.
- [0192] 본 명세서에서, 「C₆₋₁₀ 아틸기」란, 탄소수가 6 ~ 10 개의 방향족성의 탄화수소 고리형기를 의미하고, 구체예로는, 페닐기, 1-나프틸기, 2-나프틸기, 인데닐기, 아줄레닐기 등을 들 수 있다.
- [0193] 「C₆₋₁₀ 아틸기」의 바람직한 예로는, 페닐기를 들 수 있다.
- [0194] 본 명세서에서, 「헤테로 원자」란, 질소 원자, 산소 원자 또는 황 원자를 의미한다.
- [0195] 본 명세서에서, 「5 ~ 10 원자 헤테로아틸기」란, 고리를 구성하는 원자의 수가 5 ~ 10 개이며, 고리를 구성하는 원자 중에 1 ~ 5 개의 헤테로 원자를 함유하는 방향족성의 고리형기를 의미하고, 구체예로는, 푸릴기, 티에닐기, 피롤릴기, 이미다졸릴기, 트리아졸릴기, 테트라졸릴기, 티아졸릴기, 피라졸릴기, 옥사졸릴기, 이소옥사졸릴기, 이소티아졸릴기, 푸라잔일기, 티아디아졸릴기, 옥사디아졸릴기, 피리딜기, 피라지닐기, 피리다지닐기, 피리미디닐기, 트리아지닐기, 프리닐기, 프테리디닐기, 퀴놀릴기, 이소퀴놀릴기, 나프티리디닐기, 퀴놀살리닐기, 신놀리닐기, 퀴나졸리닐기, 프탈라지닐기, 이미다조피리딜기, 이미다조티아졸릴기, 이미다조옥사졸릴기, 벤조티아졸릴기, 벤조옥사졸릴기, 벤즈이미다졸릴기, 인돌릴기, 이소인돌릴기, 인다졸릴기, 피롤로피리딜기, 티에노피리딜기, 프로피리딜기, 벤조티아디아졸릴기, 벤조옥사디아졸릴기, 피리도피리미디닐기, 벤조푸릴기, 벤조티에닐기, 티에노푸릴기 등을 들 수 있다.
- [0196] 「5 ~ 10 원자 헤테로아틸기」의 바람직한 예로는, 푸릴기, 티에닐기, 피롤릴기, 이미다졸릴기, 티아졸릴기, 피라졸릴기, 옥사졸릴기, 이소옥사졸릴기, 이소티아졸릴기, 피리딜기, 피리미디닐기를 들 수 있다.
- [0197] 본 명세서에서, 「3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기」란,
- [0198] (a) 고리를 구성하는 원자의 수가 3 ~ 10 개이고,
- [0199] (b) 고리를 구성하는 원자 중에 1 ~ 2 개의 헤테로 원자를 함유하고,
- [0200] (c) 고리 중에 이중 결합을 1 ~ 2 개 포함하고 있어도 되고,
- [0201] (d) 고리 중에 카르보닐기, 술피닐기 또는 술포닐기를 1 ~ 3 개 포함하고 있어도 되고,
- [0202] (e) 단고리형 또는 2 고리형인 비방향족성의 고리형기를 의미하며, 고리를 구성하는 원자 중에 질소 원자를 함유하는 경우, 질소 원자로부터 결합수(手)가 나와 있어도 된다.
- [0203] 구체예로는, 아지리디닐기, 아제티디닐기, 피롤리디닐기, 피페리디닐기, 아제파닐기, 아조카닐기, 피페라지닐기, 디아제파닐기, 디아조카닐기, 디아자비시클로[2.2.1]헵틸기, 모르폴리닐기, 티오모르폴리닐기, 1,1-디옥소티오모르폴리닐기, 옥실라닐기, 옥세타닐기, 테트라히드로푸릴기, 디옥소라닐기, 테트라히드로피라닐기, 디옥사닐기, 테트라히드로티에닐기, 테트라히드로티오피라닐기, 옥사졸리디닐기, 티아졸리디닐기 등을 들 수 있다.
- [0204] 「3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기」의 바람직한 예로는, 아지리디닐기, 아제티디닐기, 피롤리디닐기, 피페리디닐기, 아제파닐기, 피페라지닐기, 디아제파닐기, 모르폴리닐기, 티오모르폴리닐기, 1,1-디옥소티오모르폴리닐기, 테트라히드로푸릴기, 테트라히드로피라닐기를 들 수 있다.
- [0205] 본 명세서에서, 「C₁₋₆ 알콕시기」란, 상기 정의 「C₁₋₆ 알킬기」의 말단에 산소 원자가 결합한 기인 것을 의미하고, 구체적으로는, 메톡시기, 에톡시기, 1-프로폭시기 (n-프로폭시기), 2-프로폭시기 (i-프로폭시기), 2-메틸-1-프로폭시기 (i-부톡시기), 2-메틸-2-프로폭시기 (t-부톡시기), 1-부톡시기 (n-부톡시기), 2-부톡시기 (s-부톡시기), 1-펜틸옥시기, 2-펜틸옥시기, 3-펜틸옥시기, 2-메틸-1-부톡시기, 3-메틸-1-부톡시기, 2-메틸-2-부톡시기, 3-메틸-2-부톡시기, 2,2-디메틸-1-프로폭시기, 1-헥실옥시기, 2-헥실옥시기, 3-헥실옥시기, 2-메틸-1-펜틸옥시기, 3-메틸-1-펜틸옥시기, 4-메틸-1-펜틸옥시기, 2-메틸-2-펜틸옥시기, 3-메틸-2-펜틸옥시기, 4-메틸-2-펜틸옥시기, 2-메틸-3-펜틸옥시기, 3-메틸-3-펜틸옥시기, 2,3-디메틸-1-부톡시기, 3,3-디메틸-1-부톡

시기, 2,2-디메틸-1-부톡시기, 2-에틸-1-부톡시기, 3,3-디메틸-2-부톡시기, 2,3-디메틸-2-부톡시기 등을 들 수 있다.

[0206] 「C₁₋₆ 알콕시기」의 바람직한 예로는, 메톡시기, 에톡시기, 1-프로폭시기, 2-프로폭시기, 2-메틸-1-프로폭시기, 2-메틸-2-프로폭시기, 1-부톡시기, 2-부톡시기를 들 수 있다.

[0207] 본 명세서에서, 「C₁₋₆ 알킬티오기」란, 상기 정의 「C₁₋₆ 알킬기」의 말단에 황 원자가 결합한 기인 것을 의미하고, 구체적으로는, 메틸티오기, 에틸티오기, 1-프로필티오기 (n-프로필티오기), 2-프로필티오기 (i-프로필티오기), 2-메틸-1-프로필티오기 (i-부틸티오기), 2-메틸-2-프로필티오기 (t-부틸티오기), 1-부틸티오기 (n-부틸티오기), 2-부틸티오기 (s-부틸티오기), 1-펜틸티오기, 2-펜틸티오기, 3-펜틸티오기, 2-메틸-1-부틸티오기, 3-메틸-1-부틸티오기, 2-메틸-2-부틸티오기, 3-메틸-2-부틸티오기, 2,2-디메틸-1-프로필티오기, 1-헥실티오기, 2-헥실티오기, 3-헥실티오기, 2-메틸-1-펜틸티오기, 3-메틸-1-펜틸티오기, 4-메틸-1-펜틸티오기, 2-메틸-2-펜틸티오기, 3-메틸-2-펜틸티오기, 4-메틸-2-펜틸티오기, 2-메틸-3-펜틸티오기, 3-메틸-3-펜틸티오기, 2,3-디메틸-1-부틸티오기, 3,3-디메틸-1-부틸티오기, 2,2-디메틸-1-부틸티오기, 2-에틸-1-부틸티오기, 3,3-디메틸-2-부틸티오기, 2,3-디메틸-2-부틸티오기 등을 들 수 있다.

[0208] 「C₁₋₆ 알킬티오기」의 바람직한 예로는, 메틸티오기, 에틸티오기, 1-프로필티오기 (n-프로필티오기), 2-프로필티오기 (i-프로필티오기), 2-메틸-1-프로필티오기 (i-부틸티오기), 2-메틸-2-프로필티오기 (t-부틸티오기), 1-부틸티오기 (n-부틸티오기), 2-부틸티오기 (s-부틸티오기) 를 들 수 있다.

[0209] 본 명세서에서, 「C₃₋₈ 시클로알콕시기」란, 상기 정의 「C₃₋₈ 시클로알킬기」의 말단에 산소 원자가 결합한 기인 것을 의미하고, 구체적으로는, 시클로프로폭시기, 시클로부톡시기, 시클로펜틸옥시기, 시클로헥실옥시기, 시클로헵틸옥시기, 시클로옥틸옥시기, 비시클로[2.1.0]펜틸옥시기, 비시클로[3.1.0]헥실옥시기, 비시클로[2.1.1]헥실옥시기, 비시클로[4.1.0]헵틸옥시기, 비시클로[2.2.1]헵틸옥시기 (노르보르닐옥시기), 비시클로[3.3.0]옥틸옥시기, 비시클로[3.2.1]옥틸옥시기, 비시클로[2.2.2]옥틸옥시기 등을 들 수 있다.

[0210] 「C₃₋₈ 시클로알콕시기」의 바람직한 예로는, 시클로프로폭시기, 시클로부톡시기, 시클로펜틸옥시기를 들 수 있다.

[0211] 본 명세서에서, 「모노-C₁₋₆ 알킬아미노기」란, 아미노기 중의 1 개의 수소 원자를, 상기 정의 「C₁₋₆ 알킬기」로 치환한 기를 의미하고, 구체적으로는, 메틸아미노기, 에틸아미노기, 1-프로필아미노기 (n-프로필아미노기), 2-프로필아미노기 (i-프로필아미노기), 2-메틸-1-프로필아미노기 (i-부틸아미노기), 2-메틸-2-프로필아미노기 (t-부틸아미노기), 1-부틸아미노기 (n-부틸아미노기), 2-부틸아미노기 (s-부틸아미노기), 1-펜틸아미노기, 2-펜틸아미노기, 3-펜틸아미노기, 2-메틸-1-부틸아미노기, 3-메틸-1-부틸아미노기, 2-메틸-2-부틸아미노기, 3-메틸-2-부틸아미노기, 2,2-디메틸-1-프로필아미노기, 1-헥실아미노기, 2-헥실아미노기, 3-헥실아미노기, 2-메틸-1-펜틸아미노기, 3-메틸-1-펜틸아미노기, 4-메틸-1-펜틸아미노기, 2-메틸-2-펜틸아미노기, 3-메틸-2-펜틸아미노기, 4-메틸-2-펜틸아미노기, 2-메틸-3-펜틸아미노기, 3-메틸-3-펜틸아미노기, 2,3-디메틸-1-부틸아미노기, 3,3-디메틸-1-부틸아미노기, 2,2-디메틸-1-부틸아미노기, 2-에틸-1-부틸아미노기, 3,3-디메틸-2-부틸아미노기, 2,3-디메틸-2-부틸아미노기 등을 들 수 있다.

[0212] 본 명세서에서, 「디-C₁₋₆ 알킬아미노기」란, 아미노기 중의 2 개의 수소 원자를, 각각 동일하거나 또는 상이한, 상기 정의 「C₁₋₆ 알킬기」로 치환한 기를 의미하고, 구체적으로는, N,N-디메틸아미노기, N,N-디에틸아미노기, N,N-디-n-프로필아미노기, N,N-디-i-프로필아미노기, N,N-디-n-부틸아미노기, N,N-디-i-부틸아미노기, N,N-디-s-부틸아미노기, N,N-디-t-부틸아미노기, N-에틸-N-메틸아미노기, N-n-프로필-N-메틸아미노기, N-i-프로필-N-메틸아미노기, N-n-부틸-N-메틸아미노기, N-i-부틸-N-메틸아미노기, N-s-부틸-N-메틸아미노기, N-t-부틸-N-메틸아미노기 등을 들 수 있다.

[0213] 본 명세서에서, 「C₂₋₇ 아실기」란, 상기 정의한 「C₁₋₆ 알킬기」가 결합한 카르보닐기인 것을 의미하고, 구체적으로는, 예를 들어, 아세틸기, 프로피오닐기, 이소프로피오닐기, 부티릴기, 이소부티릴기, 발레릴기, 이소발레릴기, 피발로일기 등을 들 수 있다.

[0214] 본 명세서에서, 「C₂₋₇ 알콕시카르보닐기」란, 상기 정의한 「C₁₋₆ 알콕시기」가 결합한 카르보닐기인 것을 의미하고, 구체적으로는, 예를 들어, 메톡시카르보닐기, 에톡시카르보닐기, 1-프로필옥시카르보닐기, 2-프로필옥시카

르보닐기, 2-메틸-2-프로폭시카르보닐기 등을 들 수 있다.

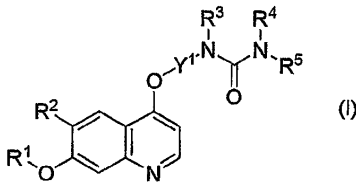
[0215] 본 명세서에서, 「치환기를 가지고 있어도 된다」란, 「치환 가능한 부위에 임의로 조합하여 1 또는 복수개의 치환기를 가져도 된다」는 것을 의미하고, 치환기의 구체예로는, 예를 들어, 할로겐 원자, 수산기, 티올기, 니트로기, 시아노기, 포르밀기, 카복실기, 아미노기, 실릴기, 메탄술폰닐기, C₁₋₆ 알킬기, C₂₋₆ 알케닐기, C₂₋₆ 알키닐기, C₃₋₈ 시클로알킬기, C₆₋₁₀ 아릴기, 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기, C₁₋₆ 알콕시기, C₁₋₆ 알킬티오기, C₃₋₈ 시클로알콕시기, 모노-C₁₋₆ 알킬아미노기, 디-C₁₋₆ 알킬아미노기, C₂₋₇ 아실기 또는 C₂₋₇ 알콕시카르보닐기 등을 들 수 있다. 단, C₁₋₆ 알킬기, C₂₋₆ 알케닐기, C₂₋₆ 알키닐기, C₃₋₈ 시클로알킬기, C₆₋₁₀ 아릴기, 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기, C₁₋₆ 알콕시기, C₁₋₆ 알킬티오기, C₃₋₈ 시클로알콕시기, 모노-C₁₋₆ 알킬아미노기, 디-C₁₋₆ 알킬아미노기, C₂₋₇ 아실기 및 C₂₋₇ 알콕시카르보닐기는 각각 독립적으로 하기 치환기군으로 이루어지는 군에서 선택되는 1 ~ 3 개의 기를 가지고 있어도 된다.

[0216] <치환기군>

[0217] 할로겐 원자, 수산기, 티올기, 니트로기, 시아노기, C₁₋₆ 알킬기, C₃₋₈ 시클로알킬기, C₂₋₆ 알케닐기, C₂₋₆ 알키닐기, C₆₋₁₀ 아릴기, 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기, C₁₋₆ 알콕시기 및 C₁₋₆ 알킬티오기.

[0218] 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 예를 들어,

일반식 (I)



[0219]

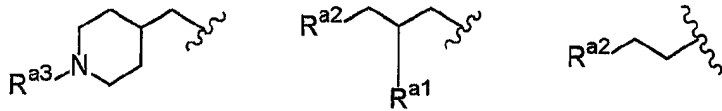
[0220] 로 나타내는 화합물을 들 수 있다.

[0221] (i) R¹

[0222] R¹ 은 식 -V¹-V²-V³ (식 중, V¹ 은 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬렌기를 의미한다 ; V² 는 단결합, 산소 원자, 황 원자, 카르보닐기, 술폰닐기, 술폰닐기, 식 -CONR⁶- 으로 나타내는 기, 식 -SO₂NR⁶- 으로 나타내는 기, 식 -NR⁶SO₂- 로 나타내는 기, 식 -NR⁶CO- 로 나타내는 기, 또는 식 -NR⁶- 으로 나타내는 기를 의미한다 (식 중, R⁶ 은 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C₃₋₈ 시클로알킬기를 의미한다) ; V³ 은 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₃₋₈ 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₆₋₁₀ 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다.

[0223] R¹ 의 바람직한 예로는, C₁₋₆ 알킬기를 들 수 있다. 단, 이 경우, R¹ 은, C₁₋₆ 알킬기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기, 수산기, C₁₋₆ 알콕시기, 아미노기, 모노-C₁₋₆ 알킬아미노기 및 디-C₁₋₆ 알킬아미노기에서 선택되는 치환기를 가지고 있어도 된다.

[0224] R^1 의 보다 바람직한 예로는, 메틸기, 또는 식



[0225]

[0226] (식 중, R^{a3} 은 메틸기를 의미한다 ; R^{a1} 은 수소 원자 또는 수산기를 의미한다 ; R^{a2} 는 메톡시기, 에톡시기, 1-피롤리디닐기, 1-피페리디닐기, 4-모르폴리닐기, 디메틸아미노기 또는 디에틸아미노기를 의미한다) 의 어느 것으로 나타내는 기를 들 수 있다.

[0227] R^1 의 더욱 바람직한 예로는, 메틸기 또는 2-메톡시에틸기를 들 수 있다.

[0228] (ii) R^2

[0229] R^2 는 시아노기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알콕시기, 카르복실기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-7} 알콕시카르보닐기, 또는 식 $-\text{CONV}^{a11}\text{V}^{a12}$ (식 중, V^{a11} 은 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{6-10} 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 의미한다 ; V^{a12} 는 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{2-6} 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{6-10} 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기, 수산기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{1-6} 알콕시기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C_{3-8} 시클로알콕시기를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다.

[0230] R^2 의 바람직한 예로는, 시아노기, 또는 식 $-\text{CONV}^{a11}\text{V}^{a12}$ (식 중, V^{a11} 및 V^{a12} 는, 상기 정의와 같은 의미이다) 로 나타내는 기를 들 수 있다.

[0231] R^2 의 보다 바람직한 예로는, 시아노기, 또는 식 $-\text{CONHV}^{a16}$ (식 중, V^{a16} 은 수소 원자, C_{1-6} 알킬기, C_{3-8} 시클로알킬기, C_{1-6} 알콕시기 또는 C_{3-8} 시클로알콕시기를 의미한다. 단, V^{a16} 은 할로젠 원자, 시아노기, 수산기 및 C_{1-6} 알콕시기에서 선택되는 치환기를 가지고 있어도 된다) 로 나타내는 기를 들 수 있다.

[0232] R^2 의 더욱 바람직한 예로는, 식 $-\text{CONHV}^{a17}$ (식 중, V^{a17} 은 수소 원자, C_{1-6} 알킬기 또는 C_{1-6} 알콕시기를 의미한다) 로 나타내는 기를 들 수 있다.

[0233] R^2 의 가장 바람직한 예로는, 식 $-\text{CONHV}^{a18}$ (식 중, V^{a18} 은 수소 원자, 메틸기 또는 메톡시기를 의미한다) 로 나타내는 기를 들 수 있다.

[0234] (iii) Y^1

[0235] Y^1 은 식



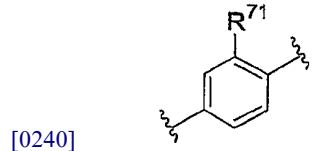
[0236]

[0237] (식 중, R^7 및 R^8 은 각각 독립적으로 수소 원자, 할로젠 원자, 시아노기, 니트로기, 아미노기, 치환기를 가지고

있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₃₋₈ 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알콕시기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬티오기, 포르밀기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₇ 아실기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₇ 알콕시카르보닐기, 또는 식 -CONV^{d1}V^{d2} (식 중, V^{d1} 및 V^{d2} 는 각각 독립적으로 수소 원자 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다 ;

[0238] W¹ 및 W² 는 각각 독립적으로 치환기를 가지고 있어도 되는 탄소 원자 또는 질소 원자를 의미한다) 로 나타내는 기를 의미한다.

[0239] Y¹ 의 바람직한 예로는, 식



[0241] (식 중, R⁷¹ 은 수소 원자 또는 할로겐 원자를 의미한다) 로 나타내는 기를 들 수 있다.

[0242] (iv) R³ 및 R⁴

[0243] R³ 및 R⁴ 는 각각 독립적으로 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₃₋₈ 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₇ 아실기 또는 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₇ 알콕시카르보닐기를 의미한다.

[0244] R³ 및 R⁴ 의 바람직한 예로는, 수소 원자를 들 수 있다.

[0245] (v) R⁵

[0246] R⁵ 는 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₃₋₈ 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₆₋₁₀ 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 5 ~ 10 원자 헤테로아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 의미한다.

[0247] R⁵ 의 바람직한 예로는, 수소 원자, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₁₋₆ 알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알케닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₂₋₆ 알키닐기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₃₋₈ 시클로알킬기, 치환기를 가지고 있어도 되는 C₆₋₁₀ 아릴기, 치환기를 가지고 있어도 되는 3 ~ 10 원자 비방향족 헤테로 고리형기를 들 수 있다.

[0248] R⁵ 의 보다 바람직한 예로는, 수소 원자, C₁₋₆ 알킬기, C₃₋₈ 시클로알킬기 또는 C₆₋₁₀ 아릴기 (단, R⁵ 는 할로겐 원자 및 메탄술폰닐기로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 치환기를 가지고 있어도 된다) 를 들 수 있다.

[0249] R⁵ 의 더욱 바람직한 예로는, 메틸기, 에틸기 또는 시클로프로필기를 들 수 있다.

[0250] 또, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물의 바람직한 예로는,

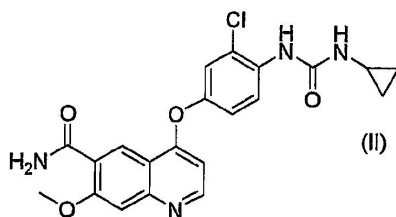
[0251] N-(4-(6-시아노-7-(2-메톡시에톡시)-4-퀴놀릴)옥시-2-플루오로페닐)-N'-(4-플루오로페닐)우레아,

[0252] N-(2-클로로-4-((6-시아노-7-((1-메틸-4-피페리딜)메톡시)-4-퀴놀릴)옥시)페닐)-N'-(4-플루오로페닐)우레아,

[0253] N-(4-((6-시아노-7-(((2R)-3-(디에틸아미노)-2-히드록시프로필)옥시)-4-퀴놀릴)옥시)페닐)-N'-(4-플루오로페닐)우레아,

- [0254] N-(4-((6-시아노-7-((2R)-2-히드록시-3-(1-피롤리디노)프로필)옥시)-4-퀴놀릴)옥시)페닐)-N'-(4-플루오로페닐)우레아,
- [0255] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0256] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-(2-메톡시에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0257] N6-시클로프로필-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0258] N6-(2-메톡시에틸)-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0259] N6-(2-플루오로에틸)-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0260] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0261] N6-메틸-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0262] N6-에틸-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0263] 4-(3-플루오로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-(2-메톡시에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0264] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-(2-히드록시에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0265] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-((2S)-2,3-디히드록시프로필)옥시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0266] 4-(3-클로로-4-(메틸아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0267] 4-(3-클로로-4-(에틸아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0268] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0269] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-(2-에톡시에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0270] 4-(4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노페녹시)-7-(2-메톡시에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0271] N-(2-플루오로-4-((6-카르바모일-7-메톡시-4-퀴놀릴)옥시)페닐)-N'-시클로프로필우레아,
- [0272] N6-(2-히드록시에틸)-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0273] 4-(3-클로로-4-(1-프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0274] 4-(3-클로로-4-(cis-2-플루오로-시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0275] N6-메틸-4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-(2-메톡시에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0276] N6-메틸-4-(3-클로로-4-((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0277] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-(2-(4-모르폴리노)에톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0278] 4-(3-클로로-4-(2-플루오로에틸아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0279] N6-((2R)테트라히드로-2-푸라닐메틸)-4-(3-클로로-4-((메틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0280] 4-(3-플루오로-4-(에틸아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0281] 4-(3-클로로-4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((2R)-2-히드록시-3-(1-피롤리디노)프로폭시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0282] N6-메틸-4-(3-클로로-4-((메틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((2R)-3-디에틸아미노-2-히드록시프로폭시)-6-퀴놀린카르복사미드,

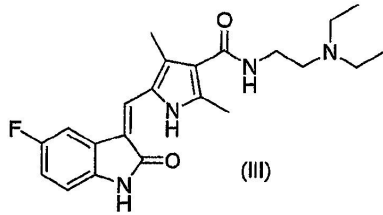
- [0283] N6-메틸-4-(3-클로로-4-(((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((2R)-3-디에틸아미노-2-히드록시프로폭시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0284] N6-메틸-4-(3-클로로-4-(((메틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((2R)-2-히드록시-3-(1-피롤리디노)프로폭시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0285] N6-메틸-4-(3-클로로-4-(((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((2R)-2-히드록시-3-(1-피롤리디노)프로폭시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0286] N6-메틸-4-(3-클로로-4-(((메틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((1-메틸-4-피페리딜)메톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0287] N6-메틸-4-(3-클로로-4-(((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-((1-메틸-4-피페리딜)메톡시)-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0288] N-(4-(6-시아노-7-(2-메톡시에톡시)-4-퀴놀릴)옥시-2-플루오로페닐)-N'-시클로프로필우레아,
- [0289] N-(4-(6-시아노-7-(3-(4-모르폴리노)프로폭시)-4-퀴놀릴)옥시페닐)-N'-(3-(메틸술포닐)페닐)우레아,
- [0290] 4-(4-((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0291] 4-(3-플루오로-4-((2-플루오로에틸아미노)카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0292] N6-(2-에톡시에틸)-4-(3-클로로-4-(((메틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0293] 4-(4-(3-에틸우레이도)-3-플루오로-페녹시)-7-메톡시퀴놀린-6-카르복실산 (2-시아노에틸)아미드
- [0294] 및
- [0295] N-(4-(6-(2-시아노에틸)카르바모일-7-메톡시-4-퀴놀릴)옥시-2-플루오로페닐)-N'-시클로프로필우레아를 들 수 있다.
- [0296] 또한, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물의 보다 바람직한 예로는,
- [0297] 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0298] 4-(3-클로로-4-(에틸아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0299] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-(((시클로프로필아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드,
- [0300] 4-(3-클로로-4-(메틸아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드
- [0301] 및
- [0302] N6-메톡시-4-(3-클로로-4-(((에틸아미노)카르보닐)아미노)페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드를 들 수 있다.
- [0303] 또, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물의 더욱 바람직한 예로는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드 (식 (II) 참조) 를 들 수 있다.
- [0304] FGFR2 저해 물질의 가장 바람직한 예로는, 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 메탄술포산염을 들 수 있다.



- [0305]
- [0306] 일반식 (I) 로 나타내는 화합물은, 공지된 방법으로 제조할 수 있고, 예를 들어, 국제 공개 제02/32872호 팜플렛 (W002/32872) 및 국제 공개 제2005/063713호 팜플렛 (W02005/063713) 의 어느 것에 기재된 방법에 의해 제조할 수 있다.

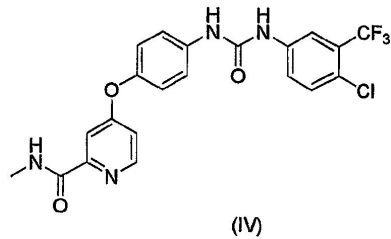
[0307] 또, 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 예를 들어,

[0308] 5-(5-플루오로-2-옥소-1,2-디히드로인돌-3-일리텐메틸)-2,4-디메틸-1H-피롤-3-카르복실산(2-디에틸아미노에틸)아미드 (이하, 「SU11248」 이라고도 한다. Journal of Medicinal Chemistry., 46 : 1116-9, 2003., W001/060814) (식 (III) 참조),



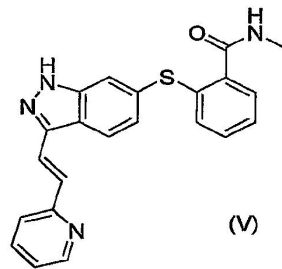
[0309]

[0310] N-(3-트리플루오로메틸-4-클로로페닐)-N'-(4-(2-메틸카르바모일피리딘-4-일)옥시페닐)우레아(이하, 「BAY 43-9006」 및 「sorafenib」 라고도 한다. W000/42012) (식 (IV) 참조),



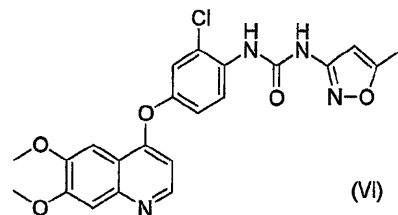
[0311]

[0312] 6-[2-(메틸카르바모일)페닐술폰닐]-3-E-[2-(피리딘-2-일)에테닐]인다졸(이하, 「AG013736」 이라고도 한다. W001/002369) (식 (V) 참조),



[0313]

[0314] N-{2-클로로-4-[(6,7-디메톡시-4-퀴놀릴)옥시]페닐}-N'-(5-메틸-3-이소옥사졸릴)우레아 (이하, 「KRN951」 이라고도 한다. W002/088110) (식 (VI) 참조),



[0315]

[0316] 등을 들 수 있다.

[0317] SU11248, BAY 43-9006, AG013736 및 KRN951 은, 공지된 방법으로 제조할 수 있고, 예를 들어, 각각의 문헌에 기재된 방법으로 제조할 수 있다.

[0318] 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 산 또는 염기와 약리학적으로 허용되는 염을 형성하는 경우도 있다. 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 이들의 약리학적으로 허용되는 염도 포함한다. 산과의 염으로는, 예를 들어, 염산염, 브롬화수소산염, 황산염, 인산염 등의 무기산염 및 포름산, 아세트산, 락트산, 숙신산, 푸마르산, 말레산, 시트르산, 타르타르산, 스테아르산, 벤조산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산, 트리플루오로아세트산 등의 유기산염 등을 들 수 있다. 또, 염기와의 염으로는, 나트륨염, 칼륨염 등의 알칼리 금속염, 칼슘염, 마그네슘염 등의 알칼리 토금속염, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 피리딘, 피콜린, 디시클로헥실

아민, N,N'-디벤질에틸렌디아민, 아르기닌, 리신 등의 유기 염기염, 암모늄염 등을 들 수 있다.

- [0319] 또, 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 이들의 용매화물로서 존재하는 경우 및 광학 이성체가 존재하는 경우도 있다. 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질에는, 그것들의 용매화물 및 광학 이성체가 포함된다. 용매화물은, 예를 들어, 수화물, 비수화물 등을 들 수 있고, 바람직하게는 수화물을 들 수 있다. 용매는, 예를 들어, 물, 알코올 (예를 들어, 메탄올, 에탄올, n-프로판올), 디메틸포름아미드 등을 들 수 있다.
- [0320] 또한, 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 결정이어도 되고 무결정이어도 되고, 또, 결정 다형이 존재하는 경우에는, 그들의 어느 것의 결정형의 단일물이어도 되고 혼합물이어도 된다.
- [0321] 또, 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, FGFR2 저해 물질이 생체 내에서 산화, 환원, 가수분해, 포합 등의 대사를 받은 대사물도 포함한다. 또, 본 발명에 있어서, FGFR2 저해 물질은, 생체 내에서 산화, 환원, 가수분해 등의 대사를 받아 FGFR2 저해 물질을 생성하는 화합물도 포함한다.
- [0322] 또한, 본 발명의 FGFR2 저해 물질은, 바람직하게는 FGFR2 의 키나아제 활성을 저해하는 활성 (이하, 「FGFR2 저해 활성」이라고도 칭하는 경우가 있다) 을 갖는 물질이다. 본 명세서에서, 「FGFR2 의 키나아제 활성」은 FGFR2 가 자기 또는 다른 단백질의 티로신 잔기를 인산화하는 활성을 의미한다.
- [0323] FGFR2 저해 물질이 갖는 FGFR2 저해 활성의 측정 방법은, 예를 들어, Cell free 키나아제 어세이, 웨스턴 블롯, 세포 증식 어세이, 생존 어세이 등을 들 수 있다. 세포 증식 어세이는, 예를 들어, 트리튬티미딘 취입법, MTT 법, XTT 법 (cell counting kit-8 (도진 화학 주식회사)), 알라마 블루법, 뉴트럴 레드법, BrdU 법, Ki67 염색법, PCNA 염색법 등을 들 수 있다. 생존 어세이는, 예를 들어, TUNNEL 염색법, Caspase-3 절단 검출법, PARP 절단 검출법 등을 들 수 있다. 이들 방법은, 통상적인 방법에 따라 실시할 수 있다 (Blood. 2005, 105, 2941-2948., Molecular Cancer Therapeutics. 2005, 4, 787-798).
- [0324] 이하, FGFR2 저해 활성의 측정 방법의 일례에 대해 기재한다.
- [0325] FGFR2 저해 활성은, Cell free 키나아제 어세이에 의해 측정할 수 있다.
- [0326] FGFR2 는, 통상적인 방법에 따라 유전자 공학적 수법에 의해 제작할 수 있다. 예를 들어, Baculovirus Expression System 의 방법에 의해, 곤충 세포 (Spondoptea frugiperda 9 (Sf9)) 에 인간 리컴비넨트 GST 융합 단백질, 인간 리컴비넨트 히스티딘 태그 융합 단백질 등으로서 발현시킬 수 있다. 또, 발현시킨 리컴비넨트 단백질은, 어피니티 크로마토그래피 (예를 들어, GSH-agarose (시그마사 제조) 또는 Ni-NTH-agarose (키아겐사 제조) 등) 에 의해 정제할 수 있다. 단백질의 순도 및 동정은, SDS-PAGE, 은염색 및 FGFR2 에 대한 특이적 항체를 사용한 웨스턴 블롯에 의해 확인할 수 있다.
- [0327] Cell free 키나아제 어세이는, 이하와 같이 실시할 수 있다.
- [0328] 먼저, 플레이트 (예를 들어, 96 웰, 384 웰 등) 의 각 웰에, ATP 용액, 피검 물질, FGFR2 리컴비넨트 단백질 5-10mU 및 0.1mg/ml Poly (Glu, Tyr) 4 : 1 을 함유하는 용액 25 μ l 를 첨가할 수 있다. 혼합 용액에 MgATP 를 첨가하여 반응을 개시할 수 있다.
- [0329] 이 혼합 용액 25 μ l 에는, 8mM MOPS (pH 7.0), 0.2mM EDTA, 2.5mM MnCl₂, 10mM MgAcetate 등을 함유시킬 수 있다. 이 때, ATP 는, [γ -³²P]-ATP, [γ -³³P]-ATP 등의 방사성 동위체로 표식한 ATP 를 사용할 수 있다.
- [0330] 반응액을, 일정 시간 인큐베이션한 후, 3% phosphoric acid 5 μ l 를 첨가함으로써 반응을 정지시킬 수 있다.
- [0331] 각 웰은, 적절히 세정 조작을 실시할 수 있다.
- [0332] ATP 의 취입량을 측정함으로써 FGFR2 저해 활성을 평가할 수 있다. 상기의 방사성 동위체 표식 ATP 를 사용한 경우에는, ATP 의 취입량은, 플레이트 상에 포착된 방사 활성을 신틸레이션 카운터로 측정함으로써 평가할 수 있다. 또, 반응액 중 일정량을 필터에 스포트하여, 스포트 부분의 방사 활성을 신틸레이션 카운터로 측정하는 것으로 평가할 수도 있다. 필터는 적절히 세정 조작을 실시할 수 있다.
- [0333] 상기의 방법에 의해, 화합물의 FGFR2 저해 활성을 평가할 수 있다.
- [0334] (5) 의약 조성물, 치료제, 치료 방법
- [0335] 본 발명의 치료제는, FGFR2 저해 물질을 함유하는 것으로, 미분화형 위암에 대한 치료제이다. 본 발명의 치료제는, 바람직하게는 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는

군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 사용된다.

- [0336] 여기서, 미분화형 위암에는, 저분화선암, 인환세포암, 점액암이 포함된다 (위암 취급 규약 (제 13 판)). 또, 미분화형 위암에서는 암 세포가 확산하기 쉽고, 섬유화되어 스킨스 위암 (scirrhous gastric cancer) 으로 되기 쉽다. 그 때문에, 본 발명의 치료제는, 저분화선암, 인환세포암, 점액암 및 스킨스 위암으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 위암에 대해 유효하다.
- [0337] 본 발명의 치료제는, 포유 동물 (예, 인간, 래트, 토끼, 양, 돼지, 소, 고양이, 개, 원숭이 등) 에 대해 투여할 수 있다.
- [0338] 또, 본 발명의 의약 조성물은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 FGFR2 저해 물질을 함유하는 의약 조성물이다.
- [0339] 본 발명의 의약 조성물은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 것을 포함하는 질환을 치료하기 위한 치료제로서 사용할 수 있다. 상기 질환으로서는, 예를 들어, 미분화형 위암 등을 들 수 있다.
- [0340] 본 발명의 의약 조성물은, 생체, 즉, 포유 동물 (예, 인간, 래트, 토끼, 양, 돼지, 소, 고양이, 개, 원숭이 등) 에 대해 투여할 수 있다. 본 발명에 있어서, 당해 생체는, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포의 어느 것을 가지고 있어도 되고, 이들의 모두를 가지고 있어도 된다.
- [0341] 본 발명에 있어서, 치료제에는, 예후 개선제 및 재발 예방제 등도 포함된다. 암에 대한 치료제의 경우에는, 치료제에는, 항종양제 및 암전이 억제제 등도 포함된다.
- [0342] 치료의 효과는, X 레이 사진, CT 등의 소견이나 생검의 병리 조직 진단에 의해, 또는 질환 마커의 값에 의해 확인할 수 있다.
- [0343] 본 발명의 치료제 또는 의약 조성물을 사용하는 경우, FGFR2 저해 물질의 투여량은, 증상의 정도, 환자의 연령, 성별, 체중, 감수성차, 투여 방법, 투여 시기, 투여 간격, 의약 제제의 성질, 조제, 종류, 유효 성분의 종류 등에 따라 상이하고, 특별히 한정되지 않지만, 통상적으로 성인 (체중 60Kg) 1 일당 0.1 ~ 1000mg, 바람직하게는 0.5 ~ 100mg, 더욱 바람직하게는 1 ~ 30mg 이고, 이것을 통상적으로 1 일 1 ~ 3 회로 나누어 투여할 수 있다.
- [0344] 본 발명의 FGFR2 저해 물질을 유효 성분으로서 함유하는 의약 조성물 또는 치료제는, 그대로 사용할 수도 있지만, 통상적으로, 적당한 첨가제를 혼화하여 제제화한 것을 사용할 수도 있다.
- [0345] 상기 첨가제로서는, 일반적으로 의약에 사용되는, 부형제, 결합제, 활택제, 붕괴제, 착색제, 교미 교취제, 유화제, 계면활성제, 용해 보조제, 현탁화제, 등장화제, 완충제, 방부제, 향산화제, 안정화제, 흡수 촉진제 등을 들 수 있고, 원하는 바에 따라, 이들을 적절히 조합하여 사용할 수도 있다. 이하에 상기 첨가제의 예를 든다.
- [0346] 부형제 : 젓당, 자당, 포도당, 옥수수 전분, 만니톨, 소르비톨, 전분, α 화 전분, 텍스트린, 결정 셀룰로오스, 경질 무수 규산, 규산 알루미늄, 규산 칼슘, 메트규산 알루미늄산 마그네슘, 인산 수소 칼슘
- [0347] 결합제 : 예를 들어, 폴리비닐알코올, 메틸셀룰로오스, 에틸셀룰로오스, 아라비아고무, 트라간트, 젤라틴, 셀락, 히드록시프로필메틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 마크로골
- [0348] 활택제 : 스테아르산 마그네슘, 스테아르산 칼슘, 푸마르산 스테아릴나트륨, 텔크, 폴리에틸렌글리콜, 콜로이드 실리카
- [0349] 붕괴제 : 결정 셀룰로오스, 한천, 젤라틴, 탄산 칼슘, 탄산수소나트륨, 시트르산 칼슘, 텍스트린, 펙틴, 저치환도 히드록시프로필셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스, 카르복시메틸셀룰로오스칼슘, 크로스카르멜로스나트륨, 카르복시메틸스타치, 카르복시메틸스타치나트륨
- [0350] 착색제 : 3 이산화철, 황색 3 이산화철, 카르민, 카라멜, β -카로틴, 산화 티탄, 텔크, 인산 리보플라빈나트륨, 황색 알루미늄레이크 등, 의약품에 첨가하는 것이 허가되어 있는 것
- [0351] 교미 교취제 : 코코아 분말, 박하뇌, 방향산, 박하유, 용뇌, 계피 분말
- [0352] 유화제 또는 계면활성제 : 스테아릴트리에탄올아민, 라우릴 황산 나트륨, 라우릴아미노프로피온산, 레시틴, 모

노스테아르산글리세린, 자당 지방산 에스테르, 글리세린 지방산 에스테르

- [0353] 용해 보조제 : 폴리에틸렌글리콜, 프로필렌글리콜, 벤조산 벤질, 에탄올, 콜레스테롤, 트리에탄올아민, 탄산 나트륨, 시트르산 나트륨, 폴리소르베이트 80, 니코틴산 아미드
- [0354] 현탁화제 : 상기 계면활성제 외에, 예를 들어 폴리비닐알코올, 폴리비닐피롤리돈, 메틸셀룰로오스, 히드록시메틸셀룰로오스, 히드록시에틸셀룰로오스, 히드록시프로필셀룰로오스 등의 친수성 고분자
- [0355] 등장화제 : 포도당, 염화 나트륨, 만니톨, 소르비톨
- [0356] 완충제 : 인산염, 아세트산염, 탄산염, 시트르산염 등의 완충액
- [0357] 방부제 : 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로로부탄올, 벤질알코올, 페네틸알코올, 디히드로아세트산, 소르브산
- [0358] 항산화제 : 황산염, 아스코르브산, α-토코페롤
- [0359] 안정화제 : 일반적으로 의약에 사용되는 것
- [0360] 흡수 촉진제 : 일반적으로 의약에 사용되는 것
- [0361] 또한, 필요에 따라, 비타민류, 아미노산 등의 성분을 배합해도 된다.
- [0362] 또, 상기 제제로서는, 정제, 산제, 과립제, 세립제, 캡슐제, 시럽제, 트로키제, 흡입제 등의 경구제 ; 좌제, 연고제, 안연고제, 테이프제, 점안제, 점비제, 점이제, PAP 제, 로션제 등의 외용제 또는 주사제를 들 수 있다.
- [0363] 상기 경구제는, 상기 첨가제를 적절히 조합하여 제제화할 수 있다. 또한, 필요에 따라 이들의 표면을 코팅해도 된다.
- [0364] 상기 외용제는, 상기 첨가제 중, 특히 부형제, 결합제, 교미 교취제, 유화제, 계면활성제, 용해 보조제, 현탁화제, 등장화제, 방부제, 항산화제, 안정화제 또는 흡수 촉진제를 적절히 조합하여 제제화할 수 있다.
- [0365] 상기 주사제는, 상기 첨가제 중, 특히 유화제, 계면활성제, 용해 보조제, 현탁화제, 등장화제, 완충제, 방부제, 항산화제, 안정화제 또는 흡수 촉진제를 적절히 조합하여 제제화할 수 있다. 주사제는, 링겔, 근육 주사, 피하 주사, 피내 주사, 정맥 주사 등의 방법으로 사용할 수 있다.
- [0366] 본 발명은, FGFR2 저해 물질을 환자에게 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는, 미분화형 위암에 대한 치료 방법을 포함하는 것이다.
- [0367] 또, 본 발명은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 FGFR2 저해 물질을 유효량 투여하는 것을 특징으로 하는 질환의 치료 방법도 포함하는 것이다. 본 발명에 있어서, 상기 질환은, 미분화형 위암인 것이 바람직하다.
- [0368] 본 발명의 치료 방법에 있어서, FGFR2 저해 물질의 투여 경로 및 투여 방법은 특별히 한정되지 않지만, 상기 본 발명의 의약 조성물 또는 치료제의 기재를 참조할 수 있다.
- [0369] 본 발명은, 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용을 포함하는 것이다.
- [0370] 또, 본 발명은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물의 제조를 위한 FGFR2 저해 물질의 사용도 포함하는 것이다. 본 발명의 사용에 있어서, 상기 의약 조성물은, 미분화형 위암에 대한 치료제로서 유용하다.
- [0371] 본 발명은, 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제를 위한 FGFR2 저해 물질을 포함하는 것이다.
- [0372] 또, 본 발명은, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 포함하는 생체에 대해 투여하기 위한 의약 조성물을 위한 FGFR2 저해 물질도 포함하는 것이다. 본 발명에 있어서, 상기 의약 조성물은, 미분화형 위암을 치료하기 위한 치료제로서 유용하다.
- [0373] 나아가, 본 발명에 의해, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 FGFR2 저해제가 제공된다. FGFR2 저해제는, FGFR2 의 키나아제 활성을 저해하는 작용을 갖는 것이다.
- [0374] 일반식 (I) 로 나타내는 화합물은, 상기와 같지만, 바람직하게는 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드이다. 보다 바람직하게는, 본 발명에 의해, 4-(3-클로로-4-

(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드의 메탄술폰산염을 함유하는 FGFR2 저해제가 제공된다.

- [0375] 나아가, 본 발명에 의해,
- [0376] N-(3-트리플루오로메틸-4-클로로페닐)-N'-(4-(2-메틸카르바모일피리딘-4-일)옥시페닐)우레아 (BAY 43-9006),
- [0377] 6-[2-(메틸카르바모일)페닐술폰과닐]-3-E-[2-(피리딘-2-일)에테닐]인다졸 (AG013736),
- [0378] 5-(5-플루오로-2-옥소-1,2-디히드로인돌-3-일리텐메틸)-2,4-디메틸-1H-피롤-3-카르복실산(2-디에틸아미노에틸)아미드 (SU11248)
- [0379] 및
- [0380] N-{2-클로로-4-[(6,7-디메톡시-4-퀴놀릴)옥시]페닐}-N'-(5-메틸-3-이소옥사졸릴)우레아 (KRN951) 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물을 함유하는 FGFR2 저해제가 제공된다.
- [0381] 본 발명의 FGFR2 저해제가 갖는 FGFR2 저해 활성은, 전술한 바와 같이 측정할 수 있다.
- [0382] 본 발명의 FGFR2 저해제는, 화합물을 그대로 사용할 수도 있고, 상기의 적당한 첨가제를 혼화하여, 제제화한 것을 사용할 수도 있다.
- [0383] FGFR2 저해제의 용법, 용량은, 상기의 의약 조성물 또는 치료제의 기재를 참조할 수 있다.
- [0384] 또, 본 발명에는, FGFR2 저해제의 제조를 위한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, SU11248, BAY 43-9006, AG013736 및 KRN951 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물의 사용도 포함된다.
- [0385] 나아가 본 발명에는, FGFR2 저해제를 위한 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, SU11248, BAY 43-9006, AG013736 및 KRN951 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물도 포함된다.
- [0386] 또, 본 발명은, 일반식 (I) 로 나타내는 화합물, SU11248, BAY 43-9006, AG013736 및 KRN951 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 화합물, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매화물에 의한, FGFR2 의 저해 방법, 바람직하게는 FGFR2 의 키나아제 활성의 저해 방법도 포함된다. 본 발명 방법에 있어서, 당해 화합물 등의 용법, 용량은 특별히 한정되지 않지만, 상기의 의약 조성물 또는 치료제의 기재를 참조할 수 있다.
- [0387] 2. 감수성을 예측하는 방법
- [0388] 본 발명은, 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 하여, 환자가 본 발명의 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성인지의 여부를 예측하는 방법을 제공한다. FGFR2 저해 물질에 대해 감수성이 높은 환자는, 당해 물질에 의한 치료 효과를 보다 기대할 수 있는 환자이다.
- [0389] 본 발명 방법에 있어서, 환자는, 바람직하게는 미분화형 위암의 환자이며, 보다 바람직하게는 저분화선암, 인환 세포암, 점액암 및 스킨스 위암으로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나의 환자이다.
- [0390] (1) 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 공정
- [0391] 본 공정에 있어서, 세포는, 환자로부터 취출된 세포가 바람직하다. 그리고, 세포는, 예를 들어, 환자로부터 외과적 처치 (예를 들어, 생검법, 골수 천자 등) 로 적출함으로써 얻을 수 있다.
- [0392] 세포는, 종양 세포인 것이 바람직하다. 또, 유전적인 변이에서 기인되는, 미분화형 위암에서는, 세포는 혈액 세포를 사용하는 것이 바람직하다.
- [0393] 여기서, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 또는 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포의 의미는, 「1. 본 발명의 의약 조성물, 치료제 및 치료 방법」에서 서술한 바와 같다. FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무는, 「1. 본 발명의 의약 조성물, 치료제 및 치료 방법」에서 기재한 방법에 의해 측정할 수 있다.
- [0394] 본 공정에서는, FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무 중, 어느 것을 측정해도 되고, 혹은, 이들 모두를 측

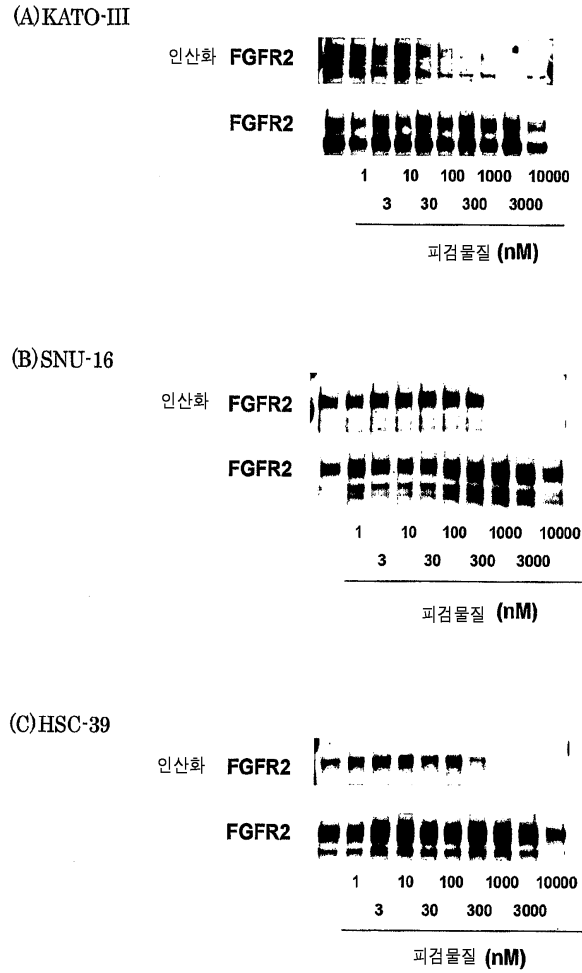
정해도 된다.

- [0395] (2) 환자가 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성인지의 여부를 예측하는 공정
- [0396] 본 공정에서는, 바람직하게는 (1) 에서 측정된 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 지표로 하여, 환자가 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성인지의 여부를 예측할 수 있다. 즉, 측정된 세포에 있어서, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 경우 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 경우의 적어도 하나에 해당할 때에는, 환자가 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성이라고 판단할 수 있다.
- [0397] 본 발명의 다른 양태로서, (1) 의 측정 결과를 지표로 이용하여, FGFR2 저해 물질에 대한 세포의 감수성을 분석하는 방법을 들 수 있다. (1) 의 측정 결과로부터, 세포가 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포의 적어도 하나에 해당할 때에는, 당해 세포는, 이들의 어느 것에도 해당하지 않는 세포에 비해 FGFR2 저해 물질에 대한 높은 감수성을 나타낸다고 판단할 수 있다.
- [0398] 또, 본 발명의 다른 양태로서, (1) 의 측정 결과를 지표로 이용하여, FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성을 나타내는 세포 또는 환자를 선택하는 방법을 들 수 있다. (1) 의 측정 결과로부터, 세포가 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포의 적어도 하나에 해당할 때에는, 상기와 같이, 당해 세포 또는 당해 세포를 갖는 환자는 FGFR2 저해 물질에 대한 고감수성을 나타낸다고 판단할 수 있다. 따라서, 이와 같은 세포 또는 환자를 FGFR2 저해 물질에 대한 고감수성을 나타내는 세포 또는 환자로서 선택할 수 있다.
- [0399] 또, 본 발명의 다른 양태로서, (1) 의 측정 결과를 지표로 이용하여, FGFR2 저해 물질에 대한 감수성을 분석하고, 분석 결과에 따라 환자를 분류하는 방법을 들 수 있다. 즉, 본 발명 방법에 있어서, (1) 의 측정 결과로부터, 상기와 같이 FGFR2 저해 물질에 대한 감수성을 분석하고, 이 분석 결과에 기초하여, 환자를 분류할 수 있다. 예를 들어, 환자를 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포의 적어도 하나를 포함하는 그룹과, 상기 모두 포함하지 않는 그룹으로 분류할 수 있다. 혹은, 환자를 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성을 나타내는 그룹과, 그 이외의 그룹으로 분류할 수 있다.
- [0400] 또, 본 발명의 다른 양태로서, (1) 의 측정 결과로부터, FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포에서 선택되는 적어도 하나를 갖는 환자를 선택하는 것을 포함하는, FGFR2 저해 물질의 투여 대상으로 되는 환자를 선택하는 방법을 들 수 있다. FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포에서 선택되는 적어도 하나를 갖는 환자는, FGFR2 저해 물질의 투여 대상이 된다.
- [0401] 또, 본 발명의 다른 양태로서, (1) 의 측정 결과로부터, 환자에 대한 FGFR2 저해 물질의 치료 효과를 예측하는 방법을 들 수 있다. 본 발명 방법에 있어서, (1) 의 측정의 결과, 세포가 FGFR2 를 과잉 발현하고 있는 세포 및 변이형 FGFR2 를 발현하고 있는 세포의 적어도 하나에 해당할 때에는, FGFR2 저해 물질에 대해 높은 감수성을 나타낸다고 판단할 수 있기 때문에, 당해 세포 또는 당해 세포를 갖는 환자에게의 당해 물질의 치료 효과는 높다고 예측할 수 있다.
- [0402] 또, 본 발명에는, 환자의 FGFR2 저해 물질에 대한 감수성의 정도를 예측하기 위해서, 당해 환자 유래의 세포 중의 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하는 방법이 포함된다. 당해 측정 방법은, 상기 (1) 에 나타내는 바와 같다.
- [0403] FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무 중, 어느 하나를 또는 양방을 측정함으로써, 환자의 FGFR2 저해 물질에 대한 감수성의 정도를 예측하는 것이 가능해진다.
- [0404] 본 공정에 있어서, FGFR2 저해 물질은 전술한 바와 같지만, 바람직하게는 4-(3-클로로-4-(시클로프로필아미노카르보닐)아미노페녹시)-7-메톡시-6-퀴놀린카르복사미드, 혹은 그 약리학적으로 허용되는 염, 또는 그것들의 용매 화물이다.
- [0405] 본 발명에 관련된 방법은, FGFR2 저해 물질을 환자에게 투여하기 전에, 당해 환자에게의 FGFR2 저해 물질의 유효성의 정도를 예측하는 데에 사용할 수 있다. 그리고, FGFR2 저해 물질의 갖는 효과를 보다 기대할 수 있는 환자를 선택하여, 질환의 치료를 실시할 수 있다. 따라서, 본 발명은, 임상상 매우 유용하다.
- [0406] 본 발명은, 본 발명 방법에서 사용하기 위한 FGFR2 의 발현량 및 FGFR2 의 변이의 유무로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 하나를 측정하기 위한 검사용 키트를 제공한다. 본 발명의 검사용 키트는, 측정에 있어서 사용되는 상기 시약을 포함하는 것이다. 본 발명의 검사용 키트에 의해, 환자가 FGFR2 저해 물질에 대해 고감수성인지의 여부를 예측할 수 있다.

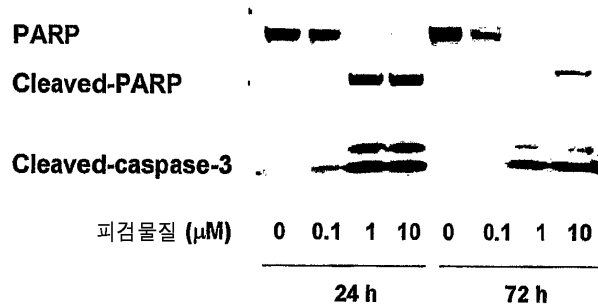
[0407] 또, 본 발명은, 상기 예측을 위한 당해 검사용 키트의 사용도 포함한다.

도면

도면1

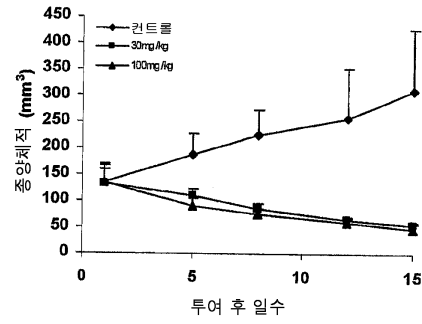


도면2

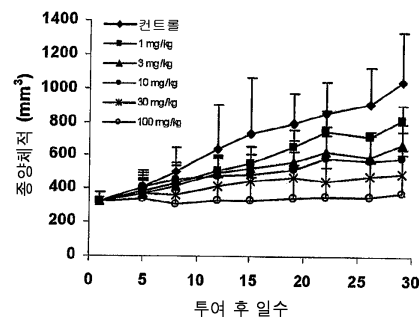


도면3

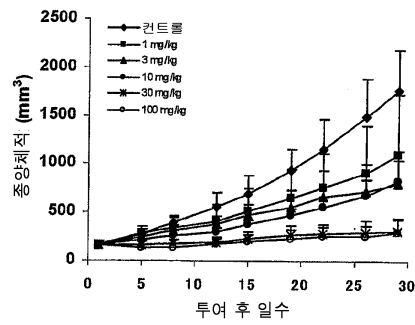
(A)KATO-III



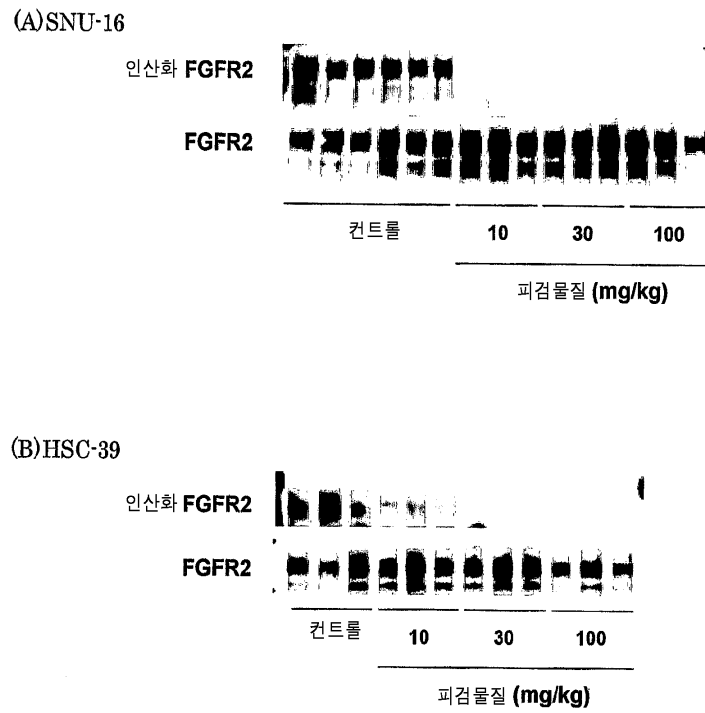
(B)SNU-16



(C)HSC-39



도면4



서열 목록

<110> Eisai R&D Management Co., Ltd.

<120> Anti-tumor agents for undifferentiated gastric cancer

<130> PCT07-0051

<150> JP2006-230816

<151> 2006-08-28

<160> 4

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 2469

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2466)

<400> 1

atg gtc agc tgg ggt cgt ttc atc tgc ctg gtc gtg gtc acc atg gca 48
 Met Val Ser Trp Gly Arg Phe Ile Cys Leu Val Val Val Thr Met Ala
 1 5 10 15

acc ttg tcc ctg gcc cgg ccc tcc ttc agt tta gtt gag gat acc aca 96
 Thr Leu Ser Leu Ala Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr
 20 25 30

tta gag cca gaa gag cca cca acc aaa tac caa atc tct caa cca gaa 144
 Leu Glu Pro Glu Glu Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu
 35 40 45

gtg tac gtg gct gcg cca ggg gag tgc cta gag gtg cgc tgc ctg ttg 192
 Val Tyr Val Ala Ala Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu
 50 55 60

aaa gat gcc gcc gtg atc agt tgg act aag gat ggg gtg cac ttg ggg 240
 Lys Asp Ala Ala Val Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly
 65 70 75 80

ccc aac aat agg aca gtg ctt att ggg gag tac ttg cag ata aag ggc 288
 Pro Asn Asn Arg Thr Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly
 85 90 95

gcc acg cct aga gac tcc ggc ctc tat gct tgt act gcc agt agg act 336
 Ala Thr Pro Arg Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr
 100 105 110

gta gac agt gaa act tgg tac ttc atg gtg aat gtc aca gat gcc atc 384
 Val Asp Ser Glu Thr Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile
 115 120 125

tca tcc gga gat gat gag gat gac acc gat ggt gcg gaa gat ttt gtc 432
 Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val
 130 135 140

agt gag aac agt aac aac aag aga gca cca tac tgg acc aac aca gaa 480
 Ser Glu Asn Ser Asn Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu
 145 150 155 160

aag atg gaa aag cgg ctc cat gct gtg cct gcg gcc aac act gtc aag 528
 Lys Met Glu Lys Arg Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys

165	170	175	
ttt cgc tgc cca gcc ggg ggg aac cca atg cca acc atg cgg tgg ctg			576
Phe Arg Cys Pro Ala Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu			
180	185	190	
aaa aac ggg aag gag ttt aag cag gag cat cgc att gga ggc tac aag			624
Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys			
195	200	205	
gta cga aac cag cac tgg agc ctc att atg gaa agt gtg gtc cca tct			672
Val Arg Asn Gln His Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser			
210	215	220	
gac aag gga aat tat acc tgt gta gtg gag aat gaa tac ggg tcc atc			720
Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile			
225	230	235	240
aat cac acg tac cac ctg gat gtt gtg gag cga tcg cct cac cgg ccc			768
Asn His Thr Tyr His Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro			
245	250	255	
atc ctc caa gcc gga ctg ccg gca aat gcc tcc aca gtg gtc gga gga			816
Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly			
260	265	270	
gac gta gag ttt gtc tgc aag gtt tac agt gat gcc cag ccc cac atc			864
Asp Val Glu Phe Val Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile			
275	280	285	
cag tgg atc aag cac gtg gaa aag aac ggc agt aaa tac ggg ccc gac			912
Gln Trp Ile Lys His Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp			
290	295	300	
ggg ctg ccc tac ctc aag gtt ctc aag cac tcg ggg ata aat agt tcc			960
Gly Leu Pro Tyr Leu Lys Val Leu Lys His Ser Gly Ile Asn Ser Ser			
305	310	315	320
aat gca gaa gtg ctg gct ctg ttc aat gtg acc gag gcg gat gct ggg			1008
Asn Ala Glu Val Leu Ala Leu Phe Asn Val Thr Glu Ala Asp Ala Gly			
325	330	335	
gaa tat ata tgt aag gtc tcc aat tat ata ggg cag gcc aac cag tct			1056
Glu Tyr Ile Cys Lys Val Ser Asn Tyr Ile Gly Gln Ala Asn Gln Ser			

340	345	350	
gcc tgg ctc act gtc ctg cca aaa cag caa gcg cct gga aga gaa aag			1104
Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Lys Gln Gln Ala Pro Gly Arg Glu Lys			
355	360	365	
gag att aca gct tcc cca gac tac ctg gag ata gcc att tac tgc ata			1152
Glu Ile Thr Ala Ser Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile			
370	375	380	
ggg gtc ttc tta atc gcc tgt atg gtg gta aca gtc atc ctg tgc cga			1200
Gly Val Phe Leu Ile Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg			
385	390	395	400
atg aag aac acg acc aag aag cca gac ttc agc agc cag ccg gct gtg			1248
Met Lys Asn Thr Thr Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val			
405	410	415	
cac aag ctg acc aaa cgt atc ccc ctg cgg aga cag gta aca gtt tcg			1296
His Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser			
420	425	430	
gct gag tcc agc tcc tcc atg aac tcc aac acc ccg ctg gtg agg ata			1344
Ala Glu Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile			
435	440	445	
aca aca cgc ctc tct tca acg gca gac acc ccc atg ctg gca ggg gtc			1392
Thr Thr Arg Leu Ser Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val			
450	455	460	
tcc gag tat gaa ctt cca gag gac cca aaa tgg gag ttt cca aga gat			1440
Ser Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp			
465	470	475	480
aag ctg aca ctg ggc aag ccc ctg gga gaa ggt tgc ttt ggg caa gtg			1488
Lys Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val			
485	490	495	
gtc atg gcg gaa gca gtg gga att gac aaa gac aag ccc aag gag gcg			1536
Val Met Ala Glu Ala Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala			
500	505	510	
gtc acc gtg gcc gtg aag atg ttg aaa gat gat gcc aca gag aaa gac			1584
Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp			

515	520	525	
ctt tct gat ctg gtg tca gag atg gag atg atg aag atg att ggg aaa			1632
Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys			
530	535	540	
cac aag aat atc ata aat ctt ctt gga gcc tgc aca cag gat ggg cct			1680
His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro			
545	550	555	560
ctc tat gtc ata gtt gag tat gcc tct aaa ggc aac ctc cga gaa tac			1728
Leu Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr			
565	570	575	
ctc cga gcc cgg agg cca ccc ggg atg gag tac tcc tat gac att aac			1776
Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn			
580	585	590	
cgt gtt cct gag gag cag atg acc ttc aag gac ttg gtg tca tgc acc			1824
Arg Val Pro Glu Glu Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr			
595	600	605	
tac cag ctg gcc aga ggc atg gag tac ttg gct tcc caa aaa tgt att			1872
Tyr Gln Leu Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile			
610	615	620	
cat cga gat tta gca gcc aga aat gtt ttg gta aca gaa aac aat gtg			1920
His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val			
625	630	635	640
atg aaa ata gca gac ttt gga ctc gcc aga gat atc aac aat ata gac			1968
Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp			
645	650	655	
tat tac aaa aag acc acc aat ggg cgg ctt cca gtc aag tgg atg gct			2016
Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala			
660	665	670	
cca gaa gcc ctg ttt gat aga gta tac act cat cag agt gat gtc tgg			2064
Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp			
675	680	685	
tcc ttc ggg gig tta atg tgg gag atc ttc act tta ggg ggc tcg ccc			2112
Ser Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro			

690	695	700	
tac cca ggg att ccc gtg gag gaa ctt ttt aag ctg ctg aag gaa gga			2160
Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly			
705	710	715	720
cac aga atg gat aag cca gcc aac tgc acc aac gaa ctg tac atg atg			2208
His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met			
	725	730	735
atg agg gac tgt tgg cat gca gtg ccc tcc cag aga cca acg ttc aag			2256
Met Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys			
	740	745	750
cag ttg gta gaa gac ttg gat cga att ctc act ctc aca acc aat gag			2304
Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu			
	755	760	765
gaa tac ttg gac ctc agc caa cct ctc gaa cag tat tca cct agt tac			2352
Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr			
	770	775	780
cct gac aca aga agt tct tgt tct tca gga gat gat tct gtt ttt tct			2400
Pro Asp Thr Arg Ser Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser			
785	790	795	800
cca gac ccc atg cct tac gaa cca tgc ctt cct cag tat cca cac ata			2448
Pro Asp Pro Met Pro Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile			
	805	810	815
aac ggc agt gtt aaa aca tga			2469
Asn Gly Ser Val Lys Thr			
	820		
<210> 2			
<211> 822			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 2			
Met Val Ser Trp Gly Arg Phe Ile Cys Leu Val Val Val Thr Met Ala			
1	5	10	15
Thr Leu Ser Leu Ala Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr			

Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly
 260 265 270

Asp Val Glu Phe Val Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile
 275 280 285

Gln Trp Ile Lys His Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp
 290 295 300

Gly Leu Pro Tyr Leu Lys Val Leu Lys His Ser Gly Ile Asn Ser Ser
 305 310 315 320

Asn Ala Glu Val Leu Ala Leu Phe Asn Val Thr Glu Ala Asp Ala Gly
 325 330 335

Glu Tyr Ile Cys Lys Val Ser Asn Tyr Ile Gly Gln Ala Asn Gln Ser
 340 345 350

Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Lys Gln Gln Ala Pro Gly Arg Glu Lys
 355 360 365

Glu Ile Thr Ala Ser Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile
 370 375 380

Gly Val Phe Leu Ile Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg
 385 390 395 400

Met Lys Asn Thr Thr Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val
 405 410 415

His Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser
 420 425 430

Ala Glu Ser Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile
 435 440 445

Thr Thr Arg Leu Ser Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val
 450 455 460

Ser Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp
 465 470 475 480

Lys Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val
 485 490 495

Val Met Ala Glu Ala Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala
 500 505 510

Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp
 515 520 525

Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys
 530 535 540

His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro
 545 550 555 560

Leu Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr
 565 570 575

Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn
 580 585 590

Arg Val Pro Glu Glu Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr
 595 600 605

Tyr Gln Leu Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile
 610 615 620

His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val
 625 630 635 640

Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp
 645 650 655

Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala
 660 665 670

Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp
 675 680 685

Ser Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro
 690 695 700

Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly
 705 710 715 720

His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met

50	55	60	
aaa gat gcc gcc gtg atc agt tgg act aag gat ggg gtg cac ttg ggg			240
Lys Asp Ala Ala Val Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly			
65	70	75	80
ccc aac aat agg aca gtg ctt att ggg gag tac ttg cag ata aag ggc			288
Pro Asn Asn Arg Thr Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly			
85	90	95	
gcc acg cct aga gac tcc ggc ctc tat gct tgt act gcc agt agg act			336
Ala Thr Pro Arg Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr			
100	105	110	
gta gac agt gaa act tgg tac ttc atg gtg aat gtc aca gat gcc atc			384
Val Asp Ser Glu Thr Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile			
115	120	125	
tca tcc gga gat gat gag gat gac acc gat ggt gcg gaa gat ttt gtc			432
Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val			
130	135	140	
agt gag aac agt aac aac aag aga gca cca tac tgg acc aac aca gaa			480
Ser Glu Asn Ser Asn Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu			
145	150	155	160
aag atg gaa aag cgg ctc cat gct gtg cct gcg gcc aac act gtc aag			528
Lys Met Glu Lys Arg Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys			
165	170	175	
ttt cgc tgc cca gcc ggg ggg aac cca atg cca acc atg cgg tgg ctg			576
Phe Arg Cys Pro Ala Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu			
180	185	190	
aaa aac ggg aag gag ttt aag cag gag cat cgc att gga ggc tac aag			624
Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys			
195	200	205	
gta cga aac cag cac tgg agc ctc att atg gaa agt gtg gtc cca tct			672
Val Arg Asn Gln His Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser			
210	215	220	
gac aag gga aat tat acc tgt gta gtg gag aat gaa tac ggg tcc atc			720
Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile			

225	230	235	240	
aat cac acg tac cac ctg gat gtt gtg gag cga tcg cct cac cgg ccc				768
Asn His Thr Tyr His Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro				
	245	250	255	
atc ctc caa gcc gga ctg ccg gca aat gcc tcc aca gtg gtc gga gga				816
Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly				
	260	265	270	
gac gta gag ttt gtc tgc aag gtt tac agt gat gcc cag ccc cac atc				864
Asp Val Glu Phe Val Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile				
	275	280	285	
cag tgg atc aag cac gtg gaa aag aac ggc agt aaa tac ggg ccc gac				912
Gln Trp Ile Lys His Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp				
	290	295	300	
ggg ctg ccc tac ctc aag gtt ctc aag gcc gcc ggt gtt aac acc acg				960
Gly Leu Pro Tyr Leu Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr				
	305	310	315	320
gac aaa gag att gag gtt ctc tat att cgg aat gta act ttt gag gac				1008
Asp Lys Glu Ile Glu Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp				
	325	330	335	
gct ggg gaa tat acg tgc ttg gcg ggt aat tct att ggg ata tcc ttt				1056
Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe				
	340	345	350	
cac tct gca tgg ttg aca gtt ctg cca gcg cct gga aga gaa aag gag				1104
His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu				
	355	360	365	
att aca gct tcc cca gac tac ctg gag ata gcc att tac tgc ata ggg				1152
Ile Thr Ala Ser Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile Gly				
	370	375	380	
gtc ttc tta atc gcc tgt atg gtg gta aca gtc atc ctg tgc cga atg				1200
Val Phe Leu Ile Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg Met				
	385	390	395	400
aag aac acg acc aag aag cca gac ttc agc agc cag ccg gct gtg cac				1248
Lys Asn Thr Thr Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val His				

405	410	415	
aag ctg acc aaa cgt atc ccc ctg cgg aga cag gta aca gtt tcg gct			1296
Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala			
420	425	430	
 gag tcc agc tcc tcc atg aac tcc aac acc ccg ctg gtg agg ata aca			1344
Glu Ser Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Thr			
435	440	445	
 aca cgc ctc tct tca acg gca gac acc ccc atg ctg gca ggg gtc tcc			1392
Thr Arg Leu Ser Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser			
450	455	460	
 gag tat gaa ctt cca gag gac cca aaa tgg gag ttt cca aga gat aag			1440
Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Lys			
465	470	475	480
 ctg aca ctg ggc aag ccc ctg gga gaa ggt tgc ttt ggg caa gtg gtc			1488
Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val			
485	490	495	
 atg gcg gaa gca gtg gga att gac aaa gac aag ccc aag gag gcg gtc			1536
Met Ala Glu Ala Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala Val			
500	505	510	
 acc gtg gcc gtg aag atg ttg aaa gat gat gcc aca gag aaa gac ctt			1584
Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu			
515	520	525	
 tct gat ctg gtg tca gag atg gag atg atg aag atg att ggg aaa cac			1632
Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His			
530	535	540	
 aag aat atc ata aat ctt ctt gga gcc tgc aca cag gat ggg cct ctc			1680
Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu			
545	550	555	560
 tat gtc ata gtt gag tat gcc tct aaa ggc aac ctc cga gaa tac ctc			1728
Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu			
565	570	575	
 cga gcc cgg agg cca ccc ggg atg gag tac tcc tat gac att aac cgt			1776
Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn Arg			

580	585	590	
gtt cct gag gag cag atg acc ttc aag gac ttg gtg tca tgc acc tac			1824
Val Pro Glu Glu Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr Tyr			
595	600	605	
cag ctg gcc aga ggc atg gag tac ttg gct tcc caa aaa tgt att cat			1872
Gln Leu Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His			
610	615	620	
cga gat tta gca gcc aga aat gtt ttg gta aca gaa aac aat gtg atg			1920
Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val Met			
625	630	635	640
aaa ata gca gac ttt gga ctc gcc aga gat atc aac aat ata gac tat			1968
Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp Tyr			
645	650	655	
tac aaa aag acc acc aat ggg cgg ctt cca gtc aag tgg atg gct cca			2016
Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro			
660	665	670	
gaa gcc ctg ttt gat aga gta tac act cat cag agt gat gtc tgg tcc			2064
Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser			
675	680	685	
ttc ggg gtg tta atg tgg gag atc ttc act tta ggg ggc tgc ccc tac			2112
Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr			
690	695	700	
cca ggg att ccc gtg gag gaa ctt ttt aag ctg ctg aag gaa gga cac			2160
Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His			
705	710	715	720
aga atg gat aag cca gcc aac tgc acc aac gaa ctg tac atg atg atg			2208
Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met			
725	730	735	
agg gac tgt tgg cat gca gtg ccc tcc cag aga cca acg ttc aag cag			2256
Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln			
740	745	750	
ttg gta gaa gac ttg gat cga att ctc act ctc aca acc aat gag gaa			2304
Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu Glu			

Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe
 340 345 350

His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu
 355 360 365

Ile Thr Ala Ser Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile Gly
 370 375 380

Val Phe Leu Ile Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg Met
 385 390 395 400

Lys Asn Thr Thr Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val His
 405 410 415

Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala
 420 425 430

Glu Ser Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile Thr
 435 440 445

Thr Arg Leu Ser Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val Ser
 450 455 460

Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp Lys
 465 470 475 480

Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val Val
 485 490 495

Met Ala Glu Ala Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala Val
 500 505 510

Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp Leu
 515 520 525

Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys His
 530 535 540

Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro Leu
 545 550 555 560

Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr Leu
 565 570 575

Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn Arg
 580 585 590

Val Pro Glu Glu Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr Tyr
 595 600 605

Gln Leu Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile His
 610 615 620

Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val Met
 625 630 635 640

Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp Tyr
 645 650 655

Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala Pro
 660 665 670

Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp Ser
 675 680 685

Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro Tyr
 690 695 700

Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly His
 705 710 715 720

Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met Met
 725 730 735

Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys Gln
 740 745 750

Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu Glu
 755 760 765

Tyr Leu Asp Leu Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr Pro
 770 775 780

Asp Thr Arg Ser Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser Pro
 785 790 795 800

Asp Pro Met Pro Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile Asn

805

810

815

Gly Ser Val Lys Thr
820