



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101511793 B

(45) 授权公告日 2011.08.03

(21) 申请号 200780032071.8

A61K 31/47(2006.01)

(22) 申请日 2007.08.27

A61P 35/00(2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 43/00(2006.01)

230816/2006 2006.08.28 JP

C12Q 1/02(2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2009.02.27

US 20050049264 A1, 2005.03.03, 说明书第 1 页第 9 段、第 33-34、56-72、84-104、107-109、111-129、131-139 页。

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2007/067088 2007.08.27

WO 02088110 A1, 2002.11.07, 说明书第 63-64 页实施例化合物 4。

(87) PCT申请的公布数据

W02008/026748 JA 2008.03.06

WO 01060814 A2, 2001.08.23, 说明书第 38 页化合物 80。

(73) 专利权人 卫材 R&D 管理有限公司

地址 日本东京都

WO 0102369 A2, 2001.01.11, 说明书第 340 页实施例 59f。

(72) 发明人 山本裕之 松嶋知广 鹤冈明彦

尾叶石浩 中川学之

CN 1478078 A, 2004.02.25,

WO 0042012 A1, 2000.07.20, 说明书第 81 页化合物 42。

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

审查员 原悦

代理人 封新琴

(51) Int. Cl.

C07D 215/22(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 36 页

序列表 15 页 附图 4 页

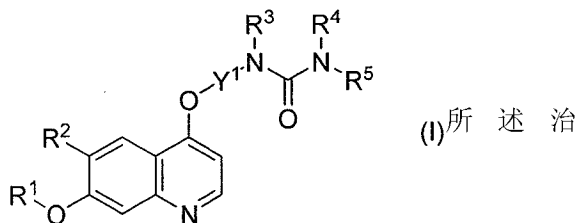
(54) 发明名称

针对未分化型胃癌的抗肿瘤剂

还涉及用于预测 FGFR2 抑制性化合物对患者的效果的方法。

(57) 摘要

本发明涉及用下面的通式 (I) 表示的治疗剂、或其药理学可接受的盐、或者该化合物或其盐的溶剂合物:



疗剂包含具有抑制成纤维细胞生长因子受体 2 (“FGFR2”) 的激酶活性的活性的物质。所述治疗可用于治疗未分化型胃癌, 并且可用来治疗包含过量表达 FGFR2 的细胞或表达突变型 FGFR2 的细胞或其二者的生物体。本发明还涉及包含 FGFR2 抑制的药物组合物和使用其的治疗方法。本发明

1. 选自下述化合物中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途：

4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

4-(3-氯-4-(乙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

4-(3-氯-4-(甲基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉

和

N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述化合物、或该化合物的药理学可接受的盐是4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或其药理学可接受的盐。

3. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述化合物、或该化合物的药理学可接受的盐是4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉的甲磺酸盐。

4. 选自下组中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途：

N-(3-三氟甲基-4-氯苯基)-N'-(4-(2-甲基氨基甲酰基吡啶-4-基)氧苯基)脲、

6-[2-(甲基氨基甲酰基)苯基巯基]-3-E-[2-(吡啶-2-基)乙烯基]吡啶、

5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨基乙基)酰胺

和

N-{2-氯-4-[(6,7-二甲氧基-4-喹啉基)氧]苯基}-N'-(5-甲基-3-异噁唑基)脲。

## 针对未分化型胃癌的抗肿瘤剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及下述针对未分化型胃癌的治疗剂、治疗方法、FGFR2 抑制物质在制造所述治疗剂中的用途和用于所述治疗剂的 FGFR2 抑制物质,所述针对未分化型胃癌的治疗剂中含有具有抑制成纤维细胞生长因子受体 2(Fibroblast growth factor receptor2、以下也称“FGFR2”)的激酶活性的物质(以下也称“FGFR2 抑制物质”)。

[0002] 此外,本发明还涉及:用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有 FGFR2 抑制物质的药物组合物、以对所述生物体施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的疾病治疗方法、FGFR2 抑制物质在制造所述药物组合物中的用途和用于所述药物组合物的 FGFR2 抑制物质。

[0003] 而且,本发明还涉及 FGFR2 抑制剂。

[0004] 此外,本发明还涉及以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标的、预测 FGFR2 抑制物质对患者的效果的方法。

### 背景技术

[0005] 在因癌死亡原因方面,胃癌是主要的癌种类之一。胃癌在病理组织学上分为分化型胃癌(differentiated gastric cancer)和未分化型胃癌(undifferentiated gastric cancer),而未分化型胃癌包括低分化腺癌(poorly differentiated adenocarcinoma)、印戒细胞癌(signet-ring cell carcinoma)、粘液癌(mucinous carcinoma)等。

[0006] 在未分化型胃癌中,癌细胞容易扩散,此外还容易纤维化形成胃硬癌(scirrhous gastric cancer)。而且,已知特别是在青年人群中观察到未分化型胃癌,且发生浸润性增殖和转移,预后不良(Clinical Cancer Research. 2(8),1373-1381,1996)。

[0007] 已知 FGFR2(也称 K-sam)与弥漫型胃癌(diffuse-type gastric cancer)相关,即,其在未分化型胃癌中扩增,与癌的恶性化相关(Clinical Cancer Research. 2(8),1373-1381,1996, Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 127,207-216,2001)。而且,有报告称:FGFR2 基因在 33%的未分化型胃癌患者中存在扩增(Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 127,207-216,2001);还有报告称:FGFR2 在约 50%的未分化型胃癌患者中为阳性(Clinical Cancer Research. 2(8),1373-1381,1996)。

[0008] 有报告称:FGFR2 基因能够转染 NIH3T3 细胞,而且转染的细胞在裸鼠中显现出致肿瘤性(Cancer Research. 54,3237-3241,1994)。此外,有报告称:FGFR2 的 C 末端缺失体的转染活性强,而且主要在未分化型胃癌细胞株中表达(Clinical Cancer Research. 2(8),1373-1381,1996, Cancer Research. 54,3237-3241,1994)。例如,有报告称:缺失了第 769 位的酪氨酸以后的 FGFR2 具有高转染活性(Cancer Research. 54,3237-3241,1994)。

[0009] 此外,由报告称:FGFR2 基因在低分化型胃癌、特别是胃硬癌中扩增,而缺失了包含酪氨酸残基 780、784、813 的 C 末端的 FGFR2 蛋白质特别是在胃硬癌中表达(Cancer Research. 59(24),6080-6086,1999)。而且,有报告称:活化的 FGFR2 的扩增对胃硬癌的肿瘤增殖有贡献(Cancer Research. 59(24),6080-6086,1999)。

[0010] 有报告称:作为 FGFR2 抑制物质的二苯基胺衍生物剂量依赖地抑制人胃硬癌细胞株的细胞增殖,在人胃硬癌细胞株皮下移植模型中显示了抗肿瘤效果 (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 14(4),875-879,2004)。

[0011] 此外,有提示说:作为 FGFR2 抑制物质的 4-[(4-氟-2-甲基咪唑-5-基)氧]-6-甲氧基-7-[3-(吡咯烷-1-基)丙氧基]喹唑啉对过量表达 K-sam 的胃癌有效 (Proceeding of the American Association for Cancer Research. 47,890,2006)。

[0012] 这样,提示 FGFR2 抑制物质对未分化型胃癌优选低分化腺癌、印戒细胞癌、粘液癌和胃硬癌,显示出增殖抑制作用和抗肿瘤效果。

[0013] 此处,作为血管新生抑制物质,已知有通式 (I) 所表示的化合物 (国际公开第 02/32872 号小册子、国际公开第 2004/080462 号小册子和国际公开第 2005/063713 号小册子)。然而,关于通式 (I) 所表示的化合物具有 FGFR2 抑制活性尚无任何报道。

## 发明内容

[0014] 发明所要解决的问题

[0015] 鉴于以上状况,本发明所要解决的问题是提供针对未分化型胃癌的治疗剂和治疗方法,以及提供针对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体更有效地发挥效果的药物组合物和治疗方法。

[0016] 此外,本发明所要解决的问题是,提供预测 FGFR2 抑制物质的效果的方法。

[0017] 解决问题的方法

[0018] 本发明人等为了解决上述问题进行了深入研究,结果发现:通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物具有 FGFR2 抑制活性。而且发现:通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物对未分化型胃癌更有效地发挥效果。此外还发现:通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体更有效地发挥效果。而且还发现:通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的效果可以通过以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标来进行预测。

[0019] 即,本发明涉及以下方面。

[0020] (1) 含有通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的针对未分化型胃癌的治疗剂。

[0021] (2) 用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的药物组合物。

[0022] (3) 以对患者施用有效量的通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物为特征的未分化型胃癌的治疗方法。

[0023] (4) 以对患者施用有效量的通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物为特征的 FGFR2 活化抑制方法。

[0024] (5) 以对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体施用有效量的通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或

者它们的溶剂合物为特征的疾病治疗方法。

[0025] (6) 通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途。

[0026] (7) 通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物在制造用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物中的用途。

[0027] (8) 用于针对未分化型胃癌的治疗剂的通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0028] (9) 用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物的通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0029] (10) 含有通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的 FGFR2 抑制剂。

[0030] (11) 以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标、来预测患者对通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物是否为高敏感性的方法。

[0031] (12) 分析细胞对通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的敏感性的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0032] (13) 选择对通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物显示高敏感性的细胞的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0033] (14) 选择对通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物显示高敏感性的患者的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0034] (15) 通过测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种,来分析对通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的敏感性,并根据所得结果来对患者进行分类的方法。

[0035] (16) 选择作为通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的施用对象的患者,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种、并根据所得测定结果来选择具有选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的患者。

[0036] (17) 预测通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物对患者的治疗效果的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

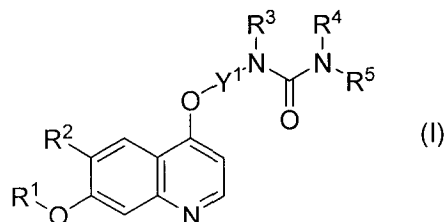
[0037] (18) 为预测患者对通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的敏感性程度,而测定选自该患者来源的细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种的方法。

[0038] 所述通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶

剂合物如下。

[0039] 通式 (I)

[0040]



[0041] [通式 (I) 中,  $R^1$  为用式  $-V^1-V^2-V^3$  (该式中,  $V^1$  为任选具有取代基的  $C_{1-6}$  亚烷基;  $V^2$  为单键、氧原子、硫原子、羰基、亚磺酰基或磺酰基, 或者为用式  $-CONR^6-$  表示的基团、用式  $-SO_2NR^6-$  表示的基团、用式  $-NR^6SO_2-$  表示的基团、用式  $-NR^6CO-$  表示的基团或用式  $-NR^6-$  表示的基团 (这些式中,  $R^6$  为氢原子、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基或任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷基),  $V^3$  为氢原子、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  烯基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  炔基、任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷基、任选具有取代基的  $C_{6-10}$  芳基、任选具有取代基的 5 ~ 10 元杂芳基或任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基) 表示的基团;

[0042]  $R^2$  为氰基、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷氧基、羧基、任选具有取代基的  $C_{2-7}$  烷氧基羰基或者用式  $-CONV^{a11}V^{a12}$  (该式中,  $V^{a11}$  为氢原子、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  烯基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  炔基、任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷基、任选具有取代基的  $C_{6-10}$  芳基、任选具有取代基的 5 ~ 10 元杂芳基或任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基, 而  $V^{a12}$  为氢原子、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  烯基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  炔基、任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷基、任选具有取代基的  $C_{6-10}$  芳基、任选具有取代基的 5 ~ 10 元杂芳基、任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基、羟基、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷氧基或任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷氧基) 表示的基团;

[0043]  $Y^1$  为式

[0044]



[0045] (该式中:  $R^7$  和  $R^8$  彼此独立, 表示氢原子、卤素原子、氰基、硝基、氨基、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基、任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷基、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷氧基、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷硫基、甲酰基、任选具有取代基的  $C_{2-7}$  酰基或任选具有取代基的  $C_{2-7}$  烷氧基羰基, 或者表示用式  $-CONV^{d1}V^{d2}$  (该式中,  $V^{d1}$  和  $V^{d2}$  彼此独立, 表示氢原子或任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基) 表示的基团,  $W^1$  和  $W^2$  彼此独立, 表示任选具有取代基的碳原子或氮原子) 所表示的基团;

[0046]  $R^3$  和  $R^4$  彼此独立, 表示氢原子、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  烯基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  炔基、任选具有取代基的  $C_{3-8}$  环烷基、任选具有取代基的  $C_{2-7}$  酰基或任选具有取代基的  $C_{2-7}$  烷氧基羰基;

[0047]  $R^5$  表示氢原子、任选具有取代基的  $C_{1-6}$  烷基、任选具有取代基的  $C_{2-6}$  烯基、任选具

有取代基的 C<sub>2-6</sub> 炔基、任选具有取代基的 C<sub>3-8</sub> 环烷基、任选具有取代基的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选具有取代基的 5 ~ 10 元杂芳基、任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基] 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0048] 此外,本发明优选涉及以下方面。

[0049] (19) 含有 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的针对未分化型胃癌的治疗剂。

[0050] (20) 用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的药物组合物。

[0051] (21) 以对患者施用有效量的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物为特征的未分化型胃癌治疗方法。

[0052] (22) 以对患者施用有效量的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物为特征的 FGFR2 活化抑制方法。

[0053] (23) 以对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体施用有效量的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物为特征的疾病治疗方法。

[0054] (24) 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中用途。

[0055] (25) 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物在制造用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物中的用途。

[0056] (26) 用于针对未分化型胃癌的治疗剂的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0057] (27) 用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0058] (28) 含有 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的 FGFR2 抑制剂。

[0059] (29) 以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标。来预测患者对 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物是否为高敏感性的方法。

[0060] (30) 分析细胞对 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的敏感性的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0061] (31) 选择对 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物显示高敏感性的细胞的方法,

该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0062] (32) 选择对 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物显示高敏感性的患者的方法，该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0063] (33) 通过测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种来分析对 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的敏感性，并根据所得结果对患者进行分类的方法。

[0064] (34) 选择作为 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的施用对象的患者的方法，该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种，并根据所得测定结果来选择具有选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的患者。

[0065] (35) 预测 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物对患者的治疗效果的方法，该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0066] (36) 为了预测患者对 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的敏感性的程度，而测定选自该患者来源的细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种的方法。

[0067] 此外，本发明涉及以下方面。

[0068] (37) 含有 FGFR2 抑制物质的针对未分化型胃癌的治疗剂。

[0069] (38) 用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有 FGFR2 抑制物质的药物组合物。

[0070] (39) 以对患者施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的未分化型胃癌治疗方法。

[0071] (40) 以对患者施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的 FGFR2 活化抑制方法。

[0072] (41) 以对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的治疗方法。

[0073] (42) FGFR2 抑制物质在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途。

[0074] (43) FGFR2 抑制物质在制造用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物中的用途。

[0075] (44) 用于针对未分化型胃癌的治疗剂的 FGFR2 抑制物质。

[0076] (45) 用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物的 FGFR2 抑制物质。

[0077] (46) 含有 FGFR2 抑制物质的 FGFR2 抑制剂。

[0078] (47) 以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标，预测患者对 FGFR2 抑制物质是否为高敏感性的方法。

[0079] (48) 分析细胞对 FGFR2 抑制物质的敏感性的方法，该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0080] (49) 选择对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性的细胞的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0081] (50) 选择对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性的患者的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0082] (51) 通过测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种来分析对 FGFR2 抑制物质的敏感性,并根据所得结果对患者进行分类的方法。

[0083] (52) 选择作为 FGFR2 抑制物质的施用对象的患者的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种,并根据所得测定结果来选择具有选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的患者。

[0084] (53) 预测患者对 FGFR2 抑制物质的治疗效果的方法,该方法包括测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种。

[0085] (54) 为了预测患者对 FGFR2 抑制物质的敏感性的程度,而测定选自该患者来源的细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种的方法。

[0086] 作为所述 FGFR2 抑制物质,可以列举出上述通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0087] 此外,作为所述 FGFR2 抑制物质,可以列举出选自下组中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物:

[0088] N-(3-三氟甲基-4-氯苯基)-N'-(4-(2-甲基氨基甲酰基吡啶-4-基)氧苯基)脲、

[0089] 6-[2-(甲基氨基甲酰基)苯基巯基]-3-E-[2-(吡啶-2-基)乙烯基]吡唑、

[0090] 5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨基乙基)酰胺

[0091] 和

[0092] N-{2-氯-4-[(6,7-二甲氧基-4-喹啉基)氧]苯基}-N'-(5-甲基-3-异噁唑基)脲。

[0093] 发明的效果

[0094] 本发明能够提供含有 FGFR2 抑制物质的针对未分化型胃癌的治疗剂、治疗方法、FGFR2 抑制物质在制造所述治疗剂中的用途和用于所述治疗剂的 FGFR2 抑制物质。

[0095] 此外,本发明提供:用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有 FGFR2 抑制物质的药物组合物、以对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的疾病治疗方法、FGFR2 抑制物质在制造所述药物组合物中的用途和用于所述药物组合物的 FGFR2 抑制物质。

[0096] 而且,本发明提供 FGFR2 抑制剂。

[0097] 此外,本发明提供预测 FGFR2 抑制物质的效果的方法。

[0098] 更具体地,FGFR2 抑制物质的效果可以通过以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标来预测。

[0099] 通过本发明的预测方法,能够在不对患者施用化合物的情况下对效果进行预测,因此能够选择出该化合物有望更具效果的患者,能够对患者的 QOL 有所贡献。

## 附图说明

[0100] 图 1 显示了 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉对人未分化型胃癌细胞株培养中的 FGFR2 的活化(以磷酸化为指标)的效果。(A) KATO-III, (B) SNU-16, (C) HSC-39

[0101] 图 2 显示了 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉对人未分化型胃癌细胞株 HSC-39 培养中的细胞凋亡(以 PARP 或胱天蛋白酶-3(caspase-3)的片段化为指标)的效果。

[0102] 图 3 显示了人未分化型胃癌细胞株皮下移植模型中的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉的抗肿瘤效果。(A) KATO-III, (B) SNU-16, (C) HSC-39

[0103] 图 4 显示了 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉对人未分化型胃癌细胞株皮下移植模型中肿瘤组织内的 FGFR2 的活化(以磷酸化为指标)的效果。(A) SNU-16, (B) HSC-39

[0104] 发明的具体实施方式

[0105] 以下对本发明的实施方式进行说明。以下的实施方式仅为用于说明本发明的示例,并不意味本发明限于这些实施方式。本发明只要不脱离其要旨,可以以各种方式加以实施。

[0106] 而且,本说明书中引用的文献、以及公开公报、专利公报和其它专利文献均并入本说明书作为参考。此外,本说明书中包括作为本申请优先权基础的特愿 2006-230816 号说明书的内容。

[0107] 1. 本发明的药物组合物、治疗剂和治疗方法

[0108] (1) FGFR2

[0109] 在本发明中,FGFR2 包含下述多肽,所述多肽包含与 SEQ ID NO :2 (GenBank 登录号 : NP\_075259) 所表示的氨基酸序列的第 22 位~第 822 位的氨基酸序列相同或实质上相同的氨基酸序列。此外,包含 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列的多肽由例如包含 SEQ ID NO :1 (GenBank 登录号 :NM\_022970 的第 648 位~3116 位的碱基序列) 所表示的碱基序列的多核苷酸编码。而且,由 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列构成的多肽通常经加工而成为成熟体 (SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列的第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)。

[0110] 作为具有与 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)实质上相同的氨基酸序列的多肽,可以列举出例如:从下述 (a) ~ (d) 中选择的多肽:

[0111] (a) 包含 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)的多肽;

[0112] (b) 包含下述氨基酸序列、且与 FGFR2 具有实质上相同的活性的多肽,所述氨基酸序列是因在 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)中,发生 1 或多个(例如、1 个或多个)氨基酸的缺失、取代或增加、或这些的组合而突变得到的氨基酸序列;

[0113] (c) 由在严格条件下与由 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列的互补碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸编码、且具有与 FGFR2 实质上相同的活性的多肽;

[0114] (d) 由与 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 具有 90% 以上、优选约 95% 以上、更优选约 98% 以上的同一性 (也称同源性) 的氨基酸序列构成、且具有与 FGFR2 实质上相同的活性的多肽。

[0115] 这里,“具有与 FGFR2 实质上相同的活性”是指:在配体 (例如 FGF 等) 结合时引起的细胞内信号中至少有一种与归因于由 SEQ ID NO :2 所述的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 构成的蛋白质所的信号之一相同,并且该细胞内信号的活化程度与由 SEQ ID NO :2 所述的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 构成的蛋白质相比较为同等程度。此外,“同等程度”是指:例如,配体 (例如、FGF 等) 结合时引起的细胞内信号的活化程度是由 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 构成的蛋白质所具有的细胞内信号的活化程度的 10% 以上、优选 30% 以上的情况,此时可以说具有实质上相同的活性。作为配体结合时引起的细胞内信号,可以列举出例如:FGFR2 的磷酸化、起因于 FGFR2 磷酸化的 Raf、MEK、ERK1 和 ERK2 的磷酸化、磷脂酰肌醇-3-激酶的磷酸化、Akt 的磷酸化、磷脂酶 C- $\gamma$  (phospholipase C- $\gamma$ ) 的磷酸化、肌醇 1,4,5-三磷酸 (IP3) 的增加、二酰甘油 (DAG) 的增加等。

[0116] 配体结合时引起的细胞内信号的活性的测定方法,可以按照免疫沉淀法、western 印迹等常用方法来测定。

[0117] 作为因在 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 中,发生 1 或多个 (例如 1 个或数个) 氨基酸的缺失、取代或增加或这些的组合而突变得到的氨基酸序列,可以列举出例如:

[0118] (i) 在 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 中缺失 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 氨基酸而成的氨基酸序列;

[0119] (ii) 在 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 中增加 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 氨基酸而成的氨基酸序列;

[0120] (iii) SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 中的 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 氨基酸被其它氨基酸取代而成的氨基酸序列;

[0121] (iv) 通过上述 (i)~(iii) 的组合而突变得到的氨基酸序列;等等。

[0122] 这里,氨基酸的“缺失”是指缺失序列中的一个以上氨基酸残基的突变,缺失包括从氨基酸序列末端起缺失氨基酸残基、以及缺失氨基酸序列中间的氨基酸残基。

[0123] 这里,氨基酸的“增加”是指:在序列中增加一个以上氨基酸残基的突变,增加包括在氨基酸序列末端增加氨基酸残基、以及在氨基酸序列中间增加氨基酸残基。而且,在中间增加氨基酸残基也称作“插入”。

[0124] 这里,氨基酸的“取代”是指序列中的一个上氨基酸残基改变为不同种类的氨基酸残基的突变。当通过这样的取代改变 FGFR2 的氨基酸序列时,为了保持蛋白质的功能,优选进行保守取代。保守取代是指对序列进行改变,并使得其编码与取代前的氨基酸性质相近的氨基酸。氨基酸的性质可以分为例如:非极性氨基酸 (Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val)、不带电氨基酸 (Asn, Cys, Gln, Gly, Ser, Thr, Tyr)、酸性氨基酸 (Asp, Glu)、碱基

性氨基酸 (Arg, His, Lys)、中性氨基酸 (Ala, Asn, Cys, Gln, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val)、脂肪族氨基酸 (Ala, Gly)、支链氨基酸 (Ile, Leu, Val)、羟基氨基酸 (Ser, Thr)、酰胺型氨基酸 (Gln, Asn)、含硫氨基酸 (Cys, Met)、芳香族氨基酸 (His, Phe, Trp, Tyr)、杂环氨基酸 (His, Trp)、亚氨基酸 (Pro, 4Hyp) 等。

[0125] 因此,例如优选非极性氨基酸之间、或者不带电氨基酸之间的取代。这其中,Ala、Val、Leu 和 Ile 之间、Ser 和 Thr 之间、Asp 和 Glu 之间、Asn 和 Gln 之间、Lys 和 Arg 之间、Phe 和 Tyr 之间的取代作为保持蛋白质性质的取代是优选的。对于突变氨基酸的数目和部位没有特殊限制。

[0126] 作为具有与 SEQ ID NO :2 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 822 位的氨基酸序列) 实质上相同的氨基酸序列的多肽,如上述,可以列举出:在严格条件下与由 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列的互补碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸编码的多肽,并且该多肽具有与 FGFR2 实质上相同的活性。

[0127] 在本说明书中,在严格条件下杂交的多核苷酸是指包含下述碱基序列的多核苷酸,在具体地通过 FASTA、BLAST、Smith-Waterman (Meth. Enzym., 164, 765 (1988)) 等同源性检索软件采用缺省 (初始设定) 参数进行计算时,所述碱基序列与例如 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列具有至少 90% 以上、优选 95% 以上、更优选 97% 以上、更优选 98% 以上、更更优选 99% 以上的同一性。此外,这里严格条件可以列举出例如“2×SSC、0.1% SDS、50°C”、“2×SSC、0.1% SDS、42°C”、“1×SSC、0.1% SDS、37°C”,更严格条件可以列举出例如“2×SSC、0.1% SDS、65°C”、“0.5×SSC、0.1% SDS、42°C”、“0.2×SSC、0.1% SDS、65°C”等条件。

[0128] 杂交可以按照公知方法进行。此外,在利用市售的文库时,可以按照附带的使用说明书所述的方法进行。

[0129] 作为在严格条件下与由 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列的互补的碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸,可以列举出例如:包含与 SEQ IDNO :1 所表示的碱基序列具有 90% 以上、优选 95% 以上、更优选 98% 以上的同一性的碱基序列的多核苷酸。

[0130] 作为在严格条件下与由 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列的互补的碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸,可以列举出例如:在 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列中,1 个或多个 (例如 1 个或多个) 核酸中发生缺失、取代或增加等突变而得到的碱基序列。

[0131] 作为在严格条件下与由 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列的互补的碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸,可以列举出例如:

[0132] (i) SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列中的 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 核酸发生缺失而得的碱基序列,

[0133] (ii) 在 SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列中增加 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 核酸而得的碱基序列,

[0134] (iii) SEQ ID NO :1 所表示的碱基序列中的 1~9 个 (例如、1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 核酸被其它核酸取代而得到的碱基序列,

[0135] (iv) 因上述 (i)~(iii) 的组合而突变得到的碱基序列,等等。

[0136] 在本发明中,FGFR2 还包括下述多肽,所述多肽包含与 SEQ IDNO :4 (GenBank 登录号:NP\_000132) 所表示的氨基酸序列的第 22 位~第 821 位氨基酸序列相同或实质上相同

的氨基酸序列。此外,包含 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列的多肽例如由包含 SEQ ID NO :3 (GenBank 登录号 :NM\_000141 的第 648 位~第 3113 位碱基序列) 所表示的碱基序列的多核苷酸编码。而且,由 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列构成的多肽通常经过加工而成为成熟体 (SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列的第 22 位~第 821 位氨基酸序列)。

[0137] 作为具有与 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 实质上相同的氨基酸序列的多肽,可以列举出例如选自下述 (a) ~ (d) 中的多肽:

[0138] (a) 包含 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 的多肽;

[0139] (b) 包含下述氨基酸序列、且与 FGFR2 具有实质上相同的活性的多肽,所述氨基酸序列是因在 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 中,发生 1 或多个 (例如、1 个或数个) 氨基酸的缺失、取代或增加、或这些的组合而突变得到的氨基酸序列;

[0140] (c) 由在严格条件下与由 SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列的互补碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸编码、且具有与 FGFR2 实质上相同的活性的多肽;

[0141] (d) 由与 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 具有 90% 以上、优选约 95% 以上、更优选约 98% 以上的同一性 (也称同源性) 的氨基酸序列构成、且具有与 FGFR2 实质上相同的活性的多肽。

[0142] 这里,“具有与 FGFR2 实质上相同的活性”是指:在配体 (例如 FGF 等) 结合时引起的细胞内信号中至少有一种与归因于由 SEQ ID NO :4 所述的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 构成的蛋白质所的信号之一相同,并且该细胞内信号的活化程度与由 SEQ ID NO :4 所述的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 构成的蛋白质相比较为同等程度。此外,“同等程度”是指:例如,配体 (例如、FGF 等) 结合时引起的细胞内信号的活化程度是由 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 构成的蛋白质所具有的细胞内信号的活化程度的 10% 以上、优选 30% 以上的情况,此时可以说具有实质上相同的活性。作为配体结合时引起的细胞内信号,可以列举出例如:FGFR2 的磷酸化、起因于 FGFR2 磷酸化的 Raf、MEK、ERK1 和 ERK2 的磷酸化、磷脂酰肌醇-3-激酶的磷酸化、Akt 的磷酸化、磷脂酶 C- $\gamma$  (phospholipase C- $\gamma$ ) 的磷酸化、肌醇 1,4,5-三磷酸 (IP3) 的增加、二酰甘油 (DAG) 的增加等。

[0143] 配体结合时引起的细胞内信号的活性的测定方法,可以按照免疫沉淀法、western 印迹等常用方法来测定。

[0144] 作为因在 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 中,发生 1 或多个 (例如 1 个或数个) 氨基酸的缺失、取代或增加或这些的组合而突变得到的氨基酸序列,可以列举出例如:

[0145] (i) 在 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 中缺失 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 氨基酸而成的氨基酸序列;

[0146] (ii) 在 SEQ ID NO :4 所表示的氨基酸序列 (第 22 位~第 821 位的氨基酸序列) 中增加 1~9 个 (例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个) 氨基酸而成的氨基酸序列;

[0147] (iii) SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列)中的 1~9 个(例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个)氨基酸被其它氨基酸取代而成的氨基酸序列;

[0148] (iv) 通过上述 (i)~(iii) 的组合而突变得到的氨基酸序列;等等。

[0149] 这里,氨基酸的“缺失”是指缺失序列中的一个以上氨基酸残基的突变,缺失包括从氨基酸序列末端起缺失氨基酸残基、以及缺失氨基酸序列中间的氨基酸残基。

[0150] 这里,氨基酸的“增加”是指:在序列中增加一个以上氨基酸残基的突变,增加包括在氨基酸序列末端增加氨基酸残基、以及在氨基酸序列中间增加氨基酸残基。而且,在中间增加氨基酸残基也称作“插入”。

[0151] 这里,氨基酸的“取代”是指序列中的一个氨基酸残基改变为不同种类的氨基酸残基的突变。当通过这样的取代改变 FGFR2 的氨基酸序列时,为了保持蛋白质的功能,优选进行保守取代。保守取代是指对序列进行改变,并使得其编码与取代前的氨基酸性质相近的氨基酸。氨基酸的性质可以分为例如:非极性氨基酸(Ala, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Trp, Val)、不带电氨基酸(Asn, Cys, Gln, Gly, Ser, Thr, Tyr)、酸性氨基酸(Asp, Glu)、碱性氨基酸(Arg, His, Lys)、中性氨基酸(Ala, Asn, Cys, Gln, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val)、脂肪族氨基酸(Ala, Gly)、支链氨基酸(Ile, Leu, Val)、羟基氨基酸(Ser, Thr)、酰胺型氨基酸(Gln, Asn)、含硫氨基酸(Cys, Met)、芳香族氨基酸(His, Phe, Trp, Tyr)、杂环氨基酸(His, Trp)、亚氨基酸(Pro, 4Hyp)等。

[0152] 因此,优选例如非极性氨基酸之间、或者不带电氨基酸之间的取代。这其中,Ala、Val、Leu 和 Ile 之间、Ser 和 Thr 之间、Asp 和 Glu 之间、Asn 和 Gln 之间、Lys 和 Arg 之间、Phe 和 Tyr 之间的取代作为保持蛋白质性质的取代是优选的。对于突变氨基酸的数目和部位没有特殊限制。

[0153] 作为具有与 SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列)实质上相同的氨基酸序列的多肽,如上述,可以列举出:在严格条件下与由 SEQ ID NO:3 所表示的碱基序列的互补碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸编码的多肽,并且该多肽具有与 FGFR2 实质上相同的活性。

[0154] 在本说明书中,在严格条件下杂交的多核苷酸是指包含下述碱基序列的多核苷酸,在具体地通过 FASTA、BLAST、Smith-Waterman (Meth. Enzym., 164, 765 (1988)) 等同源性检索软件采用缺省(初始设定)参数进行计算时,所述碱基序列与例如 SEQ ID NO:3 所表示的碱基序列具有至少 90%以上、优选 95%以上、更优选 97%以上、更优选 98%以上、更更优选 99%以上的同一性。此外,这里严格条件可以列举出例如“2×SSC、0.1% SDS、50℃”、“2×SSC、0.1% SDS、42℃”、“1×SSC、0.1% SDS、37℃”,更严格条件可以列举出例如“2×SSC、0.1% SDS、65℃”、“0.5×SSC、0.1% SDS、42℃”、“0.2×SSC、0.1% SDS、65℃”等条件。

[0155] 杂交可以按照公知方法进行。此外,在利用市售的文库时,可以按照附带的使用说明书所述的方法进行。

[0156] 作为在严格条件下与由 SEQ ID NO:3 所表示的碱基序列的互补的碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸,可以列举出例如:包含与 SEQ IDNO:3 所表示的碱基序列具有 90%以上、优选 95%以上、更优选 98%以上的同一性的碱基序列的多核苷酸。

[0157] 作为在严格条件下与由 SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列的互补的碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸,可以列举出例如:在 SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列中,1 个或多个(例如 1 个或多个)核酸中发生缺失、取代或增加等突变而得到的碱基序列。

[0158] 作为在严格条件下与由 SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列的互补的碱基序列构成的多核苷酸杂交的多核苷酸,可以列举出例如:

[0159] (i) SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列中的 1~9 个(例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个)核酸发生缺失而得的碱基序列,

[0160] (ii) 在 SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列中增加 1~9 个(例如 1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个)核酸而得的碱基序列,

[0161] (iii) SEQ ID NO :3 所表示的碱基序列中的 1~9 个(例如、1~5 个、优选 1~3 个、更优选 1~2 个、更优选 1 个)核酸被其它核酸取代而得到的碱基序列,

[0162] (iv) 因上述 (i)~(iii) 的组合而突变得到的碱基序列,等等。

[0163] 在本说明书中,氨基酸序列的“同一性”(也称同源性)是指:在所比较的序列间,构成各个序列的氨基酸残基的一致程度。在计算相对于比较对照氨基酸序列而言的指定氨基酸序列所具有的同源性时,要考虑空位的存在和氨基酸的性质(Wilbur, Natl. Acad. Sci. U. S. A. 80 :726-730(1983))。同一性的计算中可以使用市售软件即 BLAST(Altschul : J. Mol. Biol. 215 :403-410(1990))、FASTA(Pearson :Methods in Enzymology 183 :63-69(1990))等。

[0164] “同一性”的数值均可以为使用本领域技术人员公知的同源性检索程序计算出的数值,例如,可以在全美生物技术信息中心(NCBI)的同源性算法 BLAST(Basic local alignment search tool)<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>中通过使用缺省(初始设定)的参数来计算。

[0165] 在本发明中,FGFR2 包含后述的突变型 FGFR2。

[0166] (2) 过量表达 FGFR2 的细胞

[0167] 在本发明中,作为过量表达 FGFR2 的细胞,可以列举出例如:与正常细胞相比,以相当多的量表达 FGFR2 的细胞。此外,在本发明中,作为过量表达 FGFR2 的细胞可以列举出例如:与正常细胞相比,FGFR2 的表达为 1.5 倍以上、优选 2 倍以上、更优选 3 倍以上、更优选 4 倍以上的细胞。这里,在本发明中,“正常细胞”可以列举出例如癌(例如未分化型胃癌等)细胞以外的细胞。

[0168] 在本发明中,过量表达 FGFR2 的细胞优选为未分化型胃癌的细胞,更优选为选自低分化腺癌、印戒细胞癌、粘液癌和胃硬癌中的至少一种的细胞。

[0169] FGFR2 表达量可以通过例如测定细胞中表达的 FGFR2 的蛋白质和/或 mRNA 来分析。

[0170] 蛋白质的测定可以列举出例如:免疫化学方法(例如免疫组织化学方法、免疫沉淀法、western 印迹、流式细胞术、ELISA、RIA 等)、基于质量分析的方法等,优选免疫化学方法,特别优选流式细胞术。这些方法可以按常规方式进行。

[0171] 另一方面,mRNA 的测定可以列举出例如:原位(in situ)杂交、Northern 印迹分析、DNA 微阵列、RT-PCR、定量 RT-PCR 等方法,优选 RT-PCR 或定量 RT-PCR。这些方法可以按常规方式进行。

[0172] (3) 表达突变型 FGFR2 的细胞

[0173] 在本发明中,作为突变型 FGFR2 可以列举出包含下述氨基酸序列的多肽:所述氨基酸序列是因野生型 FGFR2 氨基酸序列、例如 SEQ ID NO:2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)或 SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列)中、发生一或数个氨基酸的缺失、取代或增加或者这些得组合而突变得到的氨基酸序列。此外,作为突变型 FGFR2,优选可以列举出:包含下述氨基酸序列、并且具有与 FGFR2 实质上相同的活性的多肽,所述氨基酸序列是因野生型 FGFR2 氨基酸序列、例如 SEQ ID NO:2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)或 SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列)中、发生一或数个氨基酸的缺失、取代或增加或者这些得组合而突变得到的氨基酸序列。在本发明中,作为表达突变型 FGFR2 的细胞,可以列举出表达上述多肽的细胞。

[0174] 作为突变型 FGFR2,可以列举出例如:包含下述氨基酸序列所表示的序列的多肽,所述氨基酸序列是 SEQ ID NO:2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)或 SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列)中、第 267 位的丝氨酸被其它氨基酸优选脯氨酸取代而得到的氨基酸序列(Cancer Research. 61, 3541-3543, 2001.)。

[0175] 此外,作为突变型 FGFR2,可以列举出包含下述突变部位的多肽,所述突变部位是野生型 FGFR2 氨基酸序列例如 SEQ ID NO:2 所表示的氨基酸序列中、第 22 位~第 822 位的氨基酸序列中缺失 C 末端侧的数个氨基酸而形成的,或者是 SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列的第 22 位~第 821 位氨基酸序列中缺失 C 末端侧的数个氨基酸而形成的。作为突变型 FGFR2,可以列举出例如:包含下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列是 SEQ IDNO:2 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列)中缺失至少第 813 位的 Tyr(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列中为第 792 位的 Tyr)、优选至少第 784 位的 Tyr(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列中为第 763 位的 Tyr)、更优选至少第 780 位的 Tyr(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列中为第 759 位的 Tyr)、更优选至少 770 位的 Tyr(第 22 位~第 822 位的氨基酸序列中为第 749 位的 Tyr)以后的氨基酸序列而得到的氨基酸序列。此外,包含下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列是 SEQ ID NO:4 所表示的氨基酸序列(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列)中缺失至少第 812 位的 Tyr(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列中为第 791 位的 Tyr)、优选至少第 783 位的 Tyr(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列中为第 762 位的 Tyr)、更优选至少第 779 位的 Tyr(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列中为第 758 位的 Tyr)、更优选至少第 769 位的 Tyr(第 22 位~第 821 位的氨基酸序列中为第 748 位的 Tyr)以后的氨基酸序列而得到的氨基酸序列。

[0176] 此外,突变型 FGFR2 优选为活化突变型 FGFR2。活化突变型 FGFR2 是指:配体非依赖性地引起自磷酸化、活化细胞内信号的突变型 FGFR2。

[0177] FGFR2 突变的有无可以通过分析 FGFR2 基因序列或作为 FGFR2 转录产物的 mRNA 的序列来考察。作为序列的分析方法,可以列举出例如双脱氧核苷酸链终止法(Sanger et al. (1977)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74:5463)等。也可以使用合适的 DNA 测序仪对序列进行分析。

[0178] 此外,FGFR2 突变的有无也可以采用例如 in situ 杂交、Northern 印迹分析、DNA 微

阵列、RT-PCR、SSCP-PCR(Single-Strand Conformation Polymorphism-PCR) 等方法来分析。这些方法可以按照常规方式进行。

[0179] 此外, FGFR2 突变的有无也可以采用例如免疫化学方法(例如、免疫组织化学方法、免疫沉淀法、western 印迹、流式细胞术、ELISA、RIA 等)来分析。这些方法可以按照常规方式进行。

[0180] 在本发明中,表达突变型 FGFR2 的细胞优选为未分化型胃癌的细胞,更优选为选自低分化腺癌、印戒细胞癌、粘液癌和胃硬癌中的至少一种的细胞。

[0181] (4) 本发明的 FGFR2 抑制物质

[0182] 在本说明书中,“卤素原子”指氟原子、氯原子、溴原子或碘原子。

[0183] 作为“卤素原子”的优选例子,可以列举出氟原子、氯原子。

[0184] 在本说明书中,“ $C_{1-6}$  烷基”是指碳原子数为 1 ~ 6 个的直链状或支链状烷基,作为具体的例子,可以列举出:甲基、乙基、1-丙基(正丙基)、2-丙基(异丙基)、2-甲基-1-丙基(异丁基)、2-甲基-2-丙基(叔丁基)、1-丁基(正丁基)、2-丁基(仲丁基)、1-戊基、2-戊基、3-戊基、2-甲基-1-丁基、3-甲基-1-丁基、2-甲基-2-丁基、3-甲基-2-丁基、2,2-二甲基-1-丙基、1-己基、2-己基、3-己基、2-甲基-1-戊基、3-甲基-1-戊基、4-甲基-1-戊基、2-甲基-2-戊基、3-甲基-2-戊基、4-甲基-2-戊基、2-甲基-3-戊基、3-甲基-3-戊基、2,3-二甲基-1-丁基、3,3-二甲基-1-丁基、2,2-二甲基-1-丁基、2-乙基-1-丁基、3,3-二甲基-2-丁基、2,3-二甲基-2-丁基等。

[0185] 作为“ $C_{1-6}$  烷基”的优选例,可以列举出甲基、乙基、1-丙基、2-丙基、2-甲基-1-丙基、2-甲基-2-丙基、1-丁基、2-丁基。

[0186] 在本说明书中,“ $C_{1-6}$  亚烷基”是指在上述定义的“ $C_{1-6}$  烷基”中再去掉任意 1 个氢原子而衍生出的二价基团,作为具体的例子,可以列举出:亚甲基、1,2-亚乙基、1,1-亚乙基、1,3-亚丙基、四亚甲基、五亚甲基、六亚甲基等。

[0187] 在本说明书中,“ $C_{2-6}$  烯基”是指具有 1 个双键的、碳原子数为 2 ~ 6 个的直链状或支链状烯基,作为具体的例子,可以列举出:乙烯基、1-丙烯基、2-丙烯基(烯丙基)、1-丁烯基、2-丁烯基、3-丁烯基、戊烯基、己烯基等。

[0188] 在本说明书中,“ $C_{2-6}$  炔基”是指具有 1 个三键的、碳原子数为 2 ~ 6 个的直链状或支链状炔基,作为具体的例子,可以列举出:乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、戊炔基、己炔基等。

[0189] 在本说明书中,“ $C_{3-8}$  环烷基”是指碳原子数为 3 ~ 8 个的单环或二环饱和脂肪族烃基,作为具体的例子,可以列举出:环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、双环[2.1.0]戊基、双环[3.1.0]己基、双环[2.1.1]己基、双环[4.1.0]庚基、双环[2.2.1]庚基(降冰片烷基)、双环[3.3.0]辛基、双环[3.2.1]辛基、双环[2.2.2]辛基等。

[0190] 作为“ $C_{3-8}$  环烷基”的优选例,可以列举出环丙基、环丁基、环戊基。

[0191] 在本说明书中,“ $C_{6-10}$  芳基”是指碳原子数为 6 ~ 10 个的芳香性环烃基,作为具体的例子,可以列举出:苯基、1-萘基、2-萘基、茚基、蒽基等。

[0192] 作为“ $C_{6-10}$  芳基”的优选例,可以列举出苯基。

[0193] 在本说明书中,“杂原子”是指氮原子、氧原子或硫原子。

[0194] 在本说明书中,“5 ~ 10 元杂芳基”是指成环原子数为 5 ~ 10 个、且成环原子中包

含 1 ~ 5 个杂原子的芳香性环基, 作为具体的例子, 可以列举出: 呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、三唑基、四唑基、噻唑基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、异噻唑基、呋咱基、噻二唑基、噁二唑基、吡啶基、吡嗪基、哒嗪基、嘧啶基、三嗪基、嘌呤基、蝶啶基、喹啉基、异喹啉基、茶啶基、喹喔啉基、口普啉基、喹唑啉基、酞嗪基、咪唑并吡啶基、咪唑噻唑基、咪唑噁唑基、苯并噻唑基、苯并噁唑基、苯并咪唑基、吲哚基、异吲哚基、吲唑基、吡咯并吡啶基、噻吩并吡啶基、呋喃并吡啶基、苯并噻二唑基、苯并噁二唑基、吡啶并嘧啶基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、噻吩并呋喃基等。

[0195] 作为“5 ~ 10 元杂芳基”的优选例, 可以列举出: 呋喃基、噻吩基、吡咯基、咪唑基、噻唑基、吡唑基、噁唑基、异噁唑基、异噻唑基、吡啶基、嘧啶基。

[0196] 在本说明书中, “3 ~ 10 元非芳香族杂环基”是指满足下述条件的非芳香性环基:

[0197] (a) 成环原子数为 3 ~ 10 个

[0198] (b) 成环原子中包含 1 ~ 2 个杂原子

[0199] (c) 环中任选包含 1 ~ 2 个双键

[0200] (d) 环中任选包含 1 ~ 3 个羰基、亚磺酰基或磺酰基

[0201] (e) 单环或二环,

[0202] 当成环原子中含有氮原子时, 氮原子上也可以有半键(结合手)。

[0203] 作为具体的例子, 可以列举出: 氮杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、氮杂环庚烷基、氮杂环辛烷基、哌嗪基、二氮杂环庚烷基、二氮杂环辛烷基、二氮杂双环[2.2.1]庚基、吗啉基、硫代吗啉基、1,1-二氧化硫代吗啉基、环氧乙烷基、氧杂环丁烷基、四氢呋喃基、二氧杂环戊烷基、四氢吡喃基、二氧杂环己烷基、四氢噻吩基、四氢噻喃基、噁唑烷基、噻唑烷基等。

[0204] 作为“3 ~ 10 元非芳香族杂环基”优选例, 可以列举出: 氮杂环丙烷基、氮杂环丁烷基、吡咯烷基、哌啶基、氮杂环庚烷基、哌嗪基、二氮杂环庚烷基、吗啉基、硫代吗啉基、1,1-二氧化硫代吗啉基、四氢呋喃基、四氢吡喃基。

[0205] 在本说明书中, “C<sub>1-6</sub> 烷氧基”是指在上述定义的“C<sub>1-6</sub> 烷基”的末端键合氧原子后所成的基团, 作为具体的例子, 可以列举出: 甲氧基、乙氧基、1-丙氧基(正丙氧基)、2-丙氧基(异丙氧基)、2-甲基-1-丙氧基(异丁氧基)、2-甲基-2-丙氧基(叔丁氧基)、1-丁氧基(正丁氧基)、2-丁氧基(仲丁氧基)、1-戊基氧基、2-戊基氧基、3-戊基氧基、2-甲基-1-丁氧基、3-甲基-1-丁氧基、2-甲基-2-丁氧基、3-甲基-2-丁氧基、2,2-二甲基-1-丙氧基、1-己基氧基、2-己基氧基、3-己基氧基、2-甲基-1-戊基氧基、3-甲基-1-戊基氧基、4-甲基-1-戊基氧基、2-甲基-2-戊基氧基、3-甲基-2-戊基氧基、4-甲基-2-戊基氧基、2-甲基-3-戊基氧基、3-甲基-3-戊基氧基、2,3-二甲基-1-丁氧基、3,3-二甲基-1-丁氧基、2,2-二甲基-1-丁氧基、2-乙基-1-丁氧基、3,3-二甲基-2-丁氧基、2,3-二甲基-2-丁氧基等。

[0206] 作为“C<sub>1-6</sub> 烷氧基”的优选例, 可以列举出: 甲氧基、乙氧基、1-丙氧基、2-丙氧基、2-甲基-1-丙氧基、2-甲基-2-丙氧基、1-丁氧基、2-丁氧基。

[0207] 在本说明书中, “C<sub>1-6</sub> 烷硫基”是指在上述定义的“C<sub>1-6</sub> 烷基”的末端键合硫原子后所成的基团, 作为具体的例子, 可以列举出: 甲基硫基、乙基硫基、1-丙基硫基(正丙基硫基)、2-丙基硫基(异丙基硫基)、2-甲基-1-丙基硫基(异丁基硫基)、2-甲基-2-丙基

硫基(叔丁基硫基)、1-丁基硫基(正丁基硫基)、2-丁基硫基(仲丁基硫基)、1-戊基硫基、2-戊基硫基、3-戊基硫基、2-甲基-1-丁基硫基、3-甲基-1-丁基硫基、2-甲基-2-丁基硫基、3-甲基-2-丁基硫基、2,2-二甲基-1-丙基硫基、1-己基硫基、2-己基硫基、3-己基硫基、2-甲基-1-戊基硫基、3-甲基-1-戊基硫基、4-甲基-1-戊基硫基、2-甲基-2-戊基硫基、3-甲基-2-戊基硫基、4-甲基-2-戊基硫基、2-甲基-3-戊基硫基、3-甲基-3-戊基硫基、2,3-二甲基-1-丁基硫基、3,3-二甲基-1-丁基硫基、2,2-二甲基-1-丁基硫基、2-乙基-1-丁基硫基、3,3-二甲基-2-丁基硫基、2,3-二甲基-2-丁基硫基等。

[0208] 作为“ $C_{1-6}$ 烷硫基”的优选例,可以列举出:甲基硫基、乙基硫基、1-丙基硫基(正丙基硫基)、2-丙基硫基(异丙基硫基)、2-甲基-1-丙基硫基(异丁基硫基)、2-甲基-2-丙基硫基(叔丁基硫基)、1-丁基硫基(正丁基硫基)、2-丁基硫基(仲丁基硫基)。

[0209] 在本说明书中,“ $C_{3-8}$ 环烷氧基”是指在上述定义的“ $C_{3-8}$ 环烷基”的末端键合氧原子后所成的基团,作为具体的例子,可以列举出:环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基、环己氧基、环庚氧基、环辛氧基、双环[2.1.0]戊氧基、双环[3.1.0]己氧基、双环[2.1.1]己氧基、双环[4.1.0]庚氧基、双环[2.2.1]庚氧基(降冰片烷基氧基)、双环[3.3.0]辛氧基、双环[3.2.1]辛氧基、双环[2.2.2]辛氧基等。

[0210] 作为“ $C_{3-8}$ 环烷氧基”的优选例,可以列举出环丙氧基、环丁氧基、环戊氧基。

[0211] 在本说明书中,“单 $C_{1-6}$ 烷基氨基”是指将氨基中的1个氢原子用上述定义的“ $C_{1-6}$ 烷基”取代后而成的基团,作为具体的例子,可以列举出:甲基氨基、乙基氨基、1-丙基氨基(正丙基氨基)、2-丙基氨基(异丙基氨基)、2-甲基-1-丙基氨基(异丁基氨基)、2-甲基-2-丙基氨基(叔丁基氨基)、1-丁基氨基(正丁基氨基)、2-丁基氨基(仲丁基氨基)、1-戊基氨基、2-戊基氨基、3-戊基氨基、2-甲基-1-丁基氨基、3-甲基-1-丁基氨基、2-甲基-2-丁基氨基、3-甲基-2-丁基氨基、2,2-二甲基-1-丙基氨基、1-己基氨基、2-己基氨基、3-己基氨基、2-甲基-1-戊基氨基、3-甲基-1-戊基氨基、4-甲基-1-戊基氨基、2-甲基-2-戊基氨基、3-甲基-2-戊基氨基、4-甲基-2-戊基氨基、2-甲基-3-戊基氨基、3-甲基-3-戊基氨基、2,3-二甲基-1-丁基氨基、3,3-二甲基-1-丁基氨基、2,2-二甲基-1-丁基氨基、2-乙基-1-丁基氨基、3,3-二甲基-2-丁基氨基、2,3-二甲基-2-丁基氨基等。

[0212] 在本说明书中,“二 $C_{1-6}$ 烷基氨基”是指将氨基中的2个氢原子分别用相同或不同的上述定义的“ $C_{1-6}$ 烷基”取代后而成的基团,作为具体的例子,可以列举出:N,N-二甲基氨基、N,N-二乙基氨基、N,N-二-正丙基氨基、N,N-二-异丙基氨基、N,N-二-正丁基氨基、N,N-二-异丁基氨基、N,N-二-仲丁基氨基、N,N-二-叔丁基氨基、N-乙基-N-甲基氨基、N-正丙基-N-甲基氨基、N-异丙基-N-甲基氨基、N-正丁基-N-甲基氨基、N-异丁基-N-甲基氨基、N-仲丁基-N-甲基氨基、N-叔丁基-N-甲基氨基等。

[0213] 在本说明书中,“ $C_{2-7}$ 酰基”是指键合有上述定义的“ $C_{1-6}$ 烷基”的羰基,作为具体的例子,可以列举出例如:乙酰基、丙酰基、异丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基、异戊酰基、三甲基乙酰基等。

[0214] 在本说明书中,“ $C_{2-7}$ 烷氧基羰基”是指键合有上述定义的“ $C_{1-6}$ 烷氧基”的羰基,作为具体的例子,可以列举出例如:甲氧基羰基、乙氧基羰基、1-丙基氧羰基、2-丙基氧羰基、2-甲基-2-丙基氧羰基等。

[0215] 在本说明书中,“任选具有取代基的”是指“任选在可取代的部位上以任意组合的

形式具有 1 个或多个取代基”，作为取代基的具体例子，可以列举出例如：卤素原子、羟基、巯基、硝基、氰基、甲酰基、羧基、氨基、甲硅烷基、甲磺酰基、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>2-6</sub> 烯基、C<sub>2-6</sub> 炔基、C<sub>3-8</sub> 环烷基、C<sub>6-10</sub> 芳基、5 ~ 10 元杂芳基、3 ~ 10 元非芳香族杂环基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基、C<sub>1-6</sub> 烷硫基、C<sub>3-8</sub> 环烷氧基、单 C<sub>1-6</sub> 烷基氨基、二 C<sub>1-6</sub> 烷基氨基、C<sub>2-7</sub> 酰基或 C<sub>2-7</sub> 烷氧基羰基等。这里，C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>2-6</sub> 烯基、C<sub>2-6</sub> 炔基、C<sub>3-8</sub> 环烷基、C<sub>6-10</sub> 芳基、5 ~ 10 元杂芳基、3 ~ 10 元非芳香族杂环基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基、C<sub>1-6</sub> 烷硫基、C<sub>3-8</sub> 环烷氧基、单 C<sub>1-6</sub> 烷基氨基、二 C<sub>1-6</sub> 烷基氨基、C<sub>2-7</sub> 酰基以及 C<sub>2-7</sub> 烷氧基羰基彼此独立，任选具有选自下述取代基群中的 1 ~ 3 个基团。

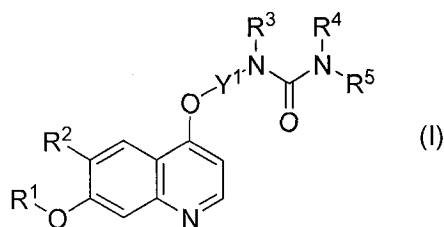
[0216] < 取代基群 >

[0217] 卤素原子、羟基、巯基、硝基、氰基、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>3-8</sub> 环烷基、C<sub>2-6</sub> 烯基、C<sub>2-6</sub> 炔基、C<sub>6-10</sub> 芳基、5 ~ 10 元杂芳基、3 ~ 10 元非芳香族杂环基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基以及 C<sub>1-6</sub> 烷硫基。

[0218] 在本发明中，作为 FGFR2 抑制物质，可以列举出例如

[0219] 通式 (I)

[0220]



[0221] 所表示的化合物。

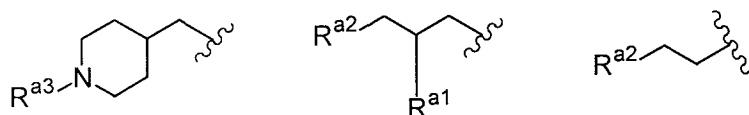
[0222] (i) R<sup>1</sup>

[0223] R<sup>1</sup> 为用式 -V<sup>1</sup>-V<sup>2</sup>-V<sup>3</sup> (式中，V<sup>1</sup> 表示任选具有取代基的 C<sub>1-6</sub> 亚烷基；V<sup>2</sup> 表示单键、氧原子、硫原子、羰基、亚磺酰基、磺酰基、式 -CONR<sup>6</sup>- 表示的基团、式 -SO<sub>2</sub>NR<sup>6</sup>- 表示的基团、式 -NR<sup>6</sup>SO<sub>2</sub>- 表示的基团、式 -NR<sup>6</sup>CO- 表示的基团或式 -NR<sup>6</sup>- 表示的基团 (式中，R<sup>6</sup> 表示氢原子、任选具有取代基的 C<sub>1-6</sub> 烷基或任选具有取代基的 C<sub>3-8</sub> 环烷基)；V<sup>3</sup> 表示氢原子、任选具有取代基的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 烯基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 炔基、任选具有取代基的 C<sub>3-8</sub> 环烷基、任选具有取代基的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选具有取代基的 5 ~ 10 元杂芳基或任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基) 表示的基团。

[0224] 作为 R<sup>1</sup> 的优选例，可以列举出 C<sub>1-6</sub> 烷基。而且，该情况下，R<sup>1</sup> 任选具有选自任选具有 C<sub>1-6</sub> 烷基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基、羟基、C<sub>1-6</sub> 烷氧基、氨基、单 C<sub>1-6</sub> 烷基氨基及二 C<sub>1-6</sub> 烷基氨基中的取代基。

[0225] 作为 R<sup>1</sup> 的更优选例，可以列举出：甲基或式

[0226]



[0227] (式中，R<sup>a3</sup> 表示甲基；R<sup>a1</sup> 表示氢原子或羟基；R<sup>a2</sup> 表示甲氧基、乙氧基、1-吡咯烷基、1-哌啶基、4-吗啉基、二甲基氨基或二乙基氨基) 中的任何一个所表示的基团。

[0228] 作为 R<sup>1</sup> 的更优选例，可以列举出：甲基或 2-甲氧基乙基。

[0229] (ii)R<sup>2</sup>

[0230] R<sup>2</sup>为氰基、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷氧基、羧基、任选具有取代基的C<sub>2-7</sub>烷氧基羰基或式-CONV<sup>a11</sup>V<sup>a12</sup>(式中,V<sup>a11</sup>表示氢原子、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷基、任选具有取代基的C<sub>2-6</sub>烯基、任选具有取代基的C<sub>2-6</sub>炔基、任选具有取代基的C<sub>3-8</sub>环烷基、任选具有取代基的C<sub>6-10</sub>芳基、任选具有取代基的5~10元杂芳基或任选具有取代基的3~10元非芳香族杂环基;V<sup>a12</sup>表示氢原子、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷基、任选具有取代基的C<sub>2-6</sub>烯基、任选具有取代基的C<sub>2-6</sub>炔基、任选具有取代基的C<sub>3-8</sub>环烷基、任选具有取代基的C<sub>6-10</sub>芳基、任选具有取代基的5~10元杂芳基、任选具有取代基的3~10元非芳香族杂环基、羟基、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷氧基或任选具有取代基的C<sub>3-8</sub>环烷氧基)表示的基团。

[0231] 作为R<sup>2</sup>的优选例,可以列举出:氰基或式-CONV<sup>a11</sup>V<sup>a12</sup>(式中,V<sup>a11</sup>和V<sup>a12</sup>同前述定义)表示的基团。

[0232] 作为R<sup>2</sup>的更优选例,可以列举出:氰基或式-CONHV<sup>a16</sup>(式中,V<sup>a16</sup>表示氢原子、C<sub>1-6</sub>烷基、C<sub>3-8</sub>环烷基、C<sub>1-6</sub>烷氧基或C<sub>3-8</sub>环烷氧基,而且V<sup>a16</sup>任选具有选自卤素原子、氰基、羟基及C<sub>1-6</sub>烷氧基中的取代基)表示的基团。

[0233] 作为R<sup>2</sup>的更优选例,可以列举出式-CONHV<sup>a17</sup>(式中,V<sup>a17</sup>表示氢原子、C<sub>1-6</sub>烷基或C<sub>1-6</sub>烷氧基)表示的基团。

[0234] 作为R<sup>2</sup>的最优选例,可以列举出式-CONHV<sup>a18</sup>(式中,V<sup>a18</sup>表示氢原子、甲基或甲氧基)表示的基团。

[0235] (iii)Y<sup>1</sup>

[0236] Y<sup>1</sup>为式

[0237]

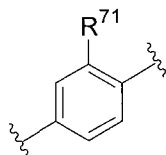


[0238] (式中,R<sup>7</sup>和R<sup>8</sup>彼此独立,表示氢原子、卤素原子、氰基、硝基、氨基、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷基、任选具有取代基的C<sub>3-8</sub>环烷基、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷氧基、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷硫基、甲酰基、任选具有取代基的C<sub>2-7</sub>酰基、任选具有取代基的C<sub>2-7</sub>烷氧基羰基或式-CONV<sup>d1</sup>V<sup>d2</sup>(式中,V<sup>d1</sup>和V<sup>d2</sup>彼此独立,表示氢原子或任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷基)表示的基团;

[0239] W<sup>1</sup>和W<sup>2</sup>彼此独立,表示任选具有取代基的碳原子或氮原子)表示的基团。

[0240] 作为Y<sup>1</sup>的优选例,可以列举出式

[0241]



[0242] (式中,R<sup>71</sup>表示氢原子或卤素原子)表示的基团。

[0243] (iv)R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>

[0244] R<sup>3</sup>和R<sup>4</sup>彼此独立,表示氢原子、任选具有取代基的C<sub>1-6</sub>烷基、任选具有取代基的C<sub>2-6</sub>

烯基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 炔基、任选具有取代基的 C<sub>3-8</sub> 环烷基、任选具有取代基的 C<sub>2-7</sub> 酰基或任选具有取代基的 C<sub>2-7</sub> 烷氧基羰基。

[0245] 作为 R<sup>3</sup> 和 R<sup>4</sup> 的优选例,可以列举出氢原子。

[0246] (v)R<sup>5</sup>

[0247] R<sup>5</sup> 表示氢原子、任选具有取代基的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 烯基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 炔基、任选具有取代基的 C<sub>3-8</sub> 环烷基、任选具有取代基的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选具有取代基的 5 ~ 10 元杂芳基、任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基。

[0248] 作为 R<sup>5</sup> 的优选例,可以列举出:氢原子、任选具有取代基的 C<sub>1-6</sub> 烷基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 烯基、任选具有取代基的 C<sub>2-6</sub> 炔基、任选具有取代基的 C<sub>3-8</sub> 环烷基、任选具有取代基的 C<sub>6-10</sub> 芳基、任选具有取代基的 3 ~ 10 元非芳香族杂环基。

[0249] 作为 R<sup>5</sup> 的更优选例,可以列举出:氢原子、C<sub>1-6</sub> 烷基、C<sub>3-8</sub> 环烷基或 C<sub>6-10</sub> 芳基(而且, R<sup>5</sup> 任选具有选自卤素原子和甲磺酰基中的至少一种取代基)。

[0250] 作为 R<sup>5</sup> 的更优选例,可以列举出甲基、乙基或环丙基。

[0251] 此外,作为通式 (I) 所表示的化合物的优选例子,可以列举出:

[0252] N-(4-(6-氰基-7-(2-甲氧基乙氧基)-4-喹啉基)氧-2-氟苯基)-N'-(4-氟苯基)脲、

[0253] N-(2-氯-4-((6-氰基-7-((1-甲基-4-哌啶基)甲氧基)-4-喹啉基)氧)苯基)-N'-环丙基脲、

[0254] N-(4-((6-氰基-7-(((2R)-3-(二乙基氨基)-2-羟基丙基)氧)-4-喹啉基)氧)苯基)-N'-(4-氟苯基)脲、

[0255] N-(4-((6-氰基-7-(((2R)-2-羟基-3-(1-吡咯烷基)丙基)氧)-4-喹啉基)氧)苯基)-N'-(4-氟苯基)脲、

[0256] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0257] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-(2-甲氧基乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、

[0258] N6-环丙基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0259] N6-(2-甲氧基乙基)-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0260] N6-(2-氟乙基)-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0261] N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0262] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0263] N6-乙基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0264] 4-(3-氟-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-(2-甲氧基乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、

- [0265] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-(2-羟基乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0266] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-((2S)-2,3-二羟基丙基)氧-6-氨甲酰喹啉、
- [0267] 4-(3-氯-4-(甲基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0268] 4-(3-氯-4-(乙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0269] N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0270] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-(2-乙氧基乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0271] 4-(4-((环丙基氨基)羰基)氨基苯氧基)-7-(2-甲氧基乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0272] N-(2-氟-4-((6-氨基甲酰基-7-甲氧基-4-喹啉基)氧)苯基)-N'-环丙基脲、
- [0273] N6-(2-羟基乙基)-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0274] 4-(3-氯-4-(1-丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0275] 4-(3-氯-4-(顺-2-氟-环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0276] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-(2-甲氧基乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0277] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0278] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-(2-(4-吗啉代)乙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0279] 4-(3-氯-4-(2-氟乙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0280] N6-((2R)四氢-2-呋喃基甲基)-4-(3-氯-4-(((甲基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0281] 4-(3-氟-4-(乙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、
- [0282] 4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((2R)-2-羟基-3-(1-吡咯烷基)丙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0283] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((甲基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((2R)-3-二乙基氨基-2-羟基丙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0284] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((2R)-3-二乙基氨基-2-羟基丙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0285] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((甲基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((2R)-2-羟基-3-(1-吡咯烷基)丙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0286] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((2R)-2-羟基-3-(1-吡咯烷基)丙氧基)-6-氨甲酰喹啉、
- [0287] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((甲基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((1-甲基-4-哌

啶基)甲氧基)-6-氨甲酰喹啉、

[0288] N6-甲基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-((1-甲基-4-哌啶基)甲氧基)-6-氨甲酰喹啉、

[0289] N-(4-(6-氰基-7-(2-甲氧基乙氧基)-4-喹啉基)氧-2-氟苯基)-N'-环丙基脲、

[0290] N-(4-(6-氰基-7-(3-(4-吗啉代)丙氧基)-4-喹啉基)氧苯基)-N'-(3-(甲基磺酰基)苯基)脲、

[0291] 4-(4-((环丙基氨基)羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0292] 4-(3-氟-4-((2-氟乙基氨基)羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0293] N6-(2-乙氧基乙基)-4-(3-氯-4-(((甲基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0294] 4-(4-(3-乙基脲基)-3-氟-苯氧基)-7-甲氧基喹啉-6-羧酸(2-氰基乙基)酰胺

[0295] 和

[0296] N-(4-(6-(2-氰基乙基)氨基甲酰基-7-甲氧基-4-喹啉基)氧-2-氟苯基)-N'-环丙基脲。

[0297] 而且,作为通式(I)所表示的化合物的更优选的例子,可以列举出:

[0298] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0299] 4-(3-氯-4-(乙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0300] N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0301] 4-(3-氯-4-(甲基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉

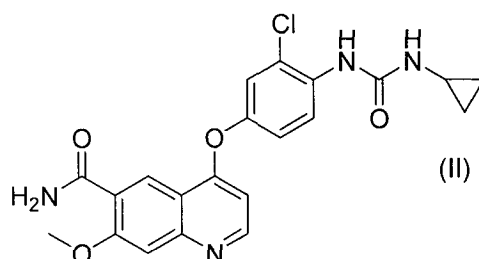
[0302] 和

[0303] N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉。

[0304] 此外,作为通式(I)所表示的化合物的更优选的例子,可以列举出4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉(参照式(II))。

[0305] 作为FGFR2抑制物质的最优选例子,可以列举出4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉的甲磺酸盐。

[0306]

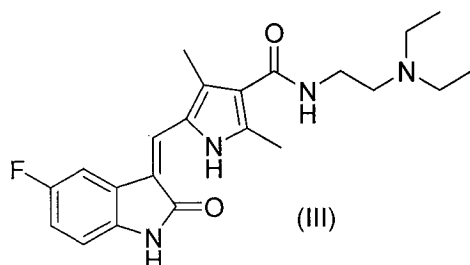


[0307] 通式(I)所表示的化合物可以采用公知方法制造,例如可以采用国际公开第02/32872号小册子(W002/32872)和国际公开第2005/063713号小册子(W02005/063713)的任意一个中记载的方法制造。

[0308] 此外,在本发明中,作为FGFR2抑制物质,可以列举出例如:

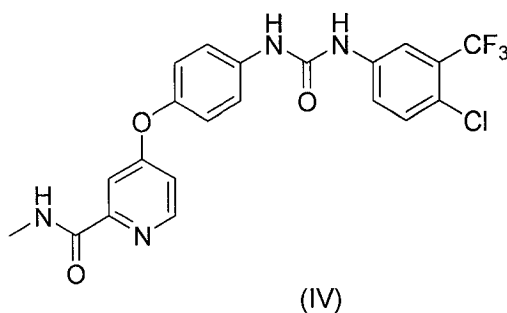
[0309] 5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吲哚-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨基乙基)酰胺(以下也称“SU11248”, Journal of Medicinal Chemistry., 46:1116-9, 2003.、W001/060814)(参照式(III))、

[0310]



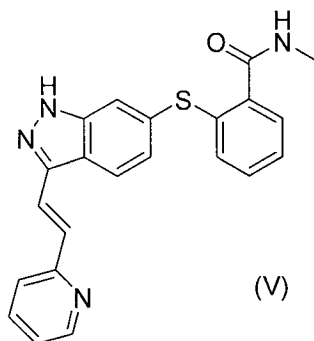
[0311] N-(3-三氟甲基-4-氯苯基)-N'-(4-(2-甲基氨基甲酰基吡啶-4-基)氧苯基)脲(以下也称“BAY 43-9006”和“sorafenib”, W000/42012)(参照式(IV))、

[0312]



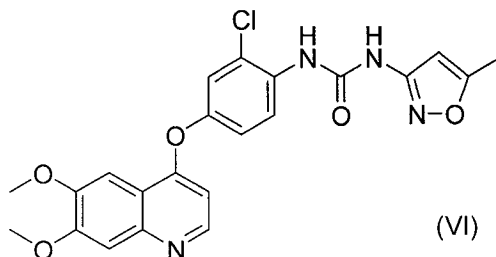
[0313] 6-[2-(甲基氨基甲酰基)苯基巯基]-3-E-[2-(吡啶-2-基)乙烯基]吲唑(以下也称“AG013736”, W001/002369)(参照式(V))、

[0314]



[0315] N-{2-氯-4-[(6,7-二甲氧基-4-喹啉基)氧]苯基}-N'-(5-甲基-3-异噁唑基)脲(以下也称“KRN951”, W002/088110)(参照式(VI))、

[0316]



[0317] 等等。

[0318] SU11248、BAY 43-9006、AG013736 和 KRN951 可以采用公知方法制造,例如采用各文献中记载的方法制造。

[0319] 在本发明中,有些情况下,FGFR2 抑制物质也会与酸或碱形成药理学可接受的盐。在本发明中,FGFR2 抑制物质也包括这些药理学可接受的盐。作为与酸形成的盐可以列举出例如:与盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐等形成的无机酸盐以及与甲酸、乙酸、乳酸、琥珀酸、富马酸、马来酸、柠檬酸、酒石酸、硬脂酸、安息香酸、甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、三氟乙酸等形成的有机酸盐等。此外,作为与碱形成的盐,可以列举出:钠盐、钾盐等碱金属盐,钙盐、镁盐等碱土金属盐,三甲基胺、三乙基胺、吡啶、甲基吡啶、二环己基胺、N,N'-二苄基亚乙基二胺、精氨酸、赖氨酸等有机碱盐,氨盐等。

[0320] 此外,在本发明中,有些情况下 FGFR2 抑制物质以这些溶剂合物的形式存在,而且有些情况下存在光学异性体。在本发明中,FGFR2 抑制物质中包括这些溶剂合物和光学异性体。溶剂合物可以列举出例如水合物、非水合物等,优选可以列举出水合物。溶剂可以列举出例如:水、醇(例如、甲醇、乙醇、正丙醇)、二甲基甲酰胺等。

[0321] 而且,在本发明中,FGFR2 抑制物质可以是晶体也可以是非晶体,此外,当存在晶体同质多晶时,可以是它们之中任意一种晶形的单一物纯品,也可以是这些晶形的混合物。

[0322] 此外,在本发明中,FGFR2 抑制物质还包括 FGFR2 抑制物质在生物体内受到氧化、还原、水解、结合(抱合)等代谢而生成的代谢物。此外,在本发明中,FGFR2 抑制物质还包括在生物体内受到氧化、还原、水解等代谢而生成 FGFR2 抑制物质的化合物。

[0323] 而且,本发明的 FGFR2 抑制物质优选具有抑制 FGFR2 的激酶活性的活性(以下也称“FGFR2 抑制活性”)的物质。在本说明书中,“FGFR2 的激酶活性”是指:FGFR2 磷酸化其自身或其它蛋白质的酪氨酸残基的活性。

[0324] FGFR2 抑制物质所具有的 FGFR2 抑制活性的测定方法,可以列举出例如:无细胞(Cell free) 激酶试验、western 印迹、细胞增殖试验、生存试验等。细胞增殖试验可以列举出例如:氘胸苷(トリチウムチミジン) 摄入量、MTT 法、XTT 法(cell counting kit-8(同仁化学公司))、阿拉玛蓝(アラマブルー) 法、中性红法、BrdU 法、Ki67 染色法、PCNA 染色法等。生存试验可以列举出例如:TUNNEL 染色法、胱天蛋白酶-3 切割检测法、PARP 切割检测法等。这些方法可以按常规进行(Blood. 2005, 105, 2941-2948. , MolecularCancer Therapeutics. 2005, 4, 787-798.)。

[0325] 以下,描述 FGFR2 抑制活性测定方法的一个例子。

[0326] FGFR2 抑制活性可以通过无细胞激酶试验来测定。

[0327] FGFR2 可以按常规通过基因工程方法来制备。例如,采用杆状病毒表达系统(Baculovirus Expression System) 方法,可以使昆虫细胞(草地夜蛾(Spondoptea frugiperda)9(Sf9)) 以人重组体 GST 融合蛋白质、人重组体组氨酸标签融合蛋白质等的形式来表达。此外,表达出的重组体蛋白质可以采用亲和柱层析(例如、GSH- 琼脂糖(SIGMA 公司制) 或 Ni-NTH- 琼脂糖(QIAGEN 公司制) 等) 进行纯化。蛋白质的纯度以及鉴定可以采用 SDS-PAGE、银染色以及使用针对 FGFR2 的特异抗体的 western 印迹来确认。

[0328] 无细胞激酶试验可以如下述地进行。

[0329] 首先,可以在板(例如、96 孔、384 孔等) 的各孔中添加包含 ATP 溶液、受试物质、FGFR2 重组体蛋白质 5-10mU 以及 0.1mg/ml 的 Poly(Glu,Tyr)<sub>4:1</sub> 的溶液 25 μl。可以向混

合溶液中添加 MgATP 来开始反应。

[0330] 该混合溶液 25  $\mu$  l 中可以含有 8mM MOPS (pH 7.0)、0.2mM EDTA、2.5mM  $MnCl_2$ 、10mM 乙酸镁等。此时,ATP 可以使用 [ $\gamma$ - $^{32}P$ ]-ATP、[ $\gamma$ - $^{33}P$ ]-ATP 等用放射性同位体标记的 ATP。

[0331] 反应液在温育一定时间后,可以通过添加 3%磷酸 5  $\mu$  L 来停止反应。

[0332] 可以对各孔进行适宜的清洗操作。

[0333] 通过测定 ATP 摄入量,可以评价 FGFR2 抑制活性。当使用上述放射性同位素标记 ATP 时,ATP 的摄入量可以通过用闪烁计数器测定板上捕捉的放射活性来评价。此外,可以将一定量的反应液点样在滤膜上、通过使用闪烁计数器测定点样部分的放射活性来进行评价。可以对滤膜进行适宜的清洗操作。

[0334] 通过上述方法可以评价化合物的 FGFR2 抑制活性。

[0335] (5) 药物组合物、治疗剂、治疗方法

[0336] 本发明的治疗剂是含有 FGFR2 抑制物质的、针对未分化型胃癌的治疗剂。本发明的治疗剂可以对优选包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体加以应用。

[0337] 这里,未分化型胃癌包括低分化腺癌、印戒细胞癌、粘液癌(胃癌操作规程(第 13 版))。此外,未分化型胃癌中,癌细胞容易扩散,并且容易纤维化而形成胃硬癌(scirrhous gastric cancer)。因此,本发明的治疗剂对于选自低分化腺癌、印戒细胞癌、粘液癌和胃硬癌中的至少一种胃癌是有效的。

[0338] 本发明的治疗剂可以施用于哺乳动物(例如人、大鼠、兔、羊、猪、牛、猫、狗、猴等)。

[0339] 此外,本发明的药物组合物是用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有 FGFR2 抑制物质的药物组合物。

[0340] 本发明的药物组合物可以作为针对以包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种为特征的疾病的治疗剂应用。作为所述疾病,可以列举出例如未分化型胃癌等。

[0341] 本发明的药物组合物可以针对生物体即哺乳动物(例、人、大鼠、兔、羊、猪、牛、猫、狗、猴等)来施用。在本发明中,该生物体可以具有过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的任何一种,也可以具有这两种。

[0342] 在本发明中,治疗剂包括预后改善剂和复发预防剂等。当作为针对癌的治疗剂时,治疗剂包括抗肿瘤剂和癌转移抑制剂等。

[0343] 治疗的效果可以通过放射线照片、CT 等的观察结果、活检的病理组织诊断来确认,或者通过疾病标志物的值来确认。

[0344] 当使用本发明的治疗剂或药物组合物时,FGFR2 抑制物质的施用量因症状程度、患者年龄、性别、体重、敏感性差异、施用方法、施用时期、施用间隔、药物制剂的性质、调剂、种类、有效成分的种类等而异,并非特殊限制,但通常成人(体重 60Kg)每日为 0.1 ~ 1000mg、优选 0.5 ~ 100mg、更优选 1 ~ 30mg,这些通常 1 日分 1 ~ 3 次施用。

[0345] 含有本发明的 FGFR2 抑制物质作为有效成分的治疗剂或药物组合物可以直接使用,通常,可以使用混合了适当添加剂的制剂化后的制品。

[0346] 作为上述添加剂,可以列举出一般在药物中使用的赋形剂、粘合剂、滑润剂、崩解

剂、着色剂、矫味剂、乳化剂、表面活性剂、增溶剂、悬助剂、等渗剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、稳定剂、吸收促进剂等,根据需要,它们可以适宜地组合使用。以下举出上述添加剂的例子。

[0347] 赋形剂:乳糖、白糖、葡萄糖、玉米淀粉、甘露醇、山梨醇、淀粉、 $\alpha$ 化淀粉、糊精、结晶纤维素、轻质无水硅酸、硅酸铝、硅酸钙、偏硅酸铝酸镁、磷酸氢钙

[0348] 粘合剂:例如聚乙烯醇、甲基纤维素、乙基纤维素、阿拉伯胶、黄耆胶、明胶、紫胶、羟基丙基甲基纤维素、羟基丙基纤维素、羧甲基纤维素钠、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙二醇

[0349] 滑润剂:硬脂酸镁、硬脂酸钙、富马酸硬脂基钠、滑石、聚乙二醇、胶体二氧化硅

[0350] 崩解剂:结晶纤维素、琼脂、明胶、碳酸钙、碳酸氢钠、柠檬酸钙、糊精、果胶、低取代度羟基丙基纤维素、羧基甲基纤维素、羧基甲基纤维素钙、交联羧甲基纤维素钠、羧基甲基淀粉、羧基甲基淀粉钠

[0351] 着色剂:氧化铁、黄色氧化铁、肌苷、焦糖、 $\beta$ -胡萝卜素、氧化钛、滑石、磷酸核黄素钠、黄色铝色淀等允许在药品中添加的着色剂

[0352] 矫味剂:可可粉、薄荷脑、芳香粉、薄荷油、龙脑、桂皮粉

[0353] 乳化剂或表面活性剂:硬脂酰三乙醇胺、十二烷基硫酸钠、十二烷基氨基丙酸、卵磷脂、单硬脂酸甘油、蔗糖脂肪酸酯、甘油脂肪酸酯

[0354] 增溶剂:聚乙二醇、丙二醇、苯甲酸苯甲酯、乙醇、胆固醇、三乙醇胺、碳酸钠、柠檬酸钠、聚山梨酯 80、烟酰胺

[0355] 悬浊剂:除所述表面活性剂之外,例如聚乙烯醇、聚乙烯基吡咯烷酮、甲基纤维素、羟基甲基纤维素、羟基乙基纤维素、羟基丙基纤维素等亲水性高分子

[0356] 等渗剂:葡萄糖、氯化钠、甘露醇、山梨醇

[0357] 缓冲剂:磷酸盐、乙酸盐、碳酸盐、柠檬酸盐等的缓冲液

[0358] 防腐剂:尼泊金甲酯、尼泊金丙酯、三氯叔丁醇、苄醇、苯乙醇、脱氢乙酸、山梨酸

[0359] 抗氧化剂:硫酸盐、抗坏血酸、 $\alpha$ -生育酚

[0360] 稳定剂:一般用于药物的

[0361] 吸收促进剂:一般用于药物的

[0362] 此外,根据需要,还可以配合维生素类、氨基酸等成分。

[0363] 此外,作为上述制剂,可以列举出:片剂、散剂、颗粒剂、细粒剂、胶囊剂、糖浆剂、含片剂、吸入剂等口服剂;栓剂、软膏剂、眼软膏剂、带剂(テープ剂)、滴眼剂、滴鼻剂、滴耳剂、罨剂、洗剂等外用剂或注射剂。

[0364] 上述口服剂可以与上述添加剂适宜组合而制剂化。而且,视需要,可以对它们的表面进行包衣。

[0365] 上述外用剂可以与上述添加剂中的、特别是赋形剂、粘合剂、矫味矫臭剂、乳化剂、表面活性剂、增溶剂、悬助剂、等渗剂、防腐剂、抗氧化剂、稳定剂或吸收促进剂适宜组合而制剂化。

[0366] 上述注射剂可以与上述添加剂中的、特别是乳化剂、表面活性剂、增溶剂、悬助剂、等渗剂、缓冲剂、防腐剂、抗氧化剂、稳定剂或吸收促进剂适宜组合而制剂化。注射剂可以以点滴、肌肉注射、皮下注射、皮内注射、静脉注射等方法使用。

[0367] 本发明包括以对患者施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的、针对未分化型胃癌

的治疗方法。

[0368] 此外,本发明包括以对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的、疾病治疗方法。在本发明中,上述疾病优选为未分化型胃癌。

[0369] 在本发明的治疗方法中,对 FGFR2 抑制物质的施用途径和施用方法没有特殊限制,可以参照上述本发明的药物组合物或治疗剂中的记载。

[0370] 本发明包括 FGFR2 抑制物质在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途。

[0371] 此外,本发明包括 FGFR2 抑制物质在制造用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物中的用途。在本发明的用途中,上述药物组合物作为针对未分化型胃癌的治疗剂是有用的。

[0372] 本发明包括用于针对未分化型胃癌的治疗剂的 FGFR2 抑制物质。

[0373] 此外,本发明包括用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的药物组合物的 FGFR2 抑制物质。在本发明中,上述药物组合物作为针对未分化型胃癌的治疗剂是有用的。

[0374] 而且,本发明提供含有通式 (I) 所表示的化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的 FGFR2 抑制剂。FGFR2 抑制剂具有抑制 FGFR2 的激酶活性的作用。

[0375] 通式 (I) 所表示的化合物如上述,其中,优选 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨基吡啶啉。本发明更优选提供含有 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨基吡啶啉的甲磺酸盐的 FGFR2 抑制剂。

[0376] 而且,本发明提供含有选自下组中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的 FGFR2 抑制剂:

[0377] N-(3-三氟甲基-4-氯苯基)-N'-(4-(2-甲基氨基甲酰基吡啶-4-基)氧苯基)脲 (BAY 43-9006)、

[0378] 6-[2-(甲基氨基甲酰基)苯基巯基]-3-E-[2-(吡啶-2-基)乙烯基]吡啶 (AG013736)、

[0379] 5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸 (2-二乙基氨基乙基)酰胺 (SU11248)

[0380] 和

[0381] N-{2-氯-4-[(6,7-二甲氧基-4-吡啶基)氧]苯基}-N'-(5-甲基-3-异噁唑基)脲 (KRN951)。

[0382] 本发明的 FGFR2 抑制剂所具有的 FGFR2 抑制活性可以如前述地测定。

[0383] 本发明的 FGFR2 抑制剂可以以化合物状态直接使用,也可以使用与所述的适当添加剂混和而制剂化的制品。

[0384] 本发明 FGFR2 抑制剂的用法、用量可以参照上述对治疗剂或药物组合物的描述。

[0385] 此外,本发明包括选自通式 (I) 所表示的化合物、SU11248、BAY 43-9006、AG013736 和 KRN951 中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物在制造 FGFR2 抑制剂中的用途。

[0386] 而且,本发明包括用于 FGFR2 抑制剂的选自通式 (I) 所表示的化合物、SU11248、

BAY 43-9006、AG013736 和 KRN951 中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0387] 此外,本发明包括利用选自通式 (I) 所表示的化合物、SU11248、BAY43-9006、AG013736 和 KRN951 中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物的、FGFR2 抑制方法优选 FGFR2 的激酶活性抑制方法。在本发明的方法中,对于该化合物等的用法、用量没有特殊限制,可以参照上述对于药物组合物或治疗剂的描述。

## [0388] 2. 预测敏感性的方法

[0389] 本发明提供以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标、来预测患者对本发明的 FGFR2 抑制物质是否为高敏感性的方法。对 FGFR2 抑制物质敏感性高的患者是该物质的治疗效果更令人期待的患者。

[0390] 在本发明的方法中,患者优选为未分化型胃癌患者,更优选为选自低分化腺癌、印戒细胞癌、粘液癌和胃硬癌中的至少一种的患者。

[0391] (1) 测定选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种的步骤

[0392] 在本步骤中,细胞优选为取自患者的细胞。而且,例如,细胞可以通过采用外科的处置(例如,活组织检查等)从患者取出而得到。

[0393] 细胞优选为肿瘤细胞。此外,在起因于遗传学突变的未分化型胃癌中,细胞优选使用血液细胞。

[0394] 这里,过量表达 FGFR2 的细胞或表达突变型 FGFR2 的细胞的含义如“1. 本发明的药物组合物、治疗剂和治疗方法”中所述。FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无可以按照“1. 本发明的药物组合物、治疗剂和治疗方法”中描述的方法来测定。

[0395] 在本步骤中,可以测定 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的任意一个,或者也可以测定这两者。

[0396] (2) 预测患者对 FGFR2 抑制物质是否为高敏感性的步骤

[0397] 在本步骤中,优选以(1)中测定的选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标、来预测患者对 FGFR2 抑制物质是否为高敏感性。即,当相当于下述情况中的至少一种时,判定患者对 FGFR2 抑制物质为高敏感性,所述情况为:测定的细胞中过量表达 FGFR2,和,测定的细胞中表达突变型 FGFR2。

[0398] 作为本发明的其它实施方式,可以列举出:使用(1)的测定结果为指标,来分析细胞对 FGFR2 抑制物质的敏感性的方法。当根据(1)的测定结果,细胞相当于下述两者中的至少一种时,判定该细胞与下述情况均未出现的细胞相比对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性,所述两者为:过量表达 FGFR2 的细胞,和,表达突变型 FGFR2 的细胞。

[0399] 此外,作为本发明的其它实施方式,可以列举出:使用(1)的测定结果为指标,来选择对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性的细胞或患者的方法。当根据(1)的测定结果,细胞相当于下述两者中的至少一种时,如上述,判定该细胞或具有该细胞的患者对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性,所述两者为:过量表达 FGFR2 的细胞,和,表达突变型 FGFR2 的细胞。因此,可以选择这样的细胞或患者作为对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性的细胞或患者。

[0400] 此外,作为本发明的其它实施方式,可以列举出:使用(1)的测定结果为指标,来分析对 FGFR2 抑制物质的敏感性、并根据分析结果对患者进行分类的方法。即,在本发明的方法,可以根据(1)的测定结果如上述地分析对 FGFR2 抑制物质的敏感性,并基于该分析结

果对患者进行分类。例如,可以将患者分为包含过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的组群、和不包含上述中的任何一种的组群。或者,可以将患者分为对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性的组群、和其它组群。

[0401] 此外,作为本发明的其它实施方式,可以列举出:一种选择作为 FGFR2 抑制物质的施用对象的患者的方法,该方法包括根据(1)的测定结果,来选择具有选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的患者。具有选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的患者可以成为 FGFR2 抑制物质的施用对象。

[0402] 此外,作为本发明的其它实施方式,可以列举出:根据(1)的测定结果,来预测 FGFR2 抑制物质对患者的治疗效果的方法。在本发明的方法中,根据(1)的测定结果,当细胞相当于过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种时,判定对 FGFR2 抑制物质显示高敏感性,因此,可以预测,该细胞或具有该细胞的患者中、该物质的治疗效果好。

[0403] 此外,本发明包括:为了预测患者对 FGFR2 抑制物质的敏感性的程度,而测定选自该患者来源的细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种的方法。该测定方法如上述(1)所示。

[0404] 通过测定 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的任一个或这两者,能够预测患者对 FGFR2 抑制物质的敏感性的程度。

[0405] 在本步骤中,FGFR2 抑制物质如前述,优选为 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或该化合物的药理学可接受的盐、或者它们的溶剂合物。

[0406] 本发明的方法可以用于:在给患者施用 FGFR2 抑制物质前、预测该患者中 FGFR2 抑制物质的有效性的程度。而且,能够选择出 FGFR2 抑制物质所具有的效果更令人期待的患者,来进行疾病的治疗。因此,本发明在临床上是非常有用的。

[0407] 本发明提供:用于本发明的方法的、用于测定选自 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种的检测用试剂盒。本发明的检测用试剂盒中包含可在测定中使用的上述试剂。使用本发明的检测用试剂盒,能够测定患者对 FGFR2 抑制物质是否为高敏感性。

[0408] 此外,本发明包括该检测用试剂盒在上述预测中的用途。

[0409] 实施例

[0410] 以下以具体例子揭示本发明,但本发明不受这些具体例子的限制。

[0411] [实施例 1]FGFR2 抑制物质的 FGFR2 激酶抑制活性的测定

[0412] 受试物质的 FGFR2 激酶抑制活性委托给 Upstate 公司(英国)实施测试。FGFR2 激酶抑制活性具体而言是如下述测定的。

[0413] 向含有 FGFR2 重组体蛋白质 5-10mU、8mM MOPS(pH 7.0)、0.2mMEDTA、2.5mM MnCl<sub>2</sub>、0.1mg/ml poly(Glu,Tyr)<sub>4</sub>:1、10mM 乙酸镁、500cpm/pmol[ $\gamma$ -<sup>33</sup>P]-ATP 和受试物质的溶液 25  $\mu$ L 中加入 MgATP,开始反应。

[0414] 作为受试物质使用了 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉(甲磺酸盐)、1-(4-氯苯胺基)-4-(4-吡啶基甲基)酞嗪(以下也称“PTK787/ZK222584”)、SU11248、BAY 43-9006、AG013736 或 KRN951。

[0415] 而且,PTK787/ZK222584 是已知的作为 VEGF 受体激酶抑制物质的化合物。

[0416] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨基吡啶按照国际公开第 02/32872 号小册子 (W002/32872) 和国际公开第 2005/063713 号小册子 (W02005/063713) 的记载制造。

[0417] 此外,PTK787/ZK222584 按照国际公开第 98/035958 号小册子的记载制造。SU11248 按照国际公开第 01/060814 号小册子的记载制造。BAY43-9006 按照国际公开第 00/42012 号小册子的记载制造。AG013736 按照国际公开第 01/002369 号小册子的记载制造。KRN951 按照国际公开第 02/088110 号小册子的记载制造。

[0418] 在室温下反应 40 分钟后,添加 3% 磷酸 5  $\mu$ L 终止反应。将反应液中的 10  $\mu$ L 点样于 Filtermat A,将 Filtermat A 用 75mM 磷酸清洗 5 次、用乙醇清洗 1 次,然后干燥。测定其点样部分的放射活性。

[0419] 利用各浓度下的  $^{33}\text{P}$  比放射活性计算出抑制 50% 的 FGFR2 激酶活性所必需的受试物质浓度 ( $\text{IC}_{50}$ )。

[0420] 此时,将仅加入不含 FGFR2 重组体蛋白质的底物 Poly (Glu, Tyr) $_{4:1}$  时的值设定为 0% 值,将未加入受试物质但加入了 FGFR2 重组体蛋白质和底物 Poly (Glu, Tyr) $_{4:1}$  时的值设定为 100% 值。

[0421] 通过如下计算算出各浓度的受试物质存在下的激酶活性:计算出从各放射活性的值中减去 0% 值后的值相当于从 100% 值中减去 0% 值后的值的百分之多少。通过该比率 (%) 计算出了抑制 50% 的 FGFR2 激酶活性所必需的受试物质的浓度 ( $\text{IC}_{50}$ )。

[0422] 其结果可知:4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨基吡啶具有 FGFR2 激酶抑制活性 ( $\text{IC}_{50} < 10\text{nM}$ )。此外,可知:SU11248、BAY43-9006、AG013736、KRN951 具有 FGFR2 激酶抑制活性 (各  $\text{IC}_{50} = 83, 168, 17, 124\text{nM}$ )。PTK787/ZK222584 的  $\text{IC}_{50} = 54200\text{nM}$ 。

[0423] [实施例 2]FGFR2 抑制物质对人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III、HSC-39、SNU-16) 中 FGFR2 磷酸化的效果

[0424] 1. 细胞提取液的制备

[0425] 将人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III (购自 ATCC)、SNU-16 (购自 ATCC)、HSC-39 (购自免疫生物研究所)) 悬浮于含 10% FBS (fetal bovineserum, 胎牛血清) 的 RPMI1640 培养基 (购自 Sigma 公司)。而且, KATO-III, SNU-16 和 HSC-39 为出现 FGFR2 基因扩增 (FGFR2gene amplification) 的细胞 (Laboratory Investigation, 78, 1143-1153, 1998.), 其为已知的人胃硬癌细胞株。将各细胞悬浮液 ( $5 \times 10^5$  个 /mL) 10mL 加入到细胞培养用 75cm<sup>2</sup> 培养瓶 (购自 FALCON 公司) 中, 在 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 (37°C) 培养一夜。这里, 对于 KATO-III, 更换为含 1% FBS 的 RPMI1640 培养基。向其中加入用含 1% 或 10% FBS 的 RPMI1640 培养基稀释的受试物质 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨基吡啶 (甲磺酸盐) 10mL, 在 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 (37°C) 培养 1 小时。回收培养液, 将各培养瓶用 PBS 5mL 清洗, 将回收的培养液与清洗液合并, 将合并所得的液体于 4°C、1,000rpm 离心 5 分钟。向沉淀加入可溶化缓冲液 (50mM Hepes (pH7.4)、150mM NaCl、10% (v/v) 甘油、1% Triton X-100、1.5mM MgCl<sub>2</sub>、1mM EDTA (pH 8.0)、100mM NaF、1mM PMSF、10  $\mu$ g/mL 抑肽酶、50  $\mu$ g/mL 亮抑酶肽、1  $\mu$ g/mL 胃蛋白酶抑制剂 A、1mM

$\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) 100  $\mu\text{L}$ , 使细胞可溶化。回收该溶液, 4 $^\circ\text{C}$ 、15,000rpm 处理 15 分钟, 将上清制备成 1000  $\mu\text{g}/1000 \mu\text{L}$  (KATO-III)、800  $\mu\text{g}/500 \mu\text{L}$  (SNU-16)、1000  $\mu\text{g}/500 \mu\text{L}$  (HSC-39), 作为细胞提取液。

#### [0426] 2. 免疫沉淀

[0427] 在所述细胞提取液中加入抗 FGFR2 抗体 (购自 Sigma 公司) 10  $\mu\text{L}$  和蛋白 A 琼脂糖 (购自 Upstate 公司) 100  $\mu\text{L}$ , 4 $^\circ\text{C}$  搅拌一夜。将该溶液用磷酸缓冲液 1mL 清洗 3 次, 加入 SDS 缓冲液, 然后于 94 $^\circ\text{C}$  处理 5 分钟, 使蛋白质可溶化, 将其制备为细胞样品液。

#### [0428] 3. 电泳和 Western 印迹

[0429] 用 4-20% 梯度聚丙烯酰胺凝胶 (购自第一化学药品公司) 对所述所述细胞样品液 15  $\mu\text{L}$  进行电泳。电泳后, 按常规方法转印至 PVDF 膜 (购自 Amershampharmacia biotech 公司)。然后, 对于转印后的膜, 使用抗 FGFR2 抗体或抗酪氨酸磷酸化抗体 (4G10, 购自 Upstate 公司) 作为第一抗体、使用辣根过氧化物酶标记抗兔 IgG 抗体 (anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody (购自 CellSignaling 公司)) 或辣根过氧化物酶标记抗小鼠 IgG 抗体 (anti-mouse IgG, HRP-linked Antibody (购自 Cell Signaling 公司)) 作为第二抗体进行了免疫印迹。对膜进行清洗后, 使用 Super Signal (购自 PIERCE 公司) 进行了显色。

[0430] 其结果, 在任一种细胞中, 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉均以 1  $\mu\text{M}$  的量基本完全地抑制了 FGFR2 的磷酸化 (图 1)。

[0431] [实施例 3] FGFR2 抑制物质对人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III、HSC-39、SNU-16) 的细胞增殖的效果

[0432] 将人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III (购自 ATCC)、SNU-16 (购自 ATCC)、HSC-39 (购自免疫生物研究所)) 悬浮于含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基 (购自 Sigma 公司) 中。但是, 对于 KATO-III, 是将其悬浮于含 1% FBS 的 RPMI1640 培养基中。将该细胞悬浮液 (KATO-III,  $6 \times 10^4$  个/mL、SNU-16, HSC-39,  $2 \times 10^4$  个/mL) 以 0.1mL/孔加入细胞培养用 96 孔板 (购自 NUNC 公司) 中, 在 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中 (37 $^\circ\text{C}$ ) 培养一夜。培养后, 向各孔中加入用含 1% 或 10% FBS 的 RPMI1640 培养基稀释的受试物质 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉 (甲磺酸盐) 0.1mL, 再于 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中 (37 $^\circ\text{C}$ ) 培养 3 天。培养后, 向各孔中加入 Cell Counting Kit-8 (购自 DOJINDO 公司) 20  $\mu\text{L}$ , 在 5%  $\text{CO}_2$  培养箱中 (37 $^\circ\text{C}$ ) 进行显色后, 以 450nm 为测定波长、以 660nm 为对照波长, 使用读板器 MTP-500 (KORONA 电气公司制造) 测定了各孔的吸光度。求出相对于未加受试物质的孔的吸光度的、添加了受试物质的各孔的吸光度的比率 (%), 由该比率计算出抑制 50% 的细胞增殖所必需的受试物质浓度 ( $\text{IC}_{50}$ )。

[0433] 其结果可知: 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉对人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III, SNU-16, HSC-39) 的增殖分别具有抑制活性, 其中, 各  $\text{IC}_{50} = 141, 251, 157\text{nM}$ 。

[0434] [实施例 4] FGFR2 抑制物质在人未分化型胃癌细胞株 (HSC-39) 的细胞凋亡中的效果

#### [0435] 1. 细胞提取液的制备

[0436] 将人未分化型胃癌细胞株 HSC-39 (购自免疫生物研究所) 悬浮于含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基 (购自 Sigma 公司)。将细胞悬浮液 ( $4 \times 10^5$  个/mL) 5mL 加入到细胞培养

用 75cm<sup>2</sup> 培养瓶（购自 FALCON 公司）中。向其中加入用含 10% FBS 的 RPMI1640 培养基稀释的受试物质 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉（甲磺酸盐）5mL，在 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中（37℃）培养 1 天或 3 天。回收培养液，将各培养瓶用 PBS 5mL 清洗，将回收的培养液与清洗液合并，将合并所得的液体于 4℃、1,000rpm 离心 5 分钟。向沉淀加入可溶化缓冲液（50mM Hepes(pH7.4)、150mM NaCl、10% (v/v) 甘油、1% Triton X-100、1.5mM MgCl<sub>2</sub>、1mM EDTA(pH 8.0)、100mM NaF、1mM PMSF、10 μg/mL 抑肽酶、50 μg/mL 亮抑酶肽、1 μg/mL 胃蛋白酶抑制剂 A、1mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>）100 μL，使细胞可溶化。回收该溶液，4℃、15,000rpm 处理 15 分钟，加入 SDS 缓冲液将上清制备成 25 μg/15 μL，然后 94℃ 处理 5 分钟，从而使蛋白质可溶化，将其制备为细胞样品液。

#### [0437] 2. 电泳和 Western 印迹

[0438] 用 4-20% 梯度聚丙烯酰胺凝胶（购自第一化学药品公司）对所述细胞样品液 15 μL 进行电泳。电泳后，按常规方法转印至 PVDF 膜（购自 Amershampharmacia biotech 公司）。然后，对于转印后的膜，使用抗 PARP 抗体（购自 Cell Signaling 公司）或抗切断的胱天蛋白酶-3(Cleaved-caspase-3) 抗体（购自 Cell Signaling 公司）作为第一抗体，使用辣根过氧化物酶标记抗兔 IgG 抗体 (anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody( 购自 Cell Signaling 公司)) 作为第二抗体，进行了免疫印迹。这里，PARP(Poly-ADP-Ribose-Polymerase, 多 ADP-核糖-聚合酶) 在细胞凋亡的诱导时能够被胱天蛋白酶片段化，因此其为已知的作为细胞凋亡标志物的蛋白质。此外，已知胱天蛋白酶-3 也在细胞凋亡的诱导时片段化。

[0439] 对膜进行清洗后，使用 Super Signal (PIERCE 公司购自) 进行了显色。

[0440] 其结果，使用 1 μM 的 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉时，明确地检测出了切断的 PARP(Cleaved-PARP)、切断的胱天蛋白酶-3(图 2)。因此，这显示：4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉具有诱导细胞凋亡的作用。

[0441] [ 实施例 5] 人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III、HSC-39、SNU-16) 皮下移植模型中 FGFR2 抑制物质的抗肿瘤效果

[0442] 将人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III( 购自 ATCC)、SNU-16( 购自 ATCC)、HSC-39( 购自免疫生物研究所)) 于 37℃ 下在 5% 二氧化碳培养箱内用 RPMI1640( 含 10% FBS) 进行培养，按常规方法使用胰蛋白酶-EDTA 回收了细胞。将细胞悬浮于磷酸缓冲液，制备了 5×10<sup>7</sup> 细胞/mL 的悬浮液。而且，将所得细胞悬浮液以每只 0.1mL 的量移植到了裸鼠（购自 CHARLES RIVER 公司）体侧皮下。

[0443] 移植后，当肿瘤体积为约 100 ~ 200mm<sup>3</sup> 时，按下述方案口服施用了用注射用蒸馏水（购自大塚制药）溶解的受试物质 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉（甲磺酸盐）：一次施用 1、3、10、30 或 100mg/kg，1 日 1 次，施用 4 周（但对于 KATO-III，方案是：一次施用 30 或 100mg/kg，1 日 1 次，施用 2 周）。使用数字式测径仪（デジマチックキヤリパ）(Mitsutoyo) 测定肿瘤长径和短径，用下式计算出肿瘤体积。

[0444] 肿瘤体积 (TV) = 肿瘤长径 (mm) × 肿瘤短径<sup>2</sup> (mm<sup>2</sup>) / 2

[0445] 其结果表明：在人未分化型胃癌细胞株 (KATO-III, SNU-16, HSC-39) 皮下移植模

型中,4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉具有剂量依赖性的抗肿瘤效果(图3)。

[0446] [实施例6] 人未分化型胃癌细胞株(HSC-39、SNU-16)皮下移植模型中、FGFR2抑制物质对FGFR2磷酸化的效果

[0447] 1. 肿瘤的制作及肿瘤的可溶化

[0448] 将人未分化型胃癌细胞株(SNU-16(购自ATCC)、HSC-39(购自免疫生物研究所))于37℃下在5%二氧化碳培养箱内培养RPMI1640(含10%FBS),按常规方法使用胰蛋白酶-EDTA回收了细胞。将细胞悬浮于磷酸缓冲液,制备了 $5 \times 10^7$ 细胞/mL的悬浮液。而且,将所得细胞悬浮液以每只0.1mL的量移植到了裸鼠(购自CHARLES RIVER公司)体侧皮下。

[0449] 移植后,在肿瘤体积为约 $400 \sim 800\text{mm}^3$ 时,以10mg/kg、30mg/kg或100mg/kg的量口服施用了用注射用蒸馏水(购自大塚制药)溶解的受试物质4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉(甲磺酸盐)。施用后,在第2小时摘取肿瘤,向摘取的肿瘤加入可溶化缓冲液(50mMHepes(pH7.4),150mM NaCl,10%(v/v)甘油、1% Triton X-100,1.5mM  $\text{MgCl}_2$ ,1mM EDTA(pH8.0),100mM NaF,1mMPMSF,10 $\mu\text{g/mL}$ 抑肽酶,50 $\mu\text{g/mL}$ 亮抑酶肽,1 $\mu\text{g/mL}$ 胃蛋白酶抑制剂A,1mM $\text{MN}^{3}\text{VO}_4$ 、25mM  $\beta$ -磷酸甘油,磷酸酶抑制剂鸡尾酒II(SIGMA)),进行了匀浆。4℃、15,000rpm处理15分钟,将上清制备成1000 $\mu\text{g}/500\mu\text{L}$ ,作为肿瘤提取液。

[0450] 2. 免疫沉淀

[0451] 向所述肿瘤提取液中加入抗FGFR2抗体(购自Sigma公司)10 $\mu\text{L}$ 与蛋白A琼脂糖(购自Upstate公司)100 $\mu\text{L}$ ,4℃搅拌一夜。将该溶液用磷酸缓冲液1mL清洗3次,添加SDS缓冲液后于94℃处理5分钟,使蛋白质可溶化,将其制备为肿瘤样品液。

[0452] 3. 电泳和Western印迹

[0453] 用4-20%梯度聚丙烯酰胺凝胶(购自第一化学药品公司)对所述所述肿瘤样品液15 $\mu\text{L}$ 进行电泳。电泳后,按常规方法转印至PVDF膜(购自Amershampharmacia biotech公司)。然后,对于转印后的膜,使用抗FGFR2抗体或抗酪氨酸磷酸化抗体(4G10,购自Upstate公司)作为第一抗体、使用辣根过氧化物酶标记抗兔IgG抗体(anti-rabbit IgG,HRP-linked Antibody(购自CellSignaling公司))或辣根过氧化物酶标记抗小鼠IgG抗体(anti-mouse IgG,HRP-linked Antibody(购自Cell Signaling公司))作为第二抗体,进行了免疫印迹。对膜进行清洗后,使用Super Signal(购自PIERCE公司)进行了显色。

[0454] 其结果可知:在人未分化型胃癌细胞株(SNU-16, HSC-39)皮下移植模型中,确认具有抗肿瘤效果的施用量的4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉,抑制FGFR2的磷酸化(图4)。

[0455] 以上结果显示:本发明的FGFR2抑制物质对于未分化型胃癌可以期待更有效的效果。

[0456] 此外还显示:本发明的FGFR2抑制物质对于包含选自过量表达FGFR2的细胞和表达突变型FGFR2的细胞中的至少一种的生物体可以期待更有效的效果。

[0457] 此外,通过测定选自细胞中的FGFR2表达量和FGFR2突变的有无中的至少一种、并以测定的细胞中的FGFR2表达量和FGFR2突变的有无中的任一种或它们的组合为指标,可以预测本发明的化合物的效果,而无需对患者施用化合物。因此,本发明的方法可以选择出

该化合物的效果更令人期待的患者,而无需对患者施用化合物,其能够对患者的 QOL 有所贡献。

[0458] [参考例]

[0459] 以下,作为参考例,说明 FGFR2 抑制物质之一即 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉的制剂的制造方法。

[0460] (药物组合物的制造)

[0461] (1) 1mg 片

[0462] 将 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉甲磺酸盐的晶体 (C) (以下也称“晶体 (C)”,而且晶体 (C) 是按照 W02005/063713 的实施例 7 中记载的方法制造的) 24g 与无水轻质硅酸 (防凝胶化剂、商品名 AEROSIL (注册商标) 200、日本 AEROSIL 公司) 192g 在 20L 的超级混合器混合,然后再添加 D-甘露醇 (赋形剂,东和化成工业公司) 1236g、结晶纤维素 (赋形剂,商品名 AVICEL PH101,旭化成工业公司) 720g、羟基丙基纤维素 (粘合剂,商品名 HPC-L,日本曹达公司) 72g 并混合。其后,添加适量的无水乙醇,得到了含有晶体 (C) 的制粒物 (造粒物)。将该制粒物用架式干燥机 (60℃) 干燥,然后,使用动力磨 (パワーミル) 进行整粒,得到了颗粒。将该颗粒与交联羧甲基纤维素钠 (崩解剂、商品名 Ac-Di-Sol、FMC International Inc.) 120g、富马酸硬脂基钠 (滑润剂、JRS Pharma LP) 36g 一起装入 20L 的转鼓混合机并进行混合,然后用制片机进行制片,得到了每 1 片总质量为 100mg 的片剂。然后,使用片剂包衣机,用作为包衣液的 10% 欧巴代 YELLOW (オパドライイエロー) (OPADRY 03F42069 YELLOW、日本 COLORCON 公司) 水溶液对片剂进行包衣,得到了每 1 片总质量为 105mg 的包衣片。

[0463] (2) 10mg 片

[0464] 晶体 (C) 60g 和无水轻质硅酸 (防凝胶化剂,商品名 AEROSIL (注册商标) 200、日本 AEROSIL 公司) 192g 在 20L 的超级混合器中混合,然后再添加 D-甘露醇 (赋形剂,东和化成工业公司) 1200g、结晶纤维素 (赋形剂,商品名 AVICEL PH101、旭化成工业公司) 720g、羟基丙基纤维素 (粘合剂,商品名 HPC-L,日本曹达公司) 72g 并混合。其后,添加适量的无水乙醇,得到了含有晶体 (C) 的制粒物。将该制粒物用架式干燥机 (60℃) 干燥,然后使用动力磨进行整粒,得到了颗粒。将该颗粒与交联羧甲基纤维素钠 (崩解剂,商品名 Ac-Di-Sol, FMC International Inc.) 120g、富马酸硬脂基钠 (滑润剂, JRS Pharma LP) 36g 一起在 20L 的转鼓混合机中混合,然后用制片机制片,得到了每 1 片总质量为 400mg 的片剂。然后,使用片剂包衣机,用作为包衣液的 10% 欧巴代 YELLOW (OPADRY 03F42069 YELLOW、日本 COLORCON 公司) 水溶液对片剂进行包衣,得到了每 1 片总质量为 411mg 的包衣片。

[0465] (3) 100mg 片

[0466] 将晶体 (C) 31.4g 与无水轻质硅酸 (防凝胶化剂、商品名 AEROSIL (注册商标) 200、日本 AEROSIL 公司) 4g 在 1L 的超级混合器中混合,然后,再添加无水磷酸氢钙 (赋形剂,协和化学工业公司) 40.1g,低取代度羟基丙基纤维素 (粘合剂,商品名 L-HPC (LH-21),信越化学工业公司) 10g、羟基丙基纤维素 (粘合剂,商品名 HPC-L,日本曹达公司) 3g 并混合。其后,添加适量的无水乙醇,得到了含有晶体 (C) 的制粒物。将该制粒物用架式干燥机 (60℃) 干燥后,使用动力磨进行整粒,得到了颗粒。将该颗粒与交联羧甲基纤维素钠 (崩解剂,商品名 Ac-Di-Sol, FMC International Inc.) 10g、富马酸硬脂基钠 (滑润剂、JRS Pharma

LP) 1.5g 一起混合,然后,用制片机制片,得到了每 1 片总质量为 400mg 的片剂。

[0467] 工业实用性

[0468] 本发明能够提供含有 FGFR2 抑制物质的针对未分化型胃癌的治疗剂、治疗方法、FGFR2 抑制物质在制造所述治疗剂中的用途和用于所述治疗剂的 FGFR2 抑制物质。

[0469] 此外,本发明能够提供:用于施用于包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体的、含有 FGFR2 抑制物质的药物组合物、以对包含选自过量表达 FGFR2 的细胞和表达突变型 FGFR2 的细胞中的至少一种的生物体施用有效量的 FGFR2 抑制物质为特征的疾病治疗方法、FGFR2 抑制物质在制造所述药物组合物中的用途和用于所述药物组合物的 FGFR2 抑制物质。

[0470] 而且,本发明提供 FGFR2 抑制剂。

[0471] 此外,本发明提供预测 FGFR2 抑制物质的效果的方法。

[0472] 更具体地,FGFR2 抑制物质的效果可以通过以选自细胞中的 FGFR2 表达量和 FGFR2 突变的有无中的至少一种为指标来预测。

[0473] 通过本发明的预测方法,能够在不对患者施用化合物的情况下对效果进行预测,因此能够选择出该化合物有望更具效果的患者,能够对患者的 QOL 有所贡献。

[0474] 即,本发明至少涉及下述技术方案:

[0475] 1. 选自下述化合物中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途:

[0476] 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0477] 4-(3-氯-4-(乙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0478] N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((环丙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、

[0479] 4-(3-氯-4-(甲基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉

[0480] 和

[0481] N6-甲氧基-4-(3-氯-4-(((乙基氨基)羰基)氨基)苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉。

[0482] 2. 根据项 1 所述的用途,其中,所述化合物、或该化合物的药理学可接受的盐是 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉、或其药理学可接受的盐。

[0483] 3. 根据项 1 所述的用途,其中,所述化合物、或该化合物的药理学可接受的盐是 4-(3-氯-4-(环丙基氨基羰基)氨基苯氧基)-7-甲氧基-6-氨甲酰喹啉的甲磺酸盐。

[0484] 4. 选自下组中的至少一种化合物、或该化合物的药理学可接受的盐在制造针对未分化型胃癌的治疗剂中的用途:

[0485] N-(3-三氟甲基-4-氯苯基)-N'-(4-(2-甲基氨基甲酰基吡啶-4-基)氧苯基)脲、

[0486] 6-[2-(甲基氨基甲酰基)苯基巯基]-3-E-[2-(吡啶-2-基)乙烯基]吡啶、

[0487] 5-(5-氟-2-氧代-1,2-二氢吡啶-3-亚基甲基)-2,4-二甲基-1H-吡咯-3-羧酸(2-二乙基氨基乙基)酰胺

[0488] 和

[0489] N-{2-氯-4-[(6,7-二甲氧基-4-喹啉基)氧]苯基}-N'-(5-甲基-3-异噁唑基)脒。

## 序列表

<110> 卫材 R&D 管理有限公司 (Eisai R&D Management Co., Ltd.)

<120> 针对未分化型胃癌的抗肿瘤剂

<130>PCT07-0051

<150>JP2006-230816

<151>2006-08-28

<160>4

<170>PatentIn version 3.4

<210>1

<211>2469

<212>DNA

<213> 人类

<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 tcg 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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
gct gag tcc agc tcc tcc atg aac tcc aac acc ccg ctg gtg agg ata	1344
Ala Glu Ser Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile	
435	440
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
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
tcc ttc ggg gtg tta atg tgg gag atc ttc act tta ggg ggc tgc 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

&lt;210&gt;2

&lt;211&gt;822

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt; 人类

&lt;400&gt;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  
 20 25 30  
 Leu Glu Pro Glu Glu Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu



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 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
His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met		
725	730	735
Met Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys		
740	745	750
Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu		
755	760	765
Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr		
770	775	780
Pro Asp Thr Arg Ser Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser		
785	790	795
Pro Asp Pro Met Pro Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile		
805	810	815
Asn Gly Ser Val Lys Thr		
820		

&lt;210&gt;3

&lt;211&gt;2466

&lt;212&gt;DNA

&lt;213&gt; 人类

&lt;220&gt;

&lt;221&gt;CDS

&lt;222&gt;(1).. (2463)

&lt;400&gt;3

atg gtc agc tgg ggt cgt ttc atc tgc ctg gtc gtc 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		
gtg tac gtg gct gcg cca ggg gag tcg 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
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
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
cag tgg arc 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
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
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
gct ggg gaa tat acg tgc ttg gcg ggt aat tct att ggg ara tcc ttt	1056
Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe	
340	345
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
att aca gct tcc cca gac tac ctg gag ara 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
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
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
aag ctg acc aaa cgt atc ccc ctg cgg aga cag gta aca gtt tcg get	1296
Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser Ala	
420	425
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
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 tcg 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	
755	760
765	
tac ttg gac ctc agc caa cct ctc gaa cag tat tca cct agt tac cct	2352
Tyr Leu Asp Leu Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr Pro	
770	775
780	
gac aca aga agt tct tgt tct tca gga gat gat tct gtt ttt tct cca	2400
Asp Thr Arg Ser Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser Pro	
785	790
795	800
gac ccc atg cct tac gaa cca tgc ctt cct cag tat cca cac ata aac	2448
Asp Pro Met Pro Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile Asn	
805	810
815	
ggc agt gtt aaa aca tga	2466
Gly Ser Val Lys Thr	
820	

&lt;210&gt;4

&lt;211&gt;821

&lt;212&gt;PRT

&lt;213&gt; 人类

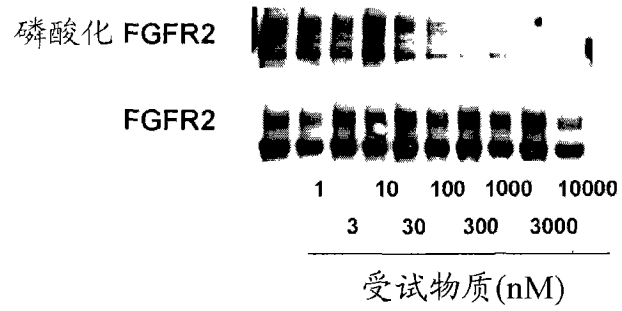
&lt;400&gt;4

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  
                   20                   25                   30  
 Leu Glu Pro Glu Glu Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu  
                   35                   40                   45  
 Val Tyr Val Ala Ala Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu  
                   50                   55                   60  
 Lys Asp Ala Ala Val Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly  
 65                   70                   75                   80  
 Pro Asn Asn Arg Thr Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly  
                   85                   90                   95  
 Ala Thr Pro Arg Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr  
                   100                   105                   110  
 Val Asp Ser Glu Thr Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile  
                   115                   120                   125  
 Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val  
                   130                   135                   140  
 Ser Glu Asn Ser Asn Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu  
 145                   150                   155                   160  
 Lys Met Glu Lys Arg Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys  
                   165                   170                   175  
 Phe Arg Cys Pro Ala Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu  
                   180                   185                   190  
 Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys  
                   195                   200                   205  
 Val Arg Asn Gln His Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser  
                   210                   215                   220  
 Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile  
 225                   230                   235                   240  
 Asn His Thr Tyr His Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro  
                   245                   250                   255  
 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

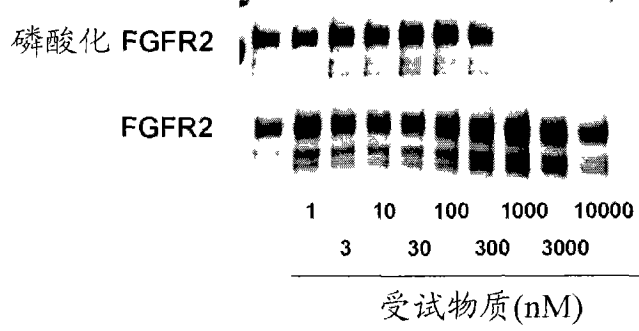
Gly Leu Pro Tyr Leu Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr  
 305 310 315 320  
 Asp Lys Glu Ile Glu Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp  
 325 330 335  
 Ala Gly Glu Tyr Thr Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe  
 340 345 350  
 His Ser Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg 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



(A) KATO-III



(B) SNU-16



(C) HSC-39

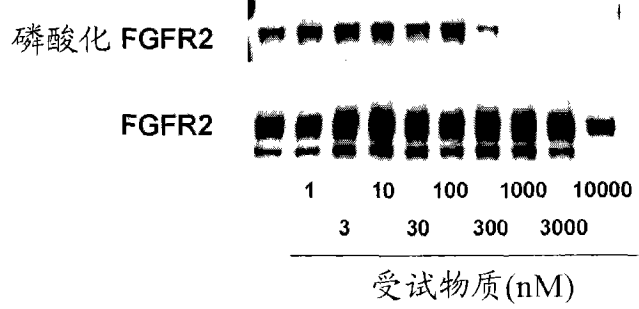


图 1

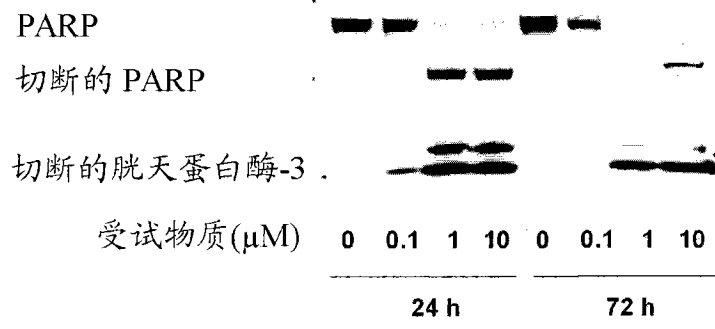
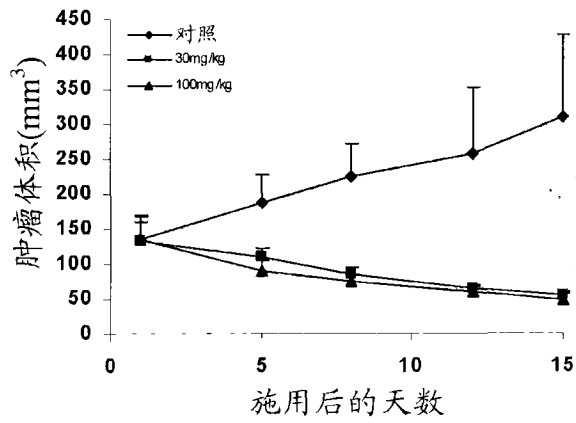
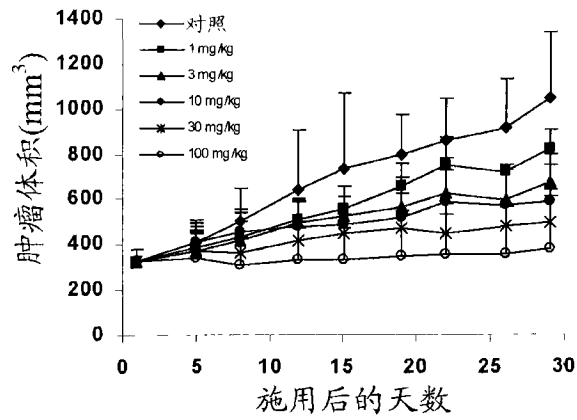


图 2

(A) KATO-III



(B) SNU-16



(C) HSC-39

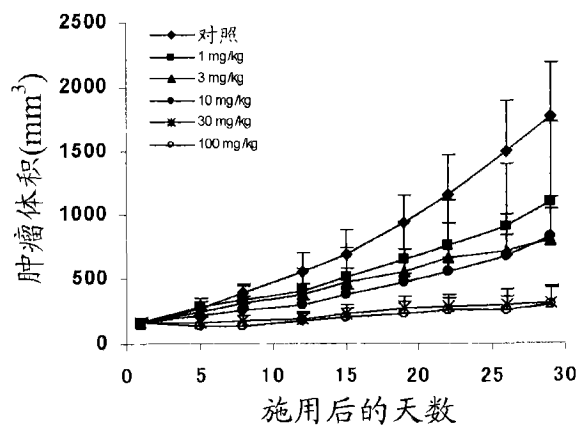
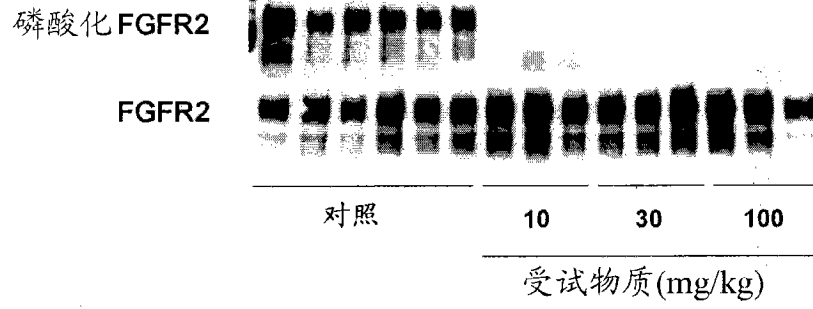


图 3

(A)SNU-16



(B)HSC-39

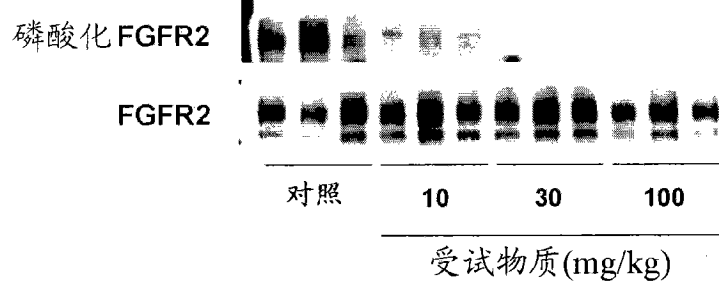


图 4