(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년07월07일
(11) 등록번호 10-2831159
(24) 등록일자 2025년07월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/21 (2006.01) *A61K 31/04* (2006.01)
A61K 31/34 (2006.01) *A61K 45/06* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 9/06* (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01) *A61P 17/02* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/21 (2013.01)
A61K 31/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7032592
(22) 출원일자(국제) 2019년04월15일
심사청구일자 2022년02월04일
(85) 번역문제출일자 2020년11월11일
(65) 공개번호 10-2020-0144116
(43) 공개일자 2020년12월28일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2019/082623
(87) 국제공개번호 WO 2019/201195
국제공개일자 2019년10월24일
(30) 우선권주장
201810339975.5 2018년04월16일 중국(CN)
(56) 선행기술조사문헌
WO2010037095 A2*
WO2014160628 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
온퀄리티 파마슈티컬스 차이나 리미티드
중국 201112 상하이, 민항 디스트릭트, 1588 리안항 로드, 넘버 4 지홍 하우스
(72) 발명자
장, 쉬이
중국 상하이 200240, 민항 디스트릭트, 젠촨 로드, 넘버 955, 룸 305
우, 자오위
중국 상하이 200240, 민항 디스트릭트, 젠촨 로드, 넘버 955, 룸 305
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김해중

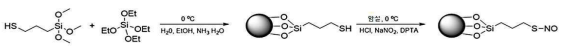
전체 청구항 수 : 총 14 항 심사관 : 김병숙

(54) 발명의 명칭 **암 치료의 부작용을 예방하거나 치료하기 위한 방법**

(57) 요 약

본원에서는 약제를 제조하는데 있어서 산화질소 방출제의 적용을 개시하고 있다. 약제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위해서 사용된다. 본원은 또한, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 그러한 방법은 이를 필요로 하는 대상체에게 예방 또는 치료 유효량의 산화질소 방출제를 투여함을 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61K 31/34 (2013.01)
A61K 33/00 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 9/0014 (2013.01)
A61K 9/06 (2013.01)
A61P 17/00 (2018.01)
A61P 17/02 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)

(72) 발명자
리우, 차오
중국 상하이 200240, 민항 디스트릭트, 젠촨 로드, 넘버 955, 룸 305
양, 리난
중국 상하이 200240, 민항 디스트릭트, 젠촨 로드, 넘버 955, 룸 305
첸, 레잉
중국 상하이 200240, 민항 디스트릭트, 젠촨 로드, 넘버 955, 룸 305
루오, 지에
중국 상하이 200240, 민항 디스트릭트, 젠촨 로드, 넘버 955, 룸 305

명 세 서

청구범위

청구항 1

대상체에서 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군을 예방하거나 치료하기 위한 산화질소 방출제를 포함하는 약제학적 조성물로서,

산화질소 방출제가 니트로글리세린, 이소소르바이드 디니트레이트, 이소소르바이드 모노니트레이트, 소듐 니트레이트, 이소아밀 니트라이트, 소듐 니트라이트, 몰시도민(molsidomine), 소듐 니트로프루시드, S-니트로소티올 실리카 나노스피어, S-니트로소에탄디티올 키틴, 올리고-프로필렌디아민 그라프티드 키토산 노노에이트(oligo-propylenediamine grafted chitosan NONOate), N-니트로소디부틸아민, 하이드록실디아젠설폰산-1-옥사이드 디소듐 염, 스트렙토조신(streptozocin), 니코란딜, 및 *니트로소모나스 유로파에(Nitrosomonas europaea)*로부터 선택되고,

VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제가 라무시루맙(Ramucirumab), 베바시주맙(Bevacizumab), 레고라페닙(Regorafenib), 카보잔티닙(Cabozantinib), 렌바티닙(Lenvatinib), 소라페닙(Sorafenib), 파조파닙(Pazopanib), 아파티닙(Apatinib), 엑시티닙(Axitinib), 닌테다닙(Nintedanib), 수니티닙(Sunitinib), 탈리도미드(Thalidomide), 프루퀸티닙(Fruquintinib), 브리바닙(Brivanib), 바타라티닙(Vatalanib), 세디라닙(Cediranib), 리니파닙(Linifanib), 반데타닙(Vandetanib), 도비티닙(Dovitinib), 도나페닙(Donafenib), 애플리버셉트(Aflibercept), 및 이들의 약제학적으로 허용되는 염으로부터 선택되고,

약제학적 조성물 중의 산화질소 방출제의 농도가 0.05%(w/w) 내지 0.5%(w/w)인, 약제학적 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

수족 증후군이 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제의 상기 투여에 의해서 유발되는, 약제학적 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제가 종양을 치료하기 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

청구항 1에 있어서,

수족 증후군이 VEGFR 또는 VEGF 억제에 의해서 유발되는, 약제학적 조성물.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

청구항 1에 있어서,

VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군의 중증도가 NCI-CTCAE V5.0에 따라 등급 1 이상, 등급 2 이상, 등급 3 이상, 등급 4 이상, 또는 등급 5 이상인, 약제학적 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

청구항 1에 있어서,

산화질소 방출제가 니트로글리세린, 이소소르바이드 모노니트레이트, 이소소르바이드 디니트레이트 또는 소듐 니트로프루시드인, 약제학적 조성물.

청구항 16

청구항 1에 있어서,

산화질소 방출제가 니트로글리세린인, 약제학적 조성물.

청구항 17

청구항 1에 있어서,

산화질소 방출제가 국소 투여에 적합하도록 제형화되는, 약제학적 조성물.

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

청구항 1에 있어서,

약제학적 조성물이 연고로서 제형화되는, 약제학적 조성물.

청구항 21

삭제

청구항 22

청구항 1에 있어서,

대상체가 암 환자를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 23

청구항 1에 있어서,

대상체에 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제가 투여되었거나, 투여되거나, 투여될 것인, 약제학적 조성물.

청구항 24

청구항 1에 있어서,

대상체가 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군을 앓고 있는 대상체인, 약제학적 조성물.

청구항 25

청구항 1에 있어서,

수족 증후군의 중증도가 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제를 투여한 후에 증가하는, 약제학적 조성물.

청구항 26

청구항 1에 있어서,

대상체가 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제를 투여하기 전에 상기 수족 증후군을 앓고 있지 않았던 대상체인, 약제학적 조성물.

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

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본원은 질환의 치료, 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위한 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 혈관 내피 성장 인자 수용체(vascular endothelial growth factor receptor: VEGFR)의 돌연변이 또는 과발현은 다양한 암과 연관되는 것으로 밝혀졌고, 그러한 암을 앓고 있는 환자는 VEGFR 및/또는 VEGF를 억제하는(예, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여하는) 치료법에 의해서 치료될 수 있다. 그러나, 이러한 유형의 치료법은 일반적으로는, 특히, 피부, 얼굴 기관 및 위장관에서, 심각한 부작용을 유발시킨다. EGFR 및/또는 VEGF을 억제시키는 치료법에 의해서 유발된 심각한 부작용은 환자의 삶의 질을 저하시키거나, 환자의 순응 및 저항성을 감소시키거나, 약제의 금지 또는 VEGFR/VEGF 억제제의 과소투여(underdosage)를 유발시켜 치료 효과에 역으로 영향을 주거나, 심지어 질환의 가속된 전개 및 환자의 단축된 생존을 초래할 것이다.

[0003] 현재, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 부작용을 조절하는 효과적인 치료 요법은 없다. 따라서, 이들 부작용을 성공적으로 조절할 수 있는 치료 요법에 대한 시급한 요구가 있다.

발명의 내용

[0004] 본원은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 본원은 대상체에게서 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위한 산화질소 방출제의 용도로서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 야기된 부작용, 예컨대, 상기 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 상기 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 상기 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위장 질환 또는 장애 등을 효과적으로 조절할 수 있는 산화질소 방출제의 용도에 관한 것이다.

[0005] 협심증을 예방 또는 치료하기 위해서 사용되는 많은 투여량(예컨대, 약 2%)의 산화질소 방출제(예컨대, 니트로글리세린)을 사용하는 것과는 달리, 본원에서는, 놀랍게도, 사용되는 산화질소 방출제(예컨대, 니트로글리세

린)의 투여량이 0.5% 이하, 예컨대, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.25% 이하, 0.2% 이하, 0.15% 이하, 0.1% 이하 만큼 적을 수 있고, 종양 치료와 연관된 부작용을 예방 또는 치료하는데 효과적이고, 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는데 효과적이고, 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위장 질환 또는 장애 등을 예방 또는 치료하는데 효과적이다. 본원 전에, 산화질소 방출제는 상기 질환 또는 장애를 치료하는데 사용되지 않았다.

[0006] 일 양태에서, 본원은 약제의 제조에서 산화질소 방출제의 용도를 제공한다. 약제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여에 의해서 야기될 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제는 종양을 치료하기 위해서 사용된다. 일부 구체예에서, 질환 또는 장애의 위치는 종양의 위치와 다르다. 일부 구체예에서, 약제는 국소 투여에 적합한 것으로 제형화된다. 일부 구체예에서, 상기 국소 투여의 위치는 암의 발생 위치 또는 암의 잠재적인 전이 부위가 아니다. 일부 구체예에서, 약제 중의 산화질소 방출제의 농도는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 50%(w/w)이다. 일부 구체예에서, 약제는 외부 투여에 적합하도록 제형화된다. 일부 구체예에서, 약제는 연고로서 제형화된다. 일부 구체예에서, 약제는 하나 이상의 추가의 활성 성분을 추가로 포함한다. 일부 구체예에서, 약제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 치료 효과(예, 암을 치료하는 효과)에 실질적으로 영향을 주지 않는다.

[0007] 또 다른 양태에서, 본원은 대상체에서 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위한 산화질소 방출제를 제공한다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여에 의해서 야기될 수 있다.

[0008] 또 다른 양태에서, 본원은 대상체에서 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법으로서, 대상체에 예방 또는 치료 유효량의 산화질소 방출제를 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 일부 구체예에서, 대상체는 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다. 예를 들어, 비-인간 동물은 원숭이, 닭, 거위, 고양이, 개, 마우스, 및 래트로 이루어진 군으로부터 선택된 동물을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체는 암 대상체를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 대상체에게 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제를 투여했고/거나, 투여하고/거나, 투여할 것이다. 일부 구체예에서, 대상체는 EGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있거나 그것을 앓는 것에 민감한 대상체이다. 일부 구체예에서, 질환 또는 장애의 중증도는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여한 후에 증가한다. 일부 구체예에서, 대상체는 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제를 투여하기 전에 질환 또는 장애를 앓고 있지 않다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 산화질소 방출제를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 니트로글리세린을 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, 질환 또는 장애가 대상체에 대한 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여에 의해서 야기된다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 대상체에 대한 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 종양을 치료하기 위해서 사용된다. 일부 구체예에서, 질환 또는 장애의 위치는 종양의 위치와 다르다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 국소 투여된다. 일부 구체예에서, 상기 국소 투여의 위치는 암의 발생 위치 또는 암의 잠재적인 전이 부위가 아니다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 50%(w/w)의 농도로 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 외부 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 투여를 위한 연고에 함유된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 하나 이상의 추가의 활성 성분과 함께 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제의 투여는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 치료 효과에 실질적으로 영향을 주지 않는다.

[0009] 또 다른 양태에서, 본원은 약제 또는 키트의 조합물을 제공한다. 약제 또는 키트의 조합물은 1) VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제; 및 2) 산화질소 방출제를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제 및 산화질소 방출제는 서로 혼합되지 않는다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제 및 산화질소 방출제는 별도의 용기에 각각 독립적으로 존재한다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 외부 투여에 적합하도록 제형화된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 연고로서 제형화된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제의 농도는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 50%(w/w)이다. 일부 구체예에서, 2)의 산화질소 방출제는 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 유발된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료할 수 있다. 일부 구체예에서, 2)의 산화질소 방출제는 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 치료 효과에 실질적으로 영향을 주지 않는다. 일부 구체예에서, 2)의 산화질소 방출제는 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 전에, 그와

동시에, 또는 그 후에 투여된다.

[0010] 또 다른 양태에서, 본원은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 투여되었고/거나, 투여되고/거나, 투여될 것이고, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 관련된 질환 또는 장애를 앓고 있거나 그에 민감한 대상체에 산화질소 방출제를 투여함을 포함하는 방법을 제공한다.

[0011] 또 다른 양태에서, 본원은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 투여되었고/거나, 투여되고/거나, 투여될 것인 대상체에 산화질소 방출제를 투여함을 포함하여, 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다.

[0012] 또 다른 양태에서, 본원은 질환 또는 장애를 앓는 것에 민감하거나 그를 앓고 있는 대상체에 산화질소 방출제를 투여함을 포함하여, 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법으로서, 질환 또는 장애가 수족 증후군인 방법을 제공한다.

[0013] 일부 구체예에서, 대상체에게 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 투여되었고/거나, 투여되고/거나, 투여될 것이다.

[0014] 또 다른 양태에서, 본원은 1) VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 투여된 대상체의 피부 조직, 얼굴 기관 및/또는 위장관의 하나 이상의 특징을 모니터링하는 단계; 2) 모니터링이 대상체가 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애를 앓고 있음을 나타내는 때에, 산화질소 방출제를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0015] 일부 구체예에서, 방법은 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장관 질환 또는 장애를 연속적으로 모니터링하고, 임의로 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 감소시키거나 금지함을 추가로 포함한다.

[0016] 일부 구체예에서, 질환 또는 장애의 중증도는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여한 후에 증가한다.

[0017] 일부 구체예에서, 대상체는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여하기 전에 질환 또는 장애를 앓고 있지 않다.

[0018] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 산화질소 방출제를 포함하지 않는다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 니트로글리세린을 포함하지 않는다.

[0019] 일부 구체예에서, 질환 또는 장애는 상피 질환 또는 장애이다.

[0020] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여는 암을 치료하기 위해서 사용된다. 일부 구체예에서, 상기 질환 또는 장애의 위치는 암의 위치와 다르다.

[0021] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제가 대상체에 국소적으로 투여된다.

[0022] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제가 종양 세포를 실질적으로 포함하지 않는 질환 또는 장애의 위치에서 대상체에 국소 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 비-암 위치에서 대상체에 투여된다.

[0023] 일부 구체예에서, 본원에서 기재된 바와 같은 VEGFR 억제제 중 적어도 하나는 VEGFR 단백질 및/또는 VEGFR 단백질을 인코딩하는 핵산에 직접적으로 영향을 준다.

[0024] 일부 구체예에서, 본원에서 기재된 바와 같은 VEGF 억제제 중 적어도 하나는 VEGF 단백질 및/또는 VEGF 단백질을 인코딩하는 핵산에 직접적으로 영향을 준다.

[0025] 일부 구체예에서, 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 본원의 VEGF 억제제는 암을 치료하기 위해서 사용된다.

[0026] 일부 구체예에서, 본원의 VEGFR 억제제는 소분자 VEGFR 억제제, VEGFR에 특이적으로 결합하는 단백질 거대분자, VEGFR 단백질의 발현을 억제하는 RNAi 및/또는 VEGFR 단백질의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함한다.

[0027] 일부 구체예에서, 본원의 VEGF 억제제는 VEGF 포획제 및 VEGF의 발현 수준을 감소시키는 작용제를 포함한다.

[0028] 일부 구체예에서, 본원의 VEGFR 억제제는 VEGFR1, VEGFR2 및/또는 VEGFR3를 억제한다.

[0029] 일부 구체예에서, 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 라무시루맙(Ramucirumab), 베바시주맙(Bevacizumab), 레고라페닙(Regorafenib), 파나티닙(Ponatinib), 카보잔티닙(Cabozantinib), 렌바티닙(Lenvatinib), 소라페닙(Sorafenib), 파조파닙(Pazopanib), 아파티닙(Apatinib), 엑시티닙(Axitinib), 닌테다

닙(Nintedanib), 반데타닙(Vandetanib), 수니티닙(Sunitinib), 미도스타우린(Midostaurin), 티보자닙(Tivozanib), 프루퀸티닙(Fruquintinib), 세디라닙(Cediranib), 브리바닙(Brivanib), 도나페닙(Donafenib), 설파티닙(Sulfatinib), 안로티닙(Anlotinib), 파미티닙(Famitinib), 테세바티닙(Tesevatinib), 보롤라닙(Vorolanib), 모테사닙(Motesanib), 라니파닙(Linifanib), 세막사닙(Semaxanib), 도비티닙(Dovitinib), 오란티닙(Orantinib), 바타라티닙(Vatalanib), 텔라티닙(Telatinib), 글레사티닙(Glesatinib), 델리티닙(Delitinib), 일로라세르팁(Ilorasertib), 레바스티닙(Rebastinib), 골바티닙(Golvatinib), 페레티닙(Foretinib), 닌게티닙(Ningetinib), 타페티닙(Tafetinib), 알티라티닙(Altiratinib), TAS-115, 샤우라닙(Chiauranib), 헤나티닙(Henatinib), 4SC-203, AAL-993, ACTB-1003, AEE-788, AMG-628, 아레노부파진, BAW2881, BIBF-1202, BMS-690514, BMS-794833, CEP-11981, CEP-5214, CP-547632, CYC116, DW532, ENMD-2076, FIIN-1, GFB-204, BFH-772, BMS599626, BMS690514, PP 121, MGCD 265 유사체, AC480, Ki 8751, KRN 633, WHI-P 154, TAK593, JI 101, AZD-2932, SCR-1481B1, 이소리퀴리티게닌(Isoliquiritigenin), JNJ-26483327, KI-20227, LY2457546, ODM-203, OSI-930, PF-00337210, CGP41231, R1530, RAF265, SAR131675, 세막시닙(Semaxinib), SIM010603, SKLB1002, SKLB610, SU 5205, SU11652, SU14813, SU-1498, SU-4312, SU5402, T-1840383, 탄시논 IIA(Tanshinone IIA), TAS-115, TG 100572, TG 100801, TG100572 HCl, 토세라닙(Toceranib), 티로신 포스포릴화 억제제 A9, 테세바티닙(Tesevatinib), XL-844, XL999, ZD4190 HCl, ZM-306416, ZM323881 HCl, ABT-510, NVP-ACC789, ADT-OH, BMS-645737, EG 00229, XL-820, SGI-7079, 엔도스타틴(Endostatin), 탁시폴린(Taxifolin), 애플리버셉트(Aflibercept), 이들의 약제학적으로 허용되는 염 및/또는 상기 것들의 어떠한 조합물을 포함한다.

[0030] 일부 구체예에서, 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 하나 이상의 추가의 치료법과 함께 투여된다. 하나 이상의 추가의 치료법은 하나 이상의 추가의 항-종양 치료법을 포함할 수 있다.

[0031] 일부 구체예에서, 본원의 질환 또는 장애는 VEGFR 및/또는 VEGF 억제에 의해서 유발된다.

[0032] 일부 구체예에서, 본원의 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애, 및/또는 위장 질환 또는 장애를 포함한다.

[0033] 일부 구체예에서, 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애는 피부 조직, 얼굴 기관 및/또는 위장관에서의 상피 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 포함한다.

[0034] 일부 구체예에서, 본원의 상피 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 내피 세포의 병변과 연관된 질환 또는 장애 및/또는 외피 세포의 병변과 연관된 질환 또는 장애를 포함하고, 내피 세포 및/또는 외피 세포의 병변은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된다. 내피 세포는 혈관 내피 세포를 포함할 수 있다. 외피 세포는 피부 외피 세포, 구강 외피 세포, 코 외피 세포, 위 외피 세포 및/또는 장 외피 세포를 포함할 수 있다.

[0035] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 발진(rash), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 소양증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 홍반(erythema), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 건조증(xerosis cutis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 탈모(alopecia), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 손발톱 주위염(paronychia), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 색소 침착 질환(pigmentation disorder), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 점막염(oral mucositis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 건조증(xerostomia), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비출혈(epistaxis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비인두염(nasopharyngitis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구순염(cheilitis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 식도염(esophagitis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위점막염(esogastritis), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위궤양(gastric ulcer), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 설사(diarrhea), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구토(vomiting), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 메스꺼움(nausea), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 거식증(anorexia), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 변비(constipation), 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 복통(abdominal pain)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0036] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군을 포함한다.

[0037] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애의 중증도는 NCI-CTCAE V5.0에 따른 등급 1 이상, 등급 2 이상, 등급 3 이상, 등급 4 이상, 및/또는 등급 5 이상이다.

[0038] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 NO^+, NO^-, N_2O, NO, N_2O_3, NO_2, NO_3^- 및 NO_2^-로 이루어진 군으로부터 선택된 물질을 생성시킬 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 NO를 직접 또는 간접적으로 생성시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 NO를 포함한다.

[0039] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 유기 분자, 무기 분자, 거대분자, 나노물질, 및/또는 암모니아 산화 미생물(AOM)를 포함하는 물질을 포함한다.

[0040] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 유기 분자를 포함하고, 상기 유기 분자는 니트로글리세린, 이소소르바이드 모노니트레이트, 펜타에리트리톨 테트라니트레이트, 이소소르바이드 디니트레이트, 트롤니트레이트, 니코란딜, 프로파틸 니트레이트, 몰시도민, 5-아미노-3-(4-모르폴리닐)-1,2,3-옥사디아졸, 이소아밀 니트라이트, 3,3-디(아미노에틸)-1-하이드록실-2-카르보닐-1-트리아젠(NOC-18), 설포 친핵성 복합체 디소듐 염, S-니트로소글루타티온, S-니트로소-N-아세틸페니실아민, 4-페닐-3-푸로니트릴, (±)-(E)-4-에틸-2-[(E)-하이드록시이미노]-5-니트로-3-헥산아미드, 트르렙토조신, NG-하이드록시-L-아르기닌 아세테이트 염, O_2-(2,4-디니트로페닐) 1-[(4-에톡시카르보닐)피페라진-1-일]디아젠-1-이움-1,2-디올레이트, N-니트로소디부틸아민, 3-모르폴리노-시드논이민, 린시도민(Linsidomine), 3-(4-아세틸페닐) 시드논, 디에틸아미노 친핵성 복합체/AM 및/또는 이트라민(Itramin)을 포함한다. 예를 들어, 유기 분자는 니트로글리세린, 이소소르바이드 모노니트레이트, 이소소르바이드 디니트레이트 및 이들의 어떠한 조합물로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 유기 분자를 포함하고, 유기 분자는 니트로글리세린을 포함한다.

[0041] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 무기 분자를 포함하고, 무기 분자는 니트릴 복합체, 니트로실 복합체, 금속 니트로소아미노 복합체, 니트레이트, 및/또는 니트라이트를 포함한다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 무기 분자를 포함하고, 무기 분자는 소듐 니트로프루시드를 포함한다.

[0042] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 암모니아 산화 미생물(AOM)을 포함하고, 암모니아 산화 미생물(AOM)는 암모니아 산화 박테리아(AOB)를 포함한다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 암모니아 산화 미생물(AOM)을 포함하고, 상기 암모니아 산화 미생물(AOM)은 *니트로소모나스(Nitrosomonas)*, *니트로소코쿠스(Nitrosococcus)*, *니트로소스피라(Nitrosospira)*, *니트로소시스티스(Nitrosocystis)*, *니트로소로부스(Nitrosolobus)* 및/또는 *니트로소비브리오(Nitrosovibrio)*를 포함한다.

[0043] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 2000 달톤 또는 그 미만, 1500 달톤 또는 그 미만, 1200 달톤 또는 그 미만, 1000 달톤 또는 그 미만, 900 달톤 또는 그 미만, 800 달톤 또는 그 미만, 700 달톤 또는 그 미만, 600 달톤 또는 그 미만, 500 달톤 또는 그 미만, 400 달톤 또는 그 미만, 300 달톤 또는 그 미만, 200 달톤 또는 그 미만, 또는 100 달톤 또는 그 미만의 상대적인 분자량을 갖는다.

[0044] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 거대분자 또는 나노물질을 포함하고, 거대분자 또는 나노물질은 S-니트로소티올 실리카 나노스피어, S-니트로소에탄디티올 키틴, 및/또는 올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 노노에이트를 포함한다.

[0045] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 디아제늄디올레이트(diazeniumdiolate), 하이드록실디아젠설폰산, S-니트로소티올, 푸록산(furoxan), 옥심(oxime), N-니트로소아민, N-하이드록실구아니딘, 니트레이트, 니트라이트, 니트레이트 에스테르, 니트라이트 에스테르, 시드논이민, 시드논, 옥사트리아졸-5-이민, 옥사트리아졸-5-온, 하이드록실아민, 디옥사디아사이클로부텐(dioxadiazacyclobutene), N-하이드록실니트로소아민, N-니트로소이민, 하이드록시우레아 및 금속 니트로스아미노 복합체의 하나 이상의 그룹을 갖는다.

[0046] 본 기술분야에서의 통상의 기술자는 이하 상세한 설명으로부터 본 개시의 다른 양태 및 이점을 인지할 수 있다. 이하 상세한 서령은 본 개시의 예시적인 구체예를 단지 밝히고 설명하고 있다. 이러한 개시는 본 기술분야에서의 통상의 기술자가 본원의 사상 및 범위를 벗어나지 않으면서 개시된 구체예를 변경할 수 있게 한다. 상응하게는, 본 명세서에서의 도면 및 설명은 단지 예시적이고, 제한적이지 않다.

도면의 간단한 설명

[0047] 본원에서 청구된 본 발명의 특징은 첨부된 청구범위에 의해서 정의된다. 본원에서 개시된 본 발명의 특징 및 이점은 예시적인 구체예 및 첨부된 도면을 참조로 더 잘 이해될 수 있다. 도면은 다음과 같이 간단히 설명된다:

도 1은 S-니트로소티올 실리카 나노스피어의 예시적인 합성 도식을 도시한다.

도 2는 S-니트로소에탄디티올 키틴의 예시적인 합성 도식을 도시한다.

도 3은 올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 노노에이트의 예시적인 합성 도식을 도시한다.

도 4의 A 내지 C는 HUVEC 세포에의 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여 후에 측정한 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 도시한다.

도 5의 A 내지 C는 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여 후에 측정한 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 도시한다.

도 6의 A 내지 C는 HOK 세포에의 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여 후에 측정한 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 도시한다.

도 7의 A 내지 C는 GES-1 세포에의 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여 후에 측정한 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 도시한다.

도 8의 A 내지 C는 FHs 74 Int 세포에의 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여 후에 측정한 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 도시한다.

도 9의 A 내지 D는 HUVEC 및 GES-1 세포의 상대적인 세포내 및 세포외 NO 수준을 도시한다.

도 10의 A 내지 D는 산화질소 방출제에 의한 처리 24 시간 후의 상대적인 세포외 NO 수준을 도시한다.

도 11의 A 내지 D는 산화질소 방출제에 의한 처리 24 시간 후의 상대적인 세포내 NO 수준을 도시한다.

도 12의 A 및 B는 실데나필에 의한 HUVEC 세포의 처리 후의 다양한 시점에서의 상대적인 세포내 및 세포외 NO 수준을 도시한다.

도 12의 C 및 D는 다양한 농도에서의 실데나필에 의한 HUVEC 세포의 처리 24시간 후의 상대적인 세포내 및 세포외 NO 수준을 도시한다.

도 13의 A 및 B는 100 μM 실데나필에 의한 GES-1 세포의 처리 24 시간 후 세포내 및 세포외 NO 수준을 도시한다.

도 13의 C 및 D는 100 μM 실데나필에 의한 HaCaT 세포의 처리 24 시간 후 세포내 및 세포외 NO 수준을 도시한다.

도 14는 VEGFR 및/또는 VEGF 억제에 의해서 유발된 수족 증후군을 갖는 래트 모델의 좌측 발, 앞발, 및 우측 발의 사진을 도시한다.

도 15는 본원의 실시예 55-100 및 111-112의 투여 그룹에서의 전형적인 래트(좌측 발에 투여됨)의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 사진을 도시한다.

도 16은 본원의 실시예 101-108의 투여 그룹에서의 전형적인 래트(우측 발에 투여됨)의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 사진을 도시한다.

도 17은 본원의 실시예 113-123의 투여 그룹에서의 전형적인 래트(좌측 발에 투여됨)의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 사진을 도시한다.

도 18은 본원의 실시예 124의 투여 그룹에서의 전형적인 래트(우측 발에 투여됨)의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 사진을 도시한다.

도 19는 본원의 실시예 143의 산화질소 방출제가 외부 투여된 때의 VEGFR/VEGF 억제제로 처리되는 종양-보유 래트에서의 종양 용적 변화의 효과를 도시한다.

도 20은 HUVEC 세포에의 산화질소 방출제 (또는 딜티아젬)의 투여 후에 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과

를 도시하고 있다.

도 21은 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 후에 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 도시하고 있다.

도 22는 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 후의 상대적인 NO 수준을 도시하고 있다.

도 23은 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 후의 칼모듈린(CaM)의 발현 수준을 도시하고 있다.

도 24는 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 후의 칼모듈린(CaM)의 발현 수준의 그레이 값 분석(gray value analysis)의 결과를 도시하고 있다.

도 25는 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 후의 칼레티쿨린(Calreticulin)의 발현 수준을 도시하고 있다.

도 26은 HaCaT 세포에의 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 후의 칼레티쿨린의 발현 수준의 그레이 값 분석의 결과를 도시하고 있다.

도 27은 본원의 실시예 148-153의 투여 그룹에서의 전형적인 래트(좌측 발 및 우측 발에 투여됨)의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 사진이다.

도 28은 본원의 실시예 154의 투여 그룹에서의 전형적인 래트(좌측 발 및 우측 발에 투여됨)의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 본원의 구체예가 이하 특이적 실시예에 의해서 설명된다. 본 기술분야에서의 통상의 기술자는 본 명세서의 개시로부터 본원에 기재된 본 발명의 다른 이점 및 효과를 용이하게 이해할 수 있다.

[0049] VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제

[0050] 본원에서 사용된 용어 "VEGFR"는 일반적으로 수용체 티로신 키나아제(RTK) 패밀리에 속하는 혈관 내피 성장 인자 수용체를 나타낸다. 그것은 보고된 VEGFR1, VEGFR2, 및 VEGFR3을 포함하는 주로 3 가지의 서브타입을 포함한다. 여기에서, VEGFR1, 및 VEGFR2는 종양 혈관형성을 조절하는 종양 혈관 내피세포의 표면 상에 주로 분포되고; VEGFR3은 종양 림프혈관형성을 조절하는 림프 내피세포의 표면 상에 주로 분포된다. VEGFR2은 혈관형성 및 유사분열 과정 동안의 주요 VEGF 신호 전달 수용체임이 보고되어 있다. VEGF 패밀리는 주로 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E 및 태반 성장 인자(PGF)를 포함한다. EGFR-1 및 VEGFR-2와의 조합으로의 VEGF-A는 보고된 바와 같은 VEGF에 대한 세포 반응을 거의 모두 조절할 수 있다. 내피 세포에서의 VEGFR-2의 활성화는 증가된 증식, 이동, 생존 및 개선된 혈관 투과성을 생성시킨다(참조, Waldner, Maximilian J. et al., the Journal of Experimental Medicine 207.13, 2010). VEGFR의 발현 또는 이의 증가된 키나아제 활성은 일련의 인간 암과 연관되어 있다.

[0051] 본원에서 사용된 용어 "VEGF"은 일반적으로는 보고서들에 따른 병적 혈관형성 신호 경로에 의해서 요구되는 주요 내피 세포의 특이적 성장 인자로서 공지되어 있는 혈관 내피 성장 인자를 나타낸다. VEGF 수용체 티로신 키나아제 신호 경로의 억제는 종양의 성장 동안에 혈관형성을 차단하여 혈관형성 종양의 정체 또는 퇴행을 생성시킨다(참조, Gerald McMahon, the Oncologist 2000, 5:3-10).

[0052] 본원에서 사용된 용어 "VEGFR 억제제"는 일반적으로는 본 기술분야에서 공지되어 있거나, 장래에 발견될 수 있는 VEGFR의 감소된 발현, 양 또는 활성을 유발시킬 수 있는 어떠한 물질 또는 작용제를 나타내며, 그러한 물질 또는 작용제가 대상체에 투여되는 때에 VEGFR 활성과 연관된 생물학적 활성의 억제(어떠한 VEGFR 및 이의 천연 리간드의 조합에 의해서 생성되는 하류 생물학적 효과의 억제를 포함함)를 유발시킬 수 있는 어떠한 물질을 포함한다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제는 암의 치료 동안에 VEGFR 활성 또는 이의 어떠한 하류 생물학적 효과를 차단할 수 있는 어떠한 작용제를 포함할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 종양을 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR의 하나 이상의 기능을 직접적으로 억제할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR를 인코딩하는 핵산 서열과 조합될 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR 단백질의 전사 수준을 감소시킬 수 있다.

[0053] 본원에서 사용된 용어 "VEGFR 억제제"는 일반적으로는 본 기술분야에서 공지되어 있거나, 장래에 발견될 수 있는 VEGFR의 감소된 발현, 양 또는 활성을 유발시킬 수 있는 어떠한 물질 또는 작용제를 나타내며, 그러한 물질 또는 작용제가 대상체에 투여되는 때에 VEGFR 활성과 연관된 생물학적 활성의 억제를 유발시킬 수 있는 어떠한 물질을 포함한다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제는 암의 치료 동안에 VEGFR 활성 또는 이의 어떠한 하류 생물학적 효과를 차단할 수 있는 어떠한 작용제를 포함할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 종양을 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR의 하나 이상의 기능을 직접적으로 억제할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR를 인코딩하는 핵산 서열과 조합될 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR 단백질의 전사 수준을 감소시킬 수 있다.

[0054] 시험관내이든지 생체내이든지, 본원에서 사용된, VEGF 및/또는 VEGFR의 억제 수준을 검출하고/거나 평가하는 방법은 본 기술분야에서 일반적이다. 그리고, 그러한 방법은 본원의 VEGF 억제제 및/또는 VEGFR 억제제를 입증하고/거나, 표준화하고/거나, 스크리닝하고/거나, 평가하는데 사용될 수 있다.

[0055] 본원에서 사용된 용어 "VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애"는 일반적으로는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 대상체에 투여하는 것과 관련된 질환 또는 장애를 나타낸다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 대상체에 투여함으로써 유발되는 질환 또는 장애일 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 얼굴 기관 질환 또는 장애, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위장 질환 또는 장애를 포함할 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 발진, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 소양증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 홍반, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 탈모, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 손발톱 주위염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 색소 침착 질환, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비출혈, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비인두염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구순염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 식도염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위궤양, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 설사, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구토, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 메스꺼움, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 거식증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 변비, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 복통을 포함할 수 있다. 본 출원에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군일 수 있다.

[0056] 본원에서 사용된 용어 "종양(tumor)"은, 신생물(neoplasm)로도 공지되어 있는, 다양한 종양 형성 인자의 작용하에 국소 조직 세포 증식에 의해서 형성된 신생물 형성(neoformation)을 나타낸다. 신생물 형성의 세포적 특성 및 유기체에 대한 유해 범위에 따라서, 종양은 두 가지 유형, 즉, 양성 종양 및 악성 종양으로 분류되고, 암은 악성 종양에 대한 일반적인 용어이다. 종양은 악성 상피 악성 종양(내피세포-유래 암), 폐암(예, 비소세포 폐암), 유방암, 피부암, 방광암, 결장암, 대장암(bowel cancer), 전립선암, 췌장암, 자궁암, 자궁경부암, 난소암, 식도암, 두경부암, 위암 및 후두암으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 종양은 간암, 신장암, 결장직장암, 위암, 식도암 또는 갑상선암일 수 있다.

[0057] 본원에서 사용된 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 본 기술분야에서 공지된 방법에 의해서, 예를 들어, 후보 물질/작용제의 투여 후에 VEGFR 및/또는 VEGF의 발현 또는 활성의 변화를 검출함으로써 확인되거나 스크리닝될 수 있다. VEGFR 및/또는 VEGF의 발현은 또한 종래기술에서 공지된 방법, 예를 들어, 면역조직화학 방법, PCR, RT-PCR, 동일반응계내 혼성화(in situ hybridization), 서던 블롯(Southern blot), 웨스턴 블롯(Western blot), 노턴 블롯(Northern blot), 분광 광도법(spectrophotometry) 및 ELISA 등에 의해서 검출될 수 있다.

[0058] 본원에서 사용된 VEGFR 억제제의 적어도 하나(예, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 또는 그 초과)는 VEGFR 단백질 및/또는 VEGFR 단백질을 인코딩하는 핵산에 직접적으로 작용할 수 있다.

[0059] 본원에서 사용된 VEGF 억제제의 적어도 하나(예, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 또는 그 초과)는 VEGF 단백질 및/또는 VEGF 단백질을 인코딩하는

핵산에 직접적으로 작용할 수 있다.

[0060] 예를 들어, VEGFR 억제제는 소분자 VEGFR 억제제, VEGFR에 특이적으로 결합하는 단백질 거대분자, VEGFR 단백질의 발현을 억제하는 RNAi 및/또는 VEGFR 단백질의 발현을 억제하는 안티센스 올리고뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

[0061] 본원에서 사용된 용어 "소분자 VEGFR 억제제"는 VEGFR에 가역적으로 또는 비가역적으로 결합하는 소분자 VEGFR 억제제 또는 돌연변이 VEGFR에 특이적으로 결합하는 소분자 VEGFR 억제제를 포함할 수 있다. 예를 들어, 소분자 VEGFR 억제제는 레고라페닙(Regorafenib), 포나티닙(Ponatinib), 카보잔티닙(Cabozantinib), 렌바티닙(Lenvatinib), 소라페닙(Sorafenib), 아파티닙(Apatinib), 엑시티닙(Axitinib), 닌테다닙(Nintedanib), 반데타닙(Vandetanib), 수니티닙(Sunitinib), 미도스타우린(Midostaurin), 티보자닙(Tivozanib), 프루퀸티닙(Fruquintinib), 세디라닙(Cediranib), 브리바닙(Brivanib), 도나페닙(Donafenib), 설파티닙(Sulfatinib), 안로티닙(Anlotinib), 파미티닙(Famitinib), 테세바티닙(Tesevatinib), 보롤라닙(Vorolanib), 모테사닙(Motesanib), 리니파닙(Linifanib), 세막사닙(Semaxanib), 도비티닙(Dovitinib), 오란티닙(Orantinib), 바탈라닙(Vatalanib), 텔라티닙(Telatinib), 글레사티닙(Glesatinib), 류시타닙(Lucitanib), 일로라세르팁(Ilorasertib), 레바스티닙(Rebastinib), 골바티닙(Golvatinib), 포레티닙(Foretinib), 닌게티닙(Ningetinib), 타페티닙(Tafetinib), 알티라티닙(Altiratinib), TAS-115, 샤우라닙(Chiauranib), 헤나티닙(Henatinib), 4SC-203, AAL-993, ACTB-1003, AEE-788, AMG-628, 아레노부파진(Arenobufagin), BAW2881, BIBF-1202, BMS-690514, BMS-794833, CEP-11981, CEP-5214, CP-547632, CYC116, DW532, ENMD-2076, FIIN-1, GFB-204, BFH-772, BMS599626, BMS690514, PP 121, MGCD 265 유사체, AC480, Ki 8751, KRN 633, WHI-P 154, TAK593, JI 101, AZD-2932, SCR-1481B1, 이소리퀴리티게닌(Isoliquiritigenin), JNJ-26483327, KI-20227, LY2457546, ODM-203, OSI-930, PF-00337210, CGP41231, R1530, RAF265, SAR131675, 세막시닙(Semaxinib), SIM010603, SKLB1002, SKLB610, SU 5205, SU11652, SU14813, SU-1498, SU-4312, SU5402, T-1840383, 탄시논 IIA(Tanshinone IIA), TAS-115, TG 100572, TG 100801, TG100572 HCl, 토세라닙(Toceranib), 티로신 포스포릴화 억제제 A9(Tyrosine phosphorylation inhibitor A9), 테세바티닙(Tesevatinib), XL-844, XL999, ZD4190 HCl, ZM-306416, ZM323881 HCl, ABT-510, NVP-ACC789, ADT-OH, BMS-645737, EG 00229, XL-820, SGI-7079, 엔도스타틴(Endostatin) 및/또는 탁시폴린(Taxifolin)을 포함할 수 있다.

[0062] 본원에서 사용된 용어 "특이적으로 결합하는"은 일반적으로는, 복잡한 혼합물에서, VEGFR 억제제가 VEGFR를 특이적으로 인식하고 그에 결합하지만, 복잡한 혼합물 중의 다른 성분을 인식하지 않거나 그에 결합하지 않는 것을 의미한다. 예를 들어, VEGFR에 대한 억제제의 친화성은 다른 비-특이적 결합 성분에 대한 억제제의 친화성의 적어도 2 배(예, 적어도 2 배, 3 배, 4 배, 5 배, 6 배, 7 배, 8 배, 9 배, 10 배 또는 그 초과)일 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR에 의한 VEGFR 억제제의 평형 해리 상수는 10^{-6} 또는 그 미만(예, 10^{-7} M 또는 그 미만, 10^{-8} M 또는 그 미만, 10^{-9} M 또는 그 미만, 10^{-10} M 또는 그 미만 또는 그 미만)이다.

[0063] 본원에서 사용된, VEGFR에 특이적으로 결합하는 단백질 거대분자는 VEGFR을 표적으로 하는 항체, 항체 변이체, 융합 단백질, 이들의 유도체 또는 단편일 수 있다. 예를 들어, 그것은 VEGFR에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합의 단편일 수 있다.

[0064] 본원에서 사용된, 항체는 일반적으로는 특이적 항원을 특이적으로 인식하고/거나 중화시킬 수 있는 폴리펩티드 분자를 나타낸다. 예를 들어, 항체는 설파이드 결합을 통해서 서로 연결되는 적어도 두 개의 중쇄(H) 및 두 개의 경쇄(L)로 구성되는 면역글로불린을 포함할 수 있고, 이의 항원 결합 단편을 함유하는 어떠한 분자를 포함한다. 용어 "항체"는 인간 항체(전장 인간화된 항체), 인간화된 항체, 키메라 항체, 단일-가닥 항체(예, scFv), 및 항원에 결합하는 항체 단편(예, Fab, Fab' 및 (Fab)2 단편)을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아닌, 모노클로날 항체, 항체 단편 또는 항체 유도체를 포함할 수 있다. 여기에서, 키메라 항체는, 각각의 중쇄 또는 경쇄가 하나의 종으로부터 유래된 항체의 상응하는 아미노산 서열과 상동성이거나 특정의 분류에 속하지만, 사슬의 나머지 세그먼트(segment)는 다른 종의 상응하는 서열에 상동성인, 항체일 수 있다. 여기에서, 인간화된 항체는 비-인간 면역글로불린으로부터 유래된 소량의 서열을 포함하여, 이종-항체가 인간에게 도입되는 때에 면역원성을 감소시키지만, 항체의 완전한 항원 결합 친화성 및 특이성을 유지시키는, 키메라 항체를 나타낼 수 있다. 여기에서, 전장 인간화된 항체는 인간 또는 인간 면역 세포에 의해서 생성된 또는 비-인간 공급원(예, 인간화된 항체 라이브러리를 사용함으로써 유전적으로 변형된 비-인간 동물)으로부터 유래된 항체 또는 인간 항체를 인코딩하는 다른 서열일 수 있다.

[0065] 본원에서 사용된, 항체의 항원 결합의 단편은 특이적 항원 결합 기능을 갖는 하나 이상의 단편일 수 있다. 항체

의 항원 결합 기능은 항체의 전장 단편에 의해서 달성될 수 있다. 항체의 항원 결합은 또한 Fv, ScFv, dsFv, Fab, Fab' 또는 $F(ab')_2$ 단편을 함유하는 중쇄, 또는 Fv, ScFv, dsFv, Fab, Fab' 또는 $F(ab')_2$ 단편을 함유하는 경쇄에 의해서 달성될 수 있다. (1) VL, VH, CL 및 CH 도메인으로 구성된 일가 단편인 Fab 단편; (2) 힌지 영역에서 디설파이드 결합에 의해서 연결된 두 개의 Fab 단편을 함유하는 이가 단편인 $F(ab')_2$ 단편; (3) VH 및 CH 도메인로 구성된 Fd 단편; (4) 항체의 한 아암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; (5) VH 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546); (6) 분리된 상보성 결병 영역(complementary determining region: CDR); (7) 링커를 통해서 임의로 연결될 수 있는 둘 이상의 분리된 CDR의 조합물; (8) 두 개의 중쇄 가변 영역을 포함하지만 경쇄를 함유하지 않는 항체인 카멜라이즈드(Camelized) 단일 도메인 항체 및 (9) 중쇄 가변 영역, CH2 및 CH3을 포함하는 나노바디(nanobody). 더욱이, 그것은 VL와 VH(scFv)를 대합(pairing)시킴으로써 형성되는 일가 단일-가닥 분자 Fv(scFv)를 추가로 포함할 수 있다(참조, Bird et al. (1988) Science 242: 423-426; and Huston et al. (1988) Proc.Natl.Acad.Sci. 85: 5879-5883). 용어 "항원 결합의 일부"는 (1) 면역글로불린 힌지 영역의 펩티드와 융합된 도메인을 결합하는 펩티드; (2) 힌지 영역과 융합된 면역글로불린의 중쇄 CH2 불변 영역; 및 (3) CH2 불변 영역과 융합된 면역글로불린의 중쇄 CH3 불변 영역으로 이루어진 군으로부터 선택된 결합 도메인을 포함하는 면역글로불린 융합 단백질을 추가로 포함할 수 있다.

[0066] 예를 들어, VEGFR에 특이적으로 결합하는 단백질 거대분자는 라무시루맙, 이의 항원 결합 단편 또는 기능적 변이체일 수 있다.

[0067] 본원에서 사용된 용어 "VEGF 포획제(VEGF trapping agent)"는 일반적으로는 결합에 의해서 VEGF를 포획할 수 있는 작용제를 나타낸다. VEGF 포획제는 베바시주맙 및 애플리버셉트로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0068] 본원에서 사용된 용어 "VEGF의 발현을 감소시키는 작용제"는 일반적으로는 대상체에서 VEGF의 발현을 직접적으로 또는 간접적으로 감소시킬 수 있는 물질을 나타낸다. 예를 들어, VEGF의 발현을 감소시키는 작용제는 테시롤리무스(Temsirolimus) 및 탈리도미드(Thalidomide)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0069] 본원에서 사용된 용어 "RNAi"는 일반적으로는 RNA 간섭(RNA interference)을 나타내며, 이는 일반적으로는 외인성 또는 내인성 이중-가닥 RNA 분자 또는 소분자 RNA이고, 전형적으로는 mRNA를 표적함으로써 유발되는 RNAi의 특이적 분해를 통해서 표적 유전자의 발현 또는 번역을 억제한다. 일반적으로, RNAi는 두 가지 유형의 소분자 RNA: microRNA (miRNA) 및 작은 간섭 RNA (siRNA)를 포함하고, 이들은 다른 mRNA 분자에 결합하여, 그의 활성을 증가시키거나 감소시키고, 예를 들어, mRNA가 단백질로 번역되는 것을 방지할 수 있다. 진핵 동물에서, RNAi 경로는 긴 이중-가닥 RNA(dsRNA)를 RNaseIII 효소(예, Dicer, DCL 또는 Drosha)에 의해서 길이 약 20-23 개의 뉴클레오티드를 갖는 이중-가닥 siRNA 단편들로 분해한다. 각각의 siRNA는 두 개의 단일-가닥 RNA(ssRNA), 즉, 패슨저 사슬(passenger chain)과 가이드 사슬(guide chain)로 분리된다. 패슨저 사슬은 분해되는 반면에, 가이드 사슬은 RNA 유도 침묵 복합체(RNA inducing silencing complex: RISC) 내로 통합된다. 가이드 사슬이 mRNA 분자에 상보성인 때에 RISC는 mRNA 분자를 분해하여, mRNA 분자의 분해를 생성시킨다.

[0070] 본원에서 사용된, VEGFR 단백질의 발현을 억제하는 RNAi는 mRNA를 특이적으로 분해시키기 위해서 VEGFR을 인코딩하는 mRNA를 표적함으로써 VEGFR의 발현 또는 번역을 억제할 수 있다. 본원에서 사용된, VEGF 단백질의 발현을 억제하는 RNAi는 mRNA를 특이적으로 분해시키기 위해서 VEGF를 인코딩하는 mRNA를 표적함으로써 VEGF의 발현 또는 전사를 억제할 수 있다.

[0071] 본원에서 사용된, 용어 "올리고뉴클레오티드"는 일반적으로는 리보핵산(RNA) 또는 데옥시리보핵산(DNA)의 올리고머 또는 폴리머 또는 이의 어떠한 미믹(mimic) 또는 구조적으로 변형된 핵산을 나타낸다. 그러한 용어는 핵염기, 펜토스 및 공유 뉴클레오시드(covalent nucleoside)(백본(backbone))로 이루어진 올리고뉴클레오티드, 및 유사한 기능을 갖는 비-천연 올리고뉴클레오티드를 포함한다. 변형되거나 치환된 올리고뉴클레오티드는 일반적으로는, 이들이, 예를 들어, 증가된 세포 흡수, 표적 핵산에 대한 증가된 친화성, 및 뉴클레아제의 존재 하의 증가된 안정성을 가짐에 따라서, 천연 형태에 비해서 우수하다.

[0072] 본원에서 사용된, 용어 "안티센스 올리고뉴클레오티드(antisense oligonucleotide)"는 일반적으로는 표적 핵산의 상응하는 영역 또는 단편과 적어도 부분적으로 혼성화할 수 있는 핵염기 서열을 갖는 단일 가닥 올리고뉴클레오티드를 나타낸다. 본원에서 사용된, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 약 8 내지 약 50 개의 핵염기를 함유할 수 있다.

[0073] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제는 VEGFR1, VEGFR2 및/또는 VEGFR3을 억제할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제는 VEGFR1, VEGFR2, 및 VEGFR3 중 하나, 둘 또는 셋을 억제할 수 있다.

[0074] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제는 라무시루맙, 베바시주맙, 레고라페닙, 포나티닙, 카보잔티닙, 렌바티닙, 소라페닙, 파조파닙, 아파티닙, 엑시티닙, 닌테다닙, 반데타닙, 수니티닙, 미도스타우린, 티보자닙, 프루퀸티닙, 세디라닙, 브리바닙, 도나페닙, 설파티닙, 안로티닙, 파미티닙, 테세바티닙, 보롤라닙, 모테사닙, 리니파닙, 세막사닙, 도비티닙, 오란티닙 바타라티닙, 텔라티닙, 글레사티닙, 류시타닙, 일로라세르팁, 레바스티닙, 골바티닙, 페레티닙, 닌게티닙, 타페티닙, 알티라티닙, TAS-115, 샤우라닙, 헤나티닙, 4SC-203, AAL-993, ACTB-1003, AEE-788, AMG-628, 아레노부파진, BAW2881, BIBF-1202, BMS-690514, BMS-794833, CEP-11981, CEP-5214, CP-547632, CYC116, DW532, ENMD-2076, FIIN-1, GFB-204, BFH-772, BMS599626, BMS690514, PP 121, MGCD 265 유사체, AC480, Ki 8751, KRN 633, WHI-P 154, TAK593, JI 101, AZD-2932, SCR-1481B1, 이소리퀴리티게닌, JNJ-26483327, KI-20227, LY2457546, ODM-203, OSI-930, PF-00337210, CGP41231, R1530, RAF265, SAR131675, 세막시닙, SIM010603, SKLB1002, SKLB610, SU 5205, SU11652, SU14813, SU-1498, SU-4312, SU5402, T-1840383, 탄시논 IIA, TAS-115, TG 100572, TG 100801, TG100572 HCl, 토세라닙, 티로신 포스포릴화 억제제 A9, 테세바티닙, XL-844, XL999, ZD4190 HCl, ZM-306416, ZM323881 HCl, ABT-510, NVP-ACC789, ADT-OH, BMS-645737, EG 00229, XL-820, SGI-7079, 엔도스타틴, 탁시폴린, 애플리버셉트, 및/또는 상기 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 약제학적으로 허용되는 염을 포함할 수 있다.

[0075] 본원에서 사용된 용어 "약제학적으로 허용되는 염"은 화합물의 약제학적으로 허용되는 염을 나타낸다. 일부 구체예에서, 약제학적으로 허용되는 염은 소라페닙 토실레이트, 수니티닙 말레이트, 파조파닙 하이드로클로라이드, 및 도비티닙(TKI258) 락테이드로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0076] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 하나 이상의 추가의 치료법과 조합으로 투어될 수 있다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 추가의 치료법은 하나 이상의 추가의 항-종양 치료법을 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가의 항-종양 치료법은 세포독성 항암제, 면역치료 항암제, 또는 호르몬치료 항암제를 포함할 수 있다. 추가의 항-종양 치료는 방사선 치료 또는 수술 치료를 추가로 포함할 수 있다.

[0077] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 추가의 항-종양 치료와 조합으로 투여되는 때에, 이들은 대상체에 동시에 투여되거나, 간격을 두고 개별적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 추가의 항-종양 치료는 단일 투여량 형태의 일부일 수 있고, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제와 함께 혼합되어 단일 조성물을 형성할 수 있다. 또 다른 예로서, 추가의 항-종양 치료는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제와 별도로 투여되는 별도의 작용제일 수 있다. 본원에서 사용된, 추가의 항-종양 치료 및 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 단일 조성물을 형성하면, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 전체 투여량과 관련하여 약 1-99%(예, 약 5-95%, 약 1%, 약 5%, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95% 또는 약 99%)의 수준으로 존재하고/거나 그러한 수주으로 투여될 수 있다.

[0078] 암을 치료하는데 사용되는 세포독성 항암제는 알킬화제, 예컨대, 클로르메틴(chlormethine), 질소 머스타드 N-옥사이드 하이드로클로라이드(nitrogen mustard N-oxide hydrochloride), 클로로암부실(Chloroambucil), 사이클로포스파미드(Cyclophosphamide), 이포스파미드(Ifosfamide), 티오테파(thiotepa), 이소티오시아네이트(isothiocyanate), 부설판(Busulfan), 니무스틴 하이드로클로라이드(Nimustine hydrochloride), 미트로퓸 브로마이드(mitropium bromide), 멜팔란(Melphalan), 다카르바진(Dacarbazine), 라니무스틴(Ranimustine), 프로메타민 소듐 포스페이트, 디에틸렌트리아민, 카르무스틴(Carmustine), 로무스틴(Lomustine), 스트렙토조토신(Streptozotocin), 피포브로만(pipobroman), 에토글루시드(ethoglucid), 카르보플라틴(Carboplatin), 시스플라틴(Cisplatin), 미리플라틴(Miriplatin), 네다플라틴(Nedaplatin), 테네트아미드(tenetamide), 오무스틴(omustine), 디클로로피리딘(dichloropyridine), 프레드니무스틴(prednimustine), 푸미테파(pumitepa), 리보무스틴(Ribomustin), 테모졸로미드(Temozolomide), 디클로페낙(diclofenac), 트로바플록사신(trovafloxacin), 진스타틴(zinstatin), 심바스타틴(simvastatin), 페넴스(penems), 시스테무스틴(cystemustine) 및 바이젤레신(bizelesin); 대사 길항 물질(antimetabolite), 예컨대, 메르캅토퓨린(mercaptopurine), 6-메르캅토퓨린 글리코시드, 6-티오이노신, 메토트렉세이트(methotrexate), 페메트렉시드(pemetrexed), 보티옥세틴(vortioxetine), 사이타라빈(cytarabine), 옥살리플라틴(oxaliplatin), 티자니딘 하이드로클로라이드(tizanidine hydrochloride), 5-FU 및 유사한 유도체(예컨대, 플루오로우라실(fluorouracil), 테가푸르(tegafur), UFT, 데옥시사이클린(Doxycycline), 카르모푸르(carmofur), 카펙시타빈(capecitabine) 등); 항종양 항생제, 예컨대, 악티노마이신 D(actinomycin D), 악티노마이신 C, 미토마이신(mitomycin), 크로모마이신 A3(Chromomycin A3), 블레오마이신 하이드로클로라이드(Bleomycin hydrochloride), 블레오마이신, 세티마이신 하이드로클로라이드(cetimycin hydrochloride), 독소루비신 하이드로클로라이드(Doxorubicin hydrochloride), 미톡산트론 하이드로클로라이드(Mitoxantrone hydrochloride) 및 아이다루비신 하이드로클로라이드(Idarubicin hydrochloride);

및/또는, 식물-유래된 세포독성 항암 약물, 예컨대, 에토포시드(Etoposide), 에토포시드 포스페이트, 빈블라스틴 설페이트(Vinblastine sulfate), 빈크리스틴 설페이트(Vincristine sulfate), 테니포시드(Teniposide), 파클리탁셀, 파클리탁셀 및 비노렐빈(vinorelbine) 등; VEGF 억제제, 예컨대, 베바시주맙, 및 PCT 특허출원 WO 2005/012359호, WO 2005/044853호, WO 98/45332호, WO 96/30046호, WO 94/10202호, US 특허 제7,060,269호, US6,582,959호, US6,703,020호, US6,054,297호, U.S. 특허출원 US2006/009360호, US2005/0186208호, US2003/0206899호, US2003/0190317호, US2003/0203409호 및 US2005/0112126호에서 개시된 VEGF 억제제를 포함할 수 있다.

[0079] 암을 치료하기 위해서 사용되는 면역치료제는 부비니니(bubinini), 크레스틴(Crestine), 벤조푸라잔(Benzofurazan), 렌티난(Lentinan), 유베니멕스(Ubenimex), 인터페론(Interferon), 인터류킨(Interleukin), 대식세포 증식 자극인자(macrophage colony-stimulating factor), 과립구 집락 자극인자(granulocyte colony-stimulating factor), 에리트로포이에틴(Erythropoietin), 림포톡신(lymphotoxin), BCG, 코리네박테리움 파르붐(Corynebacterium Parvum), 에베롤리무스(everolimus), 레바미솔(levamisole), 폴리사카라이드 K(Polysaccharide K), 프로코다졸(procodazole) 및/또는 면역 관문 억제제 (예컨대, CTLA4 억제제, TIM-3 억제제, PD-1 억제제(예컨대, 니볼루맙(Nivolumab), 펨브롤리주맙(Pembrolizumab), 피딜리주맙(Pidilizumab), AMP514(앰플이뮨: Amplimmune), AMP-224, 및 PCT 특허출원 WO2006/121168호, WO2009/114335호, WO2009/101611호, U.S. 특허 US 8609089호, U.S. 특허출원 US2010/028330호, US2012/0114649호에 개시된 다른 PD-1 억제제), PD-L1 억제제(예컨대, YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, MDX-1105, 및 PCT 특허출원 WO2010/077634호 및 U.S. 특허 US7,943,743호에 개시된 다른 PD-L1 억제제))를 포함할 수 있다.

[0080] 암을 치료하는데 사용되는 호르몬 치료 항암제는 우리나스타틴(urinastatin), 디에틸스틸베스트롤(diethylstilbestrol), 염소화된 코스텐(chlorinated costen), 메드록시프로게스테론 아세테이트(medroxyprogesterone acetate), 메가스트롤 아세테이트(Megestrol acetate), 사이프로테론 아세테이트(cyproterone acetate), 사이프로테론 아세테이트, 다나졸(danazol), 알릴에스트레놀(allylestrenol), 프로게스테론, 메파르트리신(mepartricin), 랄록시펜(Raloxifene), 레보플록사신(Levofloxacin), 항에스트로겐(antiestrogen)(예컨대, 타목시펜 시트레이트 염(Tamoxifen citrate salt), 및 토레미펜 시트레이트 염(toremifene citrate salt) 등), 피임약(contraceptive pill), 프로스파사이클린(prostacyclin), 테스토락톤(testolactone), 아미노 석신이미드, LH-RH 효능제(예컨대, 고세렐린 아세테이트, 부세렐린, 및 류프로렐린(leuprorelin) 등), 드롤록시펜(droloxifene), 에피안드로스테린(epiandrosterone), 에티닐에스트라디올 설포네이트(ethinylestradiol sulfonate), 플루벤다졸 하이드로클로라이드(flubendazole hydrochloride), 아나스트로졸(anastrozole), 레트로졸(letrozole), 엑스메스탄(exemestane), 보로졸(vorozole), 항-안드로겐(예컨대, 플루타미드(flutamide), 바이칼루타미드(bicalutamide), 및 닐루타미드(nilutamide) 등), 5α-스타틴(예컨대, 피나스테라이드(finasteride), 에프리스테라이드(epristeride)), 코르티코스테로이드(corticosteroid)(예컨대, 덱사메타손(Dexamethasone), 프레드니솔론(Prednisolone), 베타메타손(Betamethasone), 및 트리암시놀론 아세토나이드(Triamcinolone acetonide) 등) 및/또는 안드로겐 길항제(androgen antagonist)(예컨대, 아비라테론(abiraterone) 등)를 포함할 수 있다.

[0081] <u>VEGFR 및/또는 VEGF 억제-연관된 질환 또는 장애</u>

[0082] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 및/또는 VEGF 억제와 통계학적으로 유의하게 연관될 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 및/또는 VEGF 억제에 의해서 유발된다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애를 포함할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애는 피부 조직, 얼굴 기관 및/또는 위장관에서의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 상피 질환 또는 장애를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 유발된 부작용 또는 역 반응을 포함한다.

[0083] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 과거의 어떠한 다른 질환 또는 장애와는 상이할 수 있는 새로운 적응증(indication)일 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애의 진단 방법, 치료 방법 및/또는 증상은 모두 독특하다. 예를 들어, 에리트로마이신 연고는 발진을 치료할 수 있는 반면에, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된

발진을 치료하는데는 효과가 없다.

[0084] 본원에서 사용된 용어 "피부 조직 질환 또는 장애"는 일반적으로는 피부(모발 및 손발톱을 포함함)의 형태(morphology), 구조 및/또는 기능에서 발생하는 병적 변화를 나타낸다. 예를 들어, 피부 조직 질환 또는 장애는, 발질, 수족 증후군, 소양증, 홍반, 피부 건조증, 탈모, 손발톱 주위염, 색소 침착 질환 등을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0085] 본원에서 사용된 용어 "발진"은 일반적으로는 피부의 색상, 외관, 또는 텍스쳐(texture)에 영향을 줄 수 있는 피부의 변화를 나타낸다. 발진은 신체의 일부만으로 편재될 수 있거나, 전체 피부에 영향을 줄 수 있다. 발진은 추가로 두드러기를 포함한다.

[0086] 본원에서 사용된 용어 "수족 증후군(hand-foot syndrome)"은 손 발 증후군(Hand Foot Syndrome: HFS), 또는 손발바닥 홍반성 감각이상(Palmar Plantar Erythrodysesthesia: PPE), 또는 손-발 피부 반응(Hand-foot skin reaction: HFSR)으로도 공지되어 있고, 이는 New England Diaconis Hospital of Harvard Medical School의 Jacob Lokich와 Cery Moor에 의해서 1984년에 처음으로 설명되었다. 전형적인 임상 증상은 점진적이다. 주요 임상 증상은 손가락(발가락) 열, 통증, 홍반성 팽윤(erythematous swelling), 표피 탈락이 심각한 사람(serious person for desquamation), 궤양, 및 극심한 통증 등을 포함한다. HFS의 병적 증상은 주로, 예를 들어, 기저 케라티노사이트 액포 변성(basal 케라티노사이트 vacuolar degeneration), 피부 혈관주위 림프구 침윤(skin perivascular lymphocyte infiltration), 케라티노사이트 아폽토시스(케라티노사이트 apoptosis), 및 피부 부종(skin edema) 등을 포함한다. 예를 들어, HFS는 손발바닥 감각장애(palmar or plantar dysesthesia), 또는 화학치료에 의해서 유발된 선단홍반(acral erythema) 등을 포함할 수 있다. 암 환자는 화학치료 또는 분자 표적 치료(예, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제)의 과정 동안에 상응하는 증상을 전개할 수 있다.

[0087] 현재, 수족 증후군(HFS)에 대한 다양한 분류 방법이 있으며, 미국 국립 암 연구소(American National Cancer Institute: NCI))의 기준이 비교적 일반적으로 사용된다. 이러한 기준은 수족 증후군을 3 등급으로 분류하고 있다: 등급 1은 감각이상(paresthesia)이 있는 최소 피부 변화 또는 피부염(dermatitis)(예, 지문 사라짐, 착색, 홍반, 외피 박리(decrustation), 감각 이상, 감각장애, 피부 마비(skin numbness) 등)이지만, 일상 생활에는 영향을 주지 않으며; 등급 2는 통증이 일상 생활에 약간 영향을 주며 피부 표면이 온전하면서 등급 1과 동일한 수준의 피부 변화이고; 등급 3은 궤양성 피부염 또는 심각한 통증의 피부 병변이며, 일상 생활에 심각하게 영향을 주고 명확한 조직 손상이 있다(예, 표피 탈락, 수포(blister), 출혈, 부종 등).

[0088] 더욱이, 세계보건기구(World Health Organization: WHO)는 HFS를 4 등급으로 분류하고 있다: 등급 1은 손과 발에서의 감각장애, 감각이상, 저림(tingling)의 느낌이고; 등급 2는 물건을 잡고 걸을 때 불편, 무통 팽윤(painless swelling), 또는 홍반이고; 등급 3은 통증 홍반 및 손발바닥의 팽윤(swelling), 손발톱 주위 홍반(periungual erythema) 및 팽윤이고; 등급 4는 외피 박리(decrustation), 궤양화(ulceration), 수포 형성 및 극심한 통증이다.

[0089] 본원에서 사용된, 용어 "홍반"은 일반적으로는 피부 유두 모세혈관 그물(dermal papillary capillary network)의 국소 또는 전신 팽창에 의해서 유발된 국소 또는 전신 적색 평형반(red maculae)을 나타낸다.

[0090] 본원에서 사용된, 용어 "손발톱 주위염"은 일반적으로는 손톱(발톱) 주위의 연조직의 감염성 병변을 나타내며, 이는 일반적으로는 손발톱 근처의 약간의 피부 손상을 통해서 박테리아의 피하 침입 및 번식에 의해서 유발되고, 염증성 삼출, 및 육아조직 증식 등과 함께 감염된 부위의 통증성 붉어짐(redness) 및 팽윤을 포함한 임상적 증상을 갖는다.

[0091] 본원에서 사용된, 용어 "색소 침착 질환"은 일반적으로는 피부가 정상적인 상태에 비해서 더 밝거나 더 어두운 색을 나타내며, 얼룩 또는 변색을 생성시키는 질환을 나타낸다. 색소침착저하(Hypopigmentation)는 신체에서의 색소의 불충분한 생성에 기인하는 반면에, 과다색소침착(hyperpigmentation)은 신체에서의 색소의 과도한 생성에 기인한다.

[0092] 본원에서 사용된, 용어 "얼굴 기관 질환 또는 장애(facial organ disease or disorder)"는 일반적으로는 귀, 눈썹, 눈, 코, 입 등을 포함한 기관의 형태, 구조, 및/또는 기능에서 발생하는 병적 변화를 나타낸다. 예를 들어, 얼굴 기관 질환 또는 장애는 구강 점막염(Mucositis), 구강 건조증(xerostomia)(건조한 구강), 비출혈(epistaxis), 비인두염(nasopharyngitis) 및/또는 구순염(cheilitis)을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0093] 본원에서 사용된, 용어 "비인두염"은 일반적으로는 비인두 점막, 점막하 조직(submucosa) 및 림프 조직의 염증

성 반응을 나타내며, 급성 비인두염과 만성 비인두염으로 분류될 수 있다. 증상은 비인두 건조 및 불편, 기침과는 다른 끈적한 분비물을 포함하지만, 이로 한정되는 것은 아니고, 메스꺼움, 극심한 쉰목소리(severe cases of hoarseness), 인후염(sore throat), 두통, 현기증, 피로, 소화불량(indigestion), 저체온증(hypothermia) 뿐만 아니라, 다른 국소 또는 전신 증상을 흔히 동반한다. 비인두 검사는 만성 점막 혼잡(chronic mucosa congestion), 과형성(hyperplasia), 비대(hypertrophy), 분비물 덮힘(secretion covering) 또는 마른 딱지(dry scab)를 나타낸다.

[0094] 본원에서 사용된, 용어 "구순염"은 일반적으로는 입술에서 발생하는 염증성 질환 또는 장애를 나타낸다. 예를 들어, 그것은 구강 주변 피부, 홍순(vermilion border), 및/또는 볼 점막(buccal mucosa) 등의 염증화를 포함할 수 있다. 그것은 질환의 과정에 따라 급성 구순염 및 만성 구순염; 임상 증상 특성에 따라 미란성 구순염(erosive cheilitis), 습진성 구순염, 박리성 구순염; 및 병인 및 병리에 다라 만성 비-특이성 구순염, 선성 구순염(cheilitis glandularis), 양성 림프절증(benign lymph adenosis)의 구순염, 육아성 구순염(cheilitis granulomatosa), 멜커슨-로젠탈 증후군(Melkersson-Rosenthal Syndrome), 광선 구순염(actinic cheilitis) 및 알레르기성 구순염으로 분류될 수 있다.

[0095] 본원에서 사용된, 용어 "위장 질환 또는 장애"는 일반적으로는 위 또는 장 조직(예, 위 유문으로부터 항문까지의 소화관 조직)의 형태, 구조 및/또는 기능의 병리학적 변화를 나타낸다. 예를 들어, 위장 질환 또는 장애는 설사, 구토, 메스꺼움, 거식증, 변비 및/또는 복통 등을 포함할 수 있지만, 이로 한정되는 것은 아니다.

[0096] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 종양을 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애의 위치는 종양의 위치와 상이하다.

[0097] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애는 피부 조직, 얼굴 기관 및/또는 위장관에서의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 상피 질환 또는 장애를 포함할 수 있다.

[0098] 본원에서 사용된, 용어 "외피 조직"은 피부, 점막, 공동(cavity), 슬러리(slurry) 및 선 공간(gland space)을 포함하는 전신을 덮는 자유 및 표면-폐쇄된 세포의 하나 이상의 층을 포함한다. 모든 상피 층은 두 개의 특수 도메인, 즉, 점막(또는 공동) 공간을 향한 상부 도메인 및 장막(또는 깊은) 공간을 향한 기저 측면 막을 포함한다. 따라서, 외피 조직의 중요한 기능은 적절한 장벽을 제공하여 두 공간 사이의 다양한 생리학적 과정을 분리하고 조절하는 것이다. 외피 조직은 외피 세포와 내피 세포를 포함한다.

[0099] 본원에서 사용된, 용어 "상피 질환 또는 장애"는 일반적으로는 외피 세포 및/또는 내피 세포의 병변에 의해서 야기된 질환 또는 장애를 나타낸다. 예를 들어, 상피 질환 또는 장애는 발진, 여드름, 피부 소양증, 탈모, 모발 변화(hair change), 홍반, 피부 박리(skin exfoliation), 헤르페스(herpes), 다모증(hirsutism), 과다색소침착(hyperpigmentation), 손발톱 질환(nail disorder), 손발톱 주위염 및 열조증(schizonychia), 피부 건조증, 과민증(hypersensitivity), 점막염(mucositis), 비인두염, 비인두염, 구강 건조증, 구순염, 구강 점막염 및/또는 위장 점막 손상을 포함할 수 있다. 또 다른 예로서, 상피 질환 또는 장애는 또한 피부 외피 세포 질환 또는 장애(예, 발진, 여드름, 장미증(rosacea), 아토피 피부염(atopic dermatitis), 접촉 피부염(contact dermatitis), 지루성 피부염(seborrheic dermatitis), 루프스(lupus), 경피증(scleroderma), 천포창(pemphigus), 색소 침착(pigmentation), 검은 반점(black spot), 백색 피부증(leukoderma), 두드러기(urticaria), 체부백선(tinea corporis), 피부 소양증, 탈모, 모발 변화(hair change), 홍반, 손발톱 주위염 및 열조증(schizonychia), 피부 건조증, 과민증 및 건선), 구강 외피 세포 질환 또는 장애(예, 수포창, 입술 헤르페스(herpes labialis), 헤르페스 구내염(herpetic stomatitis), 유아성 구순염, 구강 점막염, 유사천포창(pemphigoid), 구강 건조증 증후군, 베체트 질환(Bechet disease) 및 구강 사르코이드증(oral sarcoidosis) 등), 코의 외피 세포 질환 또는 장애(비출혈, 부비강염(sinusitis), 코 종기(nasal furuncle) 및 비용종(nasal polyp) 등), 위의 외피 세포 질환 또는 장애(예, 위염(gastritis), 장상피화생(intestinal metaplasia), 위천공(gastric perforation), 위루(gastric fistula), 위궤양 및 위장 폴립) 및/또는 소장 외피 세포 질환 또는 장애(예, 장염(enteritis), 크론 질환(Crohn's disease), 장천공(enterobrosis), 장루(intestinal fistula), 장궤양(enterelcosis), 궤양성 대장염(ulcerative colitis) 및 NSAID 장 질환(NSAIDs bowel disease))을 포함할 수 있다.

[0100] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 상피 질환 또는 장애는 내피 세포의 병변과 연관된 질환 또는 장애, 및/또는 외피 세포 병변과 연관된 질환 또는 장애를 포함할 수 있고, 여기에서, 내피 세포 및/또는 상피 세포의 병변은 VEGFR 및/또는 VEGF 억제와 연관된다.

[0101] 예를 들어, 내피 세포는 혈관 내피 세포를 포함할 수 있다. 혈관 내피 세포의 병변은 내피세포 기능장애를 포함한다. 예를 들어, 혈관 내피 세포의 병변은 퇴행성 혈관 질환(degenerative vascular disease)(예, 죽상경화증(atherosclerosis), 메디아 동맥경화증(media arteriosclerosis) 및 동맥경화증(예, 해빌리테이티브 세동맥경화증(habilitative arteriolosclerosis) 및 증식 세동맥경화증(proliferative arteriolosclerosis)), 염증성 혈관 질환(inflammatory vascular disease)(예, 감염성 동맥염(infectious arteritis), 매독 동맥염(arteritis syphilitica), 거세포 동맥염(giant cell arteritis), 폐쇄성 혈전혈관염(thromboangitis obliterans) 및 류마티스 동맥염(rheumatic arteritis)), 기능성 혈관 질환(functional vascular disease)(예, 레이노 질환(Raynaud's disease), 말단 청색증(acrocyanosis) 및 홍반 말단통증(erythema acrodynia)) 및 선천성 혈관 질환(congenital vascular disease)(예, 선천성 동정맥루(congenital arteriovenous fistula)) 등을 포함할 수 있다.

[0102] 본원에서 사용된, 외피 세포는 피부 외피 세포, 구강 외피 세포, 코의 외피 세포, 위의 외피 세포 및/또는 장의 외피 세포를 포함할 수 있다. 예를 들어, 외피 세포의 병변은 피부 외피 세포의 병변(예, 발진, 여드름, 장미증, 아토피 피부염, 접촉 피부염, 지루 피부염(seborrheic dermatitis), 루프스, 피부경화증(scleroderma), 천포창, 색소 침착, 흑색 반점, 백색 피부증, 두드러기, 몸피부곰팡이증(tinea corporis), 피부 소양증, 탈모, 모발 변화, 홍반, 손발톱 주위염 및 손톱 박리증(schizonychia), 피부 건조증, 과민증 및 건선), 구강 외피 세포의 병변(예, 천포창, 입술 헤르페스, 헤르페스 입안염(herpetic stomatitis), 육아종입술염(granulomatous cheilitis), 구강 점막염, 유사천포창(pemphigoid), 구강 건조증 증후군, 베체트 질환 및 구강 사르코이드증(oral sarcoidosis) 등), 코의 외피 세포의 병변(비출혈, 굴염(sinusitis), 코 종기(nasal furuncle) 및 코 폴립 등), 위 외피 세포의 병변(예, 위염, 장 화생(intestinal metaplasia), 위 천공(gastric perforation), 위루(gastric fistula), 위궤양 및 위장 폴립) 및/또는 소장 외피 세포의 병변(예, 장염(enteritis), 크론 질환(Crohn's disease), 장내염(enterobrosis), 장루(intestinal fistula), 장염(enterelcosis), 궤양성 대장염(ulcerative colitis) 및 NSAID 장 질환)을 포함할 수 있다.

[0103] VEGFR 및/또는 VEGF의 억제가 내피 세포 및 내피 조직의 손상을 유발시켜, 피부 조직, 구강 조직, 코 조직 및/또는 위장 조직의 질환 또는 장애를 유발시킨다는 것이 본 발명의 발명자에 의해서 밝혀졌다. 이들 질환 또는 장애의 발생 및 전개 동안에, 질환의 과정은 일반적으로는, 외피 세포의 병변 증상과 함께, 내피 세포 및 내피 조직의 손상/병변으로 시작되고, 최종적으로는 환자에서 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 내피 세포 병변, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 외피 세포 병변으로서 나타난다.

[0104] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 발진, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 소양증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 홍반, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 탈모, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 손발톱 주위염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 색소 침착 질환, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비출혈, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비인두염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구순염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 식도염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위궤양, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 설사, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구토, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 메스꺼움, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 거식증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 변비 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 복통을 포함할 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군을 포함한다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군 중증도는 NCI-CTCAE V5.0에 따라 등급 1 이상, 등급 2 이상, 등급 3 이상, 등급 4 이상, 및/또는 등급 5 이상이다.

[0105] 일부 구체예에서, 질환 또는 장애는 발진, 수족 증후군, 소양증, 홍반, 피부 건조증, 탈모, 손발톱 주위염, 색소 침착 질환, 구강 점막염, 구강 건조증, 비출혈, 비인두염, 구순염, 식도염, 위점막염, 위궤양, 설사, 구토, 메스꺼움, 거식증, 변비, 및/또는, 복통을 포함할 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 수족 증후군을 포함한다.

[0106] 일부 구체예에서, VEGFR 및/또는 VEGF 억제-연관된 질환 또는 장애는 1% 실데나필, 요소상(urea frost), 바셀린

연고, 요소 연고(urea ointment), 브리모니딘 연고(brimonidine ointment), 비타민 B6 연고, 니코틴 연고, 덱사메타손 연고(dexamethasone ointment), 하이드로코르티손 연고, Vk1 연고(0.1%), 에리트로신 연고 및 트리암시놀론 연고(triamcinolone ointment)로 이루어진 군으로부터 선택된 작용제의 투여에 의해서 실질적으로 치료되거나 완화될 수 없다.

[0107] 산화질소 방출제

[0108] 본원에서 사용된 용어 "산화질소 방출제"는 일반적으로는 산화질소를 생성시키고/거나 방출시키는데 기여할 수 있는 어떠한 물질을 나타낸다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 산화질소를 생성시키고/거나 방출시키는데 직접적으로 기여할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 산화질소를 생성시키고/거나 방출시키는데 기여하기 위해서 다른 물질을 자극할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 화학적 또는 효소-촉매작용 반응의 반응물로서 작용하고, 그러한 반응을 통해서 산화질소에 기여하고/거나 이를 생산하고/거나 이를 방출시킨다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 화학적 또는 효소-촉매작용 반응의 촉매로서 작용하고, 그러한 반응을 통해서 산화질소에 기여하고/거나 이를 생산하고/거나 이를 방출시키기 위해서 다른 물질을 자극한다. 산화질소 방출제는 산화질소 자체를 포함할 수 있다.

[0109] 산화질소 방출제는 본 기술분야에서 공지된 방법에 의해서 확인되거나 선별될 수 있고, 예를 들어, 니트라이트, NO, NO_2^- 및/또는 S-니트로소 티올의 수준을 검출함으로써 산화질소에 기여하고/거나, 이를 생산하고/거나, 이를 방출하고/거나, 이를 직접적으로 또는 간접적으로 운반하기 위한 시험되는 화합물의 능력을 검출할 수 있다. 본 기술분야에서 공지된 어떠한 방법이 니트라이트, NO, NO^{2-} 및/또는 S-니트로소 티올의 수준을 검출하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 니트라이트를 검출한 다음, 예를 들어, 니트라이트를 파라-아미노 벤젠설폰산과의 반응을 기반으로 하는 Griess Analysis(Molecular Probes)에 의해서 니트라이트를 분석한 다음, 분광광도법을 통해서 반응 생성물을 검출함으로써 확인되거나 선별될 수 있다. 고도로 민감한 화학발광 기술에 의해서 95℃의 환류 챔버에서 니트라이트/니트레이트를 NO로 환원시킴으로써 측정을 수행하는 것이 또한 가능하다. 또 다른 예로서, 혈중 Hb-NO 수준을 검출함으로써 산화질소 방출제를 확인하거나 선별하는 것이 가능하다. NO는 헤모글로빈(Hb)에 단단히 결합하는 것이 공지되어 있고, NO와 Hb 사이의 상호작용은 혈관에서의 NO 대사의 일차 경로로서 공지되어 있다. 따라서, 혈중 Hb-NO 수준은 NO의 내인성 생성의 우수한 지표이다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제를 확인하거나 선별하기 위해서 전자 상자기성 공명(electron paramagnetic response: EPR) 분광학에 의해서 전혈(whole blood) 중의 상자기성 헤모글로빈-NO 부가물(Hb-NO) 및 적혈구를 측정하는 것이 가능하다. 또 다른 예로서, NO-특이적 전극의 전류법(amperometry)에 의해서 산화질소 방출제를 확인하거나 선별하는 것이 가능하다. 이러한 방법은 NO 전극을 생체 또는 샘플에 삽입하는 것을 필요로 한다. 또 다른 예로서, S-니트로소티올을 검출함으로써 산화질소 방출제를 확인하거나 선별하는 것이 가능하다. Eco Medics CLD 88 Exhalyzer(Annex, Herts, UK)에서, 단백질의 S-니트로소 티올이 화학발광 검출을 시용함으로써 측정된다(Feelisch, M. et al., Concomitant S-, N-, and heme-nitros(yl)ation in biological tissues and fluids: implications for the fate of NO *in vivo*. FASEB. J 16, 1775-85 (2002)). 또 다른 예로서, 산화질소 방출제를 확인하거나 선별하기 위해서 NO 수준을 간접적으로 검출하는 것이 가능하다. 예를 들어, EndoPAT 방법이 비-침습성 내피 기능 검출을 수행하여 NO 수준을 측정하기 위해서 사용된다. 특정의 검출 방법은 미국특허 US9696324호에서 찾아볼 수 있다. 니트레이트 환원효소를 사용하여 NO_3^-을 NO_2^-로 특이적으로 환원시키고, NO_2^-를 발색제와 반응시켜 착색된 물질을 생성시키고, 흡광도를 측정하여 산화질소 방출제를 확인하거나 선별하여, 혈청 중의 NO 수준을 표시하는 것이 또한 가능하다.

[0110] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 NO^+, NO^-, N_2O, NO, N_2O_3, NO_2, NO_3^- 및 NO_2^- 중 적어도 하나를 생성시킬 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 NO를 직접적으로 또는 간접적으로 생성시킬 수 있다.

[0111] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 유기 분자, 무기 분자, 거대분자, 나노물질, 및/또는 암모니아 산화 미생물 (AOM)을 포함할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 NO일 수 있다.

[0112] 본원에서 사용된, 용어 "유기 분자"는 일반적으로는 탄소 원소를 포함하고 탄소의 산화물, 탄산, 카르보네이트, 시아노겐(cyanogen), 시아나아드, 옥소시아니드, 시아네이트, 티오시아노겐, 및 금속 카바이드 등을 포함하지 않는 화합물을 나타낸다.

[0113] 예를 들어, 산화질소 방출제는 유기 분자를 포함할 수 있고, 유기 분자는 니트로글리세린, 이소소르바이드 모노

니트레이트, 펜타에리트리톨 테트라니트레이트, 이소소르바이드 디니트레이트, 트롤니트레이트, 니코란딜, 프로파틸 니트레이트, 몰시도민, 5-아미노-3-(4-모르폴리닐)-1,2,3-옥사디아졸, 이소아밀 니트라이트, 3,3-디(아미노에틸)-1-하이드록실-2-카르보닐-1-트리아젠(NOC-18), 설파 친핵성 복합체 디소듐 염, S-니트로소 글루타티온, S-니트로소-N-아세틸 페니실아민, 4-페닐-3-푸로니트릴, (±)-(E)-4-에틸-2-[(E)-하이드록시이미노]-5-니트로-3-헥산아미드, 트르렙토조신, NG-하이드록시-L-아르기닌 아세테이트 염, O_2-(2,4-디니트로페닐) 1-[(4-에톡시카르보닐)피페라진-1-일]디아젠-1-이움-1,2-디올레이트, N-니트로소디부틸아민, 3-모르폴리노-시드논이민, 린시도민, 3-(4-아세틸페닐) 시드논, 디에틸아민 친핵성 복합체/AM, 및/또는 이트라민을 포함할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 유기 분자를 포함할 수 있고, 유기 분자는 니트로글리세린, 이소소르바이드 모노니트레이트, 및/또는 이소소르바이드 디니트레이트를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 유기 분자는 니트로글리세린을 포함할 수 있다.

[0114] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 무기 분자를 포함할 수 있고, 무기 분자는 니트릴 복합체, 니트로실 복합체, 금속 니트로사민 복합체, 니트레이트 및/또는 니트라이트를 포함할 수 있다. 예를 들어, 무기 분자는 소듐 니트로프루시드를 포함할 수 있다.

[0115] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 2000 달톤 또는 그 미만, 1500 달톤 또는 그 미만, 1200 달톤 또는 그 미만, 1000 달톤 또는 그 미만, 900 달톤 또는 그 미만, 800 달톤 또는 그 미만, 700 달톤 또는 그 미만, 600 달톤 또는 그 미만, 500 달톤 또는 그 미만, 400 달톤 또는 그 미만, 300 달톤 또는 그 미만, 200 달톤 또는 그 미만, 또는 100 달톤 또는 그 미만의 상대적인 분자량을 가질 수 있다.

[0116] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 NO-공여 기를 포함하는 폴리머일 수 있다. 가교되거나 가교되지 않은 폴리머, 수지상 폴리머, 금속 화합물, 유기 금속 화합물, 무기 화합물 및 그 밖의 폴리머 스캐폴드를 포함한, 어떠한 적합한 폴리머가 사용될 수 있다. NO-방출 폴리머는 NO-방출 동시-축합(co-condensation) 실리카, 예컨대, 디아족시드 디설페이트-작용성화된 폴리실록산폴리실리에이트, NO-방출 제올라이트(참조, 미국특허 출원 US2006/0269620호 또는 US2010/0331968호), NO-방출 금속 유기 골격체(metal-organic framework: MOF)(참조, 미국특허 출원 US2010/0239512호 또는 US2011/0052650호), NO-방출 다중-공여체 화합물(참조, 미국특허 출원 US2014/0171395호), NO-방출 수지상 폴리머 또는 금속 구조(참조, 미국특허 출원 US2009/0214618호), NO-방출 코팅(참조, 미국특허 출원 US2011/0086234호), 및 미국특허 출원 US2010/0098733호 및 PCT 특허출원 WO2012/100174호에 기재된 화합물들을 포함할 수 있고, 이들 개시문헌은 본원에서 그 전체가 참조로 통합된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 NO-공여 그룹(들)을 함유하는 나노물질, 예를 들어, 실리콘 디옥사이드에 의해서 형성된 동시-축합 실록산 네트워크인 나노결정이다.

[0117] 또 다른 예로서, NO-방출 폴리머는 S-니트로소티올 실리카 나노스피어, S-니트로소에탄디티올 키틴, 올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 산화질소/친핵체 복합체 및/또는 Novan Inc.에 의해서 제조된 산화질소 방출제(예, SB204, SB206, SB208, SB414 또는 NVN3100) 및 미국특허 US8,282,967호, US8,956,658호, US8,962,029호, US9,403,851호, US9,403,852호, US9,187,501호, US8,399,005호, US8,981,139호, US9,713,652호, US9,238,038호, US9,669,041호, US8,591,876호, US9,526,738호, US9,737,561호, US9,427,605호, 미국특허 출원 US2009/0214618호, US2012/0021055호, US2012/0034169호, US2014/0005426호, US2014/0058124호, US2015/0182543호, US2016/0060279호, US2014/0065200호, US2015/0225488호, US2010/0297200호, US2013/0196951호, US2013/0344334호, US2014/0017121호, US2011/0086234호, US2014/0134321호, US2010/0098733호, US2012/0230921호, US2014/0171395호, US2016/0083339호, US2016/0199295호, US2014/0255318호, US2017/0246205호, US2012/0136323호, US2012/0156163호, US2014/0057001호, US2012/0134951호, US2017/0056437호, US2017/0312307호, US2017/0216197호, US2015/0024052호, US2008/0311163호, US2016/0256366호, US2015/0111973호, US2017/0196905호, PCT 특허출원 WO2017/079268호, WO2004/009253호, WO2017/151905호, WO2016/160089호 및 WO2017/019614호에 기재된 것들을 추가로 포함할 수 있다.

[0118] 본원에서 사용된, 올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 친핵체 복합체는 디아제늄디올레이트를 포함할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 노노에이트(NONOate)일 수 있다. 본원에서 사용된, 노노에이트는 R^1R^2N-(NO-)-N=O의 구조를 갖는 화합물을 포함하며, 여기에서, R^1 및 R^2는 둘 모두 알킬이다.

[0119] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 암모니아 산화 미생물(AOM)을 포함할 수 있고, 암모니아 산화 미생물(AOM)은 암모니아 산화 박테리아(AOB)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 암모니아 산화 미생물(AOM)은

니트로소모나스, *니트로소코쿠스*, *니트로소스피라*, *니트로소시스티스*, *니트로소로부스* 및/또는 *니트로소비브리오*를 포함할 수 있다. 예를 들어, 암모니아 산화 미생물(AOM)은 AOBiome, LLC의 마이크로바이오타 방출(microbiota releasing NO)(예컨대 AOB101, AOB102, AOB103, AOB201, AOB201 또는 AOB203), 및 U.S. 특허 US7820420B2, US9738870B2, WO2017004534A2, US10078054B2, US2017189454A1, US20170191109A1, US20180092948A1, WO2018057710A1, WO2018017583A1, WO2018111888A1, US20070148136A1, US2005106126A1, US20170037363A1, CN1997731A, US20170189454A1 및 WO2017004557A1에서 개시된 것들을 포함할 수 있다.

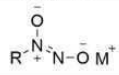
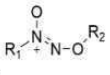
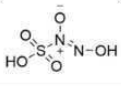
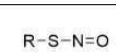
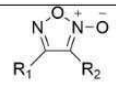
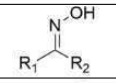
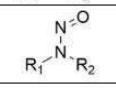
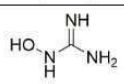
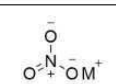
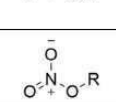
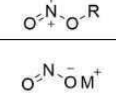
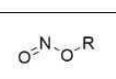
[0120] 본원에서 사용된 용어 "폴리머"는 일반적으로는 2000 달톤 초과, 3000 달톤 초과, 4000 달톤 초과, 5000 달톤 초과, 6000 달톤 초과, 7000 달톤 초과, 8000 달톤 초과, 9000 달톤 초과, 10000 달톤 초과, 12000 달톤 초과, 15000 달톤 초과 또는 20000 달톤 초과의 분자량을 갖는 어떠한 화합물을 의미한다.

[0121] 본원에서 사용된 용어 "소분자"는 일반적으로는 2000 달톤 이하, 1500 달톤 이하, 1200 달톤 이하, 1000 달톤 이하, 900 달톤 이하, 800 달톤 이하, 700 달톤 이하, 600 달톤 이하, 500 달톤 이하, 400 달톤 이하, 300 달톤 이하, 200 달톤 이하 또는 100 달톤 이하의 분자량을 갖는 어떠한 화합물을 의미한다.

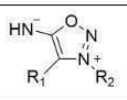
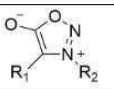
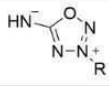
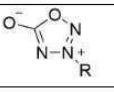
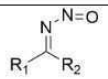
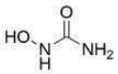
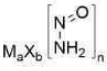
[0122] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 디아제늄디올레이트, 하이드록실디아젠설폰산, S-니트로소티올, 푸록산, 옥심, N-니트로소아민, N-하이드록실구아니딘, 디아제늄디올레이트, 니트레이트, 니트라이트, 니트레이트 에스테르, 니트라이트 에스테르, 시드논이민, 시드논, 옥사트리아졸-5-이민, 옥사트리아졸-5-온, 하이드록실아민, 디옥사디아사이클로부텐, N-하이드록실니트로소아민, N-니트로소이민, 하이드록시카르바미드 및 금속 니트로스아미노 복합체의 하나 이상의 그룹을 갖는다.

[0123] 예를 들어, 산화질소 방출제는 표 1로부터 선택된 하나 이상의 그룹을 가질 수 있다:

[0124] 표 1

번호	화합물	화합물 구조	설명
1	디아제늄디옥레이트		여기서, R, R1, R2는 유기화학기일 수 있고; M은 금속 양이온일 수 있고; X는 무기 음이온일 수 있고, a, b, n은 양의 정수일 수 있다.
2	디아제늄디올레이트 에스테르		
3	하이드록실디아젠설폰산		
4	S-니트로소티올		
5	푸록산		
6	옥심		
7	N-니트로소아민		
8	N-하이드록실 구아니딘		
9	니트레이트		
10	니트레이트 에스테르		
11	니트라이트		
12	니트라이트 에스테르		

[0125]

13	시드논이민		
14	시드논		
15	옥사트리아졸-5-이민		
16	옥사트리아졸-5-온		
17	하이드록실아민	H_2N-OH	
18	디옥사디아자사이클로부텐		
19	N-하이드록실니트로소아민		
20	N-니트로소이민		
21	N- 하이드록시카르바미드		
22	금속 니트로스아미노 복합체		

[0126]

[0127] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 생리학적 조건 하에 양으로 하전되거나, 전기적으로 중성이거나, 음으로 하전될 수 있다. 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 1 내지 5 범위의 logP를 갖는다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 1.5 내지 3.5 범위의 logP를 갖는다.

[0128] 본원의 산화질소 방출제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여-연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위해서 사용될 수 있다.

[0129] 질환을 예방 및/또는 치료하는 방법 및 관련된 사용

[0130] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여-연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하기 위한 약제를 제조하기 위해서 사용될 수 있다.

[0131] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 발진, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 소양증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 홍반, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 탈모, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 손발톱 주위염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 색소 침착 질환, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된구강 점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비출혈, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비인두염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구순염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 식도염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위궤양, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 설사, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구토, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 메스꺼움, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 거식증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 변비, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 복통을 예방 또는 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군을 예방 또는 치료하기 위해서 사용될 수 있다.

[0132] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제는 발진, 수족 증후군, 소양증, 홍반, 피부 건조증, 탈모, 손발톱 주위염, 색소 침착 질환, 구강 점막염, 구강 건조증, 비출혈, 비인두염, 구순염, 식도염, 위점막염, 위궤양, 설사, 구토, 메스꺼움, 거식증, 변비, 및/또는, 복통을 예방 또는 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 산화질소는

수족 증후군을 예방 또는 치료하기 위해서 사용될 수 있다.

[0133] 일부 구체예에서, 약제는 국소 투여에 적합하도록 제형화된다. 일부 구체예에서, 국소 투여의 위치는 암의 발생 위치 또는 암의 잠재적인 전이 부위가 아닐 수 있다. 예를 들어, 투여 부위는 종양의 발생 위치가 아닐 수 있다. 또 다른 예를 들어, 투여 부위는 종양의 전이 부위가 아닐 수 있다. 예를 들어, 전이 부위는 림프성 전이, 혈관 전이 및/또는 경체강 전이에 의해서 유발된 종양 전이의 부위를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 전이 부위는 뼈, 뇌, 간, 위 및/또는 폐를 포함할 수 있다. 투여 부위는 종양의 재발 부위가 아닐 수 있다. 본원의 약제에서, 산화질소 방출제는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 50%(w/w)의 농도로 존재할 수 있고, 예를 들어, 그것은 약 0.0001%(w/w) 내지 약 10%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 9.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 9%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 8.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 8%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 7.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 7%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 6.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 6%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 5.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 4.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 4%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 3.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 3%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 2.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 2%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 1.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 1%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.01%(w/w) 또는 그 미만의 범위로 다양할 수 있다. 본원의 약제에서, 산화질소 방출제는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 1%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.9%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.6%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.5%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.4%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.3%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.2%(w/w), 약 0.1%(w/w) 내지 약 0.2%(w/w) 또는 그 미만의 범위의 농도로 존재할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 약 0.2%(w/w)의 농도로 존재할 수 있다. 또는, 산화질소 방출제는 약 0.1%(w/w)의 농도로 존재할 수 있다.

[0134] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제를 포함하는 약제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 치료 효과에 실질적으로 영향을 주지 않을 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제를 포함하는 약제의 투여에 의해서, 동일한 치료 효과를 실질적으로 달성시키기 위해서 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여량을 증가시키는 것이 요구되지 않는다.

[0135] 일부 구체예에서, 약제는 외부 투여에 적합하도록 제형화된다.

[0136] 일부 구체예에서, 약제는 국소 피부 투여에 적합하도록 제형화된다. 예를 들어, 약제는 연고, 로션 또는 크림일 수 있다.

[0137] 본원에서 사용된, 약제는 하나 이상의 추가의 활성 성분을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 활성 성분은 의학적 효과 또는 생물학적 활성을 갖는 모노머 화합물을 나타낸다. 예를 들어, 다른 활성 성분은 항-염증제(anti-inflammatory agent), 진통제(analgesics), 국소 마취제(local anesthetics), 항히스타민, 보존제, 면역억제제, 및 출혈방지제(anti-bleeding agent)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0138] 본원에서 사용된, 약제는 약제학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 약제학적으로 허용되는 담체는 충전제, 점착제(adhesive), 붕해제(disintegrating agent), 완충제(buffer), 보존제(preservative), 윤활제(lubricant), 향미제(flavoring agent), 증점제(thickener), 착색제(colorant) 및 유화제(emulsifying agent)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0139] 또 다른 양태에서, 본원은 VEGFR 및/또는 VEGF 억제-관련된 질환 또는 장애(예를 들어, VEGFR 및/또는 VEGF 억제-관련된 외피 조직 질환 또는 장애)를 예방하거나 치료하기 위해서 사용되는 산화질소 방출제를 제공한다.

[0140] 또 다른 양태에서, 본원은 대상체에서 VEGFR 및/또는 VEGF 억제-연관된 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법을 제공한다. 그러한 방법은 대상체에 예방 또는 치료 유효량의 본원의 산화질소 방출제를 투여함을 포함한다.

[0141] 본원에서 사용된 용어 "예방"은 "예방적인 처리"와 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 본원에서, 용어 "예방"은 일반적으로는 미리 어떠한 행동을 취함으로써 질환 또는 그의 하나 이상의 증상의 발생, 재발 또는 확산을 예방하는 것을 나타낸다. 본원에서 사용된 용어 "치료"는 일반적으로 질환을 없애거나 개선시키거나, 질환과 연관된 하나 이상의 증상을 완화시키는 것을 나타낸다.

[0142] 본원에서 사용된 용어 "대상체"는 일반적으로는 진단, 예후, 개선, 예방 및/또는 치료를 수용할 필요가 있는 인간 또는 비-인간 동물(포유동물, 설치류 및 조류 등을 포함함)을 나타낸다. 예를 들어, 대상체는 가축(예컨대, 소, 돼지, 염소, 닭, 토끼 또는 말), 또는 설치류(예컨대, 래트 및 마우스), 또는 영장류(예컨대, 고릴라, 및

원숭이), 사육 동물(예컨대, 개 및 고양이)일 수 있다. 본원에서 사용된, 대상체는 치료 또는 예방을 위해서 산화질소 방출제를 필요로 하는 대상체일 수 있다. 본원에서 사용된, 대상체는 암 환자를 포함할 수 있다. 예를 들어, 대상체는 VEGFR억제제 및/또는 VEGF 억제제가 투여되었고/거나, 투여되고/거나, 투여될 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 본원에서 기재된 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제일 수 있다.

[0143] 본원에서 사용된, 질환 또는 장애의 중증도는 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제를 투여한 후에 증가할 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애의 중증도는 약 5% 또는 그 초과, 10% 또는 그 초과, 15% 또는 그 초과, 20% 또는 그 초과, 25% 또는 그 초과, 30% 또는 그 초과, 35% 또는 그 초과, 40% 또는 그 초과, 45% 또는 그 초과, 50% 또는 그 초과, 60% 또는 그 초과, 70% 또는 그 초과, 80% 또는 그 초과, 90% 또는 그 초과, 100% 또는 그 초과, 200% 또는 그 초과로 증가할 수 있다.

[0144] 본원에서 사용된, 대상체는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여하기 전에 질환 또는 장애를 앓고 있지 않을 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "대상체가 질환 또는 장애를 앓고 있지 않다"는 일반적으로는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여-연관된 질환 또는 장애와 관련된 앞선 병력이 없는 대상체를 나타낸다. 예를 들어, 대상체는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여하기 전에 1일 이상, 1 주일 이상, 1 개월 이상, 1 년 이상, 10 년 이상 동안, 또는 대상체가 태어난 이래로 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있지 않다.

[0145] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 산화질소 방출제를 포함하지 않는다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 니트로글리세린을 포함하지 않는다.

[0146] 본원에서 사용된 용어 "유효량"은 대상체의 질환 또는 증상을 완화시키거나 제거하거나, 질환 또는 증상의 발생을 예방적으로 억제시키거나 금지시킬 수 있는 약제의 양을 나타낸다. 일반적으로, 특정의 유효량은 체중, 연령, 성별, 다이어트(diet), 배설률, 병력, 현재 치료법, 투여 시간, 투여량 형태, 투여 방식, 투여 경로, 약제들의 조합, 대상체의 건강 상태 또는 교차 감염 잠재성, 알레르기, 과민증 및 부작용, 및/또는 상피(또는 내피) 조직 질환의 발병 정도에 좌우되어 결정될 수 있다. 본 기술분야에서의 통상의 기술자(예, 의사 또는 수의사)는 이들 또는 다른 조건에 따라서 투여 용량을 감소시키거나 증가시킬 수 있다.

[0147] 일부 구체예에서, 투여되는 산화질소 방출제는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 50%(w/w)의 농도로 존재할 수 있고, 예를 들어, 그것은 약 0.0001%(w/w) 내지 약 10%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 9.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 9%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 8.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 8%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 7.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 7%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 6.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 6%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 5.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 4.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 4%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 3.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 3%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 2.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 2%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 1.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 1%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.5%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.01%(w/w) 또는 그 미만의 범위로 다양할 수 있다. 본원의 약제에서, 산화질소 방출제는 약 0.0001%(w/w) 내지 약 1%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.9%(w/w), 약 0.0001%(w/w) 내지 약 0.6%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.5%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.4%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.3%(w/w), 약 0.05%(w/w) 내지 약 0.2%(w/w), 약 0.1%(w/w) 내지 약 0.2%(w/w) 또는 그 미만의 범위의 농도로 존재할 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 약 0.2%(w/w)의 농도로 존재할 수 있다. 또는 산화질소 방출제는 약 0.1%(w/w)의 농도로 존재할 수 있다.

[0148] 본원에서 사용된, 대상체는 인간 또는 비-인간 동물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 비-인간 동물은 원숭이, 닭, 거위, 고양이, 개, 마우스 및 래트로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 더욱이, 비-인간 동물은 인간이 아닌 어떠한 동물 종, 예를 들어, 가축, 또는 설치류, 또는 영장류, 또는 사육 동물, 또는 사육 가금류를 추가로 포함할 수 있다. 인간은 백인, 아프리카인, 아시아인, 셈족(Semite), 또는 그밖의 인종, 또는 다양한 인종의 조합일 수 있다. 또 다른 예로서, 인간은, 노인, 성인, 청소년, 어린이 또는 유아일 수 있다.

[0149] 인간에서의 유효량은 실험 동물에서의 유효량으로부터 유도될 수 있다. 예를 들어, Freireich 등은 동물과 인간에서의 투여량 사이의 관계를 기재하고 있다(신체 표면의 평방미터당 밀리그램)(Freireich et al., Cancer Chemother. Rep. 50, 219 (1966)). 신체 표면적은 환자의 키 및 체중에 따라서 대략적으로 결정될 수 있다. 참조예[Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N.Y., 537 (1970)].

[0150] 본원의 방법에서, VEGFR 및/또는 VEGF 억제는 대상체로의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여에 의해서

유발될 수 있다.

[0151] 예를 들어, 산화질소 방출제는 대상체로의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 투여될 수 있다. 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제 및 산화질소 방출제가 동시에 투여되는 때에, 산화질소 방출제는 전체 투여량에 대해서 약 0.0001-10%(예, 약 0.005-10%, 약 0.01-10%, 약 0.05-10%, 약 0.1-10%, 약 0.2-10%, 약 0.3-10%, 약 0.4-10%, 약 0.5-10%, 약 0.6-10%, 약 0.7-10%, 약 0.8-10%, 약 0.9-10%, 약 0.95-10%, 약 1-10%, 약 2-10%, 약 3-10%, 약 5-10%, 약 6-10%, 약 8-10% 또는 그 미만)이 수준으로 투여된다. 산화질소 방출제 및 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 간격을 두고 투여되는 구체예에서, 산화질소 방출제는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 전에 또는 그 후에 간격을 투여 투여될 수 있다. 시간 간격은 1 분, 2 분, 5 분, 10 분, 20 분, 30 분, 45 분, 1 시간, 2 시간, 3 시간, 4 시간, 5 시간, 6 시간, 12 시간, 18 시간, 1 일, 2 일, 3 일, 1 주일, 2 주일, 3 주일, 1 개월, 2 개월, 3 개월 또는 그 초과일 수 있다.

[0152] 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 외부적으로 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 연고로 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제는 하나 이상의 추가의 활성 성분과 함께 투여된다. 일부 구체예에서, 산화질소 방출제의 투여는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 치료 효과에 실질적으로 영향을 주지 않는다.

[0153] 또 다른 양태에서, 본원은 약제의 조합물(예, 키트)를 제공한다. 약제의 조합물은 1) 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제; 및 2) 본원의 산화질소 방출제를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제와 산화질소 방출제는 서로 혼합되지 않는다.

[0154] 일부 구체예에서, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제와 산화질소 방출제는 각각 독립적으로 별도의 용기에 존재한다. 예를 들어, 약제의 조합물은 서로 별도로 포장되는 둘 이상의 약제를 포함할 수 있고, 여기에서, 약제 중 적어도 하나는 본원의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 포함하고, 적어도 하나의 추가의 약제는 본원의 산화질소 방출제를 포함한다.

[0155] 약제의 조합물의 일부 구체예에서, 2)의 산화질소 방출제는 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제와 연관된 질환 또는 장애(예, 본원의 VEGFR 억제제 또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애)를 예방하거나 치료할 수 있다. 일부 구체예에서, 2)의 산화질소 방출제는 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 치료 효과 실질적으로 영향을 주지 않는다. 일부 구체예에서, 2)의 산화질소 방출제는 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 전에, 그와 동시에, 또는 그 후에 투여된다.

[0156] 본원에서 사용된 용어 "실질적으로 영향을 주지 않는다"는, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 독립적으로 사용하는 치료 효과에 비교하여, 약제의 조합의 2)의 산화질소 방출제 또는 키트 및 1)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 사용한 치료 효과가 동일하거나 유의하게 악화시키지 않음을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 어떠한 대상체에 대해서, 독립적으로 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여의 치료 효과와 비교하여, 약제의 조합물 또는 키트의 1)의 산화질소 방출제 및 2)의 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF억제제의 투여의 감소된 종양 부피가 동일하거나, 약 5% 이상, 약 4% 이상, 약 3% 이상, 약 2% 이상, 약 1% 이상, 약 0.5% 이상, 약 0.1% 이상, 약 0.01% 이상, 약 0.001% 이상, 또는 그 미만까지 감소된다.

[0157] 본원은 추가로, 대상체에 산화질소 방출제를 투여함을 포함하는 방법으로서, 대상체가 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여했고/거나, 투여하고/거나, 투여할 것이고, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓고 있거나 그에 민감한, 방법을 제공한다.

[0158] 본원은 추가로, 질환 또는 장애를 앓고 있거나 그에 민감한 대상체에 산화질소 방출제를 투여함을 포함하는 방법으로서, 대상체에 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여했고/거나, 투여하고/거나, 투여할 것인, 방법을 제공한다.

[0159] 본원에서 사용된, 대상체는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓게될 수 있거나, 대상체는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓을 더 큰 확률을 가질 수 있다.

[0160] 본원에서 사용된 용어 "~에 민감한"은 일반적으로는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓을 더 큰 확률을 갖는 대상체를 나타낸다. 예를 들어, 더 큰 확률은 EGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 앓을 대상체의 확률이, 건강한 대상체이 것에 비해서, 대략 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 100%, 적어도 150%, 적어도 200% 또는 그 초과로 증가하는 것을 나타낼 수 있다.

[0161] 본원은 추가로, 질환 또는 장애를 앓고 있거나 그를 앓는 것에 민감한 대상체에 산화질소 방출제를 투여함을 포함하여, 질환 또는 장애를 예방 또는 치료하는 방법으로서, 질환 또는 장애가 수족 증후군인 방법을 제공한다.

[0162] 예를 들어, 대상체에게는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제가 투여될 수 있거나, 투여되거나, 투여될 것이다.

[0163] 예를 들어, 질환 또는 장애는 수족 증후군일 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애일 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군일 수 있다.

[0164] 본원은 1) VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여한 대상체의 피부 조직, 얼굴 기관 및/또는 위장관의 하나 이상의 특징으로 모니터링하는 단계; 2) 모니터링이 대상체가 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애를 앓고 있음을 나타내는 때에, 산화질소 방출제를 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0165] 본원에서 사용된 용어 "피부 조직의 특징"은 일반적으로는 피부 조직 질환 또는 장애를 나타낼 수 있는 특징을 나타낸다. 예를 들어, 그러한 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 나타낼 수 있는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 발진, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 수족 증후군, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 소양증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 홍반 및/또는 자반병(purpura), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 피부 건조증 및/또는 균열(xerosis cutis and/or chapped), VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 탈모, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 손발톱 주위염, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 색소 침착 질환을 나타낼 수 있는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 특징은 홍반의 면적 및 정도, 자반병의 면적 및 정도, 뾰루지(pimple)의 수 및 정도, 농포(pustule)의 수 및 정도, 소절(nodule)의 수 및 정도, 피부 팽윤의 범위 및 정도, 피부 궤양의 정도, 노인성 건조증의 정도, 피부 균열의 정도, 피부 각질화의 정도, 피부 태선(skin lichen)의 정도, 피부 박리의 면적 및 정도, 피부 당김의 상태, 피부 소양증의 정도, 피하와 함께 진피 사이의 혈관 염증 정도, 괴사성 피부 조직의 정도, 피부 궤양의 정도, 그물 울혈반(livedo reticularis)의 면적, 피부 색소 침착의 정도, 수포 및 대수포(bullae)의 수, 탈모의 부분/면적/정도, 피부 육아형성(skin granulation)의 정도, 피부 지루의 정도, 모낭염의 정도, 손발톱 주위 팽윤 및 붉어짐의 정도, 손발톱 주위염의 정도, 손발톱 주위 피부의 색소 침착; 손발톱 위축(onychatrophia), 손발톱 위축 또는 손발톱 비대(onychauxis)의 정도; 손발톱 바닥(nail bed), 손발톱 줄무늬(nail stripe), 손발톱 릿지(nail ridge), 손발톱 익상편(nail pterygium)의 비정상적인 색상 등을 포함할 수 있다.

[0166] 본원에서 사용된 용어 "얼굴 기관의 특징"은 일반적으로는 얼굴 질환 또는 장애를 나타내는 특징을 나타낸다. 예를 들어, 그러한 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 나타내는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 특징은 나타내는 특징을 포함할 수 있다. 그러한 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 나타낼 수 있는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구강 건조증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비출혈, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 비인두염, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구순염을 나타낼 수 있는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 특징은 구강 점막의 충혈 정도, 구강 점막의 부종 정도, 구강 점막의 헤르페스 정도, 구강 점막의 궤양 정도, 구강 점막하 샘 결함(oral submucosa glandular defect)의 정도, 혀샘(lingual gland)/혀밑샘(sublingual gland)/귀밑샘(parotid gland) 및 아트로피(atrophy)의 정도, 구강 건조증의 정도, 카리에스(caries)의 정도, 혓바닥 팽윤의 정도, 주변 이빨 자국의 정도, 코피의 빈도, 코피의 양, 인두 중앙부 및 비인두 점막 부종의 정도, 인두 중앙부 및 비인두 점막 헤르페스의 정도, 인두 중앙부 및 비인두 점막 궤양의 정도, 인두 중앙부 및 비인두 점막 과형성의 정도, 인두 중앙부 및 비인두 점막 궤양의 정도, 인두 중앙부 및 비인두 여포성 과형성(oropharynx and nasopharynx follicular hyperplasia)의 정도, 입술 및 입술 주위 팽윤의 정도, 입술 및 입술 주위 헤르페스의 정도, 입술 및 입술 주위 홍반의 정도, 입술 및 입술 주위 피부 박리의 정도, 입술 및 입술 주위 피부 태선(lip and around-lip skin lichenification)의 정도, 및 입술 및 입술 주위 피부 침식의 정도 등을 포함할 수 있다.

[0167] 본원에서 사용된 용어 "위장관의 특징"은 일반적으로는 위장 질환 또는 장애를 나타낼 수 있는 특징을 나타낸다. 예를 들어, 그러한 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애를 나타낼 수 있는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 특징은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와

연관된 식도염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위점막염, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 위궤양, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 설사, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 구토, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 메스꺼움, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 거식증, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 변비, 및/또는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 복통을 나타낼 수 있는 특징을 포함할 수 있다. 예를 들어, 그러한 특징은 식욕 감퇴의 정도, 위 트림(stomach belching)의 정도, 침 삼킴(swallowing hard)의 정도, 흉골의 작열감의 정도, 흉골 통증의 정도, 상부 복통(공복시 또는 포만시)의 시간 및 정도, 부풀음의 정도, 설사의 정도, 배변의 수, 배변 시간, 배변 전의 복부 통증, 직장뒤무직(rectal tenesmus), 이상 배변(검은-혈변(black-blood stool), 선혈변(fresh-blood stool), 점성 변(mucus stool), 점성 혈변(mucus-blood stool), 물변(watery stool), 에그-드롭핑 스툴(egg-dropping stool) 등), 구토 빈도, 구토 상황(vomitus situation), 메스꺼움, 영양실조의 정도, 미량 영양소 결핍증(micronutrient deficiency)의 정도 등을 포함할 수 있다.

[0168] 본원에서 사용된, 방법은 피부 조직 질환 또는 장애, 얼굴 기관 질환 또는 장애 및/또는 위장 질환 또는 장애를 연속적으로 모니터링함을 포함하고, 임의로 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 감소시키거나 금지한다. 예를 들어, 연속적으로 모니터링하는 것은 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 후에 대략 적어도 1 일, 적어도 1 주일, 적어도 10 일, 적어도 2 주일, 적어도 3 주일, 적어도 1 개월, 적어도 3 개월, 또는 그 초과 동안 모니터링하는 것을 나타낼 수 있다. 예를 들어, 감소시키거나 금지하는 것은 대상체에 투여되는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여량을, 방법의 단계 1)에서 투여되는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여량과 비교하여, 대략 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 99% 또는 100%까지 감소시키는 것을 의미한다.

[0169] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여와 연관된 질환 또는 장애의 중증도는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여 후에 증가할 수 있다. 예를 들어, 중증도는 적어도 5%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90% 또는 그 초과까지 증가할 수 있다.

[0170] 본원에서 사용된, 대상체는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제를 투여하기 전에 질환 또는 장애을 앓고 있지 않을 수 있다.

[0171] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 산화질소 방출제를 포함하지 않을 수 있다. 예를 들어, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제는 니트로글리세린을 포함하지 않을 수 있다.

[0172] 본원에서 사용된, 질환 또는 장애는 외피 조직 질환 또는 장애일 수 있다.

[0173] 본원에서 사용된, VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제의 투여는 암을 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 질환 또는 장애의 위치는 종양의 위치와 다를 수 있다.

[0174] 본원에서 사용된, 산화질소 방출제가 대상체에 투여될 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제가 종양 세포를 실질적으로 포함하지 않는 위치에 국소 투여될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 산화질소 방출제는 대상체에 국소 투여될 수 있다. 예를 들어, 산화질소 방출제는 종양 세포을 실질적으로 포함하지 않는 부위에서 대상체에 투여될 수 있다.

[0175] 본원에서 사용된 용어 "종양 세포를 실질적으로 포함하지 않는 위치"는 일반적으로는 암 세포의 양이 암을 실질적으로 포함하지 않는 것으로 여겨지기에 충분히 낮는 조직 기관 또는 위치를 나타낸다. 예를 들어, 실질적으로 포함하지 않는다는 것은 암 세포의 양이 그 위치의 전체 세포의 0.01% 미만, 0.005% 미만, 0.001% 미만, 0.0001% 미만, 0.00001% 미만 또는 그 미만의 양인 것을 나타낼 수 있다.

[0176] 또 다른 예를 들어, 산화질소 방출제는 비-암 위치에 투여될 수 있다.

[0177] 본원에서 사용된 용어 "비-암 위치"는 일반적으로는 암 병소 또는 암 전이 부위가 아닌 부위를 나타낸다. 예를 들어, 암 병소는 암의 발생 부위일 수 있다. 예를 들어, 암 전이 부위는 발생 부위의 종양과 동일한 종양의 장소일 수 있다. 예를 들어, 암 전이 부위는 림프성 전이, 혈관 전이, 또는 경체강 전이에 의해서 형성될 수 있다.

[0178] 본 출원의 문맥에서(특히, 하기 청구범위의 문맥에서), 그러한 문맥에 대해 본원에서 명확히 반대로 달리 언급되지 않는 한, 단수의 표현 및 "적어도 하나" 및 유사한 지시대상은 단수 및 복수의 형태 둘 모두를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 문맥에 대해 본원에서 명확히 반대로 달리 언급되지 않는 한, 용어 "적어도 하나"가

열거된 하나 이상의 항목들과 연관되는 경우에(예를 들어, "A와 B 중 적어도 하나"), 그것은 열거된 항목들 중 하나(A 또는 B) 또는 열거된 항목들 중 둘 이상의 어떠한 조합(A와 B)으로서 이해되어야 한다.

[0179] 달리 주지되지 않는 한, 용어 "포함한다", "갖는다", 및 "함유한다"는 개방형 용어를 의미하는 것으로 의도된다(즉, "포함하지만, 이로 한정되는 것은 아님"을 의미함).

[0180] 어떠한 이론으로 제한하고자 하는 것이 아니고, 이하 기재된 실시예는 본원의 장치, 방법 및 시스템의 작동 방식을 단지 예시하고 위한 것이며, 본 발명의 범위를 제한하지 않는다.

[0181] **실시예**

[0182] 본원의 실시예의 결과에서, t-시험을 사용하여 통계적으로 검출된 것으로서, **은 $P<0.01$를 나타내고; *은 $P<0.05$를 나타내고; ***은 $P<0.001$을 나타낸다.

[0183] **실시예 1: S-니트로소티올 실리카 나노스피어의 제조**

[0184] 4 ml의 (3-메르캅토프로필) 트리메톡시실란 및 2 ml의 테트라에틸 오르토실리케이트의 혼합 용액을 0.5 ml/min의 속도로 30 ml의 탈이온수, 30 ml의 에탄올 및 30 ml의 암모니아수의 혼합 용액에 주입 펌프를 통해서 주입하였다. 주입 동안에, 반응 혼합물을 0℃로 유지시켰다. 주입의 완료 후에, 반응 혼합물을 실온에서 2.5 시간 동안 교반하고, 이어서, 4000 rpm에서 8분 동안 원심분리하였다. 침전물을 각각 100 ml의 빙수 및 100 ml의 에탄올로 1회 세척하고, 진공 하에 건조시켜 티올화된 실리카 나노스피어를 수득하였다.

[0185] 150 mg 티올화된 실리카 나노스피어를 4 ml의 메탄올에 분산시키고, 0℃로 냉각시켰다. 2 ml의 1 M 소듐 니트라이트 및 1 mM 디에틸트리아민펜타아세트산의 혼합 용액을 일정한 교반 하에 첨가하고, 이어서, 2 ml의 염산의 5 M 수용액을 첨가하였다. 반응 혼합물을 0℃의 암실에서 2.5 시간 동안 교반하고, 4℃에서 4000 rpm로 5분 동안 원심분리하였다. 침전물을 4℃의 각각 30 ml의 디에틸트리아민펜타아세트산의 1mM 수용액 및 4℃의 30 ml의 메탄올로 1회 세척하고, 다시 원심분리하여 고형물을 수거하였다. 암실 및 -30℃ 미만의 온도에서, 고형물을 진공 하에 30분 동안 건조시켜 건조된 최종 생성물을 수득하였고, 이를 다음 사용을 위해서 -20℃에서 저장하였다.

[0186] 최종 생성물을 pH = 7.4의 PBS 완충액에 용해시키고, ZS90 Type Particle Size and Zeta Potential Analyzer를 사용하여 생성물의 유체 역학적 반경(hydrodynamic radius)이 423 nm이고, 다분산 지수(polydispersity index)가 0.061임을 측정하였다. 용액의 UV-가시광선 스펙트럼(Thermo Fisher EV300 Type UV 분광 광도계를 사용하여 측정함)은 330 nm에서 특징적 흡수 피크를 갖는다. 5 시간 동안의 200 W의 광의 조건 하에, NO 저장은 Beyotime NO 분석 키트 (Griess Method, Shanghai Beyotime Biotechnology Inc.로부터 구매함)에 의해서 검출되는 바와 같이 전체 양의 방출된 산화질소가 특징이었다. 최종 생성물의 NO 저장은 1.87±0.55 μmol/mg인 것으로 측정되었다.

[0187] **실시예 2: S-니트로소에탄디티올 키틴의 합성**

[0188] 2 g의 키틴 및 5 g의 리튬 클로라이드를 50 ml의 디메틸아세타미드에 분산시키고, 20 ml의 N,N-디이소프로필에틸아민을 0℃에서 첨가하였다. 20 g의 p-톨루엔설포닐 클로라이드를 20 ml의 디메틸아세타미드에 용해시키고, 생성되는 혼합물을 상기 제조된 키틴-함유 용액에 첨가하였다. 혼합 용액을 4℃에서 20 시간 동안 교반하였고, 이어서, 침전 및 여과를 위한 300 ml의 아세톤에 부었다. 침전물을 각각 300 ml의 메탄올, 150 ml의 DI 물 및 300 ml의 아세톤으로 1회 세척하고, 이어서, 진공 하에 건조시켜 p-토실화된 키틴을 수득하였다.

[0189] 1 g의 p-토실화된 키틴 및 2.5 g의 리튬 클로라이드를 40 ml의 디메틸아세타미드에 분산시키고, 이어서, 3 ml의 N,N-디이소프로필에틸아민 및 1.5 ml의 1,2-에탄디티올을 첨가하였다. 혼합 용액을 질소 하에 60℃에서 24 시간 동안 교반시키고, 이어서, 침전 및 여과를 위한 400 ml의 아세톤에 부었다. 침전물을 각각 400 ml의 메탄올 및 400 ml의 아세톤으로 세척하고, 진공 하에 건조시키고, 이어서, 디메틸아세타미드 중의 10 mM 1,4-디티오트리에톨 및 N,N-디이소프로필에틸아민의 25 ml 용액에 분산시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 1 시간 동안 교반시키고, 여과하였다. 침전물을 각각 400 ml의 메탄올 및 400 ml의 아세톤으로 1회 세척하고, 진공 하에 건조시켜 티올화된 키틴 화합물을 수득하였다. 200 mg 티올화된 키틴 화합물을 디메틸아세타미드/메탄올(3/1의 부피 비율로)의 5 ml 혼합 용액에 분산시키고, 1 ml의 3차-부틸 니트라이트를 첨가하고, 실온에서 12 시간 동안 교반하였다. 이어서, 혼합 용액을 100 ml의 메탄올 내로 첨가하고, 30분 동안 교반시키고, 여과하고, 진공 하에 건조시켜 최종 생성물을 수득하였다.

[0190] 최종 생성물의 적외선 분광(Nicolet 6700 Type 적외선 분광계에 의해서 검출됨)은 3600-3200, 3285, 1652, 1537, 1028, 3360-3220, 1250-1300, 1050-1070의 주된 흡수 피크(파수)를 갖는다. 이의 확산 반사 UV-가시광선

스펙트럼(Thermo Fisher EV300 Type UV 분광 광도계를 사용하여 검출됨)은 549 nm의 특징적 흡수 피크를 나타낸다. 5 시간 동안의 200 W의 광의 조건 하에, NO 저장은 Beyotime NO 분석 키트 (Griess Method, Shanghai Beyotime Biotechnology Inc.로부터 구매함)에 의해서 검출되는 바와 같이 전체 양의 방출된 산화질소가 특징이었다. 최종 생성물의 NO 저장은 0.37±0.08 μmol/mg인 것으로 측정되었다.

[0191] **실시예 3: 올리고프로필렌디아민 그라프티드 키토산 노노에이트의 합성**

[0192] 250 μL의 2-메틸아지리딘을 300 μL의 하이드로클로라이드의 1 M 수용액과 혼합하고, 혼합물을 10 ml의 20 mg/mL 키토산 수용액에 적가하였다. 혼합 용액을 실온에서 4일 동안 교반시키고, 78℃에서 20 시간 동안 교반시키고, 이어서, 침전 및 원심분리를 위한 300 ml의 아세톤에 부었다. 침전물을 메탄올로 2회 세척하고, 진공 하에 건조시켜 2차 아민 개질된 키토산을 수득하였다. ^{1}H NMR 분광(Bruker Avance III Type NMR 분광계를 사용함, 400 MHz, CD3OD)은 0.8-1.1, 1.9, 2.3-2.7, 3.3-4.0, 및 4.4의 피크를 나타낸다.

[0193] 50 mg 2차 아민 개질된 키토산을 1 ml의 물 및 3 ml의 메탄올의 혼합 용액에 용해시키고, 혼합 용액을 100 μL의 소듐 메톡사이드의 6 M 용액과 함께 Parr 스윙 수소화기(Parr swing hydrogenator)에 첨가하였다. 수소화기를 고순도 질소로 반복적으로 퍼징시켜 산소를 제거하고, 가스성 산화질소로 충전시키고, 반응을 위해서 4일 동안 실온의 10 atm에서 유지시켰다. 반응의 완료 후에, 반응 용기를 고순도 질소로 반복적으로 퍼징하여 미반응된 산화질소를 제거하였다. 이어서, 반응 혼합물을 침전을 위한 300 ml의 아세톤에 첨가하고, 원심분리하여 침전물을 수거하고, 진공 하에 건조시켜 최종 생성물을 수득하였고, 이를 다음 사용을 위해서 -20℃에서 저장하였다.

[0194] 최종 생성물(디아제늄디올레이트를 포함함)의 적외선 분광(Nicolet 6700 Type 적외선 분광계에 의해서 검출됨)은 3600-3200, 3285, 1650, 1587, 1284, 및 1059의 주된 흡수 피크(파수)를 포함한다. 이의 UV-가시광선 스펙트럼(Thermo Fisher EV300 Type UV 분광 광도계를 사용하여 검출됨)은 252 nm의 특징적 흡수 피크를 포함한다. 샘플을 PBS 용액에 용해시키고, 전체 NO 방출량을 위한 Beyotime NO 분석 키트 (Griess Method)에 의해서 검출하여 샘플의 NO 저장을 측정하였고, 이는 0.77±0.11 μmol/mL이었다.

[0195] **실시예 4-15: HUVEC 세포에 대한 VEGF/VEGFR 억제제의 증식 독성을 완화시키는데 있어서의 산화질소 방출제의 효과 및 실데나필과의 비교**

[0196] 보고된 바와 같이, 실데나필을 사용하여 항-VEGF 멀티-키나아제 억제제에 의해서 유발된 손발바닥 홍반성 감각이상(PPE)의 부작용을 치료하는 것을 시도하였다(참조, Kellen L. Meadows et al., Support Care Cancer. 2015 May 23 (5):1311-1319). 그러나, 항-VEGF 멀티-키나아제 억제제에 의해서 PPE에 대한 실데나필의 치료 효과는 거의 효과가 없는 정도도 매우 제한된다. 본원에서는, 산화질소 방출제의 효과를 실데나필의 효과와 비교하였다.

[0197] 배양된 HUVEC 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고 웰 당 5000-10000 세포로 96-웰 플레이트에 씨딩하였다. 웰을 블랭크 대조 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹, 산화질소 방출제 용매 대조 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 + 실데나필 그룹, 및 실데나필 용매 대조 그룹으로 구분하였고, 여기에서, 각각의 그룹의 각각의 웰은 기본 배지를 함유하였고, 각각의 웰 내에 함유된 최종 액체 부피는 약 100 μL이었다. 특별한 그룹형성 상황은 다름과 같다:

[0198] 1) 블랭크 대조 그룹: 배지를 정상적으로 대체함을 제외하고는 용액이 첨가되지 않고;

[0199] 2) VEGF/VEGFR 억제제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액(최종 농도를 표 1에 나타내었고, VEGF/VEGFR 억제제 용액의 용매는 DMSO이었다);

[0200] 3) VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액과 산화질소 방출제 용액을 첨가하였고(VEGF/VEGFR 억제제 및 산화질소 방출제의 최종 농도를 표 1에 나타내었고, 산화질소 방출제 용액의 용매를 산화질소 방출제의 용해도에 따라서 에탄올 또는 무균수로서 선택하였고, 각각의 그룹의 최종 부피의 약간의 차이는 선택된 상응하는 용매를 첨가함으로써 보충되었다);

[0201] 4) VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹: 그룹 2)에서의 상응하는 VEGF/VEGFR 억제제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 DMSO를 첨가하였고;

[0202] 5) 산화질소 방출제 용매 대조 그룹: 그룹 3)에서의 상응하는 산화질소 방출제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 동일한 유형의 용매(예, 에탄올 또는 무균수);

[0203] 6) VEGF/VEGFR 억제제 +실데나필 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액을 첨가하였고, 이어서, 실데나필 용액을 첨가하였고(VEGF/VEGFR 억제제 및 실데나필의 최종 농도를 표 2에 나타내었고, 실데나필 용액의 용매는 DMSO이었고, 실데나필 용액의 용매는 DMSO이었고, 각각의 그룹의 최종 부피의 약간의 차이는 선택된 상응하는 용매를 첨가함으로써 보충되었다);

[0204] 7) 실데나필 용매 대조 그룹: 그룹 6)에서의 상응하는 실데나필 용액에 함유된 것과 동일한 부피의 DMSO를 첨가하였다.

[0205] VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹은 데이터 처리에 주어지지 않았고, 단지 실험의 시스템 오류를 평가하기 위한 기준으로서 작용하였다. 산화질소 방출제 용매 대조 그룹 및 실데나필 용매 대조 그룹을 데이터 보정을 위해서 사용하여 결과에 대한 용매의 효과를 제거하였다.

[0206] 추가로 24-48 시간 동안 배양한 후에, 세포의 생존률을 Cell Counting Kit-8(CCK-8) 분석 키트(C0037, Shanghai Beyotime Biotechnology Inc., Beyotime Biotechnology)에 의해서 측정하여, 증식 독성에 대한 VEGF/VEGFR 억제제의 완화 효과 및 증식 독성에 대한 산화질소 방출제 또는 실데나필의 완화 효과를 계산하였다. GraphPad Prism 6.0 Software 및 t-테스트를 사용하여 결과의 통계학적 분석을 수행하였고 그래프를 플롯팅하였다.

[0207] 표 2는 산화질소 방출제 또는 실데나필과의 VEGF/VEGFR 억제제의 다양한 조합 및 상응하는 실험 결과를 열거한다(여기에서, 세포 생존률 컬럼에 열거된 데이터는, VEGF/VEGFR 억제제 그룹에 비해서, VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹(또는 실데나필)에 의해서 증가된 생존 가능한 세포의 백분율이었다). 도 4의 A 내지 C는 각각 HUVEC 세포에 대한 VEGF/VEGFR 억제제 소라페닙 토실레이트(V1) 또는 수니티닙 말레이트(V3) 또는 레고라페닙 (V4) 및 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여로부터 24 시간 후에 CCK-8 방법에 의해서 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 나타낸다. 여기에서, 수평축은 상이한 실험 그룹 및 대조 그룹을 나타내고, 수직축은 세포 생존률을 나타낸다(다른 실험 그룹 또는 용매 대조 그룹의 생존 백분율은 블랭크 대조 그룹의 100%의 세포 생존률을 기반으로 하여 계산된다). 여기에서, t-시험을 사용하여 통계학적으로 검출되는 바와 같이; ***은 $P<0.001$을 나타내고; **은 VEGF/VEGFR 억제제가 단독으로 투여되는 상응하는 그룹과 유의한 차이가 있음을 나타내는 $P<0.01$을 나타내고; *는 VEGF/VEGFR 억제제가 단독으로 투여되는 상응하는 그룹과 유의한 차이가 있음을 나타내는 $P<0.05$를 나타낸다.

[0208] 표 2: 실시예 4-15의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	VEGFR 억제제	최종 농도	산화질소 방출제	최종 농도	세포 생존률
4	소라페닙	5 μM	니트로글리세린	100 μM	50-60%까지 증가됨
	아파티닙	10 μM			60-70%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			50-60%까지 증가됨
	레고라페닙	10μM			30-40%까지 증가됨
	렌바티닙 메실레이트	10μM			30-50%까지 증가됨
	파조파닙	10μM			20-30%까지 증가됨
	엑시티닙	10μM			20-30%까지 증가됨
	닌테다닙 에실레이트	10μM			30-50% 까지 증가됨
	탈리도미드	10μM			20-30%까지 증가됨
5	소라페닙	5 μM	몰시도민	100 μM	30-40%까지 증가됨
	아파티닙	10 μM			40-50%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			20-30%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
	렌바티닙 메실레이트				30-50% 까지 증가됨
	파조파닙 하이드로클로라이드				20-30%까지 증가됨
	엑시티닙				20-30%까지 증가됨
	닌테다닙 에실레이트				30-50% 까지 증가됨
	탈리도미드				20-30%까지 증가됨
6	소라페닙	5 μM	니코란딜	100 μM	50-60%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			10-20%까지 증가됨
	렌바티닙 메실레이트	10 μM			30-50% 까지 증가됨
	파조파닙 하이드로클로라이드				20-30%까지 증가됨
	엑시티닙				20-30%까지 증가됨
	닌테다닙 에실레이트				30-50% 까지 증가됨
	탈리도미드				20-30%까지 증가됨

[0209]

[0210]

	아파티닙				40-50%까지 증가됨
7	소라페닙	5 μM	이소아밀 니트라이트	100 μM	30-40%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			20-25%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			15-20%까지 증가됨
	렌바티닙 메실레이트	10 μM			30-50%까지 증가됨
	파조파닙 하이드로클로라이드				20-30%까지 증가됨
	엑시티닙				20-30%까지 증가됨
	닌테다닙 에실레이트				30-50%까지 증가됨
	탈리도미드				20-30%까지 증가됨
	아파티닙				40-50%까지 증가됨
8	레고라페닙	10 μM	이소소르바이드 Di 니트레이트	100 μM	15-20%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			20-30%까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			20-30%까지 증가됨
9	레고라페닙	10 μM	3-모르폴리노시드 논이민 (SIN-1) 린시도민	100 μM	15-20%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			10-20%까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			30-40%까지 증가됨
10	레고라페닙	10 μM	이소소르바이드 모노니트레이트	100 μM	20-30%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			20-25% 까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			30-35% 까지 증가됨
11	레고라페닙	10 μM	펜타에리트리톨 테트라니트레이트	100 μM	20-25% 까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			25-35%까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			30-40%까지 증가됨
12	레고라페닙	10 μM	3,3-비스 (아미노에탐)-1-하이드록시-2-옥소-1-트리아젠 (NOC-18)	100 μM	15-20%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			20-30%까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			35-45%까지 증가됨
13	레고라페닙	10 μM	S-니트로소티올 실리카 구체	0.30 mg/mL	10-30%까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			15-30%까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			20-25% 까지 증가됨
14	레고라페닙	10 μM	올리고프로필렌 디아민-그라프티드	1.80 mg/mL	20-25% 까지 증가됨
	수니티닙	5 μM			20-30%까지 증가됨
	소라페닙	5 μM			30-50% 까지 증가됨

[0211]

			키토산 노노에이트		
15	레고라페닙	10 μM	실데나필	100 μM	유의한 변화 없음
	수니티닙	5 μM			
	소라페닙	5 μM			

[0212] 표 2 및 도 4a 내지 도 4c에서의 결과로부터, 산화질소 방출제가 증식 독성에 대한 유의한 완화 효과를 생성시키고, 이의 완화 효과가 실데나필보다 실질적으로 더 우수함을 알 수 있다.

[0213] **실시예 16-32: 인간 불명성 외피 세포(HaCaT), 인간 구강 점막 상피 케라티노사이트(HOK), 인간 소장 외피 세포(FHs 74 Int), 위 외피 세포(GES-1)에 대한 VEGF/VEGFR 억제제의 증식 독성을 완화시키는데 있어서의 산화질소 방출제의 효과 및 실데나필과의 비교**

[0214] 다양한 외피 세포를 실험에서의 사용을 위해서 배양하였고, 여기에서, 실시예 16-20은 인간 불명성 외피 세포(HaCaT)를 사용하였고, 결과는 표 3에 상응하고; 실시예 21-24은 인간 구강 점막 상피 케라티노사이트(HOK)를 사용하였고, 결과는 표 4에 상응하고; 실시예 25-28은 위 외피 세포(GES-1)를 사용하였고, 결과는 표 5에 상응하고; 실시예 29-32는 인간 소장 외피 세포(FHs 74 Int)를 사용하였고, 결과는 표 6에 상응한다.

[0215] 배양된 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고, 웰 당 5000-10000 세포로 96-웰 플레이트내로 씨딩하였다. 웰을 블랭크 대조 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹, 산화질소 방출제 용매 대조 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 + 실데나필 그룹, 및 실데나필 용매 대조 그룹으로 구분하였고, 여기에서, 각각의 그룹의 각각의 웰은 기본 배지를 함유하였고, 각각의 웰에 함유된 최종 액체 부피는 약 100 μL이었다. 특별한 그룹형성 상황은 다름과 같다:

[0216] 1) 블랭크 대조 그룹: 배지를 정상적으로 대체함을 제외하고는 용액이 첨가되지 않고;

[0217] 2) VEGF/VEGFR 억제제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액(최종 농도를 표 2에 나타냈고, VEGF/VEGFR 억제제 용액의 용매는 DMSO이었다);

[0218] 3) VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액 및 산화질소 방출제 용액을 첨가하였고(VEGF/VEGFR 억제제 및 산화질소 방출제의 최종 농도를 표 2에 나타내었고, 산화질소 방출제 용액의 용매를 산화질소 방출제의 용해도에 따라서 에탄올 또는 무균수로서 선택하였고, 각각의 그룹의 최종 부피의 약간의 차이는 선택된 상응하는 용매를 첨가함으로써 보충되었다);

[0219] 4) VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹: 그룹 2)에서의 상응하는 VEGF/VEGFR 억제제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 DMSO를 첨가하였고;

[0220] 5) 산화질소 방출제 용매 대조 그룹: 그룹 3)에서의 상응하는 산화질소 방출제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 동일한 유형의 용매(예, 에탄올 또는 무균수);

[0221] 6) VEGF/VEGFR 억제제 + 실데나필 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액을 첨가하였고, 이어서, 실데나필 용액을 첨가하였고(VEGF/VEGFR 억제제 및 실데나필의 최종 농도를 표 2에 나타내었고, 실데나필 용액의 용매는 DMSO이었고, 각각의 그룹의 최종 부피의 약간의 차이는 선택된 상응하는 용매를 첨가함으로써 보충되었다);

[0222] 7) 실데나필 용매 대조 그룹: 그룹 6)에서의 상응하는 실데나필 용액에 함유된 것과 동일한 부피의 DMSO를 첨가하였다.

[0223] VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹은 데이터 처리에 주어지지 않았고, 단지 실험의 시스템 오류를 평가하기 위한 기준으로서 작용하였다. 산화질소 방출제 용매 대조 그룹 및 실데나필 용매 대조 그룹을 데이터 보정을 위해서 사용하여 결과에 대한 용매의 효과를 제거하였다.

[0224] 추가의 24-48 시간 동안 배양한 후에, 세포의 생존률을 Cell Counting Kit-8(CCK-8) 분석 키트(C0037, Shanghai Beyotime Biotechnology Inc., Beyotime Biotechnology)에 의해서 측정하여, 세포에 대한 VEGF/VEGFR 억제제의 증식 독성 및 증식 독성에 대한 산화질소 방출제의 완화 효과를 계산하였다. GraphPad Prism 6.0 Software 및 t-테스트를 사용하여 결과의 통계학적 분석을 수행하였고 그래프를 플롯팅하였다.

[0225] 표 3 내지 표 6은 VEGF/VEGFR 억제제 및 산화질소 방출제 또는 실데나필의 다양한 조합 및 상응하는 실험 결과를 열거한다(여기에서, 세포 생존률 컬럼에 열거된 데이터는, VEGF/VEGFR 억제제 그룹에 비해서, VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹(또는 실데나필)에 의해서 증가된 생존 가능한 세포의 백분율이었다). 도 5는 HaCaT 세포에 대한 실험 결과를 나타내고, 도 6은 HOK 세포에 대한 실험 결과를 나타내고, 도 7은 GES-1 세포에 대한 실험 결과를 나타내고, 도 8은 FHs 74 Int 세포에 대한 실험 결과를 나타낸다. 여기에서, 수평축은 상이한 실험 그룹 및 대조 그룹에 대한 실험 결과를 나타내고; 수직축은 세포의 생존률을 나타낸다(다른 실험 그룹 또는 용매 대조 그룹의 생존 백분율은 블랭크 대조 그룹의 100%의 세포 생존률을 기반으로 하여 계산된다), 여기에서, 도 5의 A, 도 6의 A, 도 7의 A 및 도 8의 A는 각각 다양한 유형의 세포에 대해서 VEGF/VEGFR 억제제 소라페닙 토실레이트(V1) 및 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여로부터 24 시간 후에 CCK-8 방법에 의해서 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 나타내고; 도 5의 B, 도 6의 B, 도 7의 B 및 도 8의 B는 각각 다양한 유형의 세포에 대해서 VEGF/VEGFR 억제제 수니티닙 말레이트 (V3) 및 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여로부터 24 시간 후에 CCK-8 방법에 의해서 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 나타내고; 도 5의 C, 도 6의 C, 도 7의 C 및 도 8의 C는 각각 다양한 유형의 세포에 대해서 VEGF/VEGFR 억제제 레고라페닙(V4) 및 산화질소 방출제(또는 실데나필)의 투여로부터 24 시간 후에 CCK-8 방법에 의해서 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 나타낸다. 여기에서, t-시험을 사용하여 통계학적으로 검출되는 바와 같이; ***은 VEGF/VEGFR 억제제가 단독으로 투여되는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 가짐을 나타내는 $P<0.001$을 나타내고; **은 VEGF/VEGFR 억제제가 단독으로 투여되는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 가짐을 나타내는 $P<0.01$을 나타내고; *은 VEGF/VEGFR 억제제가 단독으로 투여되는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 가짐을 나타내는 $P<0.05$를 나타낸다.

[0226] 표 3: 실시예 16-20의 실험 조건 및 결과

실시예 번호.	VEGFR 억제제	최종 농도	산화질소 방출제	최종 농도	세포 생존률
16	소라페닙	10 μM	이소아밀 니트라이트	100 μM	15-20%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			28-35%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			35-45%까지 증가됨
17	소라페닙	10 μM	몰시도민	100 μM	15-20%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-25%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			55-65% 까지 증가됨
18	소라페닙	10 μM	니트로글리세린	100 μM	30-40%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			30-40%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			50-60%까지 증가됨
19	소라페닙	10 μM	니코란딜	100 μM	15-20%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			15-20%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			50-60%까지 증가됨
20	레고라페닙	10 μM	실데나필	100 μM	유의한 변화 없음
	수니티닙	10 μM			
	소라페닙	10 μM			

[0227]

[0228] 표 3 및 도 5에서의 결과로부터, VEGF/VEGFR 억제제가 피부 세포(HaCaT)에 대한 증식 독성을 갖는 반면에, 산화질소 방출제가 VEGF/VEGFR 억제제에 의해서 유발된 증식 독성에 대한 유의한 완화 효과를 갖고, 완화 효과가 실데나필보다 실질적으로 더 우수함을 알 수 있다.

[0229] 표 4: 실시예 21-24의 실험 조건 및 결과

실시예 번호.	VEGFR 억제제	최종 농도	산화질소 방출제	최종 농도	세포 생존률
21	소라페닙	10 μM	이소아밀 니트라이트	100 μM	90-100%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			65-75%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			15-20%까지 증가됨
22	소라페닙	10 μM	몰시도민	100 μM	90-100%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			60-70%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			15-20%까지 증가됨
23	소라페닙	10 μM	니트로글리세린	100 μM	90-100%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			80-90%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
24	소라페닙	10 μM	니코란딜	100 μM	90-100%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			60-70%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			15-20%까지 증가됨
20	레고라페닙	10 μM	실데나필	100 μM	유의한 변화 없음
	수니티닙	10 μM			
	소라페닙	10 μM			

[0230]

[0231] 표 4 및 도 6에서의 결과로부터, VEGF/VEGFR 억제제가 인간 구강 점막 상피 케라티노사이트(HOK)에 대한 증식 독성을 갖는 반면에, 산화질소 방출제가 VEGF/VEGFR 억제제에 의해서 유발된 증식 독성에 대한 유의한 완화 효과를 갖고, 완화 효과가 실데나필보다 실질적으로 더 우수함을 알 수 있다.

[0232] 표 5: 실시예 25-28의 실험 조건 및 결과

실시예 번호.	VEGFR 억제제	최종 농도	산화질소 방출제	최종 농도	세포 생존률
25	소라페닙	10 μM	이소아밀 니트라이트	100 μM	15-20%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			40-50%까지 증가됨
26	소라페닙	10 μM	몰시도민	100 μM	20-30%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			15-20%까지 증가됨
27	소라페닙	10 μM	니트로글리세린	100 μM	30-40%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			40-50%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			70-80%까지 증가됨
28	소라페닙	10 μM	니코란딜	100 μM	20-30%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			30-40%까지 증가됨
20	레고라페닙	10 μM	실데나필	100 μM	유의한 변화 없음
	수니티닙	10 μM			
	소라페닙	10 μM			

[0233]

[0234] 표 5 및 도 7에서의 결과로부터, VEGF/VEGFR 억제제가 위 외피 세포(GES-1)에 대한 증식 독성을 갖는 반면에, 산화질소 방출제가 VEGF/VEGFR 억제제에 의해서 유발된 증식 독성에 대한 유의한 완화 효과를 갖고, 완화 효과가 실데나필보다 실질적으로 더 우수함을 알 수 있다.

[0235] 표 6: 실시예 29-32의 실험 조건 및 결과

실시예 번호.	VEGFR 억제제	최종 농도	산화질소 방출제	최종 농도	세포 생존률
29	소라페닙	10 μM	이소아밀 니트라이트	100 μM	40-50%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			10-15%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			45-55%까지 증가됨
30	소라페닙	10 μM	몰시도민	100 μM	40-50%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			10-15%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			10-15%까지 증가됨
31	소라페닙	10 μM	니트로글리세린	100 μM	60-70%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			20-30%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			70-80%까지 증가됨
32	소라페닙	10 μM	니코란딜	100 μM	40-50%까지 증가됨
	레고라페닙	10 μM			10-15%까지 증가됨
	수니티닙	10 μM			45-55%까지 증가됨
20	레고라페닙	10 μM	실데나필	100 μM	유의한 변화 없음
	수니티닙	10 μM			
	소라페닙	10 μM			

[0236]

[0237] 표 6 및 도 8에서의 결과로부터, VEGF/VEGFR 억제제가 인간 장 외피 세포(FHs 74 Int)에 대한 증식 독성을 갖는 반면에, 산화질소 방출제가 VEGF/VEGFR 억제제에 의해서 유발된 증식 독성에 대한 유의한 완화 효과를 갖고, 완화 효과가 실데나필보다 실질적으로 더 우수함을 알 수 있다.

[0238] **실시예 33-46: 세포내/세포외 NO 수준에 대한 산화질소 방출제의 효과의 측정**

[0239] 배양된 HUVEC, HaCaT, HOK, FHs 74 Int 또는 GES-1 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고, 웰 당 100,000-200,000 세포로 24-웰 플레이트내로 씨딩하였다. 세포를 부착시킨 후에, 산화질소 방출제 용액을 첨가하여 특정의 최종 농도(예, 표 7 및 표 8에 나타낸 바와 같음)를 달성하였다. 배지를 대조 그룹에 첨가하였다. 산화질소 방출제의 투여 후 다양한 시점(예를 들어, 표 7 및 표 8에 나타낸 바와 같은 6 시간, 12 시간, 24 시간 및 48 시간)에서, 각각의 그룹의 50 μL의 상등액을 세포외 상등액 중의 NO 수준을 검출하기 위해서 수거하였다. 한편, 나머지 상등액을 따라냈고, 세포 용해 용액을 첨가하였다. 충분한 용해 후에, 50 μL의 용해물을 세포내 NO 수준을 검출하기 위해서 취하였다. NO 분석 키트(S0021, Beyotime Inc.)를 NO 수준을 검출하기 위해서 사용하였다.

[0240] 여기에서, 도 9의 A 내지 D는 각각 산화질소 방출제의 투여로부터 6 시간, 12 시간, 24 시간, 48 시간에서의 HUVEC 세포외, HUVEC 세포내, GES-1 세포외 및 GES-1 세포내에서의 상대적인 NO 수준을 나타낸다. NTG는 니트로글리세린을 나타낸다. 대조 그룹은 생물학적 수준을 반영하는 기본 배지이다.

[0241] 도 10의 A 내지 D는 각각 산화질소 방출제(이소소르바이드 디니트레이트, 니코란딜, 몰시도민, 및 이소아밀 니

트라이트)에 의한 처리 24 시간 후의 HUVEC 세포, GES-1 세포, HaCaT 세포, 및 HOK 세포에서의 상대적인 세포외 NO 수준을 나타낸다. 대조 그룹은 생물학적 수준을 반영하는 기본 배지이였다. 여기에서, t-시험을 사용하여 통계학적으로 분석되는 바와 같이; **은 상응하는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.01을 나타내고; *은 상응하는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.05를 나타낸다.

[0242] 도 11의 A 내지 D는 각각 산화질소 방출제(이소소르바이드 디니트레이트, 니코란딜, 몰시도민, and 이소아밀 니트라이트)에 의한 처리 24 시간 후의 HUVEC 세포, GES-1 세포, HaCaT 세포, 및 HOK 세포에서의 상대적인 세포내 NO 수준을 나타낸다. 대조 그룹은 생물학적 수준을 반영하는 기본 배지이었다. 여기에서, t-시험을 사용하여 통계학적으로 분석되는 바와 같이; ***은 상응하는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.001을 나타내고; **은 상응하는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.01을 나타내고; *은 상응하는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.05를 나타낸다.

[0243] 표 7 및 표 8 및 도 9 내지 도 11에서의 결과로부터, 산화질소 방출제가 산화질소를 방출시킬 수 있고 세포내 NO 수준을 증가시킬 수 있음을 알 수 있다.

[0244] 표 7: 실시예 33-39의 실험 조건 및 결과

[0245]

실시예 번호.	약제	최종 농도	세포 유형 (세포외)	시점	NO 수준
33	니트로글리세린 (NTG)	100μM	HUVEC	6h	70-80%까지 증가됨
				12h	100-120%까지 증가됨
				24h	200-235%까지 증가됨
				48h	180-210%까지 증가됨
34	니트로글리세린 (NTG)	100μM	GES-1	6h	70-85%까지 증가됨
				12h	87-128%까지 증가됨
				24h	170-185%까지 증가됨
				48h	125-155%까지 증가됨
35	이소소르바이드 디니트레이트	100μM	HUVEC	24h	135-165%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			75-90%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			75-85%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			80-95%까지 증가됨
36	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	HaCaT	24h	120-150%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			85-110%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			66-85%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			100-120%까지 증가됨
37	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	HOK	24h	122-156%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			80-100%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			75-85%까지 증가됨

[0246]

	이소아밀 니트라이트	100μM			125-147%까지 증가됨
38	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	FHs 74 Int	24h	110-150%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			80-100%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			50-80%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			110-125%까지 증가됨
39	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	GES-1	24h	135-174%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			80-110%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			55-80%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			130-150%까지 증가됨

[0247] 표 8: 실시예 40-46의 실험 조건 및 결과

실시예 번호.	약제	최종 농도	세포 유형 (세포내)	시점	NO 수준
40	니트로글리세린 (NTG)	100μM	HUVEC	6h	10-20%까지 증가됨
				12h	45-70%까지 증가됨
				24h	45-60%까지 증가됨
				48h	1-20%까지 증가됨
41	니트로글리세린 (NTG)	100μM	GES-1	6h	10-30%까지 증가됨
				12h	20-35%까지 증가됨
				24h	20-25%까지 증가됨
				48h	20-30%까지 증가됨
42	이소소르바이드 디니트레이트	100μM	HUVEC	24h	40-55%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			30-45% 까지 증가됨
	몰시도민	100μM			15-25%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			15-30%까지 증가됨
43	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	HaCaT	24h	20-40%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			15-30%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			10-25%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			20-40%까지 증가됨
44	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	HOK	24h	20-40%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			10-30%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			9-30%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			15-35%까지 증가됨
45	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	FHs 74 Int	24h	15-35%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			10-30%까지 증가됨

[0248]

	몰시도민	100μM			10-25%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			20-35%까지 증가됨
46	이소소르바이드 디니트레이트	100 μM	GES-1	24h	20-40%까지 증가됨
	니코란딜	100μM			15-25%까지 증가됨
	몰시도민	100μM			10-30%까지 증가됨
	이소아밀 니트라이트	100μM			25-35%까지 증가됨

[0249]

[0250] **실시예 47-54: 실데나필은 산화질소를 방출시키기 않을 뿐만 아니라 HUVEC, HaCaT 또는 GES-1의 세포내 및 세포외 NO 수준을 증가시키지 않음**

[0251] 배양된 HUVEC, HaCaT 또는 GES-1 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고, 웰 당 500,000-1,000,000 세포로 6-웰 플레이트내로 씨딩하였다. 세포를 부착시킨 후에, 실데나필 용액을 첨가하여 특정의 최종 농도(예, 표 9 및 표 10에 나타낸 바와 같음)를 달성하였다. 기본 배지를 대조 그룹에 첨가하였다. 실데나필의 첨가 후 다양한 시점(6 시간, 12 시간, 24 시간 및 48 시간)에서, 각각의 그룹의 50 μL의 상등액을 세포외 NO 수준을 검출하기 위해서 수거하였다. 한편, 나머지 상등액을 따라냈고, 세포 용해 용액을 첨가하였다. 충분한 용해 후에, 50 μL의 용해물을 세포내 NO 수준을 검출하기 위해서 취하였다. NO 분석 키트(S0021, Beyotime Inc.)를 NO 수준을 검출하기 위해서 사용하였다. 도 12 및 도 13은 실험 결과를 열거하고 있다.

[0252] 여기에서, 도 12의 A 및 B는 각각 100 μM의 실데나필에 의한 HUVEC 세포의 처리 후의 다양한 시점(6 시간, 12 시간, 24 시간, 48 시간)에서의 상대적인 세포외 및 세포내 NO 수준을 나타낸다. 도 12의 C 및 D는 각각 상이한 농도의 실데나필에 의한 HUVEC 세포의 처리 24 시간 후의 상대적인 세포외 및 세포내 NO 수준을 나타낸다. 대조

그룹은 생물학적 수준을 반영하는 기본 배지이었다.

[0253] 도 13의 A 및 B는 각각 100 μM의 실데나필에 의한 GES-1 세포의 처리 후 24 시간에서의 상대적인 세포외 및 세포내 NO 수준을 나타낸다. 도 13의 C 및 D는 각각 100 μM의 실데나필에 의한 HaCaT 세포의 처리 24 시간에서의 상대적인 세포외 및 세포내 NO 수준을 나타낸다. 대조 그룹은 생물학적 수준을 반영하는 기본 배지이었다.

[0254] 이들 결과로부터, 실데나필은 산화질소를 방출시키지 않을 뿐만 아니라 HUVEC, HaCaT 또는 GES-1 세포의 세포내 및 세포외 NO 수준을 증가시키지 않음을 알 수 있다.

[0255] 표 9: 실시예 47-50의 실험 조건 및 결과

[0256]

실시예 번호.	약제	최종 농도	세포 유형 (세포외)	시점	NO 수준
47	실데나필	20 μM 100μM 200 μM 500 μM	HUVEC	24h	유의한 변화 없음
48	실데나필	100 μM	HUVEC	6h 12h 24h 48h	
49	실데나필	100μM	HaCaT	24h	
50	실데나필	100μM	GES-1	24h	

[0257] 표 10: 실시예 51-54의 실험 조건 및 결과

[0258]

실시예 번호.	약제	최종 농도	세포 유형 (세포내)	시점	NO 수준
51	실데나필	20 μM 100μM 200 μM 500 μM	HUVEC	24h	유의한 변화 없음
52	실데나필	100 μM	HUVEC	6h 12h 24h 48h	
53	실데나필	100μM	HaCaT	24h	
54	실데나필	100μM	GES-1	24h	

[0259] **실시예 55-108: 산화질소 방출제는 소분자 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 생체내 예방/치료할 수 있음**

[0260] 래트 동물 모델의 구성: 표 11에 나타낸 바와 같은 소분자 VEGFR/VEGF 억제제를 매일의 위관 영양에 의해서 8-주 SD 자성 래트에 투여하였고, 며칠 후에, 수족 증후군의 증상이 래트의 발에서 나타났다(예, 도 14에 도시된 바와 같음). 인간과 유사하게, 래트는 VEGFR/VEGF 억제제의 투여 후에 수족 증후군의 증상을 전개하고, 증상은 인간 및 래트에서 고도로 유사하였다. 따라서, 래트는 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 부작용(예, 수족 증후군)을 의태(mimicking)하는 매우 우수한 동물 모델이다.

[0261] 래트(약 200g)를 1 주일 동안 사육하였고, 이어서, 위관 영양 투여 실험을 위해서 그룹들(이들 각각은 10 마리 래트를 포함함)로 구분하였다. 다양한 소분자 VEGFR/VEGF 억제제를 크레모포르 EL:에탄올=1:1의 비율을 갖는 혼합 용액에 용해시켰다. 위관 영양 전에, VEGFR/VEGF 억제제 약제 용액을 PBS에 의해서 요구되는 농도(PBS 용액으로 약 3배로 희석됨)로 희석시켰다. 위관 영양 양은 2 mL 이하였고, 투여량은 표 11에 나타내어져 있다. 위관 영양 후에, 래트의 좌측 발(발의 발바닥과 갭(gap))에 산화질소 방출제(약 0.05g)를 함유하는 연고를 국소 투여한 반면에, 우측 발은 블랭크 대조로서 투여되지 않았다. 투여 후에, 래트를 고정된 실린더에 4 시간 동안 고정시켰다. 4 시간 후에, 래드를 풀어주고, 물로 닦아내어 투여된 부위 상의 잔류 약제를 제거하였고, 케이지로 되돌려 보냈다. VEGFR/VEGF 억제제의 위관 영양 빈도가 표 11에 나타내어져 있지만, 산화질소 방출제는 단지 하루에 한번 투여되었다. 위관 영양 및 투여를 실험이 끝날 때까지 매일 반복하였다. 투여 측이 정상으로 유지되거나 수족 증후준의 증상이 투여 15 내지 18일 후에 투여되지 않은 측보다 실질적으로 덜 심각한 래트의 수를 수족 증후군이 효과적으로 억제된 래트의 수로서 계수하였다.

[0262] 표 11은 VEGFR/VEGF 억제제 및 산화질소 방출제 연고의 동물 모델의 다양한 조합, 및 상응하는 실험 결과를 열거하고 있다(여기에서, 조절율 컬럼에서의 값 = 각각의 그룹에서 수족 증후군이 효과적으로 억제된 래트의 수/각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델의 수 X 100%; 각각의 그룹에서의 수족 증후군의 성공율은 30% 내지 70%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 3 내지 7 마리의 성공적인 수족 증후군 모델이 있고; 모델화 과정 동안에, 개

별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 투여 그룹에서 발생하고, 개별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 약물 그룹에서 발생한다).

[0263] 표 11: 실시예 55-108의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	VEGFR/VEGF 억제제	투여량	빈도	투여	농도	투여된 발	일수	조절율
55	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.05%	좌측	15	66.67%
56	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.15%	좌측	15	71.43%
57	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	15	60%
58	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.05%	좌측	15	60%
59	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.15%	좌측	15	60%
60	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	15	75%
61	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	니트로글리세린 연고	0.05%	좌측	18	50%
62	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	니트로글리세린 연고	0.15%	좌측	18	40%
63	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	60%
64	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.05%	좌측	18	50%
65	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.15%	좌측	18	60%
66	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	57.14%
67	수니티닙	120mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	15	50%
68	카보잔티닙	50mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	66.67%
69	엑시티닙	50mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	50%
70	닌테다닙	110mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	75%
71	브리바닙	80mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	33.33%
72	바타라티닙	150mg/kg	하루에	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	15	50%

[0264]

[0265]

	석시네이트		한번					
73	프루퀸티닙	40mg/kg	하루에 한번	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	16	66.67%
74	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	이소소르바이드 모노니트레이트/이소소르바이드 디니트레이트 (1:1) 혼합 연고	0.2%	좌측	15	42.86%
75	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	이소소르바이드 모노니트레이트/이소소르바이드 디니트레이트 (1:1) 혼합 연고	0.2%	좌측	15	50%
76	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	이소소르바이드 모노니트레이트/이소소르바이드 디니트레이트 (1:1) 혼합 연고	0.2%	좌측	18	50%
77	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	이소소르바이드 모노니트레이트/이소소르바이드 디니트레이트 (1:1) 혼합 연고	0.2%	좌측	18	42.86%
78	수니티닙	120mg/kg	하루에 한번	이소소르바이드 모노니트레이트/이소소르바이드 디니트레이트 (1:1) 혼합 연고	0.2%	좌측	15	33.33%
79	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	니코란딜 연고	0.2%	좌측	15	33.33%
80	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	니코란딜 연고	0.2%	좌측	18	42.86%
81	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	니코란딜 연고	0.2%	좌측	18	40%
82	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	니코란딜 연고	0.2%	좌측	15	25%
83	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	소듐 니트레이트 연고	0.2%	좌측	15	33.33%
84	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	소듐 니트레이트 연고	0.2%	좌측	18	42.86%
85	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	소듐 니트레이트 연고	0.2%	좌측	18	50%
86	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	소듐 니트레이트 연고	0.2%	좌측	15	40%
87	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	이소아밀 니트라이트 연고	0.2%	좌측	15	33.33%
88	렌바티닙	65mg/kg	하루에	이소아밀 니트라이트 연고	0.2%	좌측	18	42.86%

			두번					
89	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	이소아밀 니트라이트 연고	0.2%	좌측	18	40%
90	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	이소아밀 니트라이트 연고	0.2%	좌측	15	20%
91	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	소듐 니트라이트 연고	0.2%	좌측	15	42.86%
92	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	소듐 니트라이트 연고	0.2%	좌측	18	33.33%
93	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	몰시도민 연고	0.2%	좌측	15	33.33%
94	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	몰시도민 연고	0.2%	좌측	18	40%
95	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	소듐 니트로프루시드 연고	0.2%	좌측	15	42.86%
96	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	소듐 니트로프루시드 연고	0.2%	좌측	18	28.57%
97	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	S-니트로소티올 실리카 구체 연고	0.2%	좌측	15	40%
98	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	S-니트로소티올 실리카 구체 연고	0.2%	좌측	18	33.33%
99	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	S-니트로소에탄디티올 키틴 연고	0.2%	좌측	15	28.57%
100	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	S-니트로소에탄디티올 키틴 연고	0.2%	좌측	18	16.67%
101	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 노노에이트 연고	0.2%	우측	15	20%
102	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	올리고프로필렌디아민-그라프티드 키토산 노노에이트 연고	0.2%	우측	18	14.29%
103	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	N-니트로소디부틸아민 연고	0.2%	우측	15	33.33%
104	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	N-니트로소디부틸아민 연고	0.2%	우측	18	25%
105	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	하이드록실디아젠설온산-1-옥사이드 디소듐 염 연고	0.2%	우측	15	20%

[0266]

106	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	하이드록실디아젠설온산-1-옥사이드 디소듐 염 연고	0.2%	우측	18	33.33%
107	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	트르렙토조신 연고	0.2%	우측	15	20%
108	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	트르렙토조신 연고	0.2%	우측	18	16.67%

[0267]

[0268] 주: 항암 약제의 모델화 성공율은 일정하지 않고; 각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델의 성공율은 30% 내지 70%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 3 내지 7 마리의 성공적인 수족 증후군 모델이 있고, 모델화 과정 동안에, 개별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 투여 그룹에서 발생한다. 조절율은 실험 그룹 중의 수족 증후군 모델 래트의 전체 수에 대한 투여되지 않은 발보다 덜 심각한 투여된 발 상의 증상이 있는 래트의 수의 비율을 나타낸다.

[0269] 표 11에서의 결과로부터, 산화질소 방출제가 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있음을 알 수 있다. 한편, 도 15 및 도 16의 결과는 또한 산화질소 방출제가 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있음을 나타내고 있다. 도 15는, 실시예 55-100의 투여 그룹에서, 전형적인 래트가 그의 좌측 발에 (산화질소 방출제 연고) 투여되고, 그의 좌측 발 상의 수족 증후군은 유의하게 완화되었음을 나타내고; 도 16은, 실시예 101-108의 투여 그룹에서, 전형적인 래트가 그의 우측 발에 (산화질소 방출제 연고) 투여되었고, 그의 좌측 발 상의 수족 증후군이 또한 유의하게 완화됨을 나타낸다.

[0270] **실시예 109-110: 산화질소 방출제가 소분자 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 생체내 예방/치료할 수 있음**

[0271] *니트로소모나스 유로파에* 로션의 제조: *니트로소모나스 유로파에*(ATCC 19718)를 무기 배지(ATCC 2265) 내로 접종하고, 약 200rpm, 26℃, 암 조건에서 박테리아 원액을 얻도록 배지가 탁해질 때까지 3 내지 5일 동안 배양하

였다. 원액을 무기 배지로 상이한 용액 농도로 희석시켰다(예컨대 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10} 세포/ml). 박테리아의 농도를 세포계산기(cytometer)로 측정하였고, 이어서, *니트로소모나스 유로파에* 로션을 얻었다.

[0272] 래트 동물 모델의 구성: 표 12에 나타낸 바와 같은 소분자 VEGFR/VEGF 억제제를 매일의 위관 영양에 의해서 8-주 SD 자성 래트에 투여하였고, 며칠 후에, 수족 증후군의 증상이 래트의 발에서 나타났다. 인간과 유사하게, 래트는 VEGFR/VEGF 억제제의 투여 후에 수족 증후군의 증상을 전개하고, 증상은 인간 및 래트에서 고도로 유사하였다. 따라서, 래트는 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 부작용(예, 수족 증후군)을 의태(mimicking)하는 매우 우수한 동물 모델이다.

[0273] 래트(약 200g)를 1 주일 동안 사육하였고, 이어서, 위관 영양 투여 실험을 위해서 그룹들(이들 각각은 10 마리 래트를 포함함)로 구분하였다. 다양한 소분자 VEGFR/VEGF 억제제를 크레모포르 EL:에탄올=1:1의 비율을 갖는 혼합 용액에 용해시켰다. 위관 영양 전에, VEGFR/VEGF 억제제 약제 용액을 PBS에 의해서 요구되는 농도(PBS 용액으로 약 3배로 희석됨)로 희석시켰다. 위관 영양 양은 2 mL 이하였고, 투여량은 표 12에 나타내어져 있다. 위관 영양 후에, 래트를 고정된 실린더에 고정시켰다. 래트의 좌측 발을 박테리아 로션으로 적셨다. 10 분 후에, 래트를 하루에 한번 풀어준 반면에, 우측 발은 블랭크 대조로서 적시지 않았다. VEGFR/VEGF 억제제의 위관 영양 빈도가 표 12에 나타내어져 있지만, 산화질소 방출제는 단지 하루에 한번 투여되었다. 위관 영양 및 적심 실험을 래트가 사망할 때까지 매일 반복하였다. 적심 측이 정상으로 유지되거나 수족 증후준의 증상이 투여 15 내지 18일 후에 투여되지 않은 측보다 실질적으로 덜 심각한 래트의 수를 수족 증후군이 효과적으로 억제된 래트의 수로서 계수하였다.

[0274] 표 12는 VEGFR/VEGF 억제제 및 산화질소 방출제 연고의 동물 모델의 다양한 조합, 및 상응하는 실험 결과를 열거하고 있다(여기에서, 조절율 컬럼에서의 값 = 각각의 그룹에서 수족 증후군이 효과적으로 억제된 래트의 수/각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델의 수 X 100%; 각각의 그룹에서의 수족 증후군의 성공율은 30% 내지 70%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 3 내지 7 마리의 성공적인 수족 증후군 모델이 있고; 모델화 과정 동안에, 개별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 투여 그룹에서 발생하고, 개별적인 래트의 사망이 각각의 투여 그룹에서 발생한다).

[0275] 표 12: 실시예 109-110의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	VEGFR 억제제	투여량	빈도	투여	농도 wt%	투여된 발	일수	조절율
109	소라페닙	80mg/kg	하루에 한번	박테리아 로션	10^9 박테리아/mL	좌측	15	33.33 %
110	렌바티닙	65mg/kg	하루에 두번	박테리아 로션	10^9 박테리아/mL	좌측	15	25%

[0276]

[0277] 표 12로부터, 산화질소 방출제는 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[0278] **실시예 111-112: 산화질소 방출제는 단백질 거대분자 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 생체내 예방/치료할 수 있음**

[0279] 라무시루맙 또는 베바시주맙을 생리 식염수에 의해서 요구되는 농도로 희석시켰다. 래트(약 200g)를 1 주일 동안 사육하였고, 이어서, 주사 투여 실험을 위해서 그룹들(이들 각각은 10 마리 래트를 포함함)로 구분하였다. 희석된 라무시루맙을 정맥내 주입에 의해서 60 분동안 40 mg/kg의 투여량으로 투여하였다. 그것을 파클리탁셀(10mg/kg)의 투여와 함께 주 당 1회 투여하였다. 래트의 좌측 발(발의 발바닥과 갭(gap)에 산화질소 방출제(약 0.05g)를 함유하는 연고를 국소 투여한 반면에, 우측 발은 블랭크 대조로서 투여되지 않았다. 투여 후에, 래트를 고정된 실린더에 4 시간 동안 고정시켰다. 4 시간 후에, 래드를 풀어주고, 물로 닦아내어 투여된 부위 상의 잔류 약제를 제거하였고, 케이지로 되돌려 보냈다. 실험은 2 내지 4 주일 동안 지속되었다. 실험 현상을 실험 래트가 사망하고 실험이 끝날 때까지 관찰하였다.

[0280] 표 13은 VEGFR/VEGF 억제제 및 산화질소 방출제 연고의 동물 모델의 다양한 조합, 및 상응하는 실험 결과를 열거하고 있다(여기에서, 조절율 컬럼에서의 값 = 각각의 그룹에서 수족 증후군이 효과적으로 억제된 래트의 수/각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델의 수 X 100%; 각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델화의 성공율은 10% 내지 30%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 1 내지 3 마리의 수족 증후군 모델이 있다).

[0281] 표 13: 실시예 111-112의 실험 조건 및 결과

[0282]

실시예 번호	VEGFR 억제제/VEGF 억제제	억제제의 분류	투여량	빈도	투여	농도	투여된 발	일수	조절율
111	라무시루맙	모노클로날 항체	파클리탁셀과 함께 투여됨, 60 분에 걸쳐서 주입됨	주 당 1 회 복강내 주입됨	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	23	50%
112	베바시주맙	모노클로날 항체	5-FU 와 함께 투여됨, 60-90 분에 걸쳐서 주입됨	주 당 1 회 미정맥(caudal vein)을 통해서 주입됨	니트로글리세린 연고	0.2%	좌측	18	50%

[0283] 주: 항암 약제의 모델화 성공율은 일정하지 않다: 각각의 그룹에서의 수족 증후군의 성공율은 10% 내지 30%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 1 내지 3 마리의 수족 증후군 모델이 있고, 모델화 과정 동안에, 개별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 투여 그룹에서 발생한다. 조절율은 실험 그룹 중의 수족 증후군 모델 래트의 전체 수에 대한 비투여된 발보다 덜 심각한 투여된 발 상의 증상이 있는 래트의 수의 비율을 나타낸다.

[0284] 도 15는, 그것이 전형적인 래트의 좌측 발 상에 (산화질소 방출제 연고) 투여된 후에, 실시예 111-112의 투여 그룹에서의 전형적인 래트의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 상태를 나타낸다.

[0285] 표 13 및 도 15에서의 결과로부터 산화질소 방출제 연고가 모노클로날 항체-기반 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 예방할 수 있음을 알 수 있다.

[0286] **실시예 113-124: 래트 모델에서의 소분자 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 치료하는 능력을 입증하기 위한 실험**

[0287] 래트(약 200g)를 1 주일 동안 사육하였고, 이어서, 위관 영양 투여 실험을 위해서 그룹들(이들 각각은 10 마리 래트를 포함함)로 구분하였다. VEGFR/VEGF 억제제를 크레모포르 EL:에탄올=1:1의 비율을 갖는 혼합 용액에 용해시키고, 위관 영양 전에, PBS에 의해서 요구되는 농도(PBS 용액으로 약 3배로 희석됨)로 희석시켰다. 위관 영양 양은 2 mL 이하였고, 투여량은 표 14에 나타내어져 있다. 위관 영양을, 래트가 수족 증후군의 증상을 전개할 때까지, VEGFR/VEGF 억제제에 대해서 매일 반복하였다. 이때, 치료 실험을 시작하였다. 치료 실험의 과정 동안에, 래트는 낮은 빈도(위관 영양의 빈도는 표 14로서 기재되었다)로 VEGFR/VEGF 억제제와 함께 위관 영양에 연속적으로 주어졌다. 위관 영양 후에, 래트에게 산화질소 방출제 연고(약 0.05g)를 그의 좌측 발(발의 바닥 및 갭) 상에 국소 투여하는 반면에, 우측 발은 블랭크 대조로서 투여되지 않았다. 투여 후에, 래트를 고정된 실린더에 4 시간 동안 고정시켰다. 4 시간 후에, 래드를 풀어주고, 물로 닦아내어 투여된 부위 상의 잔류 약제를 제거하였고, 케이지로 되돌려 보냈다. VEGFR/VEGF 억제제의 위관 영양 빈도가 표 14에 나타내어져 있지만, 산화질소 방출제는 단지 하루에 한번 투여되었다. 투여 6 내지 10일 후에, 투여된 부위가 정상으로 회복되었거나 비투여된 부위보다 유의하게 덜 심각한 것으로 나타나는 래트의 수를 수족 증후군이 효과적으로 억제된 래트의 수로서 계수하였다.

[0288] 표 14는 다양한 소분자 VEGFR/VEGF 억제제 및 산화질소 방출제 연고의 투여의 동물 연구 및 상응하는 실험 결과를 요약한다(여기에서, 완화된 비율의 값 = 각각의 그룹에서 수족 증후군이 효과적으로 치료된 래트의 수/각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델의 수 X 100%).

[0289] 표 14: 실시예 113-124의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	VEGFR 억제제	투여량	빈도	투여 모델화의 일수	투여	투여 일수	농도	투여 발	완화율
113	소라페닙	80 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	8	니트로글리세린 연고	5	0.2%	좌측	50%
114	아파티닙	105 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	10	니트로글리세린 연고	5	0.2%	좌측	40%
115	렌바티닙	65mg/kg	모델화 동안에 하루에 두번, 및 치료가 시작된 후 하루에 한번	13	니트로글리세린 연고	6	0.2%	좌측	42.86%
116	레고라페닙	90mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	12	니트로글리세린 연고	5	0.2%	좌측	33.33%
117	수니티닙	120mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	10	니트로글리세린 연고	6	0.2%	좌측	40%
118	소라페닙	80 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	8	이소소르바이드 디니트레이트 및 이소소르바이드 모노니트레이트 혼합 연고	8	0.2%	좌측	50%
119	아파티닙	105 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	10	이소소르바이드 디니트레이트 및 이소소르바이드 모노니트레이트 혼합 연고	7	0.2%	좌측	50%

[0290]

120	소라페닙	80 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	8	니코란딜 연고	9	0.2%	좌측	40%
121	아파티닙	105 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	10	니코란딜 연고	9	0.2%	좌측	40%
122	소라페닙	80 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	8	소듐 니트로프루시드 연고	8	0.2%	좌측	20%
123	소라페닙	80 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	8	폴리머연고	10	0.2%	좌측	33.33%
124	소라페닙	80 mg/kg	모델화 동안에 하루에 한번, 및 치료가 시작된 후 2 일에 한번	8	물시도민 연고	8	0.2%	우측	16.67%

[0291]

[0292] 주: 항암 약제의 모델화 성공율은 일정하지 않다: 각각의 그룹에서의 수족 증후군의 성공율은 40% 내지 70%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 4 내지 7 마리의 수족 증후군 모델이 있고, 모델화 과정 동안에, 개별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 투여 그룹에서 발생한다. 조절율은 실험 그룹 중의 수족 증후군 모델 래트의 전체 수에 대한 비투여된 발보다 덜 심각한 투여된 발 상의 증상이 있는 래트의 수의 비율을 나타낸다.

[0293] 도 17은, 그것이 전형적인 래트의 좌측 발 상에 (산화질소 방출제 연고로) 국소 투여된 후에, 실시예 113-124의 투여 그룹에서의 전형적인 래트의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 상태를 나타낸다. 도 18은, 그것이 전형적인 래트의 우측 발 상에 (산화질소 방출제 연고로) 투여된 후에, 실시예 124의 투여 그룹에서의 전형적인 래트의 좌측 발 및 우측 발의 상태를 나타낸다.

[0294] 표 14 및 도 17 내지 도 18에서의 결과로부터, 산화질소 방출제 연고가 소분자 VEGFR 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 치료할 수 있음을 알 수 있다.

[0295] **실시예 125-142: 소분자 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 예방하는 실험에서의 다른 현재 임상적으로 이용 가능한 조사 약제 및 다른 산화질소 방출제와의 0.2% 니트로글리세린 연고의 비교**

[0296] 래트(약 200g)를 1 주일 동안 사육하였고, 그룹들(이들 각각은 10 마리 래트를 포함함)로 구분하였고, 이어서, 위관 영양 투여 실험에 가하였다. VEGFR 억제제를 크레모포르 EL:에탄올=1:1의 비율을 갖는 혼합 용액에 용해시키고, 위관 영양 전에, PBS에 의해서 요구되는 농도(PBS 용액으로 약 3배로 희석됨)로 희석시켰다. 위관 영양 양은 2 mL 이하였고, 투여량은 표 15에 나타내어져 있다. 위관 영양 후에, 래트의 좌측 발(발의 바닥 및 갭)에 니트로글리세린 연고(약 0.05g)를 국소 투여하고, 우측 발에 현재 임상적으로 이용 가능한 조사 약제 또는 다른 산화질소 방출제 연고를 동일한 방식으로 국소 투여하였다. 투여 후에, 래트를 고정된 실린더에 4 시간 동안 고정시켰다. 4 시간 후에, 래드를 풀어주고, 물로 닦아내어 투여된 부위 상의 잔류 약제를 제거하였고, 케이지로 되돌려 보냈다. VEGFR/VEGF 억제제의 위관 영양 빈도가 표 15에 나타내어져 있지만, 임상적으로 이용 가능한 다른 피부 약제 및 산화질소 방출제는 단지 한번 투여되었다. 임상적으로 이용 가능한 조사 약제(또는 다른 산화질소 방출제)가 투여된 발이 수족 증후군의 증상을 전개하거나 래트가 사망할 때까지 래트를 VEGFR/VEGF 억제제와 함께 위관 영약에 가하였다. 투여 15 내지 18일 후에, 니트로글리세린 연고가 투여된 발이 정상을 나타내거나 임상적 조사 약제(또는 다른 산화질소 방출제)가 투여된 발보다 유의하게 덜 심각한 래트의 수를 수족 증후군이 효과적으로 예방된 래트의 수로서 계수하였다.

[0297] 표 15는 0.2% 니트로글리세린 연고와 임상적 조사 약제(또는 다른 산화질소 방출제)의 실험의 조합 및 상응하는

실험 결과를 열거하고 있다(여기에서, 상대적인 완화율 컬럼에서의 값 = 좌측 발 상의 수족 증후군이 각각의 그룹에서 우측 발 상의 수족 증후군보다 유의하게 덜 심각한 래트의 수/각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델 X 100%).

[0298] 표 15: 실시예 125-142의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	VEGFR 억제제	투여량	빈도	투여		투여 일수	상대적인 완화율
				좌측	우측		
125	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	1% 실데나필	15	66.67%
126	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	1% 실데나필	15	75%
127	렌바티닙	100mg/kg	하루에 두번	0.2%니트로글리세린 연고	1% 실데나필	18	60%
128	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	1% 실데나필	18	75%
129	수니티닙	120mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	1% 실데나필	15	66.67%
130	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	요소상	15	60%
131	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	바셀린 연고	15	66.67%
132	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	우레아(Urea) 연고	15	57.14%
133	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	브리모니딘 연고	15	60%
134	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	비타민 B6 연고	15	57.14%
135	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	니코틴 연고	15	66.67%
136	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	덱사메타손 연고	15	75%
137	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	하이드로코르티손 연고	15	60%
138	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린연고	Vk1 연고 (0.1%)	15	66.67%
139	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	에리트로신 연고	15	66.67%

[0299]

140	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	트리암시놀론 연고	15	60%
141	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 이소아밀 니트라이트 연고	15	50%
142	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 트르렙토조신 연고	15	60%

[0300]

[0301] 표 15에서의 결과로부터, 1% 실데나필과 비교하여, 0.2% 니트로글리세린 연고가 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 조절할 수 있고; 현재 임상적으로 이용 가능한 다른 조사 약제(이는 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군에 거의 치료 효과가 없다)와 비교하여, 0.2% 니트로글리세린 연고가 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 억제할 수 있고; 다른 산화질소 방출제 연고와 비교하여, 0.2% 니트로글리세린 연고가 VEGFR 억제제 및/또는 VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 더 효과적으로 조절할 수 있음을 알 수 있다. 0.2% 니트로글리세린 연고의 농도는 현재 임상적으로 이용 가능한 다른 조사 약제의 농도보다 유의하게 더 낮으며, 이는 0.2% 니트로글리세린 연고가 예상치 못한 기술적 효과를 가짐을 알 수 있다.

[0302] **실시예 143: VEGFR/VEGF 억제제의 치료 효과에 대한 산화질소 방출제의 효과**

[0303] BALB/C 누드 마우스(간암 세포 HepG2 이식된 종양) 모델을 구성시켰다. 모델이 안정화된 후에, 모델 마우스를 세 개의 그룹(여기에서, 래트 종양 크기의 평균은 가능한 한 균일하게 유지된다)으로 구분하였고, 이들의 각각은 10 마리의 마우스를 포함하였고, 이들은 위관 영양 및 국소 투여 실험에 주어졌다.

[0304] VEGFR 억제제를 크레모포르 EL:에탄올=1:1의 비율을 갖는 혼합 용액에 용해시키고, 위관 영양 전에, PBS에 의해서 요구되는 농도(PBS 용액으로 약 3배로 희석됨)로 희석시켰다. 위관 영양 양은 0.2 mL 이하였고, 투여량은 하루에 30mg/kg이었다. 종양-보유 마우스에게 종양을 조절하거나 감소시키기 위해서 소라페닙을 매일 경구 투여하

였다. 한편, 부작용을 치료하기 위한 약제를 외부 투여 방식으로 마우스의 등에 외부적으로 투여하였다(특정의 그룹화는 다음과 같다: 그룹 A: 위관 영양 + 부형제와 함께 투여; 그룹 B: 위관 영양 + 0.15% 니트로글리세린 연고와 함께 투여; 그룹 C: 위관 영양 + 0.2% 니트로글리세린 연고와 함께 투여; 약 5.8 cm^2의 투여 부위를 마킹 펜으로 표지하였고, 투여 부위는 마우스의 입이 터치할 수 있는 부위 또는 종양에 밀접하게 가까운 부위일 수 없다). 매일의 위관 영양의 완료 후에, 블랭크 연고를 피부를 촉촉하게 유지시키기 위해서 모델 마우스의 등의 표지된 부위에 균일하게 국소 투여하였다. 투여 후에, 각각의 마우스를 상대적으로 독립적인 공간에서 4 시간 동안 유지시켰다. 4 시간 후에, 마우스의 등 상의 잔류 연고를 종이 타올 또는 젖은 종이 타올로 닦아냈다. 이어서, 마우스를 정상적인 활동을 위한 이전 케이지로 되돌려 보냈다. 종양 크기를 측정하였고, 2일 마다 기록하였다. 실험 20일 후에, 마우스를 절개하였다. 종양을 제거하고, 칭량하고, 기록하였다. 상이한 실험 그룹의 종양 부피의 변화를 관찰하였다.

[0305] 실험 결과가 도 19에 도시되어 있다. 도 19에서의 결과로부터, 상이한 실험 그룹에서, 연고가 투여된 그룹(그룹 B 또는 그룹 C)의 종양 부피는 실험 그룹(그룹 A)보다 작고, 그룹 C의 종양 부피는 그룹 B의 종양 부피에 가깝거나 그보다 약간 작음을 알 수 있다. 따라서, 산화질소 방출제를 함유하는 외용 연고가 종양에 대한 VEGFR/VEGF 억제제의 효과를 감소시키지 않음을 알 수 있다.

[0306] **실시예 144-145: HUVEC, HaCaT 세포에 대한 VEGF/VEGFR 억제제의 증식 독성을 완화시키는데 있어서의 산화질소 방출제의 효과 및 칼슘 채널 차단제와의 비교**

[0307] 칼슘 채널 차단제(예컨대, 딜티아젬)가 항-VEGFR 멀티-키나아제 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군(HFS)의 부작용을 치료하기 위해서 사용될 수 있음이 보고되었다(참조, U.S. 특허출원 US2016/0101114A1). 그러나, 항-VEGFR 멀티-키나아제 억제제에 의해서 유발된 HFS에 대한 딜티아젬의 치료 효과는 매우 제한된다. 본원에서, 산화질소 방출제의 효과가 칼슘 채널 차단제의 효과와 비교된다.

[0308] 배양된 HUVEC, HaCat 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고, 웰 당 5000 세포로 96-웰 플레이트에 씨딩하였다. 웰을 블랭크 대조 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹, 산화질소 방출제 용매 대조 그룹, VEGF/VEGFR 억제제 + 칼슘 채널 차단제 그룹, 및 칼슘 채널 차단제 용매 대조 그룹으로 구분하였고, 여기에서, 각각의 그룹의 각각의 웰은 기본 배지를 함유하였고, 각각의 웰에 함유된 최종 액체 부피는 약 100 μL이었다. 특별한 그룹형성 상황은 다름과 같다:

[0309] 1) 블랭크 대조 그룹: 배지를 정상적으로 대체함을 제외하고는 용액이 첨가되지 않고;

[0310] 2) VEGF/VEGFR 억제제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액(최종 농도는 표 16에 나타내어져 있고, VEGF/VEGFR 억제제 용액의 용매는 DMSO이었다);

[0311] 3) VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액과 산화질소 방출제 용액을 첨가하였고(VEGF/VEGFR 억제제와 산화질소 방출제의 최종 농도는 표 16에 나타내어져 있고, 산화질소 방출제 용액의 용매는 산화질소 방출제의 용해도에 따라서 에탄올 또는 무균수로서 선택되었고, 각각의 그룹의 최종 부피의 약간의 차이는 선택된 상응하는 용매를 첨가함으로써 보충되었다);

[0312] 4) VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹: 그룹 2)에서의 상응하는 VEGF/VEGFR 억제제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 DMSO를 첨가하였고;

[0313] 5) 산화질소 방출제 용매 대조 그룹: 그룹 3)에서의 상응하는 산화질소 방출제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 동일한 유형의 용매(예, 에탄올 또는 무균수);

[0314] 6) VEGF/VEGFR 억제제 + 칼슘 채널 차단제 그룹: VEGF/VEGFR 억제제 용액을 첨가하였고, 이어서, 칼슘 채널 차단제 용액을 첨가하였고(VEGF/VEGFR 억제제 및 실데나필의 최종 농도는 표 16에 나타내어져 있고, 실데나필 용액의 용매는 DMSO이었고, 각각의 그룹의 최종 부피의 약간의 차이는 선택된 상응하는 용매를 첨가함으로써 보충되었다);

[0315] 7) 칼슘 채널 차단제 용매 대조 그룹: 그룹 6)에서의 상응하는 칼슘 채널 차단제 용액에 함유되는 것과 동일한 부피의 DMSO를 첨가하였다.

[0316] VEGF/VEGFR 억제제 용매 그룹은 데이터 처리에 주어지지 않았고, 단지 실험의 시스템 오류를 평가하기 위한 기준으로서 작용하였다. 산화질소 방출제 용매 대조 그룹 및 칼슘 채널 차단제 용매 대조 그룹을 데이터 보정을 위해서 사용하여 결과에 대한 용매의 효과를 제거하였다.

[0317] 추가의 24 시간 동안 배양한 후에, 세포의 생존률을 Cell Counting Kit-8(CCK-8) 분석 키트(C0037, Shanghai Beyotime Biotechnology Inc., Beyotime Biotechnology)에 의해서 측정하여, 증식 독성에 대한 VEGF/VEGFR 억제제의 완화 효과 및 증식 독성에 대한 산화질소 방출제 또는 칼슘 채널 차단제의 완화 효과를 계산하였다. GraphPad Prism 6.0 Software 및 t-테스트를 사용하여 결과의 통계학적 분석을 수행하였고 그래프를 플롯팅하였다.

[0318] 표 16은 산화질소 방출제 또는 (칼슘 채널 차단제)와 함께 VEGF/VEGFR 억제제의 다양한 조합 및 상응하는 실험 결과를 열거하고 있다(여기에서, 세포 생존률 컬럼에서 열거된 데이터는 VEGF/VEGFR 억제제 그룹과 비교한 VEGF/VEGFR 억제제 + 산화질소 방출제 그룹 (또는 칼슘 채널 차단제)에 의해서 증가된 생존 가능한 세포의 백분율이었다). 도 20은 각각 HUVEC 세포에 대한 VEGF/VEGFR 억제제 소라페닙 토실레이트(V1) 및 산화질소 방출제 (또는 딜티아젬)의 투여로부터 24 시간 후의 CCK-8 방법에 의해서 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 나타낸다. 도 21은 각각 HaCat 세포에 대한 VEGF/VEGFR 억제제 소라페닙 토실레이트(V1) 및 산화질소 방출제 (또는 칼슘 채널 차단제)의 투여로부터 24 시간 후의 CCK-8 방법에 의해서 측정된 세포 증식 독성의 예시적인 결과를 나타낸다. 여기에서, 수평축은 상이한 실험 그룹 및 대조 그룹을 나타내고, 수직축은 세포 생존률을 나타낸다 (다른 실험 그룹 또는 용매 대조 그룹의 생존 백분율은 블랭크 대조 그룹의 100%의 세포 생존률을 기반으로 하여 계산된다). 여기에서, t-시험을 사용하여 통계학적으로 분석되는 바와 같이; ***은 P<0.001을 나타내고; **은 P<0.01을 나타내고; *은 VEGF/VEGFR 억제제가 단독으로 투여되는 상응하는 대조 그룹과 유의한 차이를 가짐을 나타내는 P<0.05를 나타낸다.

[0319] 표 16: 실시예 144-145의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	세포 유형	VEGFR 억제제	최종 농도	산화질소 방출제	최종 농도	세포 생존률
144	HUVEC	소라페닙 (V1)	10 μM	니트로글리세린	50 μM	25-50%까지 증가됨
				이소소르바이드 모노니트레이트	50 μM	20-40%까지 증가됨
				딜티아젬	50 μM	유의하게 감소됨
145	HaCaT	소라페닙 (V1)	10 μM	니트로글리세린	50 μM	20-40%까지 증가됨
				이소소르바이드 디니트레이트	50 μM	20-50% 까지 증가됨
				이소소르바이드 모노니트레이트	50 μM	20-50% 까지 증가됨
				딜티아젬	50 μM	유의한 증가 또는 감소 없음
				베라파밀	50 μM	
				니페디핀	50 μM	

[0320]

[0321] **실시예 146: 세포외 NO 수준에 대한 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 효과의 측정**

[0322] 세포외 NO의 농도에 대한 칼슘 채널 차단제와의 산화질소 방출제의 효과를 비교하였다. 결과는, 칼슘 채널 차단제가 세포외 NO의 농도를 증가시킬 수 없고, NO를 생성시킬 수 없어서, 칼슘 채널 차단제가 산화질소 방출제가 아님을 나타냈다.

[0323] 배양된 HaCaT 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고, 웰 당 200,000 세포로 24-웰 플레이트에 시딩하였다. 세포가 부착된 후에, 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제) 용액을 특정의 최종 농도(예, 표 17에 나타낸 바와 같음)를 달성시키기 위해서 첨가하였다. 기본 배지를 대조 그룹에 첨가하였다. 산화질소 방출제 (또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 24 시간 후에, 각각의 그룹의 50 μL의 상등물을 세포외 상등물 중의 NO 수준을 검출하기 위해서 수거하였다. NO 분석 키트(S0021, Beyotime Inc.)를 NO 수준을 검출하기 위해서 사용하였다.

[0324] 도 22는 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)에 의한 처리 24 시간 후의 외부 HaCaT 세포에서의 상대적인 세포외 NO 수준을 나타낸다. 대조 그룹은 생물학적 수분을 반영하는 기본 배지이었다. 여기에서, t-시험을 사용하여 통계학적으로 분석되는 바와 같이; ***은 P<0.001를 나타내고, **은 P<0.01를 나타내고, *은 상응하는 대조 그룹과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.05를 나타낸다.

[0325] 표 17: 실시예 146의 실험 조건 및 결과

실시예 번호.	약제	최종 농도	세포 유형 (세포외)	시점	NO 수준
146	니트로글리세린	100μM	HaCaT	24h	800-1000% 까지 증가됨
	이소소르바이드 디니트레이트	100μM			100-300% 까지 증가됨
	니페디핀	100μM			유의한 변화 없음
	딜티아젬	100μM			
	베라파밀	100μM			

[0326]

[0327] **실시예 147: HaCat 세포에서의 칼모듈린 및 칼레티쿨린의 발현 수준에 대한 산화질소 방출제의 효과의 측정**

[0328] 칼모듈린(CaM)은 중간체 칼슘-결합 메신저(intermediate calcium-binding messenger) 및 이차 메신저 Ca2+(Chin D and Means AR, 2000)의 세포내 표적이다. 칼모듈린은 칼슘 신호 전달의 일부로서 작용하고 Ca^{2+}의 결합은 칼모듈린의 활성화에 요구되고, 그에 따라서, 칼로듈린은 일반적으로는 칼슘 신호 전달 경로의 마커로서 작용한다(Berchtold and Villalobo, 2014). Ca^{2+}와의 칼레티쿨린 (CRT)의 결합은 그것을 불활성화시킨다(Michalak M, et al., 2002). 본원에서, HaCat 세포 내의 칼모듈린 및 칼레티쿨린의 발현 수준에 대한 칼슘 채널 차단제와의 산화질소 방출제의 효과를 비교하였다.

[0329] 배양된 HaCaT 세포를 소화시키고, 현탁시키고, 계수하고, 웰 당 200,000 세포로 6-웰 플레이트에 시딩하였다. 세포가 부착된 후에, 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제) 용액을 특정의 최종 농도를 달성시키기 위해서 첨가하였다. 기본 배지를 대조 그룹에 첨가하였다. 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)의 투여 24 시간 후에, RIPA 용해물(P0013C, Beyotime Biotechnology)을 사용하여 단백질을 추출하였다. 칼모듈린 및 칼레티쿨린의 발현의 변화를 웨스턴 블롯에 의해서 측정하였다.

[0330] 도 23은 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)에 의한 처리 24 시간 후에 HaCaT 세포 내의 칼모듈린(CaM)의 발현 수준을 나타낸다. 도 24는 칼모듈린의 상대적인 발현의 그레이 값 분석의 결과를 나타낸다. 도 25는 산화질소 방출제(또는 칼슘 채널 차단제)에 의한 처리 24 시간 후에 HaCaT 세포 내의 칼레티쿨린(CRT)의 발현 수준을 나타낸다. 도 26는 칼레티쿨린의 상대적인 발현의 그레이 값 분석의 결과를 나타낸다.

[0331] Image Lab을 사용하여 그레이 값 결과를 분석하였다. GraphPad Prism 6.0 Software 및 t-테스트를 사용하여 결과의 통계학적 분석을 수행하였고 그래프를 플롯팅하였다. 여기에서, t-테스트를 사용하여 통계학적으로 분석된 바와 같이; ***은 P<0.001을 나타내고, **은 P<0.01을 나타내고, *은 상응하는 대조군과 비교하여 유의한 차이를 나타내는 P<0.05를 나타낸다.

[0332] 도 23 및 24에서의 결과로부터, 대조 그룹과 비교하여, 산화질소 방출제 그룹의 칼모듈린은 유의한 변화가 없는 반면에, 칼슘 채널 차단제 딜티아젬 그룹의 칼모듈린은 유의하게 감소되었음을 알 수 있다. 도 25 및 도 26의 결과는, 대조 그룹과 비교하여, 산화질소 방출제 그룹의 칼레티쿨린이 실질적으로 감소되는 반면에, 칼슘 채널 차단제 니페디핀 그룹의 칼레티쿨린의 발현이 유의하게 감소되었음을 나타낸다. 따라서, 산화질소 방출제는 칼슘 채널 차단제에 속하지 않는다.

[0333] **실시예 148-159: 소분자 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 예방하는 실험에서의 칼슘 채널 차단제와의 0.2% 니트로글리세린 연고 및 다른 산화질소 방출제의 비교**

[0334] 래트(약 200g)를 1 주일 동안 사육하였고, 그룹들(이들 각각은 10 마리 래트를 포함함)로 구분하였고, 이어서, 위관 영양 투여 실험에 가하였다. VEGFR/VEGF 억제제를 크레모포르 EL:에탄올=1:1의 비율을 갖는 혼합 용액에 용해시키고, 위관 영양 전에, PBS에 의해서 요구되는 농도(PBS 용액으로 약 3배로 희석됨)로 희석시켰다. 위관 영양 양은 2 mL 이하였고, 투여량은 표 18에 나타내어져 있다. 위관 영양 후에, 래트의 좌측 발(발의 바닥 및 틈)에 니트로글리세린 연고(또는 다른 산화질소 방출제)(약 0.05g)를 국소 투여하였고, 우측 발에 칼슘 채널 차단제 연고 동일한 방식으로 국소 투여하였다. 투여 후에, 래트를 고정된 실린더에 4 시간 동안 고정시켰다. 4 시간 후에, 래드를 풀어주고, 물로 닦아내어 투여된 부위 상의 잔류 약제를 제거하였고, 케이지로 되돌려 보냈다. VEGFR/VEGF 억제제의 위관 영양 빈도가 표 18에 나타내어져 있다. 칼슘 채널 차단제 연고가 투여된 발이 수족 증후군의 증상을 전개하거나 래트가 사망할 때까지, 래트에게 VEGFR/VEGF 억제제와 함께 위관 영양에 가하였

다. 투여 15 내지 18일 후에, 니트로글리세린 연고(또는 다른 산화질소 방출제)가 투여된 발이 정상을 나타내거나 칼슘 채널 차단제 연고가 투여된 발보다 유의하게 덜 심각한 래트의 수를 수족 증후군이 효과적으로 예방된 래트의 수로서 계수하였다.

[0335] 표 18은 0.2% 니트로글리세린 연고(또는 다른 산화질소 방출제) 및 칼슘 채널 차단제 연고의 실험의 조합 및 상응하는 실험 결과를 열거하고 있다(여기에서, 상대적인 완화율 컬럼에서의 값 = 좌측 발 상의 수족 증후군이 각각의 그룹에서 우측 발 상의 수족 증후군보다 유의하게 덜 심각한 래트의 수/각각의 그룹에서의 수족 증후군 모델 X 100%).

[0336] 표 18: 실시예 148-159의 실험 조건 및 결과

실시예 번호	VEGFR 억제제	투여량	빈도	투여		투여 일수	상대적인 완화율
				좌측	우측		
148	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 딜티아젬 연고	15	83.33%
149	아파티닙	105mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 딜티아젬 연고	15	60%
150	펜바티닙	100mg/kg	하루에 두번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 딜티아젬 연고	18	77.78%
151	레고라페닙	90mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 딜티아젬 연고	18	75%
152	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 베라파밀 연고	15	71.43%
153	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2%니트로글리세린 연고	0.2% 니페디핀 연고	15	66.67%
154	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2% 이소소르바이드 디니트레이트 및 이소소르바이드 모노니트레이트 혼합 연고	0.2% 딜티아젬 연고	15	60%
155	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2% 이소소르바이드 디니트레이트 및 이소소르바이드 모노니트레이트 혼합 연고	0.2% 니페디핀 연고	15	66.67%
156	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2% 이소소르바이드 디니트레이트 및 이소소르바이드 모노니트레이트 혼합 연고	0.2% 니페디핀 연고	15	60%
157	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2% 니코란딜 연고	0.2% 딜티아젬 연고	15	66.67%
158	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2% 니코란딜 연고	0.2% 베라파밀 연고	15	57.14%
159	소라페닙	80 mg/kg	하루에 한번	0.2% 니코란딜 연고	0.2% 니페디핀 연고	15	62.5%

[0337]

[0338] 주: 항암 약제의 모델화 성공율은 일정하지 않다: 각각의 그룹에서의 수족 증후군의 성공율은 30% 내지 90%이고, 즉, 10 마리의 래트 중에 약 3 내지 9 마리의 성공적인 수족 증후군 모델이 있고, 모델화 과정 동안에, 개별적인 래트의 사망 또는 성공적이지 않은 모델화가 상이한 투여 그룹에서 발생한다. 조절율은 실험 그룹 중의 수족 증후군 모델 래트의 전체 수에 대한 다른 약제가 투여된 발보다 덜 심각한 니트로글리세린 연고가 투여된 발 상의 증상이 있는 래트의 수의 비율을 나타낸다.

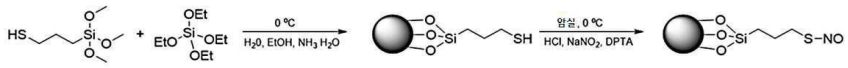
[0339] 도 27은, 그것이 전형적인 래트의 좌측 발 상에 (0.2%니트로글리세린 연고) 및 그의 우측 발 상에 (0.2% 딜티아젬 연고) 국소 투여된 후에, 실시예 148-153의 투여 그룹에서의 전형적인 래트의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 상태를 나타낸다. 도 28은, 그것이 전형적인 래트의 좌측 발 상에 (0.2% 이소소르바이드 디니트레이트 및 이소소르바이드 모노니트레이트 혼합된 연고) 및 그의 우측 발 상에 (0.2% 딜티아젬 연고) 국소 투여된 후에, 실시예 154의 투여 그룹에서의 전형적인 래트의 좌측 발, 전면, 및 우측 발의 상태를 나타낸다.

[0340] 표 18 및 도 27에서의 결과로부터, 0.2% 칼슘 채널 차단제 연고와 비교하여, 0.2% 니트로글리세린 연고 및 다른 산화질소 방출제가 VEGFR/VEGF 억제제에 의해서 유발된 수족 증후군을 효과적으로 조절할 수 있음을 알 수 있다.

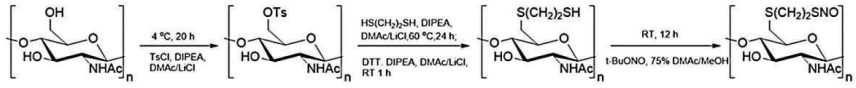
[0341] 본 출원을 수행하기 위해서 본 발명의 발명자들에 의해서 공지된 최상의 방식을 포함한 본 출원의 바람직한 구체예가 본원에서 기재되어 있다. 설명을 읽어보면, 본 기술분야에서의 통상의 기술자에게는 그러한 바람직한 구체예의 변형이 자명할 수 있다. 본 발명의 발명자들은 통상의 기술자가 그러한 변이체를 요구되는 대로 적용할 수 있는 것으로 예상하고, 본 발명의 발명자들은 본원에 특별히 기재된 것들이 아닌 방식으로 본 출원을 실행하는 것으로 의도한다. 따라서, 본 출원은 적용 가능한 법에 의해서 허용되는 바와 같은 첨부된 청구범위에서 기재된 주제의 모든 변형 및 등가물을 포함한다. 더욱이, 문맥과 반대로 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 본 출원은 상기 요소의 모든 가능한 변형들의 어떠한 조합을 포함한다.

도면

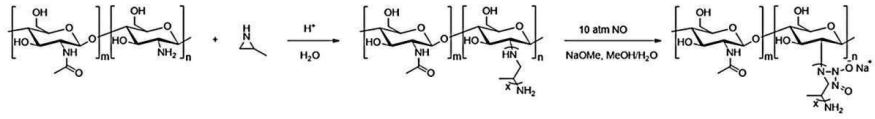
도면1



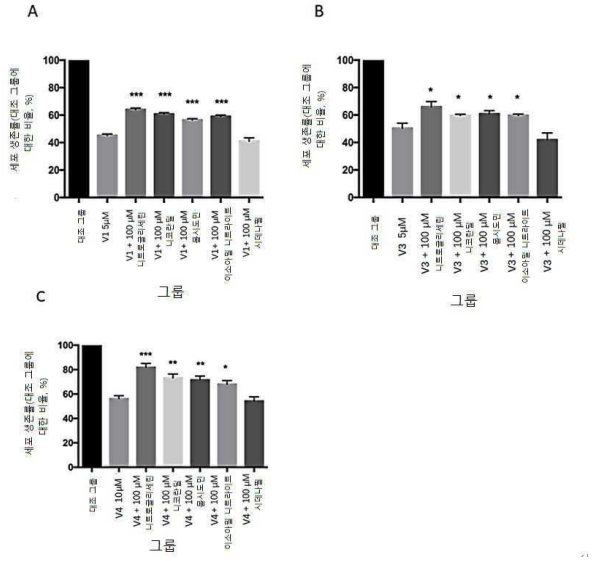
도면2



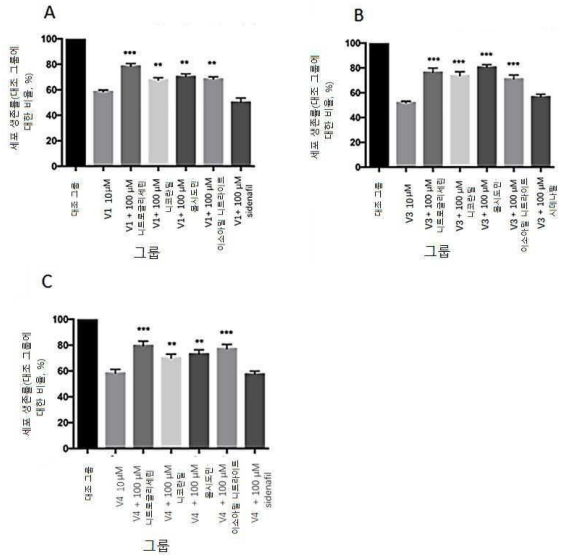
도면3



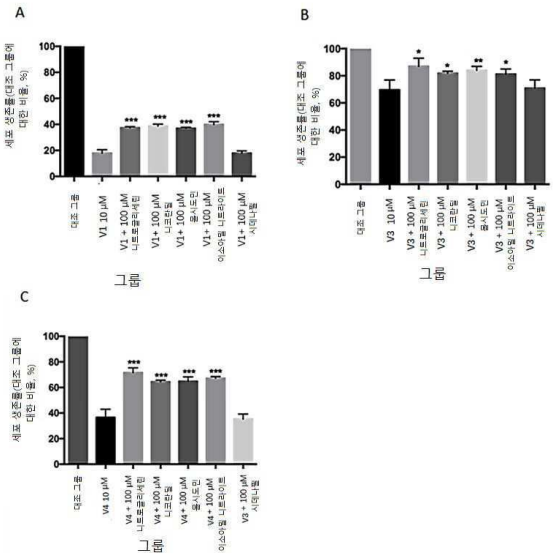
도면4



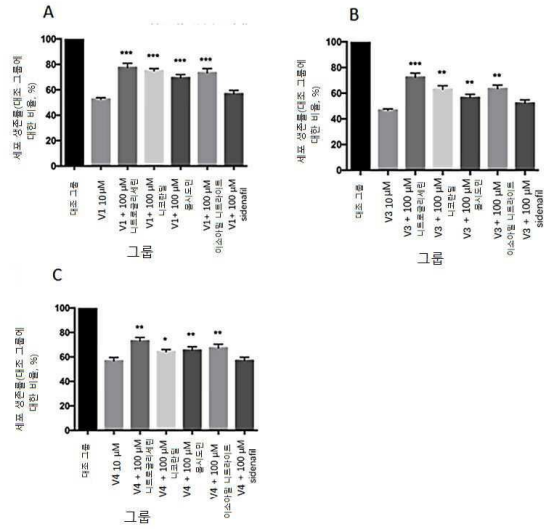
도면5



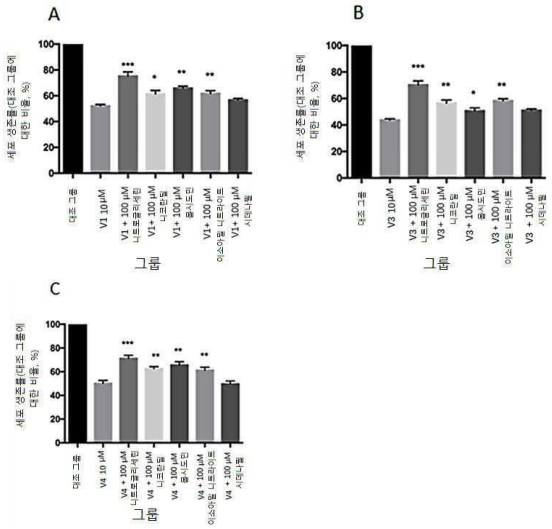
도면6



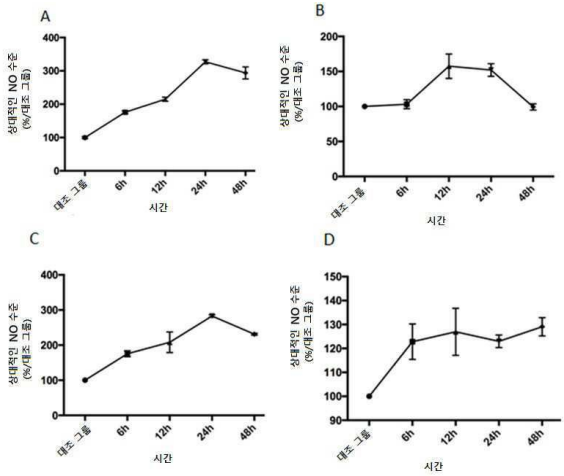
도면7


A
B
C
그룹
대조 그룹
V1 10 μM
V1 + 100 μM 니트로플루르빌린
V1 + 100 μM 니트로플루르빌린
V1 + 100 μM 플
V1 + 100 μM 리드린
V1 + 100 μM 이소아밀 니트라이트
V1 + 100 μM sildenafil
V3 10 μM
V3 + 100 μM 니트로플루르빌린
V3 + 100 μM 니트로플루르빌린
V3 + 100 μM 플
V3 + 100 μM 리드린
V3 + 100 μM 이소아밀 니트라이트
V3 + 100 μM sildenafil
V4 10 μM
V4 + 100 μM 니트로플루르빌린
V4 + 100 μM 니트로플루르빌린
V4 + 100 μM 플
V4 + 100 μM 리드린
V4 + 100 μM 이소아밀 니트라이트
V4 + 100 μM sildenafil

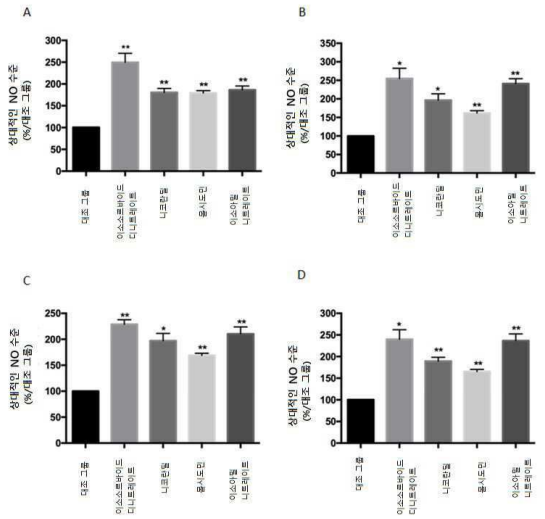
도면8


A
B
C
그룹
대조 그룹
V1 10μM
V1 + 100 μM 니트로플루르빌린
V1 + 100 μM 니트로플루르빌린
V1 + 100 μM 플
V1 + 100 μM 리드린
V1 + 100 μM 이소아밀 니트라이트
V1 + 100 μM 시타그릴
V3 10μM
V3 + 100 μM 니트로플루르빌린
V3 + 100 μM 니트로플루르빌린
V3 + 100 μM 플
V3 + 100 μM 리드린
V3 + 100 μM 이소아밀 니트라이트
V3 + 100 μM 시타그릴
V4 10 μM
V4 + 100 μM 니트로플루르빌린
V4 + 100 μM 니트로플루르빌린
V4 + 100 μM 플
V4 + 100 μM 리드린
V4 + 100 μM 이소아밀 니트라이트
V4 + 100 μM 시타그릴

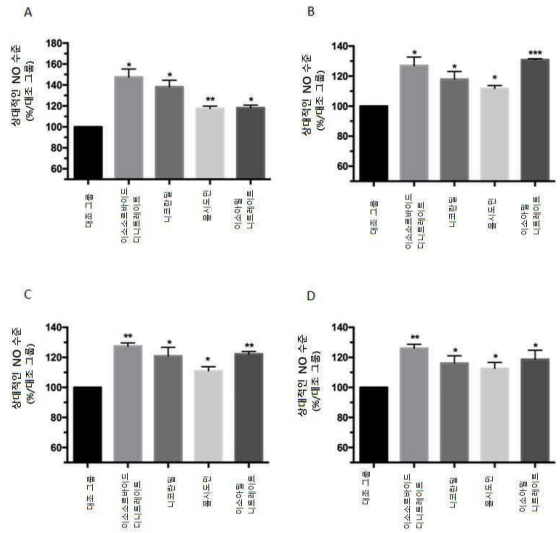
도면9


A
B
C
D
대조 그룹
6h
12h
24h
48h
시간

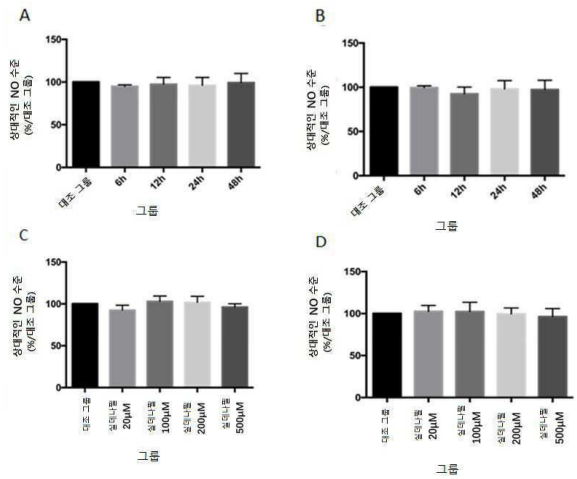
도면10



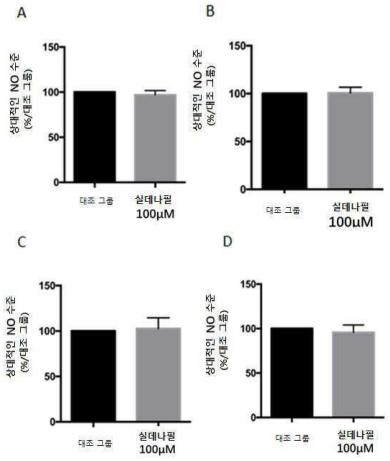
도면11



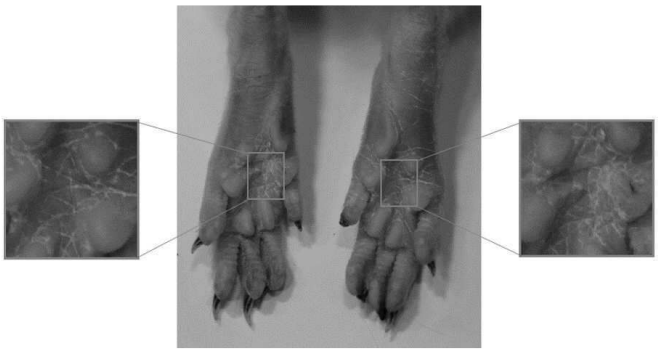
도면12



도면13



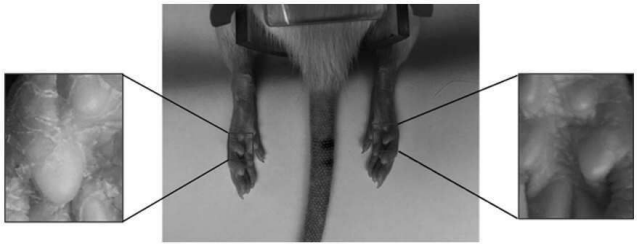
도면14



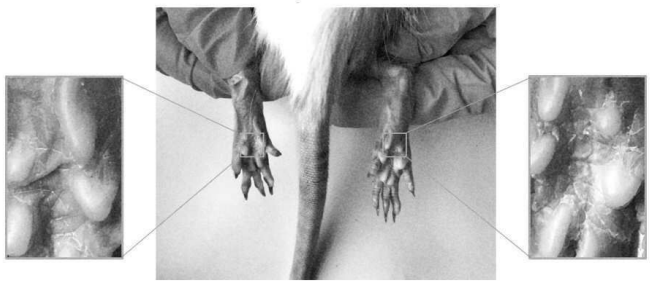
도면15



도면16



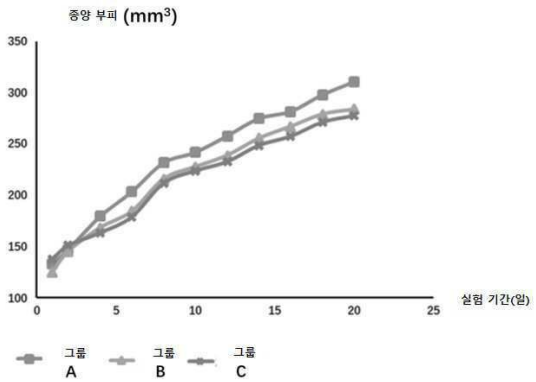
도면17



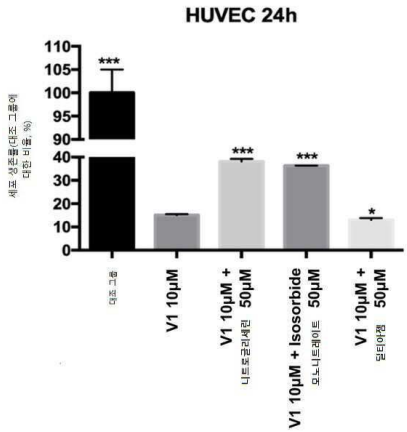
도면18



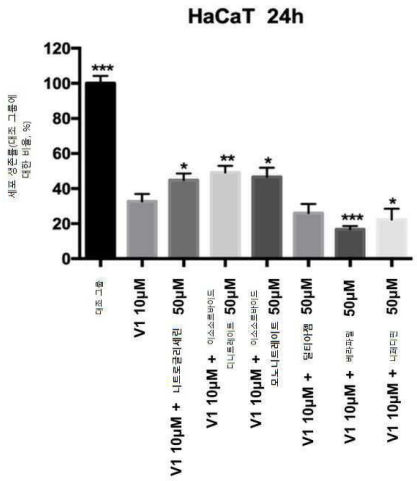
도면19



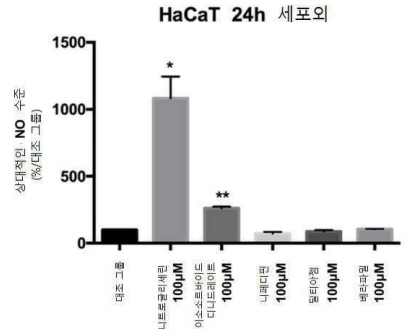
도면20



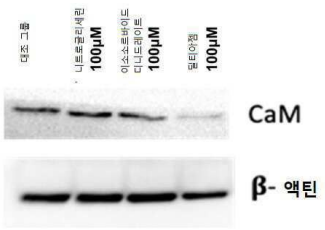
도면21



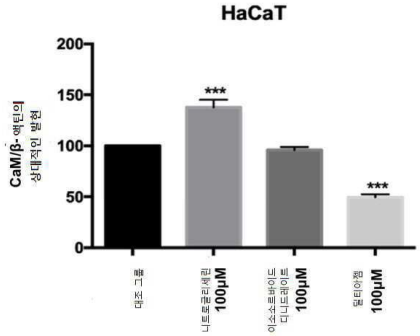
도면22



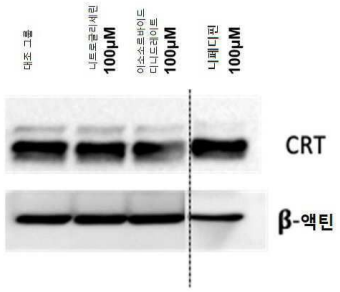
도면23



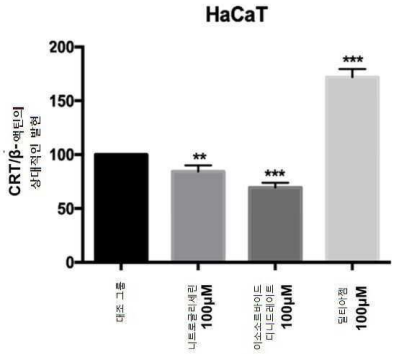
도면24



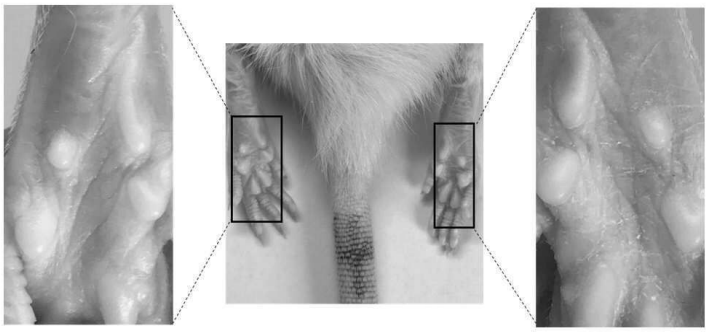
도면25



도면26



도면27



도면28

