



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0018422
(43) 공개일자 2021년02월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/122 (2006.01) A61K 31/05 (2006.01)
A61K 31/22 (2006.01) A61K 31/366 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01) A61K 31/405 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01) A61K 31/505 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01) A61P 13/12 (2006.01)
A61P 3/14 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 31/122 (2013.01)
A61K 31/05 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7000119
(22) 출원일자(국제) 2019년06월07일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년01월04일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/036139
(87) 국제공개번호 WO 2019/237054
국제공개일자 2019년12월12일
(30) 우선권주장
62/682,794 2018년06월08일 미국(US)

(71) 출원인
에피존 파마 인코포레이티드
미국 10022 뉴욕주 뉴욕 파크 애비뉴 445
(72) 발명자
툼린 제임스 에이
미국 30046 조지아주 로렌스빌 허리케인 솔스 로
드 595 스위트 100
다크 폴 엘
미국 02043 매사추세츠주 링햄 앤드류스 아일 로
드 7
루디 존 엠
미국 10022 뉴욕주 뉴욕 파크 애비뉴 445 스위트
908
(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 49 항

(54) 발명의 명칭 저항성칼슘형성의 예방 또는 치료를 위한 방법 및 조성물

(57) 요약

본 발명은 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 것을 필요로 하는 대상체에서 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하기 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 위한 방법 및 조성물을 제공하며, 보다 특히, 본 발명은 당뇨병, 만성 신장 질환, 말기 신질환 및 COPD 중 하나 이상을 갖는 대상체 또는 혈액 투석을 거치고/거치거나 항응고제 치료요법 및/또는 스타틴 치료요법을 받고 있는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하기 위해 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 사용하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

A61K 31/22 (2013.01)
A61K 31/366 (2013.01)
A61K 31/40 (2013.01)
A61K 31/405 (2013.01)
A61K 31/47 (2013.01)
A61K 31/505 (2013.01)
A61P 11/00 (2018.01)
A61P 13/12 (2018.01)
A61P 3/14 (2018.01)

명세서

청구범위

청구항 1

저항성칼슘형성을 예방하고, 이의 진행을 늦추고, 이를 저지하고/하거나 역전시키는 것을 필요로 하는 대상체에 서 저항성칼슘형성을 예방하고, 이의 진행을 늦추고, 이를 저지하고/하거나 역전시키는 방법으로서, 대상체에게 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 포함하는 유효량의 조성물을 투여함으로써 저항성칼슘형성을 예방하고, 이의 진행을 늦추고, 이를 저지하거나 역전시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 대상체가 원위 저항성칼슘형성 및/또는 중심 저항성칼슘형성을 갖는 방법.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 대상체가 당뇨병, 만성 신장 질환 또는 말기 신질환을 갖는 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 대상체가 3 기 만성 신장 질환을 갖는 방법.

청구항 5

제 3 항에 있어서, 대상체가 4 기 만성 신장 질환을 갖는 방법.

청구항 6

제 3 항에 있어서, 대상체가 5 기 만성 신장 질환을 갖는 방법.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 혈액 투석을 거치는 방법.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 비-와파린-기반 항응고제 치료요법을 받고 있는 방법.

청구항 9

제 8 항에 있어서, 항응고제 치료요법이 경구 항응고 치료요법인 방법.

청구항 10

제 8 항에 있어서, 항응고 치료요법이 인자 Xa 활성의 억제제 (예를 들어, 아픽사반, 리바록사반, 베트릭사반, 에독사반, 오타믹사반, 레탁사반, 에리박사반 또는 폰다파리녹스) 또는 인자 IIa 활성의 억제제 (예를 들어, 다 비가트란 또는 아르가트로반) 를 포함하는 것인 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD) 을 갖는 방법.

청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상체가 저항성칼슘형성-관련 진피 병변을 갖는 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 조성물의 투여가 진피 병변의 크기를 감소시키는 것인 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서, 조성물의 투여가 진피 병변의 총 표면적을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 감소시키는 것인 방법.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것이 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 대상체의 혈청 T50 값에 비해 대상체의 혈청 T50 값을 증가시키는 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지) 것인 방법.

청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 투여하는 것이 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 존재하는 양 또는 비에 비해 (a) 비타민 K 의존적 단백질의 카르복실화 대 비-카르복실화의 비를 증가시키거나 (b) 대상체의 혈장 중 비-카르복실화 비타민 K 의존적 단백질의 양을 감소시키는 것인 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서, 비타민 K-의존적 단백질이 매트릭스 Gla 단백질, 성장 중지 특이적 유전자 6 (Growth Arrest Specific Gene 6 (Gas-6)) 단백질, PIVKA-II 단백질, 오스테오칼신, 활성화된 단백질 C, 또는 활성화된 단백질 S 에서 선택되는 것인 방법.

청구항 18

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여시에 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준에 비해 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준이 증가하는 것인 방법.

청구항 19

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여시에 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 D-이량체 또는 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준에 비해 D-이량체 또는 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준이 감소하는 것인 방법.

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 투여 전에, 대상체가 요독증 산화 차단을 갖는 방법.

청구항 21

만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD) 의 하나 이상의 증상을 예방하고, 이의 진행을 늦추고/늦추거나 이를 역전시키는 것을 필요로 하는 대상체에서 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD) 의 하나 이상의 증상을 예방하고, 이의 진행을 늦추고/늦추거나 이를 역전시키는 방법으로서, 대상체에게 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여함으로써 COPD 의 하나 이상의 증상을 예방하고, 이의 진행을 늦추거나 이를 역전시키는 것을 포함하며 MK7 및/또는 MKH2-7 이 약학 조성물로 투여되는 것인 방법.

청구항 22

제 21 항에 있어서, 하나 이상의 증상이 호흡 곤란, 기침, 점액 생성, 천명 및 탄성섬유용해로 이루어지는 군에서 선택되는 것인 방법.

청구항 23

저항성칼슘형성의 예방이 필요한 대상체에서 저항성칼슘형성을 예방하거나, 저항성칼슘형성을 갖는 대상체에서의 조직 석회화의 진행을 늦추고, 이를 저지하고/하거나 역전시키는 방법으로서, 대상체에게

(a) 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7); 및

(b) 스타틴

을 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 24

제 23 항에 있어서, 스타틴이 심바스타틴, 로바스타틴, 아토르바스타틴, 프라바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 및 플루바스타틴에서 선택되는 것인 방법.

청구항 25

제 23 항 또는 제 24 항에 있어서, MK-7 및/또는 MKH2-7 이 스타틴과 동일한 투약 형태로 투여되는 것인 방법.

청구항 26

제 23 항 또는 제 24 항에 있어서, MK-7 및/또는 MKH2-7 이 스타틴과 별개의 투약 형태로 투여되는 것인 방법.

청구항 27

제 1 항 내지 제 26 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 적어도 2 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 28

제 1 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 약 5 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 29

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 약 10 mg 내지 약 50 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 30

제 1 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 10, 25, 50, 75 또는 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 31

제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 적어도 2 주 동안 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 32

제 1 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 적어도 6 주 동안 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 33

제 7 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 혈액 투석의 지속기간을 포함하는 기간 동안 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 34

제 1 항 내지 제 33 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 매일 투여되는 것인 방법.

청구항 35

제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 경구 투여되는 것인 방법.

청구항 36

제 1 항 내지 제 35 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 정제, 캡슐 또는 캡슐 내에 배치되는 것인 방법.

청구항 37

제 1 항 내지 제 36 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 MK-7 및/또는 MKH2-7 및 약학적으로 허용가능한 부형

제를 포함하는 것인 방법.

청구항 38

대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방하거나 저항성칼슘형성을 갖는 대상체에서의 조직 석회화의 진행을 늦추고, 이를 저지하고/하거나 역전시키는 방법으로서, 대상체에게 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여하는 것을 포함하며 대상체가 칼슘-기반 포스페이트 결합제 및/또는 비타민 D 유사체를 복용하는 것인 방법.

청구항 39

제 38 항에 있어서, 대상체가 부갑상선기능항진증을 갖는 방법.

청구항 40

제 38 항 또는 제 39 항에 있어서, 1 일 당 적어도 2 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 41

제 38 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 약 5 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 42

제 38 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 약 10 mg 내지 약 50 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 43

제 38 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 있어서, 1 일 당 10, 25, 50, 75 또는 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 44

제 38 항 내지 제 43 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 적어도 2 주 동안 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 45

제 38 항 내지 제 44 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 적어도 6 주 동안 대상체에게 투여되는 것인 방법.

청구항 46

제 38 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 매일 투여되는 것인 방법.

청구항 47

제 38 항 내지 제 46 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 경구 투여되는 것인 방법.

청구항 48

제 38 항 내지 제 47 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 정제, 캡슐 또는 캡슐 내에 배치되는 것인 방법.

청구항 49

제 38 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물이 MK-7 및/또는 MKH2-7 및 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 교차 참조**

[0002] 본 출원은 2018 년 6 월 8 일에 출원한 U.S. 가특허 출원 번호 62/682,794 에 대해 우선권 및 권리를 주장하며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0003] **기술분야**

[0004] 본 발명은 일반적으로 이를 필요로 하는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하기 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키기) 위한 방법 및 조성물에 관한 것이며, 보다 특히, 본 발명은 당뇨병, 만성 신장 질환, 말기 신질환이 있는 대상체, 또는 혈액 투석을 거치고/거치거나 항응고제 치료요법을 받고 있는 대상체 및/또는 과거에 스타틴 치료요법을 받았거나 현재 스타틴 치료요법을 받고 있는, 및/또는 만성 폐쇄성 폐질환 (COPD) 을 앓고 있는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하기 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키기) 위해 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 사용하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 정상적인 생리학적 조건 하에, 혈장 칼슘 및 포스페이트는 과포화 수준에 가까운 농도로 존재하며, 그 결과, 결정질 히드록시아파타이트로서 연조직 (예를 들어, 혈관) 에 침전될 것으로 예상될 수 있다. 이러한 과정이 건강한 대상체에서 발생하지 않는다는 관찰은, 병적 석회화를 차단하는 강력한 화학적 및 생물학적 수단의 존재를 시사하였다 (Price, *et al.* (2002) "Discovery of a High Molecular Weight Complex of Calcium, Phosphate, Fetuin, and Matrix-Carboxylglutamic Acid Protein in the Serum of Etidronate-treated Rats," *Journal Biol. Chem.* 277 (6): 3926-3934).

[0006] 당뇨병 및 만성 신장 질환 (CKD) 이 있는 대상체에서와 같이, 석회화의 억제가 방해되는 경우, 연조직 (예를 들어, 혈관) 의 병적 석회화가 발생할 수 있다. 당뇨병이, 요독증을 특징으로 하는 CKD 및 말기 신질환 (ESRD) 을 초래할 수 있다는 것이 이해된다. 요독증은 다른 효과 중에서도, 비타민 K 히드로퀴논 (KH2) 의 산화를 촉진하여 비타민 K 의 순환 재생을 방해할 수 있다 (도 1 참조). 또한, 와파린-기반 항응고제 치료요법 및 스타틴 치료요법을 포함하는 특정 치료가 비타민 K 조절장애를 유발하거나 기여할 수 있다. 기능적 비타민 K 의 손실은 중요한 미네랄화 조절제의 손실을 야기하여, 조직의 병적 석회화를 초래한다. 동맥 석회화의 경우, 피내 미세혈관 혈전증이 발생하는 것이 관찰되어, 소혈관 폐색 및 주변 조직 사멸이 야기된다.

[0007] 저항성칼슘형성 (저항성 칼슘형성증 (Calcific Uremic Arteriolopathy (CUA)) 으로도 불림) 은 드물지만 만성 신장 질환 (CKD) 의 치명적일 수 있는 합병증이며, 혈액 투석시 말기 신질환 (ESRD) 환자에게 주로 영향을 준다. 이 병상은 피하 미세혈관의 석회화 및 인접 피하조직 및 피부의 경색을 특징으로 한다 (Janigan *et al.* (2000) "Calcified subcutaneous arterioles with infarcts of the subcutis and skin ("calciophylaxis") in chronic renal failure," *American Journal of Kidney Diseases* 35(4):588-97; Brandenburg *et al.* (2016) "ERA-EDTA Working Group on CKD-MBD and EUCALNET. Lack of evidence does not justify neglect: how can we address unmet medical needs in calciophylaxis?" *Nephrol Dial Transplant.* 31(8):1211-9; Brandenburg *et al.* (2017) "Calcific uraemic arteriolopathy (calciophylaxis): data from a large nationwide registry," *Nephrol Dial Transplant.* 32(1):126-132).

[0008] 저항성칼슘형성의 정확한 발병률과 유병률은 알려져 있지 않다 (상기 Brandenburg *et al.* 2017). 만성 혈액 투석 환자 중에서 추정 연간 발병률은 <1% 이며 유병률은 약 4% 이다 (Angelis *et al.* (1997) "Calciophylaxis in patients on hemodialysis: A prevalence study," *Surgery* 122(6):1083-90; Brandenburg *et al.* (2014) "Calcific uraemic arteriolopathy: a rare disease with a potentially high impact on chronic kidney disease-mineral and bone disorder," *Pediatr Nephrol.* 29(12):2289-98; 상기 Brandenburg *et al.* (2016)).

[0009] 미국 신장환자 등록 시스템 (United States Renal Data System) 에 따르면, 2010 년에서 2015 년 사이에, (i) ESRD 발생 건수가 각각 115,829 에서 124,114 로 증가하였고; (ii) 보고된 ESRD 의 유병 건수가 각각 592,656 에서 703,243 로 증가하였고; (iii) 혈액 투석 건수가 각각 112,804 에서 120,972 로 증가하였고; 혈액 투석에 대한 시점 유병 건수가 414,503 에서 495,433 으로 증가하였다 (USRDS 2017). 혈액 투석 환자 중에서 저항성칼슘형성의 <1% 발병률 및 대략 4% 유병률을 가정하면, 저항성칼슘형성에 대해 추정되는 연간 발생 건수와 유병 건수는 각각 약 1200 명과 19,800 명이다. 또한, Mayo Clinic 통계에 따르면, 이러한 수는 총 미국 저항성칼슘형성 환자 집단의 약 60% 를 나타낸다. 다른 40% 는 투석받지 않은 CKD 환자로 인한 것이며 2018 년

1 월 현재로 대략 40,000 명으로 총 인구 집단이 설정되었다.

[0010] 저항성칼슘형성은 상당한 이환율 및 사망률과 연관되어 (Mazhar *et al.* (2001) "Risk factors and mortality associated with calciphylaxis in end-stage renal disease, *Kidney Int.* 60(1):324-332; Wilmer *et al.* (2002) "Emerging Concepts in Prevention, Diagnosis, and Treatment," *Semin Dial.* 15(3):172-86; Bhambri *et al.* (2008) "Calciphylaxis: a review" *Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology* 1(2):38-41; 상기 Brandenburg *et al.* (2014); 상기 Brandenburg *et al.* 2016), 1.5 년의 중간 생존을 초래한다 (Weenig *et al.* (2007) "Calciphylaxis: natural history, risk factor analysis, and outcome," *J Am Acad Dermatol* 56:569-579; 상기 Brandenburg *et al.* (2014)). 저항성칼슘형성의 발생은 혈관 병변의 발생으로 시작하여 혈관 병변에 이차적인 조직 허혈이 뒤이어지는 2 단계 과정으로 볼 수 있다. 임상 개체가 명백해질 때까지 혈관병증을 역전시키기에는 종종 너무 늦다는 것을 고려하면, 저항성칼슘형성의 예후는 일반적으로 불량하다 (상기 Wilmer *et al.* (2002)). 고통스러운 피부 궤양과 조직 괴사 (저항성칼슘형성의 특징) 는 심각하고 심지어 생명을 위협하거나 치명적인 감염으로 이어질 수 있으며, 50% 초과와 환자가 진단 1 년 내에 사망하는 (상기 Mazhar *et al.* (2001); 상기 Bhambri *et al.* (2008)), 최대 80% 의 전체 사망률에 기여한다 (상기 Bhambri *et al.* (2008); Magro *et al.* (2011) "Calciphylaxis: a review," *J Am Col Certif Wound Spec.* 2(4):66-72; 상기 Brandenburg *et al.* (2016)). 감염된 괴사성 피부 병변으로부터의 패혈증으로 인한 사망과는 별도로, 저항성칼슘형성 환자에서 치명적인 내부 장기 부전이 또한 보고되어 있다 (상기 Wilmer *et al.*, (2002)). 혈액 투석시 ESRD 환자에서, 저항성칼슘형성은 독립적으로 사망 위험을 8 배 증가시키는 것으로 발견되었으며, 전체 1 년 및 5 년 생존율은 각각 45% 와 35% 로 추정되었다 (상기 Mazhar *et al.* (2001)).

[0011] 몇몇 시험관내, 생체내 및 인간 코호트 연구는, 와파린과 같은 비타민 K 안타고니스트 (VKA) 의 사용이 심혈관 석회화를 가속화하며 (Schurgers *et al.*(2007a) "Post-translational modifications regulate matrix Gla protein function: importance for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification," *J Thromb Haemost* 5:2503-2511; Schurgers *et al.* (2007b) "Regression of warfarin-induced medial elastocalcinosis by high intake of vitamin K in rats," *Blood* 109:2823-283; Kruger *et al.* (2013) "Warfarin induces cardiovascular damage in mice," *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 33: 2618-2624), 이것이 저항성칼슘형성의 두드러지는 위험이라는 것을 시사하였다 (Hayashi *et al.* (2012) "A case-control study of calciphylaxis in Japanese end-stage renal disease patients," *Nephrol Dial Transplant* 27:1580-1584; Nigwekar *et al.* (2013) "Statin use and calcific uremic arteriolopathy: a matched case-control study," *Am J Nephrol* 37:325-332; 상기 Brandenburg *et al.*(2016)).

[0012] 혈액 투석 환자에서의 저항성칼슘형성에 대한 위험 인자를 평가하는 연구에서, 새로이 진단된 저항성칼슘형성을 갖는 1030 명의 혈액 투석 환자는 2060 명의 대조군과 매치되었다. 혈액 투석 시작과 이후의 석회화 발생 사이의 중간 지속기간은 925 일이었다 (사분위수 범위 [IQR], 273-2185 일). 다변수 조건 로지스틱 회귀 분석에서, 당뇨병; 더 높은 체질량 지수; 더 높은 수준의 혈청 칼슘, 인 및 부갑상선 호르몬; 영양 비타민 D, 시나칼세트 및 와파린 치료는 이후의 저항성칼슘형성 발생 가능성 증가와 관련이 있었다 (Nigwekar *et al.* (2016) "A Nationally Representative Study of Calcific Uremic Arteriolopathy Risk Factors," *J. Am. Soc. Nephrol.* 27(11):3421-9).

[0013] 저항성칼슘형성 환자에서 관찰되는 피부 괴사는 광범위한 소혈관 석회화 및 연조직에서의 칼슘 축적으로 인한 것으로 보인다. 연조직 석회화에 대한 메커니즘은 완전히 이해되지 않으나; 카르복실화 MGP 가 혈관 석회화의 강력한 억제제로서 중요한 역할을 하는 것으로 고려된다 (상기 Schurgers *et al.* (2007a); 상기 Brandenburg *et al.* (2016); 상기 Nigwekar *et al.* (2016)).

[0014] 비타민 K 는 비타민 K-의존적 (VKD) 단백질의 번역후 변형에 필요한 필수 효소 보조 인자이다. 다수의 VKD 단백질은 CKD 및 ESRD 환자와 임상적으로 관련이 있으며, 예를 들어 중앙 응고 인자 예컨대 인자 II, VII, IX 및 X, 및 세포간 매트릭스 단백질 예컨대 매트릭스 Gla 단백질 (Matrix Gla Protein (MGP)), 활성화된 단백질 C 및 오스테오칼신을 포함한다. 비타민 K 는, 그 중에서도, 식물에 의해 생성되는 비타민 K₁ (필로퀴논으로도 알려져 있음) 및 장내 세균에 의해 생성되는 비타민 K₂ (메나퀴논으로도 알려져 있음) 를 포함하는 지용성 비타민의 군이다. 비타민 K₂ 에서의 이소프레노이드 사슬이 4 내지 12 개의 반복 이소프레노이드 단위를 함유할 수 있다는 것이 이해된다. 예를 들어, 메나퀴논-4 (또는 MK-4) 는 4 개의 이소프레노이드 단위를 함유하는 한편, 메나퀴논-7 (또는 MK-7) 은 7 개의 이소프레노이드 단위를 함유한다.

[0015] 메나퀴논-7 (MK-7) 과 관련하여, 정상 조건 하에 MK-7 은 NADPH-의존적 리덕타아제 효소 또는 효소들 (예를 들어, 퀴논 옥시도리덕타아제) 에 의해 메나퀴놀-7 (MKH2-7) (비타민 K 히드로퀴논의 형태) 로 환원된다. MK-7 의 환원된 형태 (즉 MKH2-7) 만이 비타민 K-의존적 단백질의 카르복실화를 촉매화하는 효소 감마 글루타메이트 카르복실라아제 (GGCX) 에 대한 보조 인자로서 기능한다 (도 1 및 2 참조). 글루타메이트 잔기의 효소 카르복실화는 MKH2-7 를 2,3-에폭시드 형태로 산화시킨다 (MK-7 2,3-에폭시드). 비타민 K 사이클의 최종 단계는 비타민 K 에폭시드 리덕타아제 복합체 하위단위 1 (VKORC1, VKOR 로도 지칭) 에 의해 비타민 MK-7 2,3-에폭시드를 MK-7 로 다시 효소 환원시키는 것을 필요로 한다. 일부 조직에서, 파라로그 VKORC1L1 (VKORC1-유사-1) 은 또한 이러한 촉매 반응을 수행할 수 있다. 와파린이 MKH2-7, 비타민 K₂ 의 활성 형태의 생성 뿐만 아니라 비타민 MK-7 2,3-에폭시드로부터의 MK-7 의 재생 모두를 차단하여, 와파린 치료요법을 받는 환자들 중에서 관찰되는 더 높은 석회화 발병률을 초래할 수 있다는 것이 알려져 있다.

[0016] 지금까지의 노력에도 불구하고, 저항성칼슘형성을 예방 및/또는 치료하기 위한 새로운 임상적 접근방식이 필요하다. 특히, 당뇨병, CKD, ESRD 를 갖는 대상체, 및 항응고제 및/또는 스타틴 치료요법을 받고 있는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 및/또는 치료하기 위한 새로운 임상적 접근방식이 필요하다.

발명의 내용

[0017] 발명의 개요

[0018] 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 이, 고용량, 예를 들어 1 일 당 적어도 2 mg 의 용량에서 효과적으로 사용되어, 대상체, 예를 들어 당뇨병 및/또는 만성 신장 질환을 갖는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료할 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시킬) 수 있다는 것이 발견되었다.

[0019] 한 양태에서, 본 개시물은 이를 필요로 하는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법에 관한 것이다. 방법은 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 포함하는 조성물의 유효량을 대상체에게 투여함으로써 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 대상체는 원위 저항성칼슘형성 및/또는 중심 저항성칼슘형성을 갖는다.

[0020] 또 다른 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체에서의 만성 폐쇄성 폐 질환 (COPD) 의 하나 이상의 증상을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법을 제공하고, 상기 방법은 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 대상체에게 투여함으로써 COPD 의 하나 이상의 증상을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 것을 포함하며, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 약학 조성물로 투여된다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 증상은 호흡 곤란, 기침, 점액 생성, 천명 및 탄성섬유용해로 이루어지는 군에서 선택된다.

[0021] 또 다른 양태에서, 본 발명은 저항성칼슘형성을 갖는 대상체에서의 조직 석회화를 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법의 개시를 제공하며, 여기서 대상체는 칼슘-기반 포스페이트 결합제 및/또는 비타민 D 유사체를 복용한다. 방법은 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 부갑상선기능항진증을 갖는다.

[0022] 특정 구현예에서, 약학 조성물은 MK-7 을 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 MKH2-7 을 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 MK-7 및 MKH2-7 의 조합을 포함한다.

[0023] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, 대상체는 당뇨병 진증이거나, 당뇨병, 예를 들어 제 II 형 당뇨병을 갖는 것으로 진단되었다. 특정 구현예에서, 대상체는 만성 신장 질환, 예를 들어, 3 기, 4 기 또는 5 기의 만성 신장 질환을 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 COPD 를 갖는다. 특정 구현예에서, 대상체는 혈액 투석을 거친다. 특정 구현예에서, 대상체는 비-와파린-기반 항응고제 치료요법, 예컨대 경구 항응고 치료요법을 받는다. 특정 구현예에서, 비-와파린-기반 항응고 치료요법이 사용되는 경우, 항응고 치료요법은 인자 Xa 활성의 억제제 (예를 들어, 아픽사반, 리바록사반, 베트릭사반, 에독사반 또는 폰다파리독스) 또는 인자 IIa 활성의 억제제 (예를 들어, 다비가트란 또는 아르가트로반) 를 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 이전에 와파린-기반 항응고 치료요법에 노출된 바 있다.

[0024] 특정 구현예에서, 대상체는 저항성칼슘형성-관련 진피 병변을 갖는다. 특정 구현예에서, 조성물의 투여는 진피 병변의 크기를 감소시키고, 예를 들어, 조성물의 투여는 진피 병변의 총 표면적을 적어도 5%, 10%, 15%,

20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 감소시킨다.

[0025] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 각각의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 대상체의 혈청 T50 값에 비해 대상체의 혈청 T50 값을 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0026] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 각각의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 비에 비해 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지). 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 각각의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 양에 비해 대상체의 혈장 중 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 양을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지). 특정 구현예에서, 비타민 K-의존적 단백질은 매트릭스 Gla 단백질 (MGP), 성장 중지 특이적 유전자 6 (Growth Arrest Specific Gene 6 (Gas-6)) 단백질, PIVKA-II 단백질, 오스테오칼신, 활성화된 단백질 C, 활성화된 단백질 S, 인자 II, 인자 VII, 인자 IX 및 인자 X 에서 선택된다.

[0027] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 각각의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 농도에 비해 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준을 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0028] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 각각의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 D-이량체 또는 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 농도에 비해 D-이량체 또는 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0029] 특정 구현예에서, 조성물 투여 전에, 대상체는 요독증 산화 차단물 갖는다. 특정 구현예에서, 요독증 산화 차단물 존재는, 증가한 혈장 지질 과산화물 측정함으로써, 예를 들어 증가한 F2 이소프로스탄 (Morrow *et al.* (1990) "A series of prostaglandin F2-like compounds are produced in vivo by humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalyzed mechanism," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:9383-9387), 증가한 이소레부글란딘-혈장 단백질 부가물 (Salomon *et al.* (2000) "Isoleuglandin-protein adducts in humans: Products of free radical-induced lipid oxidation through the isoprostane pathway," *Biochim Biophys Acta* 1485:225-235), 증가한 호흡 에탄 (Handelman *et al.* (2000) *J Am. Soc. Nephrol.* 11:271A) 의 검출에 의해; 증가한 단백질 및 아미노산 산화를 측정함으로써, 예를 들어 혈장 단백질 중 티로신 잔기 산화 (Heinecke *et al.* (1999) "Detecting oxidative modification of biomolecules with isotope dilution mass spectrometry: Sensitive and quantitative assays for oxidized amino acids in proteins and tissues," *Methods Enzymol.* 300:124-144), 시스테인 또는 메티오닌 잔기 산화, 리신 산화 및 트레오닌 산화, 티올 산화 및 카르보닐 형성 (Himmelfarb *et al.* (2000) "Plasma protein thiol oxidation and carbonyl formation in chronic renal failure," *Kidney Int.* 58:2571-2578) 의 검출에 의해; 반응성 알데히드 형성을 측정함으로써, 예를 들어 글리옥살, 메틸글리옥살, 아크롤레인, 글리코알데히드 및 파라하이드록시 펜아세트알데히드 (Miyata *et al.* (1999) "Alterations in nonenzymatic biochemistry in uremia: Origin and significance of 'carbonyl stress' in long-term uremic complications. *Kidney Int.* 55:389-399) 의 검출에 의해; 증가한 반응성 카르보닐 화합물을 측정함으로써, 예를 들어 2,4-디니트로페닐히드라진과의 반응 후 히드라진 형성을 측정함으로써; 감소한 혈장 글루타티온 수준 및 글루타티온 퍼옥시다아제 기능을 측정함으로써 (Ceballos-Picot *et al.* (1996) "Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure," *Free Radic. Biol. Med.* 21:845-853); 및 증가한 산화 티올 대 환원 티올의 비를 측정함으로써 (Hultberg *et al.* (1995) "Reduced, free, and, total fractions of homocysteine and other thiol compounds in plasma from patients with renal failure," *Nephron* 70:62-67; Himmelfarb *et al.* (2002) "Plasma aminothiol oxidation in chronic renal failure," *Kidney Int* 61:705-716; Ward *et al.* "Polymorphonuclear leukocyte oxidative burst is enhanced in patients with chronic renal insufficiency," *J Am. Soc. Nephrol.* 5:1697-1702), 결

정된다.

- [0030] 특정 구현예에서, 대상체는 스타틴을 받는다. 예를 들어, 스타틴은 심바스타틴, 로바스타틴, 아토르바스타틴, 프라바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 및 플루바스타틴에서 선택될 수 있다.
- [0031] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg 내지 약 1,000 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 5 mg 내지 약 1,000 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0032] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg 내지 약 750 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 5 mg 내지 약 750 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg 내지 약 500 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 5 mg 내지 약 500 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg 내지 약 250 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 5 mg 내지 약 250 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 5 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 10 mg 내지 약 75 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것, 예를 들어 1 일 당 10, 25, 50 또는 75 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.
- [0033] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적어도 2 주, 4 주, 6 주, 8 주, 3 개월, 6 개월, 1 년 동안, 또는 무기한으로 대상체에게 투여된다. 대상체가 혈액 투석을 거치는 경우, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적어도 혈액 투석의 지속시간을 포함하는 기간 동안 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0034] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 경구 투여된다. MK-7 및/또는 MKH2-7 은 정제, 캡슐 또는 캡슐 내에 배치될 수 있다. MK-7 및/또는 MKH2-7 은 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 조성물에 존재할 수 있다.
- [0035] 상기 설명은 본 발명의 여러 양태 및 구현예를 설명한다. 특히 출원은 구체적으로, 양태 및 구현예의 모든 조합 및 순열을 고려한다. 본 발명의 이들 및 다른 양태 및 특성은 하기의 상세한 설명 및 청구범위에서 설명된다.

도면의 간단한 설명

- [0036] 본 발명의 전술한 및 다른 대상들, 특징들 및 이점들은 첨부 도면들에 예시된 바와 같이 바람직한 구현예들의 하기 설명으로부터 명백해질 것이다. 참조된 요소와 마찬가지로 상응하는 도면에서 하기와 같은 공통 특성이 식별된다:
- 도 1** 은 비타민 K 사이클, 및 비타민 K 히드로퀴논의 요독증 및 혈액 투석-유도 산화의 효과를 나타내는 개략도이고;
- 도 2** 는 감마-글루타메이트 카르복실라아제 (GGCX) 에 의한 비타민 K-의존적 단백질의 카르복실화를 나타내는 개략도이다.

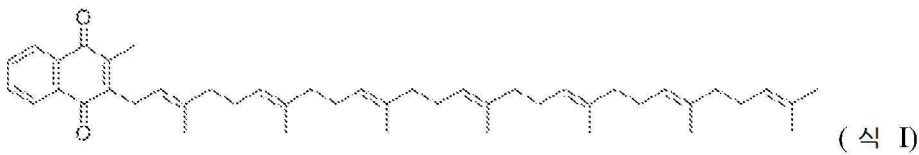
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0037] **발명의 상세한 설명**
- [0038] 본 발명은 부분적으로, 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) (MK-7 의 환원된 형태) 을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하여 대상체, 예를 들어 당뇨병 및/또는 만성 신장 질환을 갖는 대상체에서의 저항성칼슘 형성을 예방 또는 치료할 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시킬) 수 있다는 발견을 기반으로 한다.
- [0039] 이론에 얽매임이 없이, 요독소의 보유에 의해 유도된 산화 스트레스가 기능적 비타민 K₂ 의 혈관 내피를 고갈시켜, 카르복실화 MGP 및 활성화된 단백질 C 를 포함하는 특정 비타민 K-의존적 단백질의 차선적 농도를 초래한다

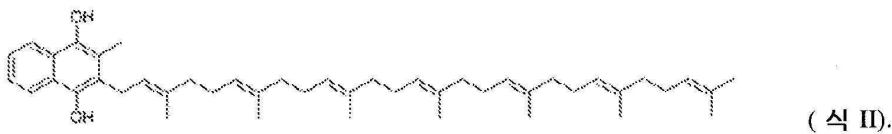
고 여겨진다. 이러한 및 다른 비타민-의존적 단백질의 칼슘 결합 능력의 이후 감소는 비정상 조직 석회화에 기여한다. 고용량의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7 은 비타민 K-의존적 단백질의 카르복실화를 증가시켜, 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하는데 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는데) 사용될 수 있으며, 여기서 MK-7 및/또는 MKH2-7 은 약학 조성물의 형태로 투여된다. MK-7 및/또는 MKH2-7 은 단일 투약 단위 (예를 들어, 단일 캡슐) 또는 다중 투약 단위 (예를 들어, 다중 캡슐) 로 투여될 수 있으며, 단, 필요량의 MK-7 및/또는 MKH2-7 이 1 일 당 투여된다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 MK-7 을 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 MKH2-7 을 포함한다. 특정 구현예에서, 약학 조성물은 MK-7 및 MKH2-7 의 조합을 포함한다.

I. 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀 (MKH2-7)

본 발명의 조성물은 비타민 K₂ 의 형태인 메나퀴논-7 (MK-7) 을 포함한다. MK-7 에 대한 IUPAC 명칭은 2-[(2E,6E,10E,14E,18E,22E)-3,7,11,15,19,23,27-헵타메틸옥타코사-2,6,10,14,18,22,26-헵타에닐]-3-메틸나프탈렌-1,4-디온과 같으며, MK-7 의 화학 구조는 식 I 로 나타낸다.



본원의 방법에 따라 사용하기 위해 MK-7 의 환원된 형태인 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 이 또한 고려된다. MKH2-7 에 대한 IUPAC 명칭은 2-[(2E,6E,10E,14E,18E,22E)-3,7,11,15,19,23,27-헵타메틸옥타코사-2,6,10,14,18,22,26-헵타에닐]-3-메틸나프탈렌-1,4-디올이며, MKH2-7 의 화학 구조는 식 II 로 나타낸다:



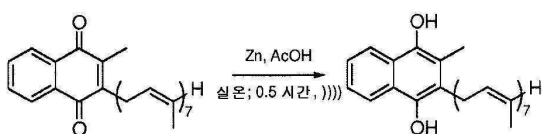
이론에 얽매임이 없이, 비타민 K 의 보충 MK-7 및/또는 MKH2-7 형태가 요독증 및/또는 투석에 의해 초래된 비타민 K 중간체의 비-특이적 산화에 대한 증가한 보호를 제공한다고 여겨진다.

MK-7 의 지방족 장쇄는 인간에 의해 합성되지 않으나 세균에 의해 대장에서 합성된다. 또한, MK-7 의 식이 공급원은 세균 발효 식품 예컨대 낫토 (바실러스 서브틸리스 (*Bacillus subtilis*) 에 의해 발효된 대두), 치즈, 사우어크라우트 (sauerkraut) 및 버터밀크 및 돼지고기, 장어, 가자미, 및 메밀빵을 포함한다. 또한, MK-7 은 영양 보충제 (예를 들어, Rejuvenation Therapeutics®; Bio-Tech™ Pharmacal MK-7 비타민 K₂, Fayetteville AR; NOW® Foods MK-7 비타민 K-2 로부터의 비타민 K₂ MK-7) 로서 이용가능하다.

그러나, 본 발명은 약학 조성물의 형태로 투여된 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 이용한다.

MK-7 은 또한, 예를 들어 Baj *et al.* (2016) "Convergent Synthesis of Menaquinone-7 (MK-7)," Org. Process Res. Dev. 20:1026-1033, WO2010/034999 및 WO2010/035000 (U.S. 특허 출원 번호 2011/0207967 로도 공개됨) 에서 기재된 바와 같이 합성적으로 제조될 수 있다.

MKH2-7 은, 예를 들어 Marchand *et al.* (1991) "Mild and Highly Selective Ultrasound-promoted Zinc/Acetic Acid Reduction of C=C Bonds in α,β -Unsaturated γ -Dicarbonyl Compounds," Synthesis 1991(3):198-200 에 의해 기재된 바와 같은 아연 및 아세트산으로의 환원에 의한 것을 포함하는, 당업계에서 공지된 종래의 환원 반응을 사용하여 MK-7 을 환원함으로써 MK-7 로부터 합성될 수 있다.



이 방법에서, MK-7 (예를 들어, 1 g, 1.54 mmol) 을 빙초산 (15 mL) 에 용해하고, 분말화 아연 (예를 들어, 0.8 g, 12.3 mmol) 을 첨가한다. 생성된 혼합물을 0.5 시간 동안 초음파 처리하거나, 완료될 때까지 반응을

환류할 수 있다. 생성된 혼합물을 여과하고 잔류물을 디클로로메탄으로 세척한다. 조합된 여과물을 진공 하 농축하여, 순수한 환원 생성물을 제조한다. 절차를 아르곤 하에 수행한다. 환원된 형태로 MKH2-7 을 안정화시키기 위해, MKH2-7 을 하나 이상의 산화방지제 예컨대 비타민 C, 비타민 C 에스테르 (예를 들어, 아스코르빌 팔미테이트), 및/또는 비타민 E 와, 예를 들어 캡슐 또는 연질 겔 내에서 혼합하는 것이 도움이 될 수 있다. 대안적으로, MKH2-7 의 전구약물이 생성될 수 있으며, 예를 들어 히드록실 기 중 하나 또는 둘 모두가 다양한 기 (예를 들어, 아세테이트) 로 에스테르화되어, 대상체에서 MKH2-7 이 생성되도록 대사되는 안정한 전구약물이 제조된다.

II. 투약 형태 및 투여

특정 구현예에서, 본 발명에 따라 유용한 조성물은 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 포함하고, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 이것으로 이루어진다. 실질적으로 순수하다는 것은 활성 성분의 조성이 적어도 95 중량%, 적어도 96 중량%, 적어도 97 중량%, 적어도 98 중량%, 적어도 99 중량% 또는 적어도 99.5 중량% MK-7 및/또는 MKH2-7 을 포함하는 것을 의미한다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 투약 형태로 투여되는 단독 비타민이다.

본원에서 사용되는 바와 같이, 어구 "유효량" 및 "치료적 유효량" 은 하나 이상의 유익하거나 원하는 결과를 달성하기에 충분한 화합물 (예를 들어, MK-7 및/또는 MKH2-7) 의 양을 의미한다. 유효량은 하나 이상의 투여, 적용 또는 투약량으로 투여될 수 있으며, 특정 제형 또는 투여 경로에 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

또 다른 구현예에서, 본 발명은 유효량의 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어 약 2 mg 내지 약 1,000 mg, 약 2 mg 내지 약 750 mg, 약 2 mg 내지 약 500 mg, 약 2 mg 내지 약 250 mg, 약 2 mg 내지 약 200 mg, 약 2 mg 내지 약 150 mg, 약 2 mg 내지 약 100 mg, 약 2 mg 내지 약 50 mg, 약 2 mg 내지 약 25 mg, 약 5 mg 내지 약 1,000 mg, 약 5 mg 내지 약 750 mg, 약 5 mg 내지 약 500 mg, 약 5 mg 내지 약 250 mg, 약 5 mg 내지 약 200 mg, 약 5 mg 내지 약 150 mg, 약 5 mg 내지 약 100 mg, 약 5 mg 내지 약 50 mg, 약 5 mg 내지 약 25 mg, 약 10 mg 내지 약 1,000 mg, 약 10 mg 내지 약 750 mg, 약 10 mg 내지 약 500 mg, 약 10 mg 내지 약 250 mg, 약 10 mg 내지 약 200 mg, 약 10 mg 내지 약 150 mg, 약 10 mg 내지 약 100 mg, 약 10 mg 내지 약 50 mg, 약 10 mg 내지 약 25 mg, 약 15 mg 내지 약 1,000 mg, 약 15 mg 내지 약 750 mg, 약 15 mg 내지 약 500 mg, 약 15 mg 내지 약 250 mg, 약 15 mg 내지 약 200 mg, 약 15 mg 내지 약 150 mg, 약 15 mg 내지 약 100 mg, 약 15 mg 내지 약 50 mg, 약 15 mg 내지 약 25 mg, 약 25 mg 내지 약 1,000 mg, 약 25 mg 내지 약 750 mg, 약 25 mg 내지 약 500 mg, 약 25 mg 내지 약 250 mg, 약 25 mg 내지 약 200 mg, 약 25 mg 내지 약 150 mg, 약 25 mg 내지 약 100 mg, 약 25 mg 내지 약 50 mg, 약 50 mg 내지 약 1,000 mg, 약 50 mg 내지 약 750 mg, 약 50 mg 내지 약 500 mg, 약 50 mg 내지 약 250 mg, 약 50 mg 내지 약 200 mg, 약 50 mg 내지 약 150 mg, 약 50 mg 내지 약 100 mg, 약 75 mg 내지 약 1,000 mg, 약 75 mg 내지 약 750 mg, 약 75 mg 내지 약 500 mg, 약 75 mg 내지 약 250 mg, 약 75 mg 내지 약 200 mg, 약 75 mg 내지 약 150 mg, 약 75 mg 내지 약 100 mg, 약 100 mg 내지 약 1,000 mg, 약 100 mg 내지 약 750 mg, 약 100 mg 내지 약 500 mg, 약 100 mg 내지 약 250 mg, 약 100 mg 내지 약 200 mg, 또는 약 100 mg 내지 약 150 mg 을 포함하는, 투약 형태, 예를 들어 경구 투약 형태를 제공한다. 특정 구현예에서, 2 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 75 mg 또는 100 mg 의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적합한 투약 형태, 예컨대 정제, 캐플렛 또는 캡슐 (예를 들어, 액체 또는 겔 캡슐) 로 대상체에게 투여된다.

특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2.5 mg 내지 약 100 mg, 약 3 mg 내지 약 100 mg, 약 4 mg 내지 약 100 mg, 또는 약 5 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 2 mg, 2.5 mg, 약 3 mg, 약 4 mg, 약 5 mg, 약 또는 7.5 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 방법은 1 일 당 약 10 mg 내지 약 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것, 예를 들어 1 일 당 10, 25, 50, 75 또는 100 mg 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.

MK-7 및/또는 MKH2-7 이 단일 투약 단위 (예를 들어, 1 캡슐) 또는 다중 (예를 들어, 2, 3 또는 4 등) 투약 단위 (예를 들어, 다중 캡슐) 로 투여될 수 있다는 것이 이해된다. 본 발명에 따라 사용하기 위한 조성물은 하나 이상의 투약 단위로서 제형화될 수 있다. 이러한 투약 단위는 1 일 1 회 또는 1 일 복수 회 (예를 들어, 1 내지 약 10 회, 1 내지 약 8 회, 1 내지 약 6 회, 1 내지 약 4 회 또는 1 내지 2 회), 또는 치료 반응을 이끌어내기에 필요한 만큼의 횟수로 투여될 수 있다. 투약 단위는 키트, 예를 들어 복수의 투약 단위 (예를 들어, 캡슐) 를 함유하는 보틀 또는 시트 당 약 1 내지 약 20 개의 투약 단위 (예를 들어, 캡슐) 의 하나 이상

의 블리스터 패키지를 포함하는 키트로 패키징될 수 있다.

- [0058] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 함유하는 약학 조성물은 드렌치 (수성 또는 비-수성 용액 또는 현탁액), 정제 (예를 들어, 협착, 설하 및/또는 전신 흡수를 표적으로 하는 것들), 볼루스, 분말, 과립, 혀에 적용하기 위한 페이스트 및/또는 국소 크림을 포함하는, 고체 또는 액체 형태의 투여를 위해 제형화될 수 있다. 사용되는 바와 같이, 용어 "약학 조성물" 은 조성물을 생체내 또는 생체외 진단 또는 치료적 사용을 위해 특히 적합하게 하는 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체 (불활성 또는 활성) 와 활성제의 조합을 의미한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용가능한 담체" 는 임의의 표준 약학 담체 및 부형제, 예컨대 인산완충식염수, 물, 유액 (예를 들어 수중유 또는 유중수 유액), 및 다양한 유형의 습윤제를 의미한다. 조성물은 또한 안정화제 및 보존제를 포함할 수 있다. 담체, 안정화제 및 아췌반트의 예에 대해서는, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA (1975) 를 참조한다.
- [0059] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 피마자 오일, 참깨 오일, 중쇄 트리글리세라이드 (MCT) 오일, 올리브 오일, 대두 오일 또는 커피 콩 오일과 같은 오일로 제형화될 수 있다. MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물과 사용하기에 적합한 부형제는 산화방지제, 생체이용률 향상제, 용해도 향상제 또는 가용화제, 안정화제 등을 포함한다.
- [0060] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 하나 이상의 산화방지제 예컨대 DL-알파 토크페롤 (비타민 E), 아스코르브산 (비타민 C) 또는 비타민 C 에스테르, 도코사헥사에논산 (DHA), 에이코사펜타에논산 (EPA), 레시틴, 시트르산, 참깨 오일, 올리브 오일, 대두 오일 및 커피 콩 오일에서 선택되는 하나 이상의 산화방지제를 포함한다.
- [0061] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 Tween® 20 (폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 모노라우레이트), Tween® 80 (폴리에틸렌 글리콜 소르비탄 모노올레이트), Kolliphor® EL (폴리옥실 피마자 오일, Cremophor EL 로도 지칭됨), Capmul® MCM (카프릴산 및 카프르산과 같은 중쇄 지방산의 모노-디글리세라이드), 레시틴, Lauroglycol™ 90 (프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (제 II 형)), 테옥시콜산, Phosal® 50 PG (프로필렌 글리콜 중 레시틴, 해바라기 모노 디글리세라이드, 아스코르빌 팔미테이트), 밀랍 및 왁스 플레이크에서 선택되는 유화제를 포함한다.
- [0062] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 Maisine® CC (글리세릴 모노리놀레이트), Gelucire® 44/14 (라우로일 폴리옥실-32 글리세라이드), Capmul® PG-8 NF (카프릴산의 프로필렌 글리콜 모노에스테르), Plurol® Oleique (폴리글리세릴-6 디올레이트), Lauroglycol™ 90 (프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (제 II 형)), Labrasol® (카프릴로카프로일 폴리옥실-8 글리세라이드), Captisol® (SBE-베타-시클로텍스트린), Labrafil® M2125CS (리놀레오일 폴리옥실-6 글리세라이드), 및 Phosal® 50 PG (프로필렌 글리콜 중 레시틴, 해바라기 모노-디글리세라이드, 아스코르빌 팔미테이트) 에서 선택되는 생체이용률 향상제를 포함한다.
- [0063] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 올레산, Kolliphor® EL (폴리옥실 피마자 오일, Cremophor EL 로도 지칭됨), 비타민 E TPGS (D- α -토크페롤 폴리에틸렌 글리콜-1000 숙시네이트), Maisine® CC (글리세릴 모노리놀레이트), Gelucire® 44/14 (라우로일 폴리옥실-32 글리세라이드), Miglyol® 812N (포화 코코넛 및 팜 커널 오일-유래 카프릴 지방산 및 글리세린의 에스테르), Plurol® Oleique (폴리글리세릴-6 디올레이트), Lauroglycol™ 90 (프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (제 II 형)), Labrasol® (카프릴로카프로일 폴리옥실-8 글리세라이드), Kolliphor® EL (폴리옥실 피마자 오일), Captisol® (SBE-베타-시클로텍스트린), Encapsin™ HPB (히드록시프로필-베타-시클로텍스트린), Peceol™ (글리세롤/글리세릴 모노올레이트 (제 40 형)), 소듐 테옥시콜레이트, 테옥시콜산, Labrafil® M2125CS (리놀레오일 폴리옥실-6 글리세라이드), 및 중쇄 모노- 및 디글리세라이드에서 선택되는 용해도 향상제 또는 가용화제를 포함한다.
- [0064] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 이소프로필 미리스테이트, Capmul® PG-8 NF (카프릴산의 프로필렌 글리콜 모노에스테르), Lauroglycol™ 90 (프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (제 II 형)), 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 및 프로필렌 글리콜로 이루어지는 군에서 선택되는 용매를 포함한다.
- [0065] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 올레산 및 DL-알파 토크페롤로 이루어지는 군에서 선택되는 안정화제를 포함한다.
- [0066] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 소듐 올레이트, Span 20 (소르비탄 라우레이트), Span® 80

(소르비탄 올레이트), 비타민 E TPGS (D- α -토코페롤 폴리메틸렌 글리콜-1000 숙시네이트), Lauroglycol™ 90 (프로필렌 글리콜 모노라우레이트 (제 II 형)), Labrasol® (카프릴로카프로일 폴리옥실-8 글리세라이트), 폴리메틸렌 글리콜 (PEG), 및 Captisol® (SBE-베타-시클로텍스트린) 로 이루어지는 군에서 선택되는 계면활성제를 포함한다.

[0067] 다른 적합한 부형제는 라우르산, 발레르산, 카프로산, 카프르산, 카프릴산, 미리스트산, 팔미트산, 팔미톨레산, 스테아르산 및 아라키드산 및 그의 에스테르에서 선택되는 하나 이상의 지방산을 포함한다.

[0068] 특정 구현예에서, 본 발명의 실시예에 유용한 조성물은 경구 전달가능하다. 본원에서 용어 "경구 전달가능한" 또는 "경구 투여" 는 본원에 기재된 조성물을 대상체에게 전달하는 임의 형태를 포함하며, 여기서 조성물은 조성물을 삼키는 지 여부에 관계없이 대상체의 입에 배치된다. 따라서 "경구 투여" 는 흡입 및 설하 뿐만 아니라 식도 투여를 포함한다.

[0069] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적어도 2 주, 예를 들어, 2, 3, 4, 5 주, 또는 그 이상 동안 대상체에게 투여된다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적어도 6 주 동안 투여된다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적어도 2 개월, 적어도 3 개월, 적어도 6 개월, 적어도 1 년, 적어도 2 년, 적어도 3 년 동안, 또는 무기한으로 대상체에게 투여된다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 적어도 대상체가 와파린이 아닌 항응고제 치료요법 또는 와파린과 유사한 작용 메커니즘을 갖는 약물 (예를 들어, 아세노쿠마롤 및 펜프로쿰온) 및/또는 스타틴 치료요법을 받는 한, 투여된다. 대상체가 혈액 투석을 거치는 경우, MK-7 및/또는 MKH2-7 은 혈액 투석의 지속기간을 포함하는 기간 동안 대상체에게 투여될 수 있다.

[0070] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 스타틴 예컨대 심바스타틴, 로바스타틴, 아토르바스타틴, 프라바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 및 플루바스타틴과 함께 투여된다. MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 스타틴과 함께, 본원에서 토의된 투약 형태와 같은 단일 투약 형태로 제형화될 수 있다. 다른 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 조성물은 스타틴과 별개의 투약 형태로 제형화된다. 스타틴, 예컨대 심바스타틴, 로바스타틴, 아토르바스타틴, 프라바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 및 플루바스타틴의 제형은 당업계에 널리 공지되어 있다.

[0071] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대상체" 및 "환자" 는 상호교환가능하게 사용되며 본 발명의 방법 및 조성물에 의해 치료될 유기체를 지칭한다. 이러한 유기체는 바람직하게는 포유동물 (예를 들어, 인간, 마우스, 랫트, 기니피그, 개, 고양이, 말, 소, 돼지 또는 원숭이, 침팬지, 개코원숭이 및 붉은털 원숭이와 같은 비-인간 영장류), 보다 바람직하게는 인간이다.

[0072] III. 방법

[0073] 특정 양태에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체에서 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 방법은 저항성칼슘형성의 진행을 예방하거나 늦추는 것에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 방법은 저항성칼슘형성의 진행을 저지하는 것에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 방법은 저항성칼슘형성을 역전시키는 것에 관한 것이다.

[0074] 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 조성물 (예를 들어, 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1 일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg) 을 투여함으로써 저항성칼슘형성을 예방하고, 진행을 늦추거나 역전시키는 것을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 원위 저항성칼슘형성 (즉, 팔다리에 영향을 미침) 및/또는 중심 저항성칼슘형성 (즉, 흉부에 영향을 미침) 을 갖는다.

[0075] 특정 양태에서, 본 발명은 저항성칼슘형성을 갖는 대상체에서 대동맥 순응도를 개선시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 1 일 당 유효량의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 이를 필요로 하는 대상체에서 말초혈관병증을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법을 제공하며, 여기서 대상체는 ESRD 또는 CKD 를 갖고, 상기 방법은 대상체에게 1 일 당 유효량의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여하는 것을 포함한다.

[0076] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하는" 은 임의의 효과, 예를 들어, 병상, 질환, 장애 등을 줄이고, 감소시키고, 조절하고, 저지하고, 이의 진행을 늦추고, 개선시키거나 없애어, 상기 병상, 질환, 장애 등의 향상을 초래하거나, 이의 증상을 개선시키는 것을 포함한다. 치료는 장애를 치유, 향상 또는 적어도 부분적으로 개

선시킬 수 있다. 특정 구현예에서, 치료하는 것은 질환을 치유하는 것이다. 용어 "장애" 는 달리 명시되지 않는 한, 용어 질환, 병상 또는 질병을 지칭하며 이와 상호교환가능하게 사용된다.

[0077] **1. 당뇨병, CKD, ESRD, 혈액 투석**

[0078] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법 및/또는 조성물로 치료하는 대상체는 당뇨병 전증이거나 당뇨병, 예를 들어, 제 I 형 또는 제 II 형 당뇨병을 갖는 것으로 진단되었다. 당뇨병은 종종 조절되지 않는 혈당과 혈압이 신장의 모세 혈관을 손상시킴으로 인해 만성 신장 질환 (CKD) 을 초래한다. CKD 는 종종 비타민 K 의 순환 재생을 억제하여 석회화를 유발할 수 있는 요독증 (혈액 중 요소) 의 발생을 초래한다. 따라서 특정 구현예에서, 대상체는 CKD 를 갖는다.

[0079] 만성 신장 질환 환자는 사구체 여과율 (GFR) 에 따라 병기로 분류된다. 1 기 환자에 대한 GFR 은 ≥ 90 mL/분/1.73 m² 이고, 2 기 환자에 대한 GFR 은 60-89 mL/분/1.73 m² 이고, 3 기 환자에 대한 GFR 은 30-59 mL/분/1.73 m² 이고, 4 기 환자에 대한 GFR 은 15-29 mL/분/1.73 m² 이고, 5 기 환자에 대한 GFR 은 <15 mL/분/1.73 m² 이다. 특정 구현예에서, 대상체는 3 기, 4 기 또는 5 기 CKD 를 갖는다. 4 기 또는 5 기 CKD 를 갖는 환자는 말기 신질환 (ESRD) 을 갖는 것으로 고려된다. 만성 신장 질환과 같은 다른 유형의 신장 질환이 또한 ESRD 로 이어질 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 ESRD 를 갖는다.

[0080] CKD 및/또는 ESRD 환자는 종종 혈액 투석이 필요하다. 그러나, 혈액 투석은 수많은 조직 단백질의 산화를 초래할 수 있으며, CKD 및 ESRD 환자 모두는 종종 정상 대조군에 비해 더 높은 백분율 (15 배) 의 카르보닐 단백질 분자를 나타낸다. 카르보닐 단백질의 백분율은 혈액 투석을 받는 환자들 사이에서 훨씬 더 높을 수 있으며, 이는 혈액 투석이 산화 부하에 기여함을 시사한다.

[0081] 상기 토의한 바와 같이, 혈액 투석에 의해 생성된 산화 부하는 MKH2-7 을 다시 MK-7 로 산화시키는 것으로 여겨진다. 혈액 투석에 의한 비타민 K 히드로퀴논 (KH2) 의 산화는 비타민 K 의존적 단백질의 감마 카르복실화를 감소시키는 GGCX 에 대한 보조 인자로서의 그의 기능을 차단하는 것으로 생각된다. 따라서, 혈액 투석의 산화 효과는 CKD 및 ESRD 집단 내에서 관찰되는 저항성칼슘형성에 기여할 수 있다. 따라서, 본원의 특정 구현예에서, 대상체는 혈액 투석을 받는다.

[0082] **2. 항응고제 치료요법**

[0083] 비타민 K 는 응고 인자 생성에 필요하다. 그러나, 특정 경구 항응고제와 같은 특정 항응고제는 혈액 응고를 방지하기 위해 비타민 K 안타고니스트로서 역할한다. 저항성칼슘형성이 비타민 K 활성이 조절되지 않을 때 발생할 수 있다는 것을 고려하면, 본원의 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 함유 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 항응고제 치료요법을 받으며 이를 필요로 하는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료함 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시킴) 으로써 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 것에 관한 것이다.

[0084] 예시적인 항응고제 치료요법은 인자 Xa 활성 또는 인자 IIa 활성의 억제제를 포함한다. 인자 Xa 활성의 억제제는 경구 치료요법 아픽사반 (예를 들어, Eliquis®, Bristol-Myers Squibb), 리바록사반 (예를 들어, Xarelto®, Janssen), 베트릭사반 (예를 들어, Bevyxxa®, Portola Pharmaceuticals), 및 에독사반 (예를 들어, Savaysa®, Daiichi Sankyo), 및 피하 치료요법 폰다파리누스 (예를 들어, Arixtra®, GlaxoSmithKline) 를 포함한다. 인자 IIa (트롬빈) 활성의 억제제는 경구 치료요법 다비가트란 (예를 들어, Pradaxa®, Boehringer Ingelheim) 및 정맥내 치료요법 아르가트로반 (예를 들어, Pfizer) 을 포함한다.

[0085] 특정 구현예에서, 대상체는 비-와파린-기반 항응고제 치료요법을 동시에 받는다. 비-와파린 기반 항응고제 치료요법은 주로 비타민 K 에서 비타민 K 히드로퀴논으로의 전환 및/또는 비타민 K 2,3-에폭시드의 비타민 K 로의 재전환을 차단하는 작용을 하지 않는 항응고제를 기반으로 할 수 있다. 예시적인 비-와파린 기반 항응고제는 인자 Xa 활성의 억제제 또는 인자 IIa 활성의 억제제로서 작용할 수 있다. 예시적인 비-와파린-기반 항응고제는 아픽사반, 리바록사반, 베트릭사반, 에독사반, 다비가트란, 폰다파리누스 및 아르가트로반을 포함한다. 특정 구현예에서, 대상체는 이전에 와파린-기반 항응고 치료요법에 노출된 바 있다.

[0086] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 방법은 이를 필요로 하는 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방하고, 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하고/하거나 역전시키는 것에 관한 것이며, 여기서 대상체는 5 기 CKD 를 가지며 경구, 비-와파린-기반 항응고제 치료요법을 거친다. 방법은 대상체에게 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여함으로써 저항성칼슘형성을

예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 것을 포함할 수 있다. 대상체는 또한 당뇨병을 가질 수 있고/있거나 혈액 투석을 거칠 수 있다.

[0087] 3.스타틴 치료요법

[0088] 스타틴 사용시 관상 동맥 석회화가 증가할 수 있음이 관찰되었다 (Saremi *et al.* (2012) "Progression of Vascular Calcification Is Increased With Statin Use in the Veterans Affairs Diabetes Trial (VADT)," *Diabetes Care* 35:2390-2392). 친유성 스타틴은 비타민 K 합성에서 역할하는 효소인 UbiA 프레닐트랜스퍼라아제 도메인 함유 단백질 (UBIAD1) 의 효소 활성을 억제하는 것으로 나타났다 (Nakagawa *et al.* (2010) "Identification of UBIAD1 as a novel human menaquinone-4 biosynthetic enzyme," *Nature* 468(7320):117-21). 또한, 시험관내 실험은 비타민 K 합성이 스타틴의 존재 하에 손상된다는 것을 입증하는 것으로 나타났다 (Chen *et al.* (2017) "Does statins promote vascular calcification in chronic kidney disease?" *Eur. J. Clin. Invest.* 47(2): 137-148).

[0089] 이론에 얽매임이 없이, HMG coA 리덕타아제 억제제가 관상 동맥 평활근에서 MK-4 생성을 직접 억제하는 것으로 고려되며, 이는 스타틴이 CKD 또는 ESRD 환자에서 심혈관 사망률을 감소시키는 것으로 나타나지 않는 이유를 설명할 수 있다. 이러한 관찰에 대한 한 가지 가능한 설명은, CKD 및 ESRD 환자가 기능적으로 비타민 K 결핍이며, 내인성 혈관 평활근 세포 비타민 K (MK-4) 생성을 차단하는 것이 단지 혈관 매질의 석회화를 악화시켜 지질 감소의 임의의 잠재적인 이득을 경감시키는 역할을 한다는 것이다. 더욱이, 석회화의 증가에 수반되는 혈관 순응도의 손실은 전반적인 심혈관 사망률에 기여할 수 있다.

[0090] 따라서, 본원에 제공된 것은 이를 필요로 하는 대상체에서의 저장성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법이며, 여기서 대상체는 스타틴을 받는다. 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 조성물을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 스타틴, 예컨대 심바스타틴 (예를 들어, Zocor®, Merck & Co., Inc.), 로바스타틴 (예를 들어, Mevacor®, Merck & Co., Inc.), 아토르바스타틴 (예를 들어, Lipitor®, Pfizer), 프라바스타틴 (예를 들어, Pravachol®, Bristol-Myers Squibb Co.), 피타바스타틴 (예를 들어, Livalo®, Kowa Pharmaceuticals America), 로수바스타틴 (예를 들어, Crestor®, AstraZeneca), 및 플루바스타틴 (예를 들어, Lescol®, Novartis Pharmaceuticals) 을 받는다.

[0091] 본원에 추가로 제공된 것은 이를 필요로 하는 대상체에서의 저장성칼슘형성을 예방 또는 치료하는 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키는) 방법이며, 여기서 방법은 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 조성물 및 스타틴, 예컨대 심바스타틴, 로바스타틴, 아토르바스타틴, 프라바스타틴, 피타바스타틴, 로수바스타틴 및 플루바스타틴을 투여하는 것을 포함한다. 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 및 스타틴은 별개의 투약 형태, 또는 동일한 투약 형태로 투여될 수 있다.

[0092] 4. 대동맥 순응도 개선, 및 말초혈관병증 저지 및/또는 역전

[0093] 특정 구현예에서, 본 개시물은 이를 필요로 하는 대상체에서 말초혈관병증을 저지 및/또는 역전시키는 방법에 관한 것이며, 여기서 대상체는 ESRD 또는 CKD 를 갖고, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여하는 것을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 개시물은 이를 필요로 하는 대상체에서 대동맥 순응도를 개선시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여하는 것을 포함한다.

[0094] 용어 "혈관병증" 은 혈관에 영향을 미치는 임의의 질환 또는 장애를 지칭한다. 이는 임의의 염증성, 대사성, 응고성, 색전성 또는 퇴행성 질환, 장애 또는 병상을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 혈관병증은 혈관 석회화, 예를 들어 내측 또는 내막 혈관 석회화이다.

[0095] 혈관 석회화의 임상적 결과 중 하나는 동맥 경직이며, 이는 혈관 순응도 (예를 들어 혈관 탄성), 예를 들어 대동맥 순응도에서의 감소를 초래한다. 따라서, 본원에 개시된 방법에 따르면, 유효량의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 의 투여는 대동맥 순응도를 개선시킬 수 있다. 대동맥 순응도의 감소는 대동맥 혈량측정법 (즉, 혈관 확장 능력) 을 사용하여 평가할 수 있다 (예를 들어, Inuma *et al.* (2012) *Hong Kong Journal of Nephrology* 14(2):48-53 참조). 대동맥 순응도의 감소는 맥파 속도 (PWV) 를 측정하여 평가할 수도 있다. PWV 는 동맥 맥박이 순환계를 통해 이동하는 속도이며 동맥 경직의 척도로서 사용된다. 더 높은 PWV 는 더 높은 동맥 경직, 및 따라서 더 낮은 혈관 순응도에 상응한다. PWV 측정 방법은 당업계에 공지되어 있으며 예를 들어 Pereira *et al.* (2015) "Novel Methods for Pulse Wave Velocity

Measurement," J. Med. Biol. Eng. 35:555-565 에 의해 기재되어 있다. 간단히 말해서, PWV 는 국지적 PWV, 예컨대 경동맥-대퇴부 PWV 또는 국소 PWV 를 측정하여 평가할 수 있다. 국지적 PWV 를 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 펄스 변환기 프로브, TY-360 압력 변환기, 심전도 (ECG) 와의 도플러 유닛 동기화, 펄스 변환기 프로브, 광혈류측정, Complior® (압전 압력 변환기), SphygmoCor®, Arteriograph®, 및 PulsePen® (안압계 및 통합 심전도 유닛) 의 사용을 포함한다. Id. 국소 PWV 를 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 자기 공명 영상화, 초음파 및 혈관 조영술을 포함한다. Id.

[0096] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 혈관의 대동맥 순응도를 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 혈관의 대동맥 순응도를 약 10%-500%, 약 50%-200%, 약 75%-125% 까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 혈관에 비해 혈관의 대동맥 순응도를 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 혈관에 비해 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 혈관의 대동맥 순응도를 약 10%-500%, 약 50%-200%, 약 75%-125% 까지 증가시킨다.

[0097] 관상 동맥 칼슘 스코어 (CAC) 는 흉부 동맥의 석회화 정도를 추정하는 데 사용될 수 있다. 높은 CAC 스코어는 석회화를 나타내며, 치료는 CAC 스코어의 장기간 증가를 저지하거나 반전시키거나 증가 속도를 늦추는 것을 목표로 한다.

[0098] 5. 만성 폐쇄성 폐 질환

[0099] 만성 폐쇄성 폐 질환은 호흡을 어렵게 만드는 진행성 폐 질환을 설명하는데 사용되는 용어이다. COPD 의 두 가지 주요 형태는 폐기종 및 만성 기관지염이다. COPD 의 증상은 호흡 곤란, 기침, 점액 생성 및 천명을 포함한다. 또한, 탄성섬유용해 (엘라스틴의 단백질 분해) 가 COPD 의 주요 특성이다. 이는 동맥 유연성의 손실에 기여하며 혈관 내막 매질의 석회화를 촉진한다. 이는 또한 COPD 환자에서의 사망률의 강력한 예측 변수인 것으로 나타나고 있다 (Rabinovich *et al.*, (2016) "Circulating desmosine levels do not predict emphysema progression but are associated with cardiovascular risk and mortality in COPD," ERJ Express doi: 10.1183/13993003.01824-2015). MGP 는 탄성섬유용해를 촉진하는 매트릭스 메탈로프로테아제의 생성을 억제하는 것으로 입증되었다. 따라서, 비타민 D 가 엘라스틴 분해 속도의 중요한 결정 인자이며 낮은 비타민 D 수치가 탄성섬유용해로부터 보호하기에 부적절한 낮은 MGP 활성을 초래하는 것으로 가설이 세워졌다 (Piscaer *et al.*, (2017) "Vitamin D deficiency: the linking pin between COPD and cardiovascular diseases?" Resp. Res. 18:189). 이론에 얽매임이 없이, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여에 의한 활성화된 (카르복실화된) MGP 의 강화된 생산은 COPD 를 갖는 대상체에서 탄성섬유용해의 유해한 효과를 억제함으로써 COPD 의 하나 이상의 증상을 예방하거나, 이의 진행을 늦추거나, 이를 역전시키는 작용을 할 수 있다.

[0100] 호흡 곤란, 기침, 점액 생성 및 천명을 포함하는 COPD 의 증상 감소는 당업계에 공지되어 있는 임의의 수단에 의해 측정될 수 있다. 시간이 지남에 따라 하나 이상의 COPD 증상의 증가 속도가 늦춰지는 것은 COPD 의 하나 이상의 증상의 진행을 늦추는 것을 나타내는 것이거나, 예컨대 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 하나 이상의 증상이 감소되는 것은 COPD 의 하나 이상의 증상의 역전을 나타내는 것이다.

[0101] 탄성섬유용해는 예를 들어 대상체에서의 혈액 이소테스모신 수준을 측정하는 것을 포함하여 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다. 시간이 지남에 따라 이소테스모신 수준의 증가 속도가 늦춰지는 것은 COPD 의 하나 이상의 증상의 진행을 늦추는 것을 나타내는 것이거나, 예컨대 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 까지 이소테스모신 수준이 감소되는 것은 COPD 의 하나 이상의 증상의 역전을 나타내는 것이다.

[0102] 6. 부갑상선기능항진증

[0103] 저항성칼슘형성의 발병률은 부분적으로, 예를 들어 부갑상선기능항진증의 치료를 위한 칼슘-기반 포스페이트 결합제 및 비타민 D 유사체의 투여로 인해 증가하는 것으로 보인다 (Goel *et al.* (2011) "Treatment of Severe Metastatic Calcification and Calciphylaxis in Dialysis Patients," International Journal of Nephrology 2011:1-5.). 따라서 한 양태에서, 본 발명은 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방하거나, 저항성칼슘형성을 갖는 대상체에서의 조직 석회화의 진행을 늦추고, 이를 저지하고/하거나 역전시키는 방법의 개시를 제공하며, 여

기서 대상체는 칼슘-기반 포스페이트 결합제 및/또는 비타민 D 유사체를 복용한다. 방법은 대상체에게 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 메나퀴논-7 (MK-7) 및/또는 메나퀴놀-7 (MKH2-7) 을 투여하는 것을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 대상체는 부갑상선기능항진증을 갖는다.

[0104] 칼슘-기반 포스페이트 결합제의 예는 칼슘 카르보네이트 및 칼슘 아세테이트를 포함한다. 비타민 D 유사체의 예는 칼시트롤, 알파칼시돌, 파리칼시톨, 맥사칼시톨 및 2-메틸렌-19-노르-(20S)-1 α ,25(OH) $_2$ D $_3$ (2MD) 을 포함한다.

[0105] **IV. 대상체에서의 저항성칼슘형성의 예방, 진행 늦춤, 저지 및/또는 역전을 결정하는데 유용한 바이오마커**

[0106] 특정 구현예에서, 바이오마커는 본원에 기재된 방법 및/또는 조성물이 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예방 또는 치료하기에 (예를 들어, 진행을 늦추고, 저지하고/하거나 역전시키기에) 효과적인지를 결정하기 위해 평가될 수 있다. 이는 예를 들어, 하기에 보다 상세히 기재한 바와 같이 대상체의 T50 시간을 측정하고 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 단백질의 비를 측정하는 것을 포함한다.

[0107] **1.1 차 석회화단백질 (Calciprotein) 입자 (CPP) 및 혈청 T50**

[0108] 정상적인 생리적 조건 하에, 병적 석회화는 1 차 석회화단백질 입자 (CPP) 에 의해 부분적으로 예방된다 (상기 Price, *et al.*). CPP 는 두 가지 석회화 억제 단백질인 페투인 A 및 매트릭스 Gla 단백질과 복합체화된 순환 칼슘 포스페이트 결정을 포함한다. (*Id.*) 매트릭스 Gla 단백질은 비타민 K-의존적 단백질이며, CPP 의 형성은 매트릭스 Matrix Gla 단백질의 감마 카르복실화에 의존적이다. (*Id.*) 전임상 연구는, 석회화단백질 시스템이 피로포스페이트, 마그네슘 및 알부민과 같은 체액 방어진이 압도될 때 병적 석회화를 예방하기 위한 대안적 수단으로서 기능한다는 것을 시사한다. 1 차 CPP 에 의한 칼슘-포스페이트 결정의 결합은 조정되고 시간-의존적인 과정으로 발생한다.

[0109] 1 차 CPP 의 2 차 CPP 로의 50% 전환에 필요한 시간 (T50) 은 과량의 칼슘 포스페이트 결정을 억제하는 혈장의 능력을 결정하기 위한 정확하고 매우 민감한 수단이다. 1 차 형태에서 2 차 형태로의 전환은 보다 연장된 결정의 형성을 포함한다. 연장은 비타법에 의해 검출될 수 있는 더 혼탁한 용액을 초래한다. 칼슘 포스페이트 부하가 많은 조건 하에, 50% 전환에 도달하는 시간은 칼슘 포스페이트 흡수를 위한 감소된 비축물로 인해 단축된다. 따라서, 짧은 T50 시간은 칼슘 포스페이트 결정을 흡수하는 능력의 감소를 시사하는 한편, 연장된 T50 시간은 높은 능력과 일치한다. 짧은 T50 시간은 종종 와파린 치료, 또는 혈액 투석 또는 요독증 산화 부하와 관련되며, 일반적으로 심근 경색, 심부전 및 모든 요인의 사망률의 위험성 증가와 관련된다.

[0110] 이론에 얽매임이 없이, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여가 T50 시간을 증가시키며 대상체의 병적 석회화 예방 능력을 개선시킨다고 여겨진다. CKD 및 ESRD 를 갖는 대상체는 비타민 K-의존적이며 1 차 CPP 의 형성에 필수적인 카르복실화 매트릭스 Gla 단백질의 감소된 수준을 나타내기 때문에, 본 개시물의 방법에 따른 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 병적 석회화 위험성을 감소시키고 저항성칼슘형성 발생을 예방할 수 있다.

[0111] 따라서, 본원에 개시된 방법의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 대상체의 혈청 T50 값에 비해 대상체의 혈청 T50 값을 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지). 대상체의 혈청 T50 값을 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들어, Pasch *et al.* (2012) "Nanoparticle-based test measures overall propensity for calcification in serum." J. Am. Soc. Nephrol. 23(10): 1744-52; Dahle *et al.*, (2016) "Serum Calcification Propensity Is a Strong and Independent Determinant of Cardiac and All-Cause Mortality in Kidney Transplant Recipients." Am. J. Transplant 16(1): 204-12; 및 Smith *et al.* (2014) "Serum Calcification Propensity Predicts All-Cause Mortality in Predialysis CKD," J. Am. Soc. Nephrol. 25(2):339-348 참조).

[0112] 특정 구현예에서, 본 개시물은 본원에서 기재된 바와 같은 장애를 갖는 대상체에서의 혈청 T50 값을 증가시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 2 mg/일 (예를 들어, 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1 일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg) 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7 투여 전 대상체의 혈청 T50 값에 비해 대상체의 혈청 T50 값을 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0113] **2.비타민 K-의존적 단백질의 카르복실화**

- [0114] 식이 결핍에도 불구하고, ESRD 환자들 중에서의 비타민 K 수준은 감소하지 않을 수 있다. 예를 들어, 172 명의 안정한 혈액 투석 환자의 연구에서, 6%의 환자만이 비타민 K의 임상적으로 유의한 결핍을 나타내었다는 것이 발견되었다 (Holden *et al.* (2010) "Vitamins K and D Status in Stages 3-5 Chronic Kidney Disease," Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 5:590-597.). 그러나, 비타민 K-의존적 단백질인 카르복실화 오스테오칼신의 수준에 대해 환자를 검사하였을 때, 대략 60%의 환자가 감소된 수준을 가졌다. (*Id.*) 다른 비타민 K-의존적 단백질, 예컨대 PIVKA-II에 대해서 유사한 결과가 나타났다 (*Id.*, 및 Pilkey *et al.* (2007) "Subclinical Vitamin K Deficiency in Hemodialysis Patients," Am. J. Kidney Dis. 49:432-439). 이러한 결과는 요독증 환자에서 총 비타민 K 수준이 정상일 수 있는 한편, 환원된 형태의 생성은 요독증의 산화적 특성에 의해 차단된다는 가설과 일치한다. (*Id.*)
- [0115] 산화제 상태가 비타민 K 사이클을 방해할 수 있다는 관찰은, 혈액 투석 동안에 생성된 산화제 부하가 ESRD 집단 내에서 관찰된 높은 비율의 연조직 (예를 들어, 혈관) 석회화에 더욱 기여한다는 것을 시사한다. 혈액 투석의 전달이 수많은 조직 단백질의 산화를 초래하며 CKD 및 ESRD 환자 모두가 정상 대조군에 비해 더 높은 백분율 (15 배)의 카르보닐 단백질을 나타낸다는 것이 알려져 있다.
- [0116] 이론에 얽매임이 없이, 요독증 및/또는 혈액 투석에 의해 생성된 산화 부하가 기능적 비타민 K 히드로퀴논 (KH2)을 비기능적 천연 비타민으로 산화시키는 것으로 여겨진다. KH2의 산화는 비타민 K-의존적 단백질의 감마 카르복실화를 감소시키는 GGCX에 대한 보조 인자로서 기능하는 그의 능력을 차단한다. 따라서, MK-7 및/또는 MKH2-7을 당뇨병, CKD 및/또는 ESRD를 갖는 대상체 및/또는 혈액 투석을 거치는 대상체에게 투여하는 것은, 이들 대상체에서의 하나 이상의 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 증가시킬 수 있고/시킬 수 있거나 이들 대상체에서의 하나 이상의 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 양을 감소시킬 수 있다.
- [0117] 따라서 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7투여 전 비에 비해 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%까지). 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여는 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 약 10% 내지 500% 이상, 약 30% 내지 약 500%, 약 30% 내지 약 200%, 약 30% 내지 약 100%까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여는 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 약 50% 내지 약 500%, 약 50% 내지 약 200%, 약 50% 내지 약 100%까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여는 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 약 70% 내지 약 500%, 약 70% 내지 약 200%, 약 70% 내지 약 100%까지 증가시킨다.
- [0118] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7투여 전 양에 비해 대상체의 혈장 중 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 양을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%까지). 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여는 대상체의 혈장 중 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 양을 약 5% 내지 약 100%, 약 5% 내지 약 80%, 약 5% 내지 약 30%, 약 20% 내지 약 100%, 또는 약 20% 내지 약 100%까지 감소시킨다.
- [0119] 특정 구현예에서, 본 개시물은 본원에 기재된 바와 같은 장애를 갖는 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 증가시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 2 mg/일 (예를 들어, 1일 당 적어도 2 mg의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg)의 MK-7 및/또는 MKH2-7을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, MK-7 및/또는 MKH2-7을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여 전 비에 비해 대상체의 혈장 중 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비를 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%까지).
- [0120] 특정 구현예에서, 본 개시물은 본원에 기재된 바와 같은 장애를 갖는 대상체의 혈장 중 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 양을 감소시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 2 mg/일 (예를 들어, 1일 당 적어도 2 mg의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg)의

MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 양에 비해 대상체의 혈장 중 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 양을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0121] 특정 구현예에서, 비타민 K-의존적 단백질은 매트릭스 Gla 단백질 (MGP), 성장 중지 특이적 유전자 6 (Gas-6) 단백질, PIVKA-II 단백질, 오스테오칼신, 활성화된 단백질 C, 또는 활성화된 단백질 S 에서 선택된다. MGP, Gas-6, PIVKA-II, 오스테오칼신, 활성화된 단백질 C 및 활성화된 단백질 S 의 카르복실화 형태는 당업계에 공지되어 있는 바와 같은 샌드위치 어세이를 사용하여 측정될 수 있다 (예를 들어, 다음을 참조한다: 상기 Nigwekar *et al.* (2017) (MGP 검출); Gla-유형 오스테오칼신 (Gla-OC) ELISA 키트 (Takara, Mountain View, CA); STA-Stacloct Protein C (Stago, Asnieres sur Seine, France); 및 REAADS Protein S Antigen, 카탈로그 번호 K036-001, Diapharma Group, West Chester, OH). MK-7 을 투여한 후 대상체에서의 카르복실화 비타민 K-의존적 단백질 대 비-카르복실화 비타민 K-의존적 단백질의 비의 증가는 GGCX 카르복실화 시스템의 성공적인 구제를 나타내는 것이다. 따라서, 효과적인 MK-7 및/또는 MKH2-7 투여는 대상체에서의 카르복실화 단백질 대 비-카르복실화 단백질의 비 증가를 초래할 수 있다.

[0122] PIVKA-II 는, 데스-감마 카르복시프로트롬빈 (DCP) 으로도 알려져 있는, 카르복실화되지 않은 프로트롬빈의 비정상적 형태이다. 따라서, PIVKA-II 의 상승한 수준은 보다 불량한 비타민 K 상황에 상응한다. 비타민 K 상황의 바이오마커로서, PIVKA-II 는 신장 기능 및 지질 프로파일과는 독립적이라는 이점을 갖는다 (Elliot *et al.* (2014) "Assessment of potential biomarkers of subclinical vitamin K deficiency in patients with end-stage kidney disease," Can. J. Kidney Health Dis. 1:13). 본원의 방법에 따르면, 대상체에서의 PIVKA-II 를 측정하는 것은 GGCX 카르복실화 시스템의 성공적인 구제를 나타내는 것이다. PIVKA-II 혈장 수준은 당업계에 공지되어 있는 임의의 방법에 의해, 예를 들어 ELISA (Diagnostica Stage, Parsippany, NJ) 를 사용하여 측정될 수 있다 (또한, 예를 들어, Dituri *et al.* (2012) "PIVKA-II plasma levels as markers of subclinical vitamin K deficiency in term infants," J. Maternal-Fetal & Neonatal Medicine 25(9):1660-1663 참조).

[0123] MGP 는 그의 활성이 비타민 K-의존적 γ -글루타메이트 카르복실화에 의존적인, 동맥벽 및 기타 연조직의 강력한 석회화 억제제인 것으로 여겨진다 (상기 Schurgers *et al.* (2007a); Westenfeld *et al.* (2012) "Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial," Am. J. Kidney Dis. 59(2):186-195; Schurgers *et al.* (2013) "Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization," Trends Mol Med 2013;19(4):217-26; Marles *et al.* (2017) "US Pharmacopeial Convention safety evaluation of menaquinone-7, a form of vitamin K," Nutr. Rev. 75(7):553-578). 비타민 K 결핍의 결과로서 형성된 비카르복실화 MGP 는 심혈관 질환과 관련된다. 최근의 연구는 혈액 투석 환자에서의 불량한 비타민 K 상황을 시사한다 (상기 Westenfeld *et al.* (2012)). MGP 의 순환 불활성화 형태 (dp-ucMGP) 는 CKD 를 갖는 환자에서 점진적으로 증가하고 (상기 Schurgers *et al.* (2010)) 비타민 K 상황을 예측하는 것이며 혈액 투석시 환자에서의 혈관 석회화와 상관관계가 있는 것으로 나타났다 (상기 Delanaye *et al.* (2014)). 따라서 혈장 dp-ucMGP 는 CKD 에 있어서 혈관 석회화에 대한 대리 마커로서 제시되어 있다 (상기 Schurgers *et al.* (2010)). 또한, 낮은 수준의 순환 데스포스포-카르복실화 MGP (dp-cMGP) 는 혈액 투석 환자에서의 사망률의 예측 변수로서 제시되었다 (Schlieper *et al.* (2011) "Circulating nonphosphorylated carboxylated matrix gla protein predicts survival in ESRD," J. Am. Soc. Nephrol. 22(2):387-95).

[0124] 오스테오칼신은 성숙한 골아세포에 의해 합성되는 비-콜라겐 뼈 매트릭스 단백질이며, 뼈 형성 및 뼈 무기질화의 재-겔화에 관여한다 (상기 Elliott *et al.* 2014; 상기 Marles *et al.* 2017). 비-카르복실화된 오스테오칼신의 비율은 뼈에서의 비타민 K 상황에 대한 민감한 마커이며, 무증상 비타민 K 결핍은 20% 를 넘는 비-카르복실화된 오스테오칼신의 비율 증가에 의해 정의된다 (상기 Elliott *et al.* 2014). 100-200 $\mu\text{g/d}$ 용량으로 4 내지 12 주 동안 MK-7 을 보충하는 것은, 카르복실화 오스테오칼신 대 저카르복실화 오스테오칼신의 비율 유의하고 용량-의존적 방식으로 증가시키는 것으로 나타났다 (Inaba *et al.* (2015), "Low-Dose Daily Intake of Vitamin K(2) (Menaquinone-7) Improves Osteocalcin γ -Carboxylation: A Double-Blind, Randomized Controlled Trials," J. Nutr. Sci. Vitaminol. 61(6):471-80).

[0125] 비타민 K-의존적 γ -카르복시글루타메이트 단백질은 간에서 합성되며, 응혈원 인자 (II, VII, IX 및 X) 및 항응고제 단백질 (C 및 S) 모두의 균형을 통해 정상적인 혈액 응고를 유지하는 것을 돕는다 (Schurgers *et al.*

(2007c) "Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7," Blood 109(8):3279-83; 상기 Marles *et al.* (2017)). 단백질 C 는 보조인자 단백질 S 의 존재 하에 인자 V 및 VIII 의 응혈원 활성을 중화시킴으로써 응고 과정을 조절한다 (Marlar *et al.* (2017) "Assessment of Hereditary Thrombophilia: Performance of Protein C (PC) Testing," Methods Mol. Biol. 1646:145-151). 응고항진상태, 예컨대 단백질 C 및/또는 단백질 S 결핍이 저항성칼슘형성을 갖는 환자에서 보고된 바 있으며, 저항성칼슘형성 발생 가능성을 증가시키는 인자로서 제시되었다 (상기 Wilmer *et al.* (2002); Nigwekar *et al.* (2008) "Calciophylaxis from nonuremic causes: a systematic review," Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 3(4):1139-43). 성인 혈액 투석 환자의 기능적 비타민 K 결핍에 대한 비타민 K2 보충의 효과를 평가하는 무작위 연구에서, 용혈 환자 (N=53) 는 건강한 연령 일치 대조군 (N=50) 과 비교하여 4.5 배 더 높은 dp-ucMGP 및 8.4 배 더 높은 비카르복실화 오스테오칼신 수준을 가졌다. PIVKA-II 수준은 49 명의 혈액 투석 환자에서 상승하였다. 비타민 K2 보충은 순환 dp-ucMGP, 비카르복실화 오스테오칼신, 및 PIVKA-II 수준에 있어서 용량- 및 시간-의존적 감소를 유도하였다. dp-ucMGP 수준 감소의 반응률은, 각각 135 µg 및 360 µg 의 메나퀴논-7 을 받는 군에서 77% 및 93% 였다 (상기 Westenfeld *et al.* (2012)).

[0126] 3. 석회화에 대한 기타 바이오마커의 수준

[0127] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 농도에 비해 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준을 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지). 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 농도에 비해 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준을 약 10-50%, 약 50-100%, 약 100-200%, 또는 약 200-500% 까지 증가시킨다. 오스테오프로테게린 및 페투인 A 는 조직 석회화의 억제제이다. 따라서, 오스테오프로테게린 및/또는 페투인 A 의 수준 증가는, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여가 성공적으로 저항성칼슘형성을 예방하고, 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하고/하거나 역전시킨다는 것을 나타내는 것이다.

[0128] 특정 구현예에서, 본 개시물은 본원에 기재된 바와 같은 장애를 갖는 대상체에서의 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준을 증가시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 2 mg/일 (예를 들어, 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1 일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg) 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 농도에 비해 오스테오프로테게린 또는 페투인 A 의 혈장 수준을 증가시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0129] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 D-이량체의 혈장 농도에 비해 D-이량체의 혈장 수준을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지). 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 D-이량체의 혈장 농도에 비해 D-이량체의 혈장 수준을 약 10-50%, 약 50-100%, 또는 약 10-100% 까지 감소시킨다. D-이량체는 비타민 D 대사의 기능적 상황을 나타내는 것이다. 단백질 C 및 단백질 S 는 트롬빈 및 피브리노의 생성을 방지하고, 기능적 비타민 K 의 부족은 단백질 C 및 단백질 S 의 손실에 기여하며, 이는 피브린의 분해 및 D-이량체의 형성을 통해 미세혈전증을 유발할 수 있다. 따라서 D-이량체의 존재는 무증상 혈전증의 지표이다. 그에 따라, D-이량체의 혈장 수준 감소는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여가 GGX 카르복실화 시스템을 성공적으로 회복시키고 있음을 나타낼 수 있으며, 이는 저항성칼슘형성을 예방하고, 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하고/하거나 역전시킬 수 있다.

[0130] 특정 구현예에서, 본 개시물은 본원에 기재된 바와 같은 장애를 갖는 대상체에서의 D-이량체의 혈장 수준을 감소시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 2 mg/일 (예를 들어, 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1 일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg) 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 D-이량체의 혈장 농도에 비해 D-이량체의 혈장 수준을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0131] 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 고감도

C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 농도에 비해 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지). 임의의 상기 양태의 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 농도에 비해 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준을 약 10-50%, 약 50-100%, 또는 약 10-100% 까지 감소시킨다. Hs-CRP 는 진행중인 염증에 대한 바이오마커이다. 염증의 존재는 저항성칼슘형성을 향상시킨다. 따라서, hs-CRP 의 혈장 수준 감소는 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여가 성공적으로 저항성칼슘형성을 예방하고, 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하고/하거나 역전시킨다는 것을 나타내는 것일 수 있다.

[0132] 특정 구현예에서, 본 개시물은 본원에 기재된 바와 같은 장애를 갖는 대상체에서의 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준을 감소시키는 방법에 관한 것이며, 상기 방법은 적어도 2 mg/일 (예를 들어, 1 일 당 적어도 2 mg 의 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7, 예를 들어, 1 일 당 10, 15, 25, 50 또는 75 mg) 의 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 대상체에게 투여하는 것은 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 전 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 농도에 비해 고감도 C 반응성 단백질 (hs-CRP) 의 혈장 수준을 감소시킨다 (예를 들어, 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지).

[0133] V. 병변

[0134] 본원에 기재된 방법 및 조성물은 조직 병변, 예를 들어 진피 병변 또는 혈관 병변의 진행을 저지하거나 중단시키고, 또는 이를 역전시키는데 유용할 수 있다.

[0135] 1.진피 병변

[0136] 비타민 K 사이클의 최종 단계는 비타민 K 에폭시드 리덕타아제 복합체 하위단위 1 (VKORC1, VKOR 로도 지칭) 에 의해 비타민 K 2,3-에폭시드를 MK-7 로 다시 효소 환원시키는 것을 필요로 한다 (도 1 참조). 일부 조직에서, 과라로그 VKORC1L1 (VKORC1-유사-1) 이 또한 상기 반응을 수행할 수 있다. 비타민 K-의존적 혈관 석회화가 진피에서 더 흔하다는 임상적 관찰과 일치하게, 피부는 VKOR-C1 의 가장 낮은 발현을 나타낸다. VKOR-C1 의 낮은 피부 발현은 또한 혈액 투석과 같이 비타민 K 생성을 차단하는 임의의 상태 또는 절차가 피부를 병적 석회화에 취약하게 만든다는 것을 시사한다.

[0137] 따라서, 본원에 기재된 방법 및 조성물은 부분적으로 진피 병변의 크기를 감소시키는 것에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 대상체는 진피 병변을 가지며, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변의 크기를 감소시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변의 총 표면적을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 감소시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변의 총 부피를 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% (즉, 진피 병변이 제거됨) 까지 감소시킨다.

[0138] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변의 총 표면적 또는 부피를 약 30% 내지 약 100%, 약 30% 내지 약 90%, 약 30% 내지 약 80%, 약 30% 내지 약 70%, 또는 약 30% 내지 약 60% 까지 감소시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변의 총 표면적 또는 부피를 약 50% 내지 약 100%, 약 50% 내지 약 90%, 약 50% 내지 약 80%, 약 50% 내지 약 70%, 또는 약 50% 내지 약 60% 까지 감소시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변의 총 표면적 또는 부피를 약 70% 내지 약 100%, 약 70% 내지 약 90%, 약 70% 내지 약 80% 까지 감소시킨다.

[0139] 하나 이상의 피부 병변의 표면적 또는 부피는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 측정될 수 있다. 표면적을 측정할 때, 여러 병변이 존재하는 경우 평균 총 표면적을 계산할 수 있다. 병변의 부피는 디지털 영상화로 구성되는 병변의 3 차원 모델로부터 계산할 수 있다.

[0140] 또한 진피 병변의 외형 징후가 발생하기 전에, 진피 병변의 크기를 디지털 분석에 의해 측정할 수 있다. 또 다른 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여 효과는 진피 생검에서 칼슘에 대한 폰 코사 (Von Kossa) 염색에 의해 결정된다. 이러한 잘 정립된 염색법은 진피 생검에서 간질성 칼슘 침착의 양을 검사하고 정량화하기 위한 검증된 수단이다. 이 접근방식에서, 피부 생검을 실시하고 폰 코사 방법을 사용하여 조직을 염색한다. 연조직 및 포스페이트의 혈관 침착물에 대한 결합에 의해, 폰 코사 염색은 연조직 및 혈관 칼슘 포스페이트 침착의 속도가 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여로 늦추어지거나 역전되는지 여부를 결정하는데 사용될 수 있다.

칼슘 포스페이트 침착물이 저항성칼슘형성의 발병 기전의 중심이므로, 폰 코사 염색의 감소는 저항성칼슘형성 병변으로 이어지는 병상의 치유를 나타낸다. 폰 코사 방법을 수행하기 위한 키트는 시판된다 (예를 들어, abcam®, #ab150687 참조).

[0141] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진피 병변을, 처리 전 병변의 총 표면적의 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 또는 0% (즉, 진피 병변이 제거됨) 로 감소시킨다.

[0142] 2. 혈관 병변

[0143] 본원에 기재된 방법 및 조성물은 부분적으로 혈관 병변을 감소시키는 것에 관한 것이다. 특정 구현예에서, 대상체는 혈관 병변을 가지며, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 혈관 병변을 감소시킨다. 혈관 병변의 감소는 혈관 순응도를 측정하는 대동맥 혈량측정법 (즉, 혈관 확장 능력) 을 사용하여 평가할 수 있다 (예를 들어, Inuma *et al.* (2012) Hong Kong Journal of Nephrology 14(2):48-53 참조).

[0144] 혈관 병변의 감소는 맥파 속도 (PWV) 를 측정하여 평가할 수도 있다. PWV 는 동맥 맥박이 순환계를 통해 이동하는 속도이며 동맥 경직의 척도로서 사용된다. 더 높은 PWV 는 더 높은 동맥 경직, 및 따라서 더 낮은 혈관 순응도에 상응한다. PWV 측정 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 상기 Pereira *et al.* (2015) 에 의해 기재되어 있다. 간단히 말해서, PWV 는 국지적 PWV, 예컨대 경동맥-대퇴부 PWV 또는 국소 PWV 를 측정하여 평가할 수 있다. 국지적 PWV 를 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 펄스 변환기 프로브, TY-360 압력 변환기, 심전도 (ECG) 와의 도플러 유닛 동기화, 펄스 변환기 프로브, 광혈류측정, Complior® (압전 압력 변환기), SphygmoCor®, Arteriograph®, 및 PulsePen® (안압계 및 통합 심전도 유닛) 의 사용을 포함한다. *Id.* 국소 PWV 를 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 자기 공명 영상화, 초음파 및 혈관 조영술을 포함한다. *Id.*

[0145] 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 처리 전 혈관 순응도에 비해 혈관의 혈관 순응도를 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 혈관의 혈관 순응도를 약 10-50%, 약 50-100%, 약 100-200%, 또는 약 200-500% 까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 처리 전 혈관 순응도에 비해 혈관의 혈관 순응도를 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 까지 증가시킨다. 특정 구현예에서, MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 처리 전 혈관 순응도에 비해 혈관의 혈관 순응도를 약 10-50%, 약 50-100%, 약 100-200%, 또는 약 200-500% 까지 증가시킨다.

[0146] VI. 의료 적용에서 사용하기 위한 키트

[0147] 본 발명의 또 다른 양태는 본원에 기재된 장애 또는 병상 중 하나 이상을 치료하기 위한 키트를 제공한다. 키트는 하기를 포함할 수 있다: i) 질병을 치료하기 위한 지시사항; 및 ii) 실질적으로 순수한 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 함유하는 하나 이상의 투약 단위.

[0148] 상세한 설명 전반에 걸쳐, 조성물이 특정 성분을 갖거나 함유하거나 포함하는 것으로 기재되는 경우, 또는 공정 및 방법이 특정 단계를 갖거나 함유하거나 포함하는 것으로 기재되는 경우, 추가로, 언급된 성분으로 본질적으로 이루어지거나 이것으로 이루어지는 본 발명의 조성물이 존재하며 언급된 공정 단계로 본질적으로 이루어지거나 이것으로 이루어지는 본 발명에 따른 공정 및 방법이 존재하는 것으로 고려된다.

[0149] 달리 정의하지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는, 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다.

[0150] 상세한 설명 전반에 걸쳐, 조성물 및 키트가 특정 성분을 갖거나 함유하거나 포함하는 것으로 기재되는 경우, 또는 공정 및 방법이 특정 단계를 갖거나 함유하거나 포함하는 것으로 기재되는 경우, 추가로, 언급된 성분으로 본질적으로 이루어지거나 이것으로 이루어지는 본 발명의 조성물 및 키트가 존재하며 언급된 공정 단계로 본질적으로 이루어지거나 이것으로 이루어지는 본 발명에 따른 공정 및 방법이 존재하는 것으로 고려된다.

[0151] 명세서에서, 요소 또는 성분이 인용된 요소 또는 성분의 목록에 포함되고/되거나 그로부터 선택된다고 일컬어지는 경우, 요소 또는 성분은 인용된 요소 또는 성분 중 어느 하나일 수 있거나, 요소 또는 성분은 인용된 요소 또는 성분 중 둘 이상으로 이루어지는 군에서 선택될 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

[0152] 또한, 본원에 기재된 조성물 또는 방법의 요소 및/또는 특성은 본원에서 명시적이든 내포적이든 본 발명의 취지

및 범주를 벗어나지 않고 다양한 방식으로 조합될 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 예를 들어, 특정 화합물을 언급하는 경우, 문맥에서 달리 이해되지 않는 한, 그 화합물은 본 발명의 조성물의 다양한 구현에 및/또는 본 발명의 방법에서 사용될 수 있다. 즉, 이 출원 내에서, 구현에는 간결하고 명확한 출원을 작성 및 도시하는 것을 가능하게 해주는 방식으로 기재 및 묘사되었으나, 본 교시 및 발명(들)에서 벗어나지 않으면서 구현예가 다양하게 조합 또는 분리될 수 있다는 것이 의도되고 이해될 것이다. 예를 들어, 본원에 기재 및 묘사된 모든 특성은 본원에 기재 및 묘사된 발명(들)의 모든 양태에 적용가능하다는 것이 이해될 것이다.

[0153] 문맥이 부적절하지 않는 한, 단수형 표현은 관사의 하나 또는 하나 초과 (즉, 적어도 하나)의 문법적 대상을 지칭하는 것으로 본 개시물에서 사용된다. 예를 들어, "요소"는 1개의 요소 또는 1개 초과 요소의 요소를 의미한다.

[0154] 용어 "및/또는"은 달리 지시되지 않는 한, "및" 또는 "또는"을 의미하는 것으로 본 개시물에서 사용된다.

[0155] 표현 "~ 중 적어도 하나"는 문맥 및 사용으로부터 달리 이해되지 않는 한, 표현된 인용된 대상 각각 및 인용된 대상 중 둘 이상의 다양한 조합을 개별적으로 포함한다는 것이 이해되어야 한다. 3개 이상의 언급된 대상과 관련된 표현 "및/또는"은 문맥에서 달리 이해되지 않는 한 동일한 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다.

[0156] 용어 "포함하다", "포함한다", "포함하는", "갖다", "갖는다", "갖는", "함유하다", "함유한다" 또는 "함유하는" (이의 문법적 등가물 포함)의 사용은 일반적으로, 문맥에서 달리 구체적으로 언급하거나 이해되지 않는 한, 예를 들어 추가의 인용되지 않은 요소 또는 단계를 배제하지 않는, 개방형 및 비-제한적인 것으로서 이해되어야 한다.

[0157] 용어 "약"의 사용이 정량적 값 앞에 있는 경우, 본 발명은 달리 구체적으로 언급되지 않는 한, 특정 정량적 값 자체를 또한 포함한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약"은 달리 지시되거나 추론되지 않는 한 공칭 값으로부터 $\pm 10\%$ 변동을 의미한다.

[0158] 예를 들어 중합체의 절대 값이 아닌 분자량이 제공되는 경우, 달리 언급되거나 문맥에서 이해되지 않는 한, 분자량은 평균 분자량인 것으로 이해되어야 한다.

[0159] 일반적으로, 백분율을 지정하는 조성은 달리 명시하지 않는 한 중량에 의한 것이다. 또한, 변수에 정의가 수반되지 않는 경우, 변수의 이전 정의가 제한한다.

[0160] 단계의 순서 또는 특정 동작을 수행하는 순서는 본 발명이 작동가능하게 남아 있는 한 중요하지 않다는 것이 이해되어야 한다. 또한, 둘 이상의 단계 또는 동작이 동시에 실시될 수 있다.

[0161] 본원의 임의의 및 모든 예, 또는 예시적 언어, 예를 들어, "예컨대" 또는 "포함하는"의 사용은 단지 본 발명을 보다 잘 예시하려는 의도이며 달리 청구하지 않는 한 본 발명의 범주에 대한 제한을 의미하는 것은 아니다. 명세서에서의 어떠한 언어도, 임의의 청구되지 않은 요소를 본 발명의 실시예에 필수적인 것으로 나타내는 것으로 간주되어서는 안 된다.

[0162] 실시예

[0163] 본 개시물을 하기 실시예에 의해 추가로 예시하며, 이는 범주 또는 취지에 있어서 본 개시물을 본원에 기재된 특정한 절차에 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 실시예는 특정 구현예를 예시하기 위해 제공되며 이에 의해 본 개시물의 범주에 대한 제한이 의도되지 않는다는 것이 이해되어야 한다.

[0164] 실시예 1 - 저항성칼슘형성 발생 위험이 있는 대상체에서의 MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여

[0165] 이 실시예는 저항성칼슘형성 발생 위험이 있지만 아직 저항성칼슘형성의 특징적인 피부 병변이 발생하지 않은 대상체에게 MK-7 및/또는 MKH2-7을 투여하는 것을 설명한다. 고려될 위험 요소는 당뇨병, 비만, ESRD 및/또는 혈액 투석, 및 와파린으로의 사전 치료를 포함하나 이에 제한되지는 않는다 (상기 Nigwekar *et al.* (2016)). MK-7 및/또는 MKH2-7의 투여가 피부 병변으로부터의 대상체 보호 및 저항성칼슘형성 발생의 예방을 나타내는 것인 특정 바이오마커 수준에서의 변화를 초래할 수 있다는 것이 고려된다.

[0166] 저항성칼슘형성 발생 위험이 있는 대상체는 1일 1회 10 mg, 25 mg 또는 50 mg으로 적어도 2주, 4주, 6주, 8주, 3개월, 6개월, 1년 동안, 또는 무기한으로, MK-7 및/또는 MKH2-7을 경구 투여받는다. 투약 형태는 10 mg 또는 25 mg 연질 겔 캡슐이다. 2개의 25 mg 캡슐이 50 mg 투약 코호트에 1일 1회 투여된다.

[0167] 저항성칼슘형성에 대한 상승한 위험 인자를 갖는 모든 대상체가 저항성칼슘형성의 특징적인 피부 병변을 발생시

킬 것은 아니라는 점에 유의해야 한다. MK-7 및/또는 MKH2-7 로 사전예방적으로 (저항성칼슘형성의 임상적 진단 전) 치료하는 의도는 병변 외양의 예방이다. 따라서, 병변 출현 빈도의 감소 또는 제거는 성공적인 치료인 것으로 고려된다.

[0168] 3 가지 용량 수준에서 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 효능을 결정하기 위해 여러 바이오마커를 평가할 수 있다. 예시적인 바이오마커는 PIVKA-II; 비카르복실화 및 총 매트릭스 Gla 단백질 (MGP); 비카르복실화, 카르복실화 및 총 오스테오칼신 단백질; 비카르복실화, 카르복실화 및 총 단백질 C, 오스테오포테게린, 페투인 A 및 hs-CRP 를 포함한다.

[0169] 하기의 일정에 따라 바이오마커를 측정하기 위해 혈액 샘플을 수득한다. 혈액 샘플 채취는 치료 동안 매주 또는 매월 단위로 발생할 수 있다. MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여가 (i) PIVKA-II, 오스테오포테게린 또는 페투인 A 의 증가 (이는 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하거나 저항성칼슘형성을 역전시키는 것을 나타내는 것임), (ii) 비카르복실화 MGP, 비카르복실화 오스테오칼신 및/또는 비카르복실화 단백질 C 의 감소 (이는 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하거나 저항성칼슘형성을 역전시키는 것을 나타내는 것임) 를 초래할 것임이 고려된다.

[0170] 또한, 맥파 속도 (PWV) 는 동맥 순응도를 평가하기 위해 측정될 수 있다. 개선된 혈관 순응도는 저항성칼슘형성의 진행을 늦추고, 저항성칼슘형성을 저지하거나 저항성칼슘형성을 역전시키는 것을 나타내는 것일 것이다.

[0171] 실시예 2 - 저항성칼슘형성으로 진단된 대상체에서의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여

[0172] 이 실시예는 저항성칼슘형성으로 진단된 대상체에게 MK-7 및/또는 MKH2-7 을 투여하는 것을 설명한다. 전형적인 예는 특징적인 통증성 피부 병변의 제시를 포함한다 (Nigwekar et al. (2015) "Calciophylaxis: Risk Factors, Diagnosis, and Treatment." Am. J. Kidney Dis. 66:133-46). 저항성칼슘형성의 확실한 진단은 피부 생검을 통해 달성된다 (상기 Nigwekar, 2015). 올바른 진단을 위해 추가적인 조건을 고려할 필요가 있다 (Id.).

[0173] 저항성칼슘형성으로 진단된 대상체는 1 일 1 회 10 mg, 25 mg 또는 50 mg 으로 적어도 2 주, 4 주, 6 주, 8 주, 3 개월, 6 개월, 1 년 동안, 또는 무기한으로, MK-7 및/또는 MKH2-7 을 경구 투여받는다. 투약 형태는 10 mg 또는 25 mg 연질 겔 캡슐이다. 2 개의 25 mg 캡슐이 50 mg 투약 코호트에 1 일 1 회 투여된다.

[0174] 병변 크기 및 빈도의 저지 또는 감소는 성공적인 치료의 표시인 것으로 고려된다. 전술한 바에 따른 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 병변 크기 및 빈도를 저지하거나 감소시킬 것으로 예상된다.

[0175] 또한, 저항성칼슘형성은 상당한 사망 위험도를 가지므로, 진단된 대상체의 전체 생존 시간의 증가는 치료 성공의 지표가 될 것이다. 상기에 따른 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여는 진단된 대상체의 전체 생존 시간 증가를 초래할 것으로 고려된다.

[0176] 실시예 3 - 혈액 투석을 받고 있는 안정한 말기 신질환 (ESRD) 을 갖는 대상체에서의 MK-7 및/또는 MKH2-7 의 투여

[0177] 이 실시예는 혈액 투석을 받고 있으며 ESRD 를 갖는, 그리고 저항성칼슘형성을 발생할 위험이 있는 대상체에게 MK-7 을 투여하는 것을 설명한다. MK-7 의 투여는 저항성칼슘형성의 발생 예방을 나타내는 것인 특정 바이오마커 수준의 변화, 또는 저항성칼슘형성 발생의 저지 또는 둔화를 초래할 수 있다.

[0178] 안정한 ESRD 를 갖지만 저항성칼슘형성이 없는 다수의 대상체가 연구에 등록되어, 대상체는 14 일 동안 1 일 당 MK-7 의 10 mg 캡슐을 경구 투여받는다. 비카르복실화 매트릭스 Gla 단백질 (MGP), 비카르복실화 오스테오칼신, 오스테오포테게린, 페투인 A 및 hs-CRP 를 포함하는 특정 바이오마커의 수준을 제 1 일 및 제 15 일 (치료 종료) 에 평가하고, 제 1 일과 제 15 일 사이의 변화를 계산하였다. 제 1 일과 제 15 일 사이에, 비카르복실화 MGP 의 평균 감소는 -21.9% 였고, 비카르복실화 오스테오칼신의 평균 감소는 -55.5% 였다. 또한, 대상체는 예기치 못하게, 오스테오포테게린 및 페투인 A 의 평균 증가 및 hs-CRP 의 감소를 나타내었다. 오스테오포테게린, 페투인 A 및 hs-CRP 는 비타민-K 의존적 단백질이 아니며, 이러한 단백질의 변화는 이전에 MK-7 섭취의 결과로서 입증된 바 없다고 믿어진다. 오스테오포테게린의 평균 증가는 14.5% 였고, 페투인 A 의 평균 증가는 23.1% 였으며, hs-CRP 의 평균 감소는 -35.8% 였다.

[0179] 연구에 근거하면, MK-7 의 투여는 비카르복실화 MGP, 비카르복실화 오스테오칼신 및 hs-CRP 의 감소, 및 페투인 A 및 오스테오포테게린의 증가를 초래할 수 있으며, 이는 MK-7 의 투여가 대상체에서의 저항성칼슘형성을 예

방하거나 이의 진행을 중단시키거나 둔화시킨다는 것을 나타내는 것일 수 있다.

[0180] 문헌의 원용

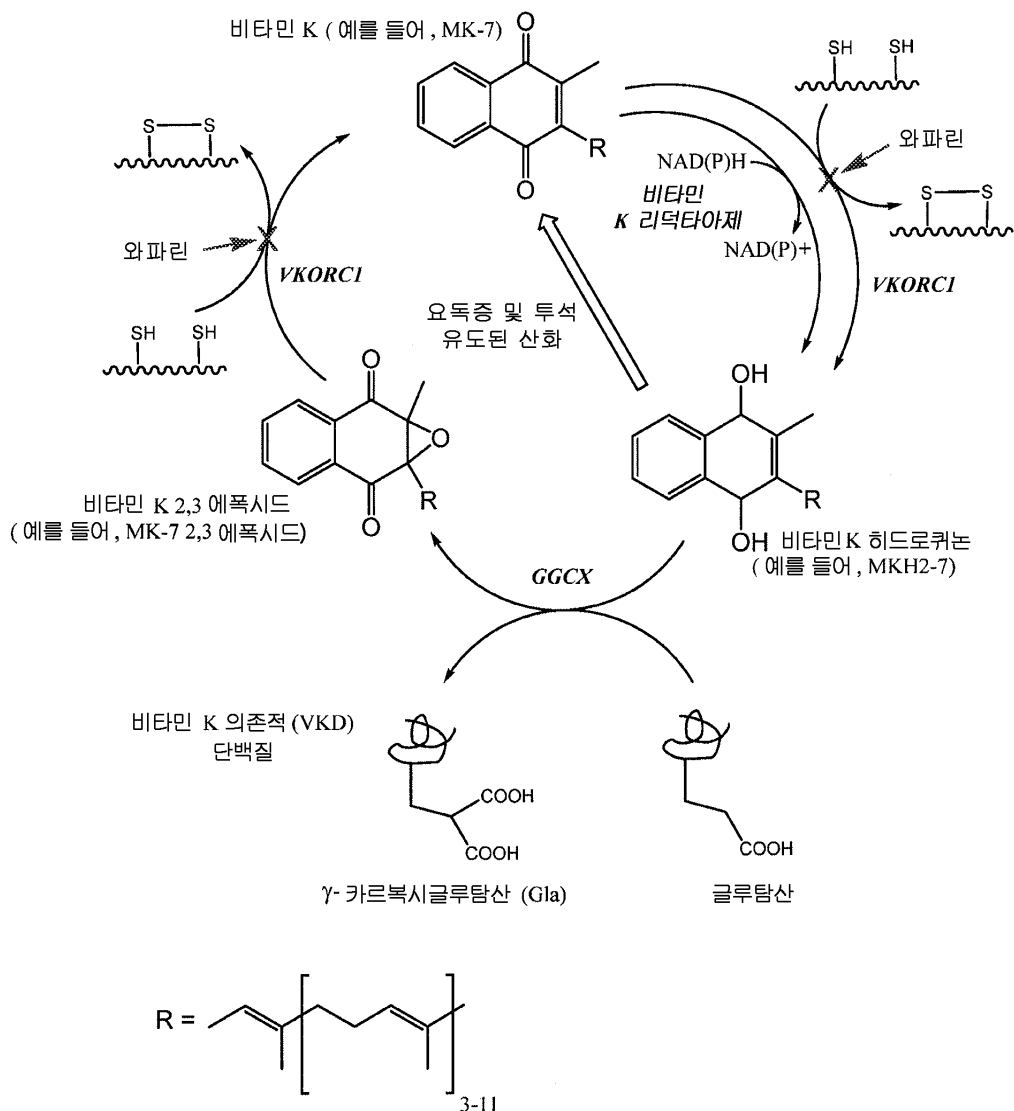
[0181] 본원에 언급된 특허 및 과학 문헌 각각의 전체 개시물은 모든 목적을 위해 참조로 포함된다.

[0182] 등가물

[0183] 본 발명은 그의 취지 또는 본질적인 특징에서 벗어나지 않고 다른 특정 형태로 구현될 수 있다. 따라서, 전술한 실시예는 본원에 설명된 발명을 제한하기보다는 예시적인 모든 측면에서 고려될 것이다. 따라서, 본 발명의 범주는 전술한 설명보다는 첨부된 청구 범위에 의해 표시되며, 청구 범위와 동등한 의미 및 범위 내에 있는 모든 변화는 여기에 포함되도록 의도된다.

도면

도면1



도면2

