

의약품 불순물 유전독성 시뮬레이션 평가 사례집 [민원인 안내서]

2016. 6.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

의약품심사부 소화계약품과

지침·안내서 제·개정 점검표

명칭

의약품 불순물 유전독성 시뮬레이션 평가 사례집

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침·안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____)	
	☐ 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 정보제공 등 직원 교육용 자료입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침·안내서 구분	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞ 지침) ☒ 아니오
	☐ 법령, 고시·훈령·예규와 같은 규정 또는 식약처장이 정한 특정한 사안에 대하여 그 절차 등의 내용을 알기 쉽게 풀어 설명하거나 식약처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(☞ 안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2017 년 5 월 25 일		
담당자 확 인(부서장)		정 재 원 최 돈 응

이 안내서는 의약품 불순물 유전독성 시뮬레이션 평가에 대한 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식(‘~하여야 한다’ 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2016년 06월 30일 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ “민원인 안내서”란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등(이하 “행정규칙”이라 한다)을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것

본 사례집에 대해 궁금하신 사항이나 의견이 있을 경우 식품의약품안전평가원 의약품심사부 소화계약품과로 문의하시기 바랍니다.

- 전화 : 043-719-3102~3115

- 팩스 : 043-719-3100

목 차

I . 서론	1
II . 일반사항	3
1. 불순물의 위해평가 요소	3
2. (Q)SAR 예측방법의 특성	4
3. (Q)SAR 예측방법의 종류	6
4. OECD 벨리데이션 원칙	9
III . (Q)SAR 이용한 유전독성 평가사례	14
1. (사례1) (Q)SAR 음성결과를 전문가 자문으로 최종 양성 판정	15
2. (사례2) (Q)SAR 음성결과를 변이원성 시험으로 최종 양성 판정	18
3. (사례3) 문헌검색 또는 데이터베이스를 통해 판정(분류 1, 2, 5)	22
< 용어해설 >	25
< 참고문헌 >	27

개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	C0-2016-2-001	2016.06.30.	제정
2	안내서-0170-01	-	「식약처 지침서등의 관리에 관한 규정」 개정에 따른 등록번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호,2017.5.16)

약어

DNA	Deoxyribose Nucleic Acid
IARC	International Agency for Research on Cancer
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
ITC	Interagency Testing Committee
log P	Partition coefficient
log D	Distribution coefficient
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
pKa	Acidic dissociation constant
(Q)SAR	(Quantitative) Structure-Activity Relationships
SMILES	Simplified Molecular Input Line Entry Specification syntax
TOXNET	Toxicology data network
TTC	Threshold of Toxicological Concern
US EPA	United States Environmental Protection Agency
ECVAM	European Centre for Validation of Alternative Methods

I. 서론

원료의약품의 합성에는 반응성 화학물질, 시약, 용매, 촉매 등이 사용된다. 화학 합성과 합성이후 외부 요인에 의한 분해 등으로, 모든 원료의약품과 완제의약품에는 불순물이 존재한다. 의약품 불순물에 관한 가이드라인과 규정은 “신규 원료의약품의 불순물(ICH Q3A(R2))”, “신규 완제의약품 중의 불순물(ICH Q3B(R2))” 및 “의약품의 품목허가·신고·심사규정”(식약처 고시)이 있으며, 반복투여독성시험 및 유전독성시험(복귀돌연변이시험, 체외염색체이상시험) 등으로 의약품 불순물의 안전성을 입증하도록 하고 있다.

상기 가이드라인에서는 불순물의 유전독성 여부를 확인하는 방법을 제시해왔으나, 유전독성 불순물의 허용 가능한 수준을 뚜렷이 제시하지 못하였다. 최근 의약품국제조화위원회(ICH)에서는 원료의약품 혹은 완제의약품에 존재하는 (또는 존재가 합리적으로 예상되는) 변이원성 불순물의 평가와 관리에 대한 가이드라인을 마련하였으며¹⁾, 국내에서도 이에 발맞춰 ‘의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인’(2015.06)을 제정하였다.

‘의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인’에서는 구조-활성 상관관계((Q)SAR)에 기반한 컴퓨터 시뮬레이션을 활용하여 여러 불순물들의 유전독성 여부를 효율적으로 평가하는 방법을 제시하였다. (Q)SAR는 화학물질에 대한 알려진 여러 가지 지식 및 정보를 종합하여 만든 데이터베이스를 이용해 실측결과가 없는 화학물질의 물성 혹은 독성을 예측하는 방법으로서, 유사한 구조를 가진 화학물질은 유사한 생물학적 활성을 가진다는 원리를 기반으로 하며²⁾, 의약품 연구개발의 시간 및 비용절감 등의 장점이 있다.

‘의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인’에서는 (Q)SAR를 이용한 박테리아 변이원성시험의 결과를 예측 시, 상호 보완적인 2 종류의 (Q)SAR 예측방법을 이용하도록 하고 있다. (Q)SAR 예측결과의 신뢰성 확보를 위하여 컴퓨터 시뮬레이션 프로그램은 OECD 밸리데이션 원칙에 따라 밸리데이션 되어야 한다. 시뮬레이션 결과는 전문 지식에 기초한 검토를 수행한 후 최종 독성평가 결론을 내려야 하며, 최종 결론을 내리기에 정보가 부족한 경우에는 독성시험을 실시할 수 있다.

‘의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인’은 불순물의 변이원성 여부 판단 시 (Q)SAR의 예측 결과를 활용하도록 하고 있으나, 그 예측 결과의 해석 방법에 대하여는 제시하고 있지 않다. 본 사례집은 의약품 불순물의 유전독성에 대하여 (Q)SAR 방

법을 활용하는 사례를 제시하여 관련 업무에 실질적인 도움을 주기 위하여 마련하였다. (Q)SAR를 이용한 의약품 불순물 유전독성 확인 시에는 의약품 구조 등 물질 특성에 따라 사례 적용이 다를 수 있음을 고려할 필요가 있다.

II. 일반사항

1. 불순물의 위해평가 요소³⁾

의약품 불순물의 유전독성에 따른 관리기준을 설정하기 위해서는 ‘의약품 불순물 유전독성 평가 가이드라인’에 따라 불순물 클래스를 구분하는 것이 필요하다. 화학적 합성에 많이 사용되는 시약, 출발물질 등은 독성 시험 결과가 알려진 경우가 많으므로, 사전에 발암성시험과 복귀돌연변이시험에 관한 데이터베이스 및 문헌검색을 수행하는 것이 좋다. 문헌검색 등을 통해 유전독성, 발암성 시험결과가 확인된 실제 및 잠재적 불순물은 표 1에 따라 클래스 1, 2 또는 5로 분류할 수 있다. 유전독성에 대한 시험 데이터를 얻을 수 없는 경우에는 복귀돌연변이시험의 결과를 예측하기 위한 목적으로 (Q)SAR 평가를 실시한다. 이 방법에 따라 불순물을 표 1의 클래스 3, 4 또는 5로 분류한다.

표 1. 변이원성 및 발암 가능성에 따른 불순물 클래스 및 이에 따른 관리 방법

클래스	정의	관리 방법
1	변이원성과 발암성이 확인된 물질	화합물 - 특이적 허용 한계 수준 (compound-specific acceptable limit) 또는 그 이하로 관리
2	변이원성은 확인되고 발암성은 확인되지 않은 물질 (복귀돌연변이 양성* 및 설치류 발암성 유발 데이터 없음)	허용 한계 수준 또는 그 이하로 관리 (일반적 혹은 조정된 TTC)
3	경고구조(structural alert)가 있으나, 원료의약품 구조와 관련 없는 것; 변이원성 데이터 없음	허용 한계 수준 또는 그 이하로 관리하거나 (일반적 혹은 조정된 TTC) 복귀돌연변이시험 실시; 비- 변이원성인 경우 클래스 5 변이원성인 경우 클래스 2
4	경고구조(structural alert)가 있으나, 검사된 원료의약품 또는 원료의약품과 관련된 화합물(예, 공정 중간체)에 동일한 경고구조(structural alert)가 있고 비-변이원성임	비- 변이원성 불순물로서 관리
5	경고구조(structural alert) 없음 또는 변이원성이 없음을 증명하기에 충분한 데이터를 가진 경고구조(structural alert)	비- 변이원성 불순물로서 관리

* 또는 유전자 돌연변이 유도과 관련된 DNA-반응성을 나타내는 다른 관련된 양성 돌연변이 데이터(예, 생체내 돌연변이시험에서 양성)

(Q)SAR 방법은 상호 보완적인 2 종류의 (Q)SAR 예측 방법을 이용해야 한다. 첫째는 전문적 경험 규칙에 기반한 방법, 둘째는 통계에 기반한 방법이다. 2 가지 종류를 이용한 컴퓨터 시뮬레이션 결과는 양성/양성, 음성/음성, 양성/음성, 예측결과 없음으로 제시될 수 있으며, 이를 이용하여 최종 유전독성 없음으로 결론을 내리기 위해서는 전문 지식 및 타당한 자료에 기반한 검토가 수행되어야 한다. 유전독성 있음으로 결론을 내리는 경우에는 관리수준이 엄격해지므로 (Q)SAR 결과를 그대로 인용할 수 있다.

시뮬레이션 결과 경고구조(structural alert) (표 1의 클래스 3)가 나타나면, 적절한 관리방법을 적용하거나 불순물 단독으로 복귀돌연변이시험을 실시할 수 있다. 적절히 잘 수행된 복귀돌연변이시험 결과가 음성이면 시뮬레이션에 근거한 유전독성 우려를 없앨 수 있으며, 이러한 불순물은 비변이원성으로 간주된다(표 1의 클래스 5). 복귀돌연변이시험의 결과가 양성이면, 위해 평가 및/또는 관리 대책을 세울 필요가 있다(표 1의 클래스 2).

원료의약품 또는 관련된 화합물과 공통의 경고 구조 (예를 들어, 동일한 위치 및 화학환경에서 동일한 경고 구조)를 가지는 불순물은 그 원료의약품의 복귀돌연변이시험의 결과가 음성이라면, 비변이원성 불순물로 판단된다(표 1의 클래스 4).

2. (Q)SAR 예측방법의 특성

(Q)SAR 예측방법은 구조-활성의 상관성을 이해하는 데 도움을 주며, 화학물질 내 작용기들 간의 상호작용을 이해하는 데 용이하다⁴⁾. 다양한 알고리즘, 수많은 화학 물질 및 표현자(chemical descriptor), 다양한 평가항목에 대한 연구 등 (Q)SAR 예측방법은 매우 복잡하므로, 한 가지의 (Q)SAR 예측방법으로 화학물질의 박테리아 변이원성시험의 결과를 예측하는 것은 위험하다.

(Q)SAR 예측방법에는 전문적 경험 규칙에 기반한(expert rule-based) 방법과 통계에 기반한(statistical-based) 방법이 있다. 표 2에는 (Q)SAR 시스템의 장·단점을 정리하였다. 이러한 (Q)SAR 예측방법 특성을 고려하여 ‘의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인’에서는 (Q)SAR를 이용한 박테리아 변이원성시험의 결과를 예측 시 상호 보완적인 2 종류의 (Q)SAR 예측방법을 이용하도록 하고 있다.

표 2. (Q)SAR 시스템의 장·단점

모델	장점	단점
전문적 경험 규칙에 기반한 시스템 (Expert rule-based system)	• 예측된 평가항목(endpoint)에 대한 작용기전 설명 가능 • 예측에 대한 추론근거 제공 • 예측에 대한 문헌 또는 전문 지식 지원	• 제한된 혹은 잘못 정의된 적용범위 제공 • 적용범위를 근거로 예측하므로 화학물질의 분류에 따른 활성 차이 설명 불가 • 통계 기반한 시스템보다 낮은 예측의 정확성
통계에 기반한 시스템 (Statistical-based system)	• 높은 예측의 정확성 • 작용기전이 알려지지 않은 경우 선행 연구로 적용 가능	• 예측에 대한 해석이 어려움 • 예측에 대한 추론근거 미제공 • 사용자에게 명료한 정보 미제공
혼합모델 (Hybrid system)	• 경고구조에 대한 작용기전 설명 제공 및 정확성을 포함하여, 전문적 경험 규칙에 기반한 시스템과 통계에 기반한 시스템의 장점의 혼합	• 제한된 적용범위

의약품 불순물의 유전독성 여부를 판정하기 위하여 (Q)SAR 예측방법을 선정 시, 다음의 경우가 충족되는지 여부를 확인하여야 한다⁵⁾.

- 과학적 유효성이 수립된 (Q)SAR 시스템으로부터 결과가 유도되었는지 여부
- 물질이 (Q)SAR의 적용가능 화학물질 범주 내에 포함되었는지 여부
- 예측 결과가 분류(classification), 표시(labelling) 및/또는 위해 평가 목적에 적절한지 여부
- 적용된 방법에 대하여 적합하고 신뢰할만한 문서가 제공되었는지 여부

3. (Q)SAR 예측방법 종류⁶⁾

전문적 경험 규칙에 기반한 시스템은 독성학적 지식, 전문가의 판단 및 퍼지이론을 기반으로 한 'If-then-else' 규칙을 이용한 로직트리를 사용한다. 통계에 기반한 시스템은 다양한 통계적 기법, 규칙귀납, 인공지능, 패턴인식 기술을 이용한 방정식 기법을 사용한다. 이 두 가지 기법 외에도 혼합모델(Hybrid model)이 있다. 혼합모델은 전문가가 경험 규칙에 기반한 시스템과 통계에 기반한 시스템의 혼합 형태이다. 이는 경고구조 내에서, 분자구조의 나머지 부분에 의해 조정된 경고의 반응 추이를 통계적 모델을 이용하여 예측하는 방법이다.

전문적 경험 규칙에 기반한 프로그램에는 Derek, HazardExpert, Toxtree 및 OECD toolbox 등이 있으며, 통계에 기반한 프로그램에는 MultiCASE, TOPKAT, Lazar 및 CAESAR, 혼합모델은 OASIS TIMES가 있다.

표 3. (Q)SAR 변이원성 예측 프로그램 종류

개발 방식	프로그램	비고
전문적 경험 규칙에 기반한 시스템 (Expert rule-based system)	Derek	상용 프로그램
	Toxtree	공개 프로그램
	OECD toolbox	공개 프로그램
	HazardExpert	상용 프로그램
통계에 기반한 시스템 (Statistical-based system)	MultiCASE	상용 프로그램
	TOPKAT	상용 프로그램
	Lazar	공개 프로그램
	CAESAR	공개 프로그램
	Leadscope	상용 프로그램
혼합 모델 (Hybrid system)	OASIS TIMES	상용 프로그램

3.1. 전문적 경험 규칙에 기반한 시스템

3.1.1. Derek

Derek(Deductive estimation of risk from existing knowledge)은 Lhasa Ltd.에서 개발되었다⁶⁾. 전문적 경험 규칙에 기반한 시스템의 한 종류로서 Derek은 서로 다른 종에 대한 실험실적 데이터를 기반으로 한 일련의 규칙들을 병합하여 발암성을 예측한다. Derek(v.12; '09.12월 출시)은 89개의 변이원성, 77개의 염색체 손상 및 61개의 발암성 경고 구조를 가지고 있다.

Derek의 알고리즘은 규칙 기반으로 원자와 결합 패턴을 표적 화합물질과 독성학적 특성을 가진 것으로 알려진 화합물질의 하부구조(substructure)를 대조하여 일치하는 구조를 찾는다. Derek에서의 위험성 평가는 관련 있는 문헌을 근거로 정의되므로 예측에 대한 강한 신뢰성이 확보된다.

Derek에서는 전체 크기, 원자 간의 공간적 배치 및 결합의 영향에 대한 계산은 자동으로 이루어지지 않는다. 또한, 화합물질이 3차원적으로 표현되지 않는다 하더라도 처리절차는 3차원적 구조(topologic)를 기반으로 하여 중요한 구조학적 특성들에 대하여 웨지결합(wedge bonds)으로 표현될 수 있다⁷⁾. 물리화학적 특성들은 자동적으로 산출되지 않으므로, 새로운 화합물질의 독성 평가에 대한 Derek 사용 시 그 화합물질의 물리화학적 특성 및 다른 계산화학(computational chemistry) 등이 뒷받침되어야 한다.

3.1.2. HazardExpert

HazardExpert는 CompuDrug Ltd.에서 판매하는 상용프로그램이다⁶⁾. HazardExpert는 알려진 문헌, 미국환경보호청(US EPA) 및 시험위원회(ITC) 각조로부터 독성학적 특성을 가진 것으로 알려진 구조 데이터베이스를 기반으로 표적물질의 변이원성을 생체이용률 및 축적 등을 고려하여 예측한다. 평가항목으로는 변이원성, 발암성, 기형, 자극과 신경독성 등이 있다⁷⁾.

HazardExpert는 독성학적 지식, 전문가의 판단, QSAR 모델 및 퍼지이론의 종합적으로 사용하여 독성을 나타내는 적용범위와 생물학적으로 미치는 다양한 영향을 제시한다. log P, log D 및 pKa에 대하여 높은 예측성을 가지며 표적물질의 대사체 및 그 대사체의 변이원성 여부를 예측할 수 있으나, 대사산물 형성에 대하여 상대적인 가능성은 제시하지 않는다. 벤젠, 염화비닐 혹은 다른 비닐 유도체, 유기인 화합물, 유기 금속

및 다방향족 탄화수소를 경고구조로 가진 물질들에 대한 HazardExpert의 예측은 제한되므로 문헌 및 전문 지식 등에 의하여 재평가되어야 한다.

3.2. 통계에 기반한 시스템

3.2.1. MCASE

MCASE(MultiCASE/MC4PC; Multiple computer aided structure evaluation)은 1996년 MultiCASE Inc.에서 개발되었다. 예측을 위한 트레이닝 세트(training set)를 선택하고 화학구조를 프로그램에 입력하면, 화학물질의 구조는 모든 가능한 조각으로 분할된다. 통계적 방법은 생물학적 활성 혹은 비활성과 관련 있는지 여부에 따라 분할된 구조 조각들의 변이원성 혹은 비변이원성 여부를 구분한다⁸⁾.

MCASE는 독성을 유발하는 경고구조의 작용기전에 대한 문헌 근거 없이 예측하므로 알려지지 않은 작용기전에 대한 화학물질 분석 및 다량의 화학물질 분석 시 용이하다⁷⁾. 한편, MCASE는 독성을 유발하는 구조 예측에 대하여 명확한 근거를 제공하지 않으며 생물학적 데이터는 정략적인 방법으로 해석하기 어려운 단위 값(CASE units)으로 변환되는 한계가 있다.

3.2.2. TOPKAT

TOPKAT 모델은 통계시스템으로, 문헌자료의 많은 독성학적 정보를 분석한 결과에 기초하여 예측한다. 분자구조(molecular descriptor)는 구조적(예, 분자의 부피, 모양, 대칭), 3차원적 및 전기적 위상(electrical phase) 지표들을 포함하여 사용한다. TOPKAT은 최적의 예측 공간검증(Optimal Predictive Space; 모델이 적용되는 독특한 다변량 설명자 공간) 방법을 적용하여 예측의 신뢰성을 추정한다⁹⁾.

TOPKAT은 화학물질 구조를 SMILES 코드로 입력하면 다양한 평가항목을 짧은 시간 내 예측할 수 있으며, 예측 시 할당된 신뢰성 정도를 반영하여 예측이 최적의 예측 공간(optimum prediction space)내에서 이루어진 것인지 여부를 제공한다. 그러나 TOPKAT은 긴 사슬 지방족, 폴리머 및 복잡한 고리구조 등 일부 화학물질의 독성학적 평가에 사용이 제한된다. 또한, 염, 무기물, 에놀-케톤 형태 혹은 요오드화 화학물질의 분석에 사용하는 것은 적합하지 않다⁷⁾.

4. OECD 벨리데이션 원칙

4.1. OECD 벨리데이션 원칙 항목²⁾

(Q)SAR는 유사한 구조를 가지는 화학물질들은 유사한 화학적 성질을 나타낸다는 전제를 기반으로, 특정 화학물질에 대한 독성 시험이 수행되기 전에 화학물질의 구조를 이용하여 그 시험결과를 미리 예측하는 방법이다. 독성을 나타내는 화학 성질과 구조의 유사성을 측정하는 방법은 복잡하고 각 (Q)SAR 시스템 간 예측 결과 산출을 위한 알고리즘이 서로 다르므로, (Q)SAR 접근 방법이 규제당국 및 제약 산업에 활용되기 위해서는 신뢰성(reliability)와 타당성(relevance)이 확보되어야 한다. OECD는 (Q)SAR의 신뢰성과 타당성 확보를 위하여 다음의 5 가지 (Q)SAR 시스템의 벨리데이션 원칙을 제시하고 있다.

가) 평가항목 명시(Defined endpoints)

평가항목은 (Q)SAR 프로그램에서 화학물질 구조와 관련하여 평가하고자 하는 화학물질의 물리화학적, 생물학적 성질 등을 의미한다. 예측 가능한 평가항목을 명확하게 정의해야 한다. 즉, 변이원성을 예측하고자 하는 경우, (Q)SAR 프로그램의 평가항목에 변이원성이 포함되어 있어야 한다.

나) 명확한 알고리즘 제시 (An unambiguous algorithm)

알고리즘은 화학물질의 화학구조와 평가항목의 활성(activity of endpoint)의 상관관계를 분석·예측하는데 있어 사용되는 프로그램의 수학적 논리적 평가원칙 및 방식을 의미한다. 평가항목을 예측하는데 사용된 프로그램의 수학적 알고리즘이 어떻게 디자인 되었는지 설명할 수 있어야 한다. 프로그램 알고리즘의 투명성을 확보하는 것은 예측 결과의 재현성과 관련된다. 즉 전문적 경험 규칙에 기반한 프로그램인지 또는 통계에 기반한 프로그램인지를 제시하여야 하며, 수학적 통계에 어떤 원칙을 적용하였는지 또는 전문적 경험 규칙은 어떤 방식으로 적용되었는지 설명할 수 있어야 한다.

다) 적용가능 화학물질 범주 명시 (A defined domain of applicability)

적용가능 화학물질 범주는 화학물질 구조-활성 예측에 있어, 신뢰성 있는 결과를 생산할 수 있는 화학물질의 범위를 의미한다. 하나의 예측 프로그램으로 모든 물질의 시험 값을 예측할 수 없으므로 사용하는 프로그램의 적용가능 화학물질 범주를 확인 하는 것은 예측 프로그램 선정에 있어서 중요한 사항이다.

라) 적합도, 완전성 및 예측성 평가(Appropriate measures of goodness-of-fit, robustness and predictivity)

적합도, 완전성 및 예측성 평가란 (Q)SAR 프로그램의 적용 가능성을 확인하기 위하여 통계학적 검증절차를 통하여 평가하는 것을 의미한다. 프로그램 개발 시 사용한 데이터베이스(training set)를 대상으로 이루어지는 내부 밸리데이션으로서 적합도, 완전성을 실시할 수 있다. 적합도는 데이터베이스의 반응 변화를 얼마나 잘 측정하였는지를 의미하는 것으로 적합도 평가방법은 내삽법과 외삽법 등이 있을 수 있다. 완전성은 예측 프로그램에 사용된 조건의 일부가 의도적으로 변경되었을 때 예측결과가 영향을 받는 정도에 대한 척도를 의미한다. 외부 데이터베이스를 예측 프로그램에 적용하여 예측성을 확인하는 외부 밸리데이션을 실시할 수 있다. 다만, 예측 프로그램 개발에 사용한 데이터베이스가 없는 경우, 내부 밸리데이션은 불가능하다.

마) 작용기전 근거 제시 (A mechanistic interpretation, if possible)

가능한 경우, 예측 결과에 대한 물리화학적 · 생물학적 의미를 해석하여 제시한다.

상용 프로그램(예, Derek, MultiCASE 등)은 최신 버전 확인 등으로 OECD 밸리데이션 원칙을 따로 실시하지 않을 수 있으나, 신청사 개발 프로그램을 사용하는 경우 OECD 밸리데이션 원칙에 따라 밸리데이션을 실시한다.

4.2. OECD 밸리데이션 예시

그림 1은 OECD 밸리데이션 원칙에 따라 실시된 Derek 프로그램 밸리데이션 결과이다¹⁰⁾. 평가항목으로서 변이원성을 정의하고 있으며, 예측결과에 대한 명확한 알고리즘을 제시하기 위해 예측 근거가 되는 문헌, 사례, 경고구조를 등을 제시하고 있다. 또한, 화학물질에 존재하는 경고 구조에 대해 예측에 사용된 하부구조, R-그룹, 물질 특성 등을 제시하고 있다. 기 확인된 경고 구조 데이터와 Derek 예측결과를 비교함으로써 예측성 평가하였으며 작용기전 해석에 대한 문헌 근거도 제시하고 있다.

<그림 1. OECD 밸리데이션 원칙 예시(DEREK)>

가). 정의된 평가항목

Displaying 'Alert 351', click above to view the original structure

Prediction Navigator

Show predictions of at least: **PLAUSIBLE**

Derek KB 2012 1.0 [Certified by: Lhasa Limited, Leeds, Yorkshire, UK]

Carcinogenicity

Mutagenicity in vitro

bacterium - PROBABLE

Alert - 351: Aromatic amine or amide

Example - 4-aminobiphenyl

Skin sensitisation

Alert Details Reasoning Explorer Prediction Constraints

351: Aromatic amine or amide

Alert Matches

Description Image

Comments

Mutagenicity: Ames test

This alert describes the mutagenicity of aromatic amines (I), including their N-protonated forms, and aromatic amides (II) according to the toxophores shown. Aromatic amines or amides which contain more than 25 non-hydrogen atoms are excluded from this alert as such compounds generally give negative results in the Ames test. Permitted substituents for ortho-, meta- and para-substituted structure types are as follows:

1. For ortho-substituted anilines: NH₂, NH₃⁺, OH.
2. For meta-substituted anilines: a second amine, N-protonated amine or amide functional group subject to the same structural constraints as those in the toxophores shown.
3. For para-substituted anilines: R6, CH₂R7, OR8, SR9, C(R10)=C(R11)R12, N=NR13 where R6-R9, R12 and R13 represent an aromatic ring and R10 and R11 represent carbon or hydrogen. Alternatively, a second amine, N-protonated amine or amide functional group subject to the same structural constraints as those in the toxophores shown may be present.

Validation Comments

Endpoints

ID	Name	Parent
4209	Mutagenicity	Mutagenicity (SUPER)

나). 명확한 알고리즘 제시

Details

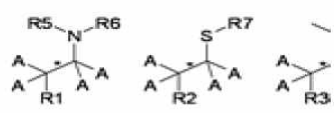
Rule 1022 : If [Rapid prototypes: chromosome damage in vitro alert] is [C]

- [Rapid prototypes: chromosome damage in vitro alert] is [C]
- Alerts : alert RapidPrototype092 = true (Lhasa Limited, v
- [Species dependent variable 8] is [EQUIVOCAL]

Rule 266 : If [species mammal] is [certain] then [Species]

- [species mammal] is [CERTAIN]
- Species : mammal (User Supplied, version n/a)

Alert 069 (Nitrogen or su

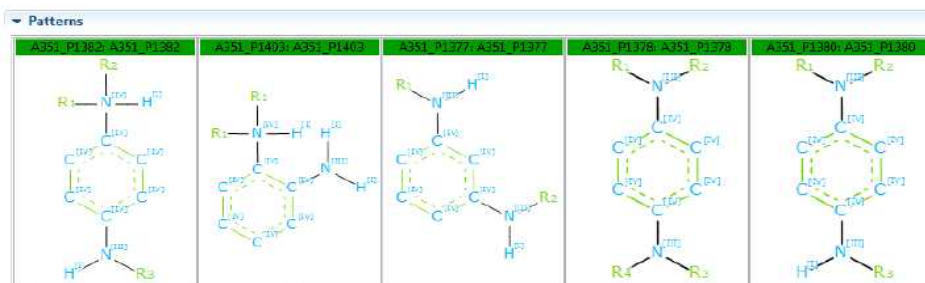


R1-R4 = Cl, Br, I
R5-R8 = H, C (cannot be doubly bond

References

Title	Author	Source	Year
Overall evaluations of carcinogenicity: an updating	International Agency for Resea	IARC Monographs on the Eval	1987
Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazin	International Agency for Resea	IARC Monographs on the Eval	1999c
Dialkylquinonimines validated as in vivo metabolit	Jefferies PR, Quistad GB and C	Chemical Research in Toxicolo	1998
Toxicology and carcinogenesis studies of 3-chloro	National Toxicology Program (	National Toxicology Program F	1986

다). 정의된 적용범위

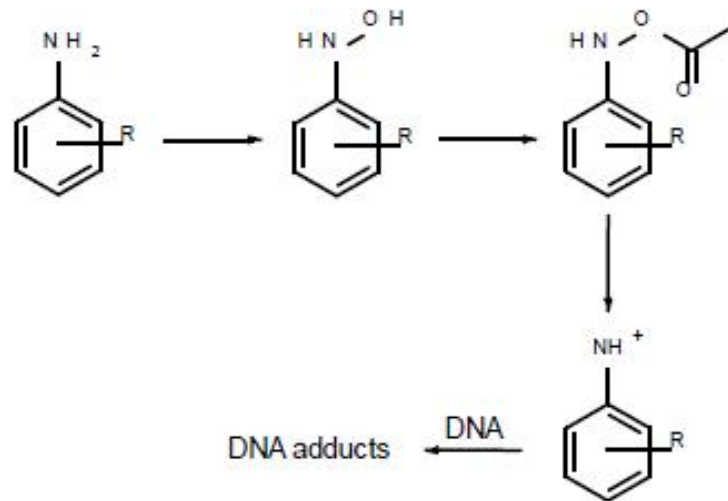


라). 적합도, 완전성 및 예측성 평가

Comments	Validation Comments
Chromosome damage: in vitro chromosome aberration test	
The alert has demonstrated the following predictive performance:	
1) Sofuni data set: 5 compounds activate this alert of which 5 are reported positive (positive predictivity = 100%) 2) FDA data set: 6 compounds activate this alert of which 6 are reported positive (positive predictivity = 100%) 3) Benchmark chromosome damage data set: 6 compounds activate this alert of which 6 are reported positive (positive predictivity = 100%)	

마). 작용기전 근거를 제시, 가능한 경우

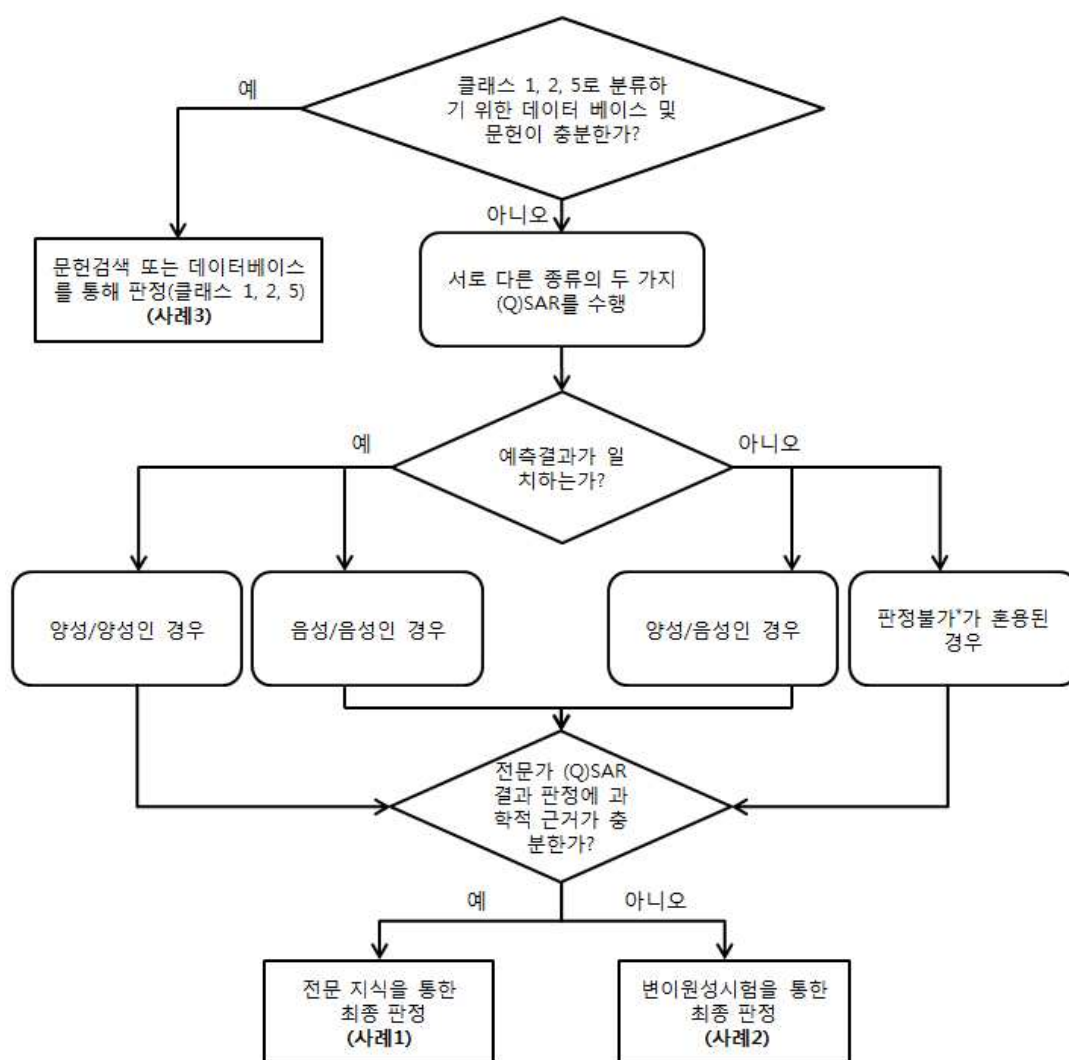
have been shown to be carcinogenic in rodents [US EPA]. The mechanism by which these substances are carcinogenic has been suggested to proceed via metabolism of these compounds to DNA-reactive quinonimines, and evidence indicates that these metabolites are formed in the rat, albeit in low concentrations [Jefferies et al]. Additionally, data demonstrates that acetochlor shows little reactivity toward oxygen and amine nucleophiles [Ashby et al 1996].



Ⅲ. (Q)SAR를 이용한 의약품 불순물의 유전독성 평가 사례

의약품 불순물의 유전독성 평가 시 (Q)SAR 방법 활용에 대한 이해를 돕고자 다양한 사례를 제시하였다. 본 사례는 (Q)SAR 예측 결과에 기반한 의약품 불순물 유전독성 여부를 확인하는데 필요한 정보를 제공하기 위한 것이며, 불순물 (Q)SAR 평가 자료 작성에 대한 가이드라인은 아니다. 의약품 불순물의 유전독성을 평가 시 (Q)SAR 결과를 활용할 경우에는 그 예측 결과를 전문지식에 기초한 검토가 수행될 수 있으며, 최종 결론을 위한 추가적인 입증근거를 제시할 수 있다. 본 사례집에서는 출발물질, 시약, 중간체 및 불순물 등의 (Q)SAR 예측 결과의 해석 및 활용방법에 대하여 제시하고 있다.

<그림 2. (Q)SAR 예측결과를 통한 불순물의 유전독성 판단 흐름도>



* 판정불가 : out of domain 혹은 equivocal

1. (사례1) (Q)SAR 음성결과를 전문가 자문으로 최종 양성 판정

표4. 두 가지 (Q)SAR 수행 후, 전문지식을 통한 최종 양성으로 판정한 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과			복귀돌연변이 시험
		I	II	전문가 최종 판정	
1	중간체 A	x	x	양성(클래스3) (Q)SAR 예측결과 모두 음성으로 경고구조 없음이나, 실제 변이원성이 있는 물질과 유사 구조가 있어 양성으로 판정함.	Not Test
2	불순물 B	O	x	양성(클래스3) 두 가지 프로그램의 예측 결과를 통한 경고구조 여부는 명확하지 않음. 복귀돌연변이 시험 결과 양성인 2-aminophenol의 구조유사 물질이므로 양성으로 판정함.	Not Test
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. Leadscope(1.7)					

중간체 A는 전문적 경험 규칙에 기반 방법(Derek(3.0.1) 및 통계에 기반한 방법(Leadscope(1.7)) 결과 모두 음성으로 예측되어 경고구조는 없었다. 중간체 A를 분리 정제하여 단독으로 복귀돌연변이시험을 수행하지는 않았으나, 중간체 A는 복귀돌연변이시험 수행 결과 양성임이 입증된 물질과 구조적으로 매우 유사하다. 따라서 유사구조 물질의 박테리아 변이원성 시험결과를 고려하여 중간체 A를 클래스 3로 분류하였다.

불순물 B는 두 가지 (Q)SAR 예측결과가 서로 상반되는 결과(양성/음성)로, 이를 통한 경고구조 여부를 판정하기에 어려움이 있다. 불순물 B와 구조적으로 유사한 물질인 2-아미노페놀의 복귀돌연변이시험 결과는 양성으로 알려져 있다¹¹⁾. 불순물 B의 유전독성 여부에 대해 전문가는 2-아미노페놀의 복귀돌연변이시험 결과를 인용하여 변이원성을 유발하는 것으로 판정하였다.

표5. 세 가지 (Q)SAR 수행 후, 전문지식을 통한 최종 음성으로 판정한 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과				복귀돌연변이 시험
		I	II	III	전문가 최종 판정	
1	출발물질 A	x	x	○	음성(클래스4) Leadscope 프로그램에서의 양성결과는 aniline 구조에 기인함. 동일 경고구조를 가진 원료의약품 및 불순물의 복귀돌연 변이 결과 음성임.	Not Test
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. MultiCASE(2.400), III. Leadscope(1.5.0_4)						

출발물질 A의 세 가지 (Q)SAR 프로그램 예측 결과 중, Leadscope (1.5.0_4)의 유전 독성 양성으로의 예측은 해당 화학물질 내 경고구조인 아닐린에 기인하는 것으로 확인되었다. 복귀돌연변이시험 결과가 음성인 원료의약품 및 불순물과 동일한 경고구조를 가진 것을 고려하여, 출발물질 A는 클래스 4(경고구조가 있으나, 검사된 원료의약품 또는 원료의약품과 관련된 화합물에 동일한 경고구조가 있고 비-변이원성임)에 해당하는 것으로 판정하였다. 참고로 아닐린은 국제암연구소(IARC)에서 사람에서 발암을 유발하지 않는 물질인 그룹 3(not classifiable as to carcinogenicity in humans)에 해당한다.

표6. 두 가지 (Q)SAR 수행 후, 전문지식을 통한 최종 음성으로 판정한 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과			복귀돌연변이 시험
		I	II	전문가 최종 판정	
1	불순물 A	x	○	음성(클래스5) 두 가지 프로그램의 예측결과로 경고구조 여부 확인 불가함. 유사 구조 물질의 복귀 돌연변이시험 결과는 음성임을 근거로 불 순물 A는 경고구조 없음	Not Test
2	중간체 B	x	판정 불가	음성(클래스4) 두 가지 프로그램의 예측결과로 경고구조 여부 확인 불가함. 복귀돌연변이시험 음성 인 원료의약품과 기본구조가 같아 동일 경 고구조를 가진 것으로 예측 및 비-변이원 성으로 판정함	Not Test
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II MultiCASE(1.4.6.6)					

불순물 A는 출발물질의 합성에 사용된 물질로 통계에 기반한 방법 (MultiCASE(1.4.6.6))은 변이원성으로 예측하였으나, 전문적 경험 규칙에 기반 방법 (Derek(3.0.1))은 비변이원성으로 예측하여 서로 상충된 예측 결과를 제시하였다. 불순물 A는 미국국립보건원의 독성학정보(TOXNET)에서 복귀돌연변이시험 결과 음성으로 보고한 2-아미노피린과 구조적으로 유사한 화학물질로, 유사한 생물학적 활성을 가질 것으로 예측되어 경고구조가 없는 것(클래스 5)으로 간주하였다.

중간체 B는 시뮬레이션 결과 한 개의 프로그램에서는 음성, 다른 프로그램에서는 명확한 독성학적 예측을 제시하지 못하였다(MultiCASE프로그램에서 판정불가). 중간체 B는 원료의약품과 기본구조가 같아 동일 경고구조를 가진 것으로 예측하였으며, 원료의약품으로 복귀돌연변이시험 결과 음성임이 확인되었으므로 비-변이원성 불순물로서 판정하였다(클래스 4).

2. (사례2) (Q)SAR 음성결과를 변이원성 시험으로 최종 양성 판정

표7. 세 가지 (Q)SAR 수행 후, 복귀돌연변이시험 결과 양성인 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과				복귀돌연변이 시험	전문가 최종 판정
		I	II	III	전문가 의견		
1	중간체 A	×	판정 불가	×	(Q)SAR 예측 결과를 통 하여 경고구조 여부를 판정하기에 근거 부족	양성	양성(클래스2) 복귀돌연변이시 험 결과 양성
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. MultiCASE(2.400), III. Leadscope(1.5.0_4)							

중간체 A의 변이원성을 판정하기 위해 세 가지 (Q)SAR 프로그램의 예측 데이터를 고찰한 결과, 음성과 판정불가가 혼재되어 있고 예측결과를 해석할 수 있는 구조-독성에 대한 근거 등이 부족하였다. (Q)SAR 프로그램을 통한 중간체 A의 경고구조 여부를 명확하게 확인하지 못하였으나, 해당 물질의 유전독성 여부를 확인하기 위하여 분리정제 후 복귀돌연변이시험을 수행하였다. 그 결과, 변이원성이 있는 것으로 확인되었다. 변이원성은 확인되고 발암성은 확인되지 않았으므로 클래스 2로 분류하였다.

표8. 두 가지 (Q)SAR 수행 후, 복귀돌연변이시험 결과 양성인 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과			복귀돌연변이 시험	전문가 최종 판정
		I	II	전문가 의견		
1	출발물질 A	×	×	(QSAR 수행 결과 음성으로 예측되었으나, 복귀돌연변이시험 결과 양성인 불순물과 구조적으로 유사성이 매우 높으므로 경고구조 있는 것으로 판단함 최종 분류를 위하여 복귀돌연변이시험 수행 필요	양성	양성(클래스2) 복귀돌연변이 시험 결과 양 성
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. Leadscope(1.7)						

출발물질 A는 전문적 경험 규칙에 기반 방법(Derek(3.0.1)) 및 통계에 기반한 방법(Leadscope(1.7)) 결과 모두 음성으로 예측되었다. 그러나 출발물질 A와 구조적으로 유사성이 매우 높은 불순물의 복귀돌연변이시험 결과 양성임을 고려하여 최종적으로 출발물질 A는 경고구조가 있는 것으로 판단하였다. 출발물질 A의 최종 분류를 위하여 단독으로 복귀돌연변이시험을 수행하였으며, 그 결과 변이원성이 있는 것이 확인되어 출발물질 A는 클래스 2로 분류하였다.

표9. 세 가지 (Q)SAR 수행 후, 복귀돌연변이시험 결과 음성인 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과				복귀돌연변이 시험	전문가 최종 판정
		I	II	III	전문가 의견		
1	불순물 A	○	○	○	경고구조는 할로겐화알킬 구조에 기인함. 할로겐화알킬은 유전독성이 있는 것으로 알려진 구조이나 불순물 A는 염화알킬의 긴 사슬 구조로 비변원성으로 예상됨. 불순물 A는 원료 의약품 구조말단에 염화물이 치환된 물질로, 최종 분류를 위해 복귀돌연변이시험 수행	음성	음성(클래스4) (Q)SAR 결과와 상반된 결론을 내린 후, 이를 검증하기 위해 복귀돌연변이시험 수행 결과 음성. 또한, 원료의약품의 복귀돌연변이 시험결과 음성
2	불순물 B	×	판정 불가	○	(Q)SAR 예측 결과를 통하여 경고구조 여부를 판정하기에 부족. 엄격한 경고구조가 있음으로 예측하였으나 관리기준을 TTC이하로 설정하기 위해서는 고비용 정제공정이 필요하므로 최종 분류를 위하여 복귀돌연변이 시험 수행	음성	음성(클래스5) 복귀돌연변이 시험 결과 음성
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. MultiCASE(2.400), III.Leadscope(1.5.0_4)							

불순물 A에 대해 한 가지의 전문적 경험 규칙에 기반한 방법(Derek(3.0.1)) 및 두 가지의 통계에 기반한 방법(MultiCASE(2.400) 및 Leadscope(1.5.0_4))을 사용하여 유전독성을 예측하였다. 세 가지 프로그램 모두 양성으로 경고구조가 있는 것으로 예측되었으나, (Q)SAR 예측 결과에 대한 추가적인 입증 근거 및 전문 지식에 기초하여 비변이원성 물질로 고찰하였다. 불순물 A의 구조는 원료의약품 구조 말단에 염화물이 치환된 할로젠화알킬 구조로, (Q)SAR 예측결과는 할로젠화알킬 경고구조에 기인한 것으로 확인되었다. 할로젠화알킬은 DNA에 직접적으로 알킬화 시킬 수 있는 친전자적인 물질(electrophilic species)이므로 많은 물질들이 박테리아 변이원성 시험에서 양성으로 나올 수 있다. 그러나 일반적으로 염화알킬의 경우 브로민화알킬이나 아이오딘화알킬보다 돌연변이 유발성이 적으며, 염화메틸, 염화에틸 및 염화이소프로필 같이 짧은 사슬을 가진 경우에 돌연변이를 일으키나 이보다 긴 사슬을 가진 염화부틸과 염화도데실은 비변이원성 물질로 알려져 있다. 불순물 A의 경우 염화알킬구조이면서 긴 사슬을 가진 구조이므로 비변이원성으로 예상하였다. 불순물 A를 분리 및 정제하여 단독으로 복귀돌연변이시험 수행한 결과 음성임이 확인되었으며, 원료의약품의 복귀돌연변이시험 결과 음성이었다(클래스 4).

불순물 B는 세 가지 (Q)SAR 프로그램에서 음성, 판정불가 및 양성의 결과가 혼재되어 경고구조 여부를 판단하기 어려웠다. 불순물 B의 구조 중 일부로서 3-플루오로아닐린이 있으며, 유사 구조인 4-플루오로아닐린은 복귀돌연변이시험 결과 양성(weakly positive)이 있는 것으로 확인되었다¹²⁾. 경고구조가 있음으로 예측되나 매 배치별 불순물 B를 허용한계 수준 이하로 관리하기 위해서는 고비용의 정제과정이 수반되어야 하므로, 최종 판정을 위하여 불순물 B 복귀돌연변이시험을 수행하였다. 그 결과 불순물 B 구조에 기초한 유전독성 우려는 없었다(클래스 5).

표10. 두 가지 (Q)SAR 수행 후, 복귀돌연변이시험 결과 음성인 경우

No	불순물 화학명	QSAR 결과			복귀돌연변이 시험	전문가 최종 판정
		I	II	전문가 의견		
1	출발물질 A	○	○	(Q)SAR 예측 결과 경고 구조 있으나, 복귀돌연변이시험 결과 음성인 원료의약품과 동일 경고 구조.	음성	음성(클래스4) 복귀돌연변이시험 결과 음성임

2	시약 B	×	판정 불가	(Q)SAR 예측 결과를 통 하여 경고구조 여부를 판정하기에 근거 부족.	음성	음성(클래스5) 추 가 적 으 로 CAESAR-Vega 프로그램 예측 결과 음성이며, 복귀돌연변이시 험 결과 음성
출발물질 A의 (Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. Leadscope(1.7)						
시약 B의 (Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II MultiCASE(1.4.6.6)						

출발물질 A는 한 가지의 전문적 경험 규칙에 기반한 방법(Derek(3.0.1))과 한 가지의 통계에 기반한 방법(Leadscope(1.7))을 사용하여 유전독성을 예측하였다. 두 (Q)SAR 수행결과 경고구조가 있는 것으로 예측되었으나, 동일 경고구조를 가지는 원료의약품 및 출발물질 A의 복귀돌연변이시험 결과 모두 음성이었다(클래스4).

시약 B는 전문적 경험 규칙에 기반한 방법인 Derek(3.0.1)은 음성으로 예측하였으나, 통계에 기반한 방법인 MultiCASE(1.4.6.6)의 예측결과는 판정불가이었다. MultiCASE의 예측결과는 프로그램에서 사용하는 유전독성 데이터베이스에 시약 B의 독성예측에 사용될만한 구조가 없음(out of domain)에 의한 것이다. 따라서 시약 B의 유전독성 여부를 예측할 수 있는 유전독성 데이터베이스를 가진 통계에 기반한 예측 방법인 CAESAR-Vega으로 해당 물질에 대하여 추가적으로 분석을 수행하였으며 그 결과 음성이었으나, 시약 B의 구조가 포함된 불순물의 (Q)SAR 결과는 양성/양성이었고, 불순물의 복귀돌연변이시험 결과 양성이었다. 따라서 시약 B는 경고구조가 있는 것으로 예측하였으며, 최종 판정을 위한 복귀돌연변이시험이 필요하다고 판단되었다. 시약 B로 복귀돌연변이시험을 수행한 결과 비변이원성임이 확인되었다. (Q)SAR 프로그램 예측 결과 및 복귀돌연변이시험 결과 등을 종합적으로 판단하여 시약 B는 클래스 5로 분류하였다.

3. (사례3) 문헌검색 또는 데이터베이스를 통해 판정(클래스 1, 2, 5)

표11. 클래스 1 혹은 2로 분류 예시

No	불순물 화학명	문헌검색 결과
1	시약 A	양성(클래스 2) 복귀돌연변이시험 결과 양성임
2	시약 B	양성(클래스1) 복귀돌연변이시험 결과 양성이며, 랫트 흡입경로에서 발암성 확인됨

표 4의 불순물의 변이원성시험에 대한 데이터베이스 및 문헌검색을 수행하여 유전독성과 발암성 여부를 확인하였다. 시약 A는 복귀돌연변이시험 결과 양성이며 발암성에 대한 근거가 없어, 클래스 2로 분류되었다. 시약 B의 유전독성 문헌조사 결과, 박테리아 변이원성 양성, 수컷 마우스 폐에서 발암성이 확인되어 클래스 1(변이원성과 발암성이 확인된 물질)로 분류하였다.

표12. 클래스 5로 분류 예시

No	불순물 화학명	문헌검색 결과
1	불순물 A	음성(클래스5) 복귀돌연변이시험은 음성임
2	시약 B	음성(클래스5) 복귀돌연변이시험 결과 양성이나, in vivo(랫트 chronic bioassay)에서 최종 발암성이 없음이 확인된 물질임
3	시약 C	음성(클래스5) 복귀돌연변이시험 결과 음성임
4	불순물 D	음성(클래스5) 복귀돌연변이시험 결과 음성임 인체 내에 존재하는 내인성 물질임

불순물 A는 출발물질 A의 전구체로서 시판되는 물질이다. 불순물 A는 복귀돌연변이시험 결과 유전독성이 없는 것으로 확인되었으므로^{13),14)}, 비변이원성 불순물로 판정하였다.

시약 B는 복귀돌연변이시험 결과 양성으로 보고한 문헌이 있으나, 시약 B의 유전독성에 대하여 동물시험결과 발암성이 없는 것으로 확인되었다^{15),16)}.

시약 C는 복귀돌연변이시험 결과 음성임을 확인한 문헌을 근거로 클래스 5로 분류하였다. J S Allen과 J Panfili는 시약 C를 포함한 여러 시약에 대한 복귀돌연변이시험을 수행하였으며, 시약 C는 변이원성이 없는 것으로 평가하였다¹⁷⁾. 또한 미국 환경 보호국(US EPA)의 독성평가 보고서에서 시약 C는 비변이원성임이 확인되었다¹⁸⁾.

불순물 D는 복귀돌연변이시험 결과 음성임을 확인한 문헌을 근거로 클래스 5로 분류하였다¹⁹⁾. 참고로 불순물 D는 인체 내 존재하는 내인성 물질로서 안전성에 대한 우려는 없는 것으로 확인되었다.

일반적으로 의약품 개발 단계에서 (Q)SAR 방법을 이용하여 불순물의 유전독성을 예측하는 경우, 원료의약품 합성에 사용되는 시약, 출발물질, 중간체 등을 포함한 모든 불순물 분석하게 되는 경우가 많다. 불순물 A, 시약 B, 시약 C, 불순물 D는 문헌검색 결과를 이용하여 유전독성을 판정하였으나, 다른 불순물과 함께 (Q)SAR 시뮬레이션을 실시한 결과는 표13과 같다. 시판되는 출발물질, 시약 등은 문헌 검색을 우선시하여 유전독성 여부를 판정하는 것이 바람직하다.

표13. 화학물질(표 12)의 (Q)SAR 시뮬레이션 결과

No	불순물 화학명	QSAR 결과	
		I	II
1	불순물 A	○	Not Test
2	시약 B	○	Not Test
3	시약 C	x	판정 불가
4	불순물 D	○	○
(Q)SAR 프로그램 : I. Derek(3.0.1), II. Leadscope(1.7)			

‘의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인’에서는 변이원성과 발암성이 확인된 물질(클래스 1)에 대하여 TTC에 기반한 섭취 허용량 대신 화합물 특이적인 위해평가에 기반한 섭취허용량 계산을 적용하도록 하고 있다. 최근 의약품국제조화위원회(ICH)에서는 의약품에서 알려진 발암성 양성 데이터를 가진 변이원성 불순물의 화합물 특이적인 위해평가에 기반한 섭취허용량을 제시하였다²⁰⁾. 의약품 제조에 자주 사용되는 물질 혹은 화합물 특이적인 위해평가에 기반한 섭취허용량 계산 원리를 설명하기에 유용한 화학물질이 선정되었다.

<용어해설>

허용 한계 (Acceptable limits):

의약품의 섭취 허용량과 1일 용량으로부터 결정된 원료의약품 혹은 완제의약품 중에 허용된 불순물의 최고 농도

판정 기준 (Acceptance criterion):

시험의 결과가 받아들여질 수 있을 지를 판정하기 위한 한계, 허용범위, 그 외의 적절한 기준

분해 산물 (Degradation product):

ICH Q3B에서 정의한 분해 생성물로 빛, 온도, pH, 물의 영향이나 첨가제, 직접용기 마개 시스템과의 반응에 의하여 신규 완제의약품의 제조와 보존 시에 원료의약품의 화학적 변화로 발생하는 불순물

전문가 지식 (Expert knowledge):

의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인에서 전문가 지식은 변이원성에 관한 컴퓨터를 활용한(*in silico*) 모델 예측의 정확성을 기존 데이터와 기타 관련 정보를 이용하여 평가하는 것을 일반화하여 말함

유전 독성 (Genotoxicity):

유발 기전에 관계없이 유전물질에서 발생한 모든 유해한 변화를 포괄하는 용어

불순물 (Impurity):

원료의약품 또는 완제의약품에서 주성분 또는 첨가제가 아닌 다른 성분

변이원성 불순물 (mutagenic impurity):

적절한 변이원성 시험 (예, 박테리아를 이용한 복귀돌연변이시험)에서 변이원성이 있는 것이 확인된 불순물

(Q)SAR 및 SAR:

의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인에서는 실험 데이터에서 얻은 (정량적)구조-활성 관계를 이용한 변이원성과 화합물의 분자(부분) 구조사이의 상관관계를 말한다.

경고구조(Structural alert):

의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인에서는, 변이원성과 관련된 화학 물질군 또는 분자(부분) 구조를 의미함.

신뢰성(reliability) :

정해진 계획에 따라 짧은 시간차로 반복 수행할 때, 실험실내 혹은 실험실간의 재현성이 확보된 것을 말함

타당성(relevance) :

(Q)SAR 예측 결과가 실제 시험결과간의 일치성(정확성)을 말함

예측의 정확성(accuracy of prediction) :

예측방법에 의해 정확하게 예측된 화학물질의 비율을 의미함.

<참고문헌>

- 1) ICH M7 Assessment and Control of DNA Reactive(Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential carcinogenic Risk, 2014
- 2) OECD Guidance document on the validation of (quantitative) structure-activity relationship[(Q)SAR] models. OECD Environment, Health and Safety Publications, EHS Series on Testing and Assessment, No. 69, ENV/JM/MONO(2007)2, OECD Paris, France, 2007
- 3) 의약품 불순물의 유전독성 평가 가이드라인, 식품의약품안전처, 2015
- 4) ACCVIP(The Australian Computational Chemistry via the Internet Project), QSAR. Available from <http://hydra.vcp.monash.edu.au/modules/mod4/index.html>
- 5) Benfenati, E. : Theory, guidance and applications on QSAR and REACH, 2012. Orchestra Project website: <http://www.orchestra-qsar.eu/documents/333>.
- 6) Serafimova R, Gatnik MF, Worth A. : Review of QSAR models and software tools for predicting genotoxicity and carcinogenicity. JRC Scientific and Technical Reports, Joint Research Center, European Commission, Institute for Health and Consumer Protection, 2010. http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_databases/jrc-qsar-inventory/review-qsar-models.
- 7) J. C. Dearden, M. D. Barratt, R. Benigni, D. W. Bristol, R. D. Combes, M. T. D. Cronin, P. N. Judson, M. P. Payne, A. M. Richard, M.Tichy, A. P. Worth and J. J. Yourick : The Development and Validation of Expert Systems for Predicting Toxicity, The Report and Recommendations of an ECVAM/ECB Workshop(ECVAM workshop 24), Alternat. Lab. Animals, 25, 223-252, 1997
- 8) Klopman, G. : MULTICASE. 1. A Hierarchical Computer Automated Structure Evaluation Program. Quant, Struct.-Act. Relat., 11, 176-184, 1992
- 9) 김현경, 김지영, 차현경, 박미영, 성창호, 김필제 : 최적의 수생생태독성 예측을 위한 (Q)SARs 활용방안 연구. 국립환경과학원, 2010
- 10) <http://www.lhasalimited.org/products/derek-nexus.htm>

- 11) National Toxicology Program, <http://ntp.niehs.nih.gov/testing/status/agents/ts-10458-c.html>
- 12) Zimmer D, Mazurek J, Petzold G, Bhuyan B. : Bacterial mutagenicity and mammalian cell DNA damage by several substituted anilines. *Mutat Res.* 77(4), 317-26, 1980
- 13) Amberg A, Braun K, Kauffmann H, et al. : Influence of solvents on Ames II results of different carboxylic acid halides. *Toxicologist* 90, 522, 2006. Available from <http://www.toxicology.org/AI/PUB/Tox/2006Tox.pdf>
- 14) Amberg A, Braun K, Czich A, Kauffmann HM, Spirkel HP, Stammberger I, Troschau G. : Positive genotoxicity results due to the formation of genotoxic reaction-products of the solvent DMSO with carboxylic/sulfonic acid halides. poster, Society of Toxicology, 2008
- 15) European Chemicals Agency, <http://www.echa.europa.eu/>
- 16) Toxicity information on sodium azide is available from database of the Carcinogenic Potency Database (CPDB): Available from <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/chempages/AZIDE%2C%20SODIUM.html>
- 17) Allen JS, Panfili J. Ames Salmonella/mammalian-microsome testing of peptides and peptide synthesis reagents. *Mutat. Res.*, 170(1-2), 23-9, 1986
- 18) Interim acute exposure guideline levels(AIGLS) for selected chloroformate. EPA, http://www.epa.gov/oppt/aegl/pubs/chloroformates_interim.pdf
- 19) National Toxicology Program. <http://ntp.niehs.nih.gov/testing/status/agents/ts-10241-f.html>
- 20) Addendum to ICH M7 : ASSESSMENT AND CONTROL OF DNA REACTIVE (MUTAGENIC) IMPURITIES IN PHARMACEUTICALS TO LIMIT POTENTIAL CARCINOGENIC RISK(Step 2) <http://www.ich.org/products/guidelines/multidisciplinary/article/multidisciplinary-guidelines.html>

“의약품 불순물 유전독성 시뮬레이션 평가 사례집”

발행일 2016월 6월

발행인 손 여 원

편집위원장 이 선 희

편집위원 김정미, 홍정희, 오우용, 승호선, 안충열, 임종미, 정재원,
김송이, 송영미

도움주신분 순환계약품과(박재현, 이희진), 중앙약품과(윤경은, 김동환),
의약품규격과(이경신, 지정은), 특수독성과(김주환)

발행처 식품의약품안전평가원 의약품심사부 소화계약품과
