

**합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의
임상시험 시 비임상시험 가이드라인
[민원인 안내서]**

2024. 11. 28



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

임 상 심 사 과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의 임상시험 시 비임상시험 가이드라인
(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·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
	☐ 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 단순 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.	
지침서·안내서 구분	☐ 행정사무의 통일을 기하기 위하여 내부적으로 행정사무의 세부 기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞지침서) ☒ 아니오
	☐ 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 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 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음.		
2024년 11월 28일		
담당자 확 인(부서장)		장 정 인 이 윤 숙

이 안내서는 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의 임상시험 시 비임상 시험에 관한 자료에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술 방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 본 안내서는 2024년 11월 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 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 임상심사과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-5154

팩스번호: 02-2110-0818

목 차

I. 서론	1
II. 일반적 고려사항	1
1. 적용 범위	1
2. 일반 원칙	2
3. 동물 종/동물 모델	2
4. 시험물질의 특성	4
5. 기타 고려사항	6
III. 개별 독성시험	9
1. 단회투여독성시험	9
2. 반복투여독성시험	9
3. 유전독성시험	11
4. 생식·발생독성시험	11
5. 발암성시험	12
6. 기타 독성시험	13
IV. 약리에 관한 자료	15
1. 개념 증명	15
2. 안전성약리시험	15
3. 독성동태/약물동태	16
V. 참고문헌	18

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1396-01	2024.11.28	가이드라인 제정

I. 서론

합성 올리고뉴클레오타드는 미리 정의된 서열을 갖도록 합성한 뉴클레오타드 중합체로서 이를 의약품 개발에 이용하는 연구가 지속적으로 이루어지고 있으며, 임상시험계획 승인 사례도 꾸준히 증가하고 있다. 그러나 아직까지 이들 의약품의 임상시험 시 비임상 평가에 대하여 제시된 가이드라인은 없다.

합성 올리고뉴클레오타드 의약품 비임상 평가는 「의약품등의 독성시험기준(식약처 고시)」, 「의약품등의 약리시험기준(식약처 고시)」 및 「의약품 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」 등 비임상 평가 관련 고시 및 가이드라인 등을 참고하여 사례별로 수행하고 있다. 본 가이드라인에서도 시험방법 등 많은 부분에서 기존 비임상 가이드라인의 내용을 참조하고 있다.

「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」에서는 해당 가이드라인이 합성 올리고뉴클레오타드 의약품에도 적용될 수 있다고 기술하고 있다. 다만, 합성 올리고뉴클레오타드 의약품의 경우에는 생물의약품에서는 예상하기 어려운 세포 내로의 작용이나 화학적 변형에 의한 영향 등에 대해서도 검토가 필요하다.

이 가이드라인에서는 합성 올리고뉴클레오타드 의약품의 임상시험시 비임상 평가를 위한 기본 원칙과 개별 시험방법에 대한 권고사항을 제공하고자 한다.

II. 일반적 고려사항

1. 적용 범위

이 가이드라인에 적용되는 의약품은 화학 합성 단계를 거쳐 인위적으로 구조를 변형한 합성 올리고뉴클레오타드이나, 경우에 따라서 자연계 올리고뉴클레오타드나 aptamer 또는 decoy 올리고뉴클레오타드 의약품에도 적용이 될 수 있다. 합성 올리고뉴클레오타드 의약품에는 ASO(Antisense oligonucleotide), siRNA(small interfering RNA) 등이 해당된다.

2. 일반 원칙

- 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품 비임상시험에서는 해당 의약품의 약리학적 및 독성학적 특성을 밝히기 위하여 표적기관, 용량 의존성, 노출량과의 관계, 가역성(reversibility) 등에 대해 평가한다.
- 일반적으로 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품 개발에 요구되는 비임상시험 자료는 「비임상시험관리기준(식약처 고시)」에 따라 시험한 자료이어야 한다.
- 비임상시험의 투여경로는 임상 투여경로와 동일한 투여경로를 사용해야 하며, 임상 투여경로가 아닌 대체 경로를 사용하는 경우 이에 대한 타당성을 입증해야 한다.
- 비임상시험에 사용하는 제제의 조성은 가능한 한 임상에서 사용될 제제의 조성과 동일해야 한다.
- 독성시험은 임상적 일반증상 관찰, 체중, 사료섭취량, 임상병리학적 관찰, 독성 동태 분석, 병리조직학적 검사를 포함한 표준 핵심(standard battery) 독성학적 평가가 필요하다.
- 연구보고서에는 다음 사항이 포함되어야 하지만 이에 국한되지는 않는다.
 - 연구 목적에 대한 설명, 대조 및 시험물질에 대한 상세한 정보(예 : 순도, 안정성 등), 시험 디자인(예 : 대조군, 용량 수준, 군당 성별 동물 수 등), 동물 종(또는 동물 모델), 시험방법, 관찰항목 등, 모든 관찰항목에 대한 완전한 데이터 셋트(예 : 개별 동물 라인 목록 및 요약 표), 결과 분석 및 해석, 결론
- 개발 중인 합성 뉴클레오타이드 의약품이 현재 이용가능한 치료법이 없고 생명을 위협하는 질병 또는 심각한 질병 치료를 대상으로 하는 경우에는 각각의 사례에 따라 특정 시험에 대한 실시를 연기하거나, 단순화 또는 생략 가능하다. 진행성 암에 적용하는 경우에는 「항암제 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」을 참고할 수 있다.

3. 동물 종/동물 모델

1) 동물 종

- 일반적으로 다른 의약품과 마찬가지로 2가지 종에 대한 비임상 안전성 평가가 이루어져야 한다.

- 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의 표적 독성 평가는 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」를 참고할 수 있다.
 - 표적 독성 평가는 해당 동물 종이 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의 약리학적 효과 또는 생물학적 활성에 적절하게 반응하는지 고려하는 것이 중요하다.
 - 표적 독성 평가는 가급적 약리학적 효과 또는 생물학적 활성을 나타내는 동물 종 1종 이상에 대해 평가한다.
- 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품과 저분자 유기 화합물 성분의 유사성으로 인해 표적 외 독성 평가는 기본적으로 「의약품 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고할 수 있다.
 - 표적 외 독성 평가는 약리학적 효과 또는 생물학적 활성에 대한 반응성과 무관하게 설치류 1종 및 비설치류 1종에 대해 평가하며, 약리학적 효과 또는 생물학적 활성이 있는 동물 종이 이용 가능한 경우 최소 1종을 포함하는 것을 권고한다.
- 이용가능한 합성 올리고뉴클레오타이드 계열 효과에 대한 정보는 독성 연구를 위한 동물 종 선택과 결과 해석에 유용할 수 있다. 합성 올리고뉴클레오타이드 대사에서 종간 차이는 종 선택에 영향을 미치는 인자 중 하나이다. 합성 올리고뉴클레오타이드의 뉴클레아제 저항성과 대사체의 유사성은 시험관 내 또는 생체 내에서 결정될 수 있기 때문에 종 특이적 대사산물 차이가 관찰된다면 인간과 유사한 대사 양상을 가진 동물 종을 선택하는 것이 적절하다.

2) 동물 모델

- 비임상적 개념 증명이나 안전성 평가를 위한 동물 모델의 유용성은 신중하게 고려되어야 하고, 선택된 동물 모델의 타당성은 정당화되어야 한다. 선택된 동물 모델은 임상시험 대상 환자와 이상적으로 유사한 병태생리학적 특성을 지니고 환자의 질병이나 상태를 최대한 유사하게 재현하여야 한다.
 - 적절한 동물 모델에는 자연 발생적 또는 실험적으로 유도된 질병 모델, 형질전환 knock-out 또는 knock-in 질병 모델, 그리고 특히 인간화된 동물 모델이 포함될 수 있다.
- 설치류와 같은 소동물은 쉽게 이용 가능하고 조작이 쉽기 때문에(예 : 형질전환 모델 생성) 많이 사용된다. 그러나 다음의 경우와 같이 소동물 모델에서 인간으로

의 외삽이 어렵다면 대동물 모델이 필요할 수 있다.

- 예를 들면 동물 모델의 수명이 짧거나 혹은 감소하거나, 신체 크기 및 해부학적 차이로 인해 소동물 모델에서 특정 투여 절차나 장치를 제외해야 하는 경우가 해당된다.
- 생체 내 동물 연구는 3R(감소/개선/대체) 원칙을 고려하면서 견고한 자료 생성을 보장하기 위하여 신중하게 계획되어야 한다. 결론이 나지 않는 자료 생성을 초래하는 동물시험은 피해야 한다. 적절한 경우 시험관 내 또는 생체 외 연구로 대체될 수 있으며, 특히 작용기전 연구를 위하여 2D 및 3D 조직 모델, 오가노이드 및 미세유체공학(microfluidics)를 포함한 세포 및 조직 기반 모델의 개발 및 사용이 권장된다.

4. 시험 물질의 특성

1) 대사체/분해산물

뉴클레아제에 의해 분해되어 자연 발생하는 핵산은 안전성에 특별한 우려는 없을 것으로 여겨진다. 그러나 대부분의 개발 중인 합성 올리고뉴클레오티드 의약품은 약동학, 표적 조직으로의 약물 전달 및/또는 뉴클레아제 분해에 대한 안정성을 개선하기 위해 화학적으로 변형된다. 이러한 변형의 예로는 뉴클레오사이드 또는 포스포디에스테르 연결에 대한 변형과 다른 분자(예 : 펩타이드, 당, 폴리에틸렌 글리콜, 단클론항체)와 접합(conjugated)하는 변형이 해당된다.

화학적으로 변형된 부분이 포함된 대사체나 분해산물은 화학 합성의약품과 동일하게 「의약품의 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」에 따른 비임상 안전성 평가를 해야 한다.

- 화학적 변형을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드의 대사체가 체내에서 생성되는 경우 예상할 수 있는 잠재적인 안전성 문제 중의 하나는 화학적으로 변형된 모노 뉴클레오티드가 DNA에 결합(incorporation)되는 것이다. 뉴클레오시드는 일반적으로 인산화에 의한 뉴클레오티드로의 전환에 의해 대사적으로 활성화되며 다양한 핵산 대사 효소의 억제를 통해 세포독성을 유발할 수도 있다. 현재까지 이용 가능한 올리고뉴클레오티드의 구조와 독성 사이의 관련성에 대한 자료들은 올리고뉴클레오

티드로부터 생성된 분해산물이 세포독성을 유발하는지 또는 인간 DNA 또는 RNA에 결합(incorporation)되는지 여부를 평가하는데 유용할 수 있다.

- 다른 분자에 접합(conjugated)된 올리고뉴클레오티드의 경우, 추가된 분자와 그의 대사산물에 대한 안전성을 평가하여야 한다. 추가된 분자가 신규 물질이 아닌 경우 안전성에 대한 충분한 정보가 제공될 수 있으나, 추가된 분자가 신규 물질인 경우(즉, 이용가능한 안전성 정보가 거의 없거나 전혀 없는 경우)에는 추가된 분자에 대한 안전성은 별도의 단기시험 또는 접합 올리고뉴클레오티드의 단기시험 중 균을 추가하는 방법으로 평가될 수 있다. 접합 올리고뉴클레오티드의 대사는 시험관 내 인간 및 동물 모델, 동물 중에서 고려되어야 한다. 접합 올리고뉴클레오티드가 체내에서 전혀 대사되지 않거나 동물에서 인체에서와 동일한 대사산물로 대사되는 경우 추가적인 안전성 연구는 필요하지 않을 수 있다.

2) 불순물

합성 올리고뉴클레오티드에 함유된 불순물은 올리고뉴클레오티드 관련 물질, 저분자 유기 불순물, 잔류용매 및 금속 불순물 등으로 분류할 수 있다. 합성 올리고뉴클레오티드 제조 과정 중에는 가능한 한 불순물을 줄이도록 하는 것이 필요하며, 품질 정보, 비임상 안전성 평가 결과 및 공개 자료와 같은 정보에 기반한 인체 대상 안전성 평가가 필요하다.

- 올리고뉴클레오티드 관련 물질은 물리화학적 특성이 유사하여 개별적으로 분리할 수 없어 대부분의 경우 「원료의약품 유연물질 기준 가이드라인(민원인 안내서)」에 따른 안전성을 확인하는 것이 어려울 수 있다. 따라서 합성 올리고뉴클레오티드에서 관련 물질의 안전성은 원료의약품 또는 완제의약품을 이용한 비임상 안전성 결과(예 : 불순물 및 독성에 관한 정보)를 바탕으로 평가한다.
- 원료의약품 또는 완제의약품의 불순물 정보에 근거하여, 저분자 유기 불순물에 대한 비임상 안전성은 「원료의약품 유연물질 기준 가이드라인(민원인 안내서)」, 「완제의약품 유연물질 기준 가이드라인(민원인 안내서)」, 「의약품 불순물 유전독성 평가 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고하여 평가한다. 잔류용매는 대한민국약전 [별표 6] 일반정보 「의약품 잔류용매 기준 가이드라인」, 금속 불순물은 「의약품 금속 불순물 평가 및 관리 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고하여 평가한다.

5. 기타 고려사항

1) 비임상 평가

- **(표적 효과/표적 독성)** aptamer와 decoy 핵산을 제외한 다수의 올리고뉴클레오타이드에서는 표적 염기서열에 혼성화되어 표적 효과(on-target effect)를 발현하고, 표적 효과 작용의 연장으로 과도한 약리학적 효과에 의한 원하지 않는 효과인 표적 독성(on-target toxicity)을 유발할 수 있다. 이 표적 독성을 평가할 때에는 종 특이성 및 표적 특이성이 높다는 점 때문에 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」을 참고하는 것을 고려할 수 있다.
 - 다만, 약리학적으로 반응하는 동물 종이라 하더라도 인간 특이적 염기 서열을 표적으로 하는 일부 올리고뉴클레오타이드에 대해 식별되지 않을 수 있다. 이러한 경우 표적 독성의 위험성은 in silico 또는(및) 시험관 내 마이크로어레이 분석과 표적 서열에 의하여 암호화된 생물학적 기능에 대한 배경 정보를 사용하여 평가하는 것이 유용할 수 있다.
- **(표적 외 독성)** 표적 효과 이외의 의도하지 않은 효과, 즉 표적 외 독성(off-target toxicity)은 (1) 표적 외의 유사한 염기서열에 혼성화되어 나타나는 독성(혼성화 의존성 표적 외 독성) 또는 (2) 혼성화를 통하지 않고 합성 올리고뉴클레오타이드의 구조적/물리적/화학적 성질에 기인한 독성(혼성화 비의존성 표적 외 독성)을 생각할 수 있다.
 - 혼성화 의존성 표적 외 독성에 대해서는 인간과 동물의 유전자 서열이 다르다는 점에서 인간에서의 안전성을 동물시험에서 평가하는 것이 아니라 인간의 genomic DNA나 RNA 정보를 이용한 in silico 분석이나, 인간세포를 이용한 in vitro 유전자 발현 분석 등을 이용하여 평가하는 것이 권장된다.
 - toll-like receptor (TLRs)에 의해 매개되는 선천적 면역 변화 또는 올리고뉴클레오타이드의 생체 내 약동학 개선을 위한 구조 화학적 변형의 사례와 같이 혼성화에 기인하는 것이 아닌 물리적 또는 화학적 특이성 때문에 발생하는 혼성화 비의존성 표적 외 독성은 화학 합성 의약품의 독성과 유사하여 이에 대한 독성 평가는 반드시 관련 의약품의 비임상 안전성 평가 가이드라인을 참고하여 평가해야 한다.

2) 계열 효과(Class effect)

- 합성 올리고뉴클레오타이드의 계열효과는 핵산 분자에 공통적인 표적 외 효과이며 혼성화와는 무관하다.
 - 현재까지 알려진 계열 효과로는 혈장단백질 결합에 의한 변화(활성화 부분 트롬보 플라스틴 시간(aPTT) 연장 및 보체 활성화), TLRs에 의해 매개되는 선천성 면역에 대한 효과를 포함한 면역자극 및 염증반응, 신장 및 간 등 약물이 고농도로 분포 되는 장기에 미치는 영향 등이 포함된다.
 - 이러한 효과는 다음과 같은 특징을 지니는 것으로 알려져 있다. (1) 각각 특정 농도에서 발생한다. (2) 특별한 핵산 구조 또는 서열을 포함하고 있는 품목(products)에서 사례별로 관찰된다. 예를 들면, phosphorothioate 올리고뉴클레오타이드(예 : aPTT 연장 및 보체 활성화), siRNA(TLR3에 의해 매개되는 면역자극), CpG 풍부 서열(예 : 보체 활성화 및 TLR9에 의해 매개되는 면역자극) 등이 알려져 있다. (3) 2'-O-methoxyethyl과 같이 특정 화학적 변형에 의해 감소될 수 있다(예 : 면역자극 및 보체 활성화).
- 올리고뉴클레오타이드에 대한 특정 분류에 의해 발생하는 계열 효과가 항상 해당 분류의 모든 올리고뉴클레오타이드에 의해 발생하는 것은 아니며, 올리고뉴클레오타이드에 의해 유발된 일부 독성학적 변화는 계열 효과의 결과일 뿐만 아니라 과장된 약리효과 때문이기도 하다. 비록 특정 분류의 계열 효과에 대하여 이용가능한 정보가 독성학적 변화를 이해하는데 도움이 되긴 하지만, 독성학적 변화는 성분별로(compound by compound) 신중하게 평가되어야 한다.
- 계열효과는 기존 독성 연구를 참고할 수 있으며, 개별 동물 중에서 올리고뉴클레오타이드의 독성을 비교한 결과, 설치류는 보체 활성화에 대한 결과를 제외하고 비-인간 영장류보다 더 예민하다는 것이 관찰되었다. 하지만 이러한 비임상 독성결과를 통해 임상에서의 독성 결과를 항상 예측할 수 있는 것은 아니기 때문에, 올리고뉴클레오타이드 독성의 주요 징후를 이해하기 위하여 계열 효과에 대한 지속적인 연구가 필요하다.

3) 대리 평가(Surrogate)

- 많은 생물의약품은 약리학적 효과에 대한 반응성에 대하여 중간 차이를 보여주므로

종종 비-인간 영장류가 유일하게 독성 연구를 위한 관련 종이 되기도 한다. 이런 경우 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」에서는 독성시험에 일반적으로 사용되는 동물 종으로 약리학적으로 활성이 있는 동종 단백질 또는 대리 평가를 권장한다.

- 그런데 설치류에서 대리 평가로 얻은 독성학적 변화는 때때로 비-인간 영장류에서 임상 후보물질(clinical candidate)을 사용한 독성 변화 결과와 다르게 나타나기도 한다. 이러한 차이는 아마도 임상 후보물질과 대리 평가 사이의 약리학적 효과의 강도 및(또는) 지속 기간이 차이 또는 비-인간 영장류와 설치류 간의 수용체 후 신호 전달 경로(post-receptor signal transduction pathways)의 차이 때문일 것이다. 이러한 차이의 원인은 상황에 따라 다르기 때문에 어떠한 연구 결과를 고려하는 것이 적절한지 결론을 내리기가 어렵다. 또한 대리 평가된 독성 연구 결과로는 임상 후보물질에 대한 안전역 계산이 어려울 수 있다.
- 올리고뉴클레오타이드는 표적 특이성이 높기 때문에 종에 따라 특이성이 있다. 임상 후보물질에 적합한 약리학적 반응을 나타내는 동물 종을 찾아내지 못하는 경우, 동물 종-특이적 대리 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 표적 독성을 평가할 수 있다.
- 대리 올리고뉴클레오타이드는 대리 생물의약품보다 빠르고 저비용으로 만들 수 있어, 구조, 약동학적, 약력학적 측면에서 임상 후보물질과 유사한 대리 평가로 쉽게 선택할 수 있다. 임상 후보물질과 동물 대리 평가 사이의 약력학적 비교 적합성은 수용체 결합(친화도 및 선택성) 및 기능적(역가) 분석에 대한 시험관 내 평가를 통해 결정될 수 있다.
- 그러나 대리 평가로 밝혀진 독성학적 결과(finding)는 표적 효과, 대리 분자 특이적 혼성화 비-의존성 표적 외 효과, 혼성화 비-의존성 계열 효과가 섞여서 나타나고 있다는 점에 유의하는 것이 중요하므로 이러한 결과는 신중하게 해석해야 한다. 또한 대리 평가로 밝혀진 독성학적 결과에 근거하여 임상 후보물질의 표적 외 효과를 평가해서는 안 된다.

III. 개별 독성시험

1. 단회투여독성시험

「의약품의 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」와 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」의 해당 내용을 참고하면 용량 증가 시험(dose escalation studies), 단기 용량 범위 시험(short-term dose-ranging studies), 약리 시험, 반복투여독성시험 등을 통해 급성 독성에 대한 정보를 얻을 수 있다면 별도의 단독투여독성시험은 권고되지 않는다.

2. 반복투여독성시험

합성 올리고뉴클레오타이드를 포함한 대부분의 약물들은 전신 투여인 경우에도 체내에서 균등하게 분포되지 않는다는 점에 유의해야 한다. 최근 개발된 강력한 항 뉴클레아제 활성을 갖는 합성 올리고뉴클레오타이드들은 특정 조직에 축적되어 다른 합성 올리고뉴클레오타이드보다 더 빈번하게 독성을 유발한다. 합성 올리고뉴클레오타이드는 간과 신장에 축적되는 것으로 알려져 있다. 개발 중인 합성 올리고뉴클레오타이드의 장기 투여 후 표적 장기의 축적 정도와 축적에 따른 독성 진행은 독성 평가에서 중요하게 고려된다. 국소투여에서도 투여 부위 뿐만 아니라 전신 순환을 통하여 축적될 것으로 예상되는 장기의 독성 평가가 필요하다.

1) 시작용량 설정

시작용량을 설정하는 일차적인 목표는 약리학적 효과를 가질 것으로 예상되고, 합리적으로 안전한 용량을 확인하는 것이며, 이는 이용 가능한 전체 자료를 바탕으로 과학적으로 타당성이 있어야 한다.

동물시험에서 시험된 용량과 인체 투여를 위해 설정한 용량 사이의 안전역 계산을 위한 근거를 포함하여 시작용량 설정에 이용한 방법을 명확하게 설명하고 정당화해야 한다. 국소투여의 경우 장기 무게, 장기 부피, 종간 투여량 조정(inter-species dose

scaling)에 적합한 기타 사항을 고려해야 한다. 척수강 내 투여의 경우 뇌 척수량에 대해 표준화된(normalized) 용량을 기준으로 종간 투여량 비교 계산을 해야 한다.

2) 고용량 설정

표적 독성 및 표적 외 독성시험 결과를 모두 고려하여 용량을 설정하는 것이 필요하며, 표적 독성에 대해서는 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」를 참고하여 약동학-약력학 접근법을 이용하여 비임상시험에 사용되는 동물 종에서 의도하는 약리학적 효과를 최대화할 수 있는 용량을 고용량으로 하는 것을 검토한다. 표적 외 독성의 경우 「의약품의 비임상시험 가이드라인 (민원인 안내서)」를 참고하여 (1) 최대 내성 용량 (2) 노출 포화 (3) 가능 최대 투여 용량(maximum feasible dose, MFD) (4) 임상 노출의 50 배 노출 한계 (5) 한계 용량(limited dose)(1000mg/kg)을 목표로 설정하는 것을 고려할 수 있다.

의도하는 약리학적 효과가 최대가 되는 용량 또는 위에서 언급한 (1)~(5) 기준 중 낮은 용량을 선택할 근거가 없는 한, 가장 높은 용량을 반복독성시험의 고용량군으로 설정한다.

3) 용량 단계

용량 설정은 용량-반응 결과가 나타나도록 3단계 투여군 설정이 바람직하다. 대리평가 변수를 사용하는 경우 별도의 독성시험 수행이 필요하지 않지만, 대리평가로 인한 과도한 약리학적 작용에 따른 영향을 확인할 수 있는 1개 군을 추가하는 것이 좋다.

비임상 독성시험 결과 심각한 독성에 대한 가파른(steep) 용량-반응 관계 또는 노출-반응 관계가 관찰되는 경우, 또는 심각한 독성에 대한 이용가능한 선행지표(proceeding marker)가 없는 경우, 임상 투여 용량은 일반적인 용량 증분(increment)보다 적은 용량 증분을 고려해야 한다(예 : 두 배로 용량을 올리는 대신 부분적으로 증분).

4) 시험기간

반복투여 독성시험 기간은 「의약품의 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고하여 설정할 수 있으며, 가역성 평가를 위한 사항은 「의약품 비임상시험 가이드라인 질의응답집(민원인 안내서)」를 참고할 수 있다.

3. 유전독성시험

고유의(naive) 핵산으로만 이루어졌다면 분해 생성물은 내인성 핵산과 동일하여 유전독성 발생 위험이 매우 낮을 것으로 간주되어 유전독성시험 수행이 필요하지 않을 수 있지만, 구조적인 변형이 생긴 경우(예 : 화학적 변형, 약물전달체, 링커 등)에는 이들 구조적 변형물뿐만 아니라 그의 대사체, 분해산물의 유전독성 발생 위험도 고려해야 한다. 유전독성시험 관련 사항은 「의약품등의 독성시험기준(식약처 고시)」 [별표 4]를 참고할 수 있다.

4. 생식·발생독성시험

- 합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의 생식·발생 독성시험은 「의약품등의 독성시험 기준 (식약처 고시)」 [별표 3] 및 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」을 참고하여 평가하여야 하며, 개별 시험의 조합(package)은 목표 환자군 및 특정 올리고뉴클레오타이드에 대한 약리학적 효과에 따라 결정한다.
 - 예를 들면 가임 여성도 투여군으로 포함되는 경우라면 3개 종류의 시험을 수행한다 : 수태능 및 초기배 발생시험, 출생 전·후 발생시험, 배·태자 발생시험. 이는 의약품 등의 독성시험기준에 따른 시험이다.
 - 그러나 항암제의 경우, 수태능 및 초기배 발생시험 및 출생 전·후 발생시험은 「항암제 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」에 따라 요구되지 않는다.
 - 이용가능한 정보(예, 작용 기전, 유전자 변형 동물의 표현형, 인간 유전 질환에 대한 정보 및 계열 효과 등과 같은 구조적 영향)에서 수태능 또는 임신 결과에 대해 위해성을 나타내고 생식 결과에 대한 위해성 결과를 전달할 수 있다는 사실이 확인 가능하다면 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」에 설명된 대로 추가적인 비임상시험이 요구되지 않는다.
- 올리고뉴클레오타이드에 대한 생식·발생 독성시험을 위해서 「의약품등의 독성시험 기준(식약처 고시)」 [별표 3]에 설명된 대로 동물 종(계통)의 장점과 단점을 모두 고려하여 타당성을 입증하여야 한다. 즉, 약동학 및 대사체 정보, 동물에 대한 생

식 생리학(reproductive physiology), 과거 배경 자료, 기형유발물질(예 : 탈리도마이드)에 대한 민감도가 고려되어야 한다.

- 이러한 고려사항에 근거하여 보통 설치류가 사용되며, 배·태자 발생시험에는 표적 외 독성을 알아내기 위하여 추가적으로 토끼가 사용된다.
- 올리고뉴클레오티드 표적 생식·발생 독성시험을 위해서는 일반적으로 생식·발생 독성시험에 사용되는 동물 중 중에서 약리학적으로 관련 있는 동물 종을 선택하여야 한다. 약리학적으로 관련 있는 종이 없거나 비-인간 영장류가 유일하게 약리학적으로 반응하는 종일 경우, 대리 평가를 고려할 수 있다.
- 생식·발생독성시험 시기는 「의약품의 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고한다.
- 생식·발생독성시험의 투여 용량은 얻을 수 있는 모든 시험자료(예: 약리, 반복투여 독성시험, 독성동태시험)를 참고하여 설정한다. 최고 용량은 「의약품등의 독성시험기준(식약처 고시)」 [별표 3]에 설명된 대로 다양한 정보(예 : 최소 독성, 노출 포화, 노출 한계 및 최대 가능 용량)를 기반으로 결정되어야 한다. 태반을 통한 이동에 대한 정보는 배아 및 태아에 대한 약물의 효과를 평가하는데 유용할 수 있다.

5. 발암성시험

- 일반적으로 인체 노출 전에 발암 가능성의 위험을 해결해야 한다. 합성 올리고뉴클레오티드 종류에 따라 신생물질 신호, 종양 유전자 활성화, 세포분열지수 등과 같은 연구를 위한 적절한 시험관 내/생체 내 모델을 사용하여 종양형성 및 발암 가능성이 연구되어야 한다. 이미 공개된 자료도 위험성 평가에 이용가능하다.
- 임상시험 수행을 위해 요구되는 비임상자료의 정도는 예측되는 종양형성의 위험도에 달라지며, 일차적으로는 시험관 내 및 생체 외 자료 분석을 기본으로 하지만 추가적인 생체 내 자료가 추가되기도 한다. 경우에 따라 시판 후에 해당 자료를 제출하는 것이 요구되기도 한다.
- 일반적으로 생물의약품에 대해서는 설치류 대상 표준 발암성시험 수행이 요구되지 않지만, 화학적 변형으로 인한 올리고뉴클레오티드 의약품의 표적 외 독성으로 인한 발암성 평가는 필요한 것으로 간주된다.

- 발암성시험 수행의 필요성에 대해서는 「의약품등의 독성시험기준(식약처 고시)」 [별표 7], 「의약품 발암성시험의 필요성에 대한 가이드라인(ICH S1A)」, 「의약품의 발암성시험을 위한 용량설정(ICH S1C(R2))」를 참고할 수 있다.
- 약물의 작용기전(예 : 면역억제로 인한 영향)으로 인하여 발암성에 대한 우려가 있거나, 유전독성시험, 반복투여독성시험 및 혼성화 관련 표적 외 독성 결과 발암성에 대한 우려가 있다면, 비임상 독성시험을 통하여 그러한 우려를 부정하기는 어렵다는 점에서 반드시 발암성시험을 실시해야만 하는 것은 아니다. 또한 연구를 수행하기 전에 이러한 우려가 명백하다면 3R 원칙 때문에 발암성 연구를 수행해서는 안 된다. 이러한 경우에는 임상적 위해성과 유익성을 고려하여 발암성 연구를 수행하지 않는 것이 허용가능한 선택사항으로 간주될 수 있다. 그런 다음 허가사항 등을 통하여 적절한 위해성 전달을 위해 노력해야 한다(예 : 사용상의 주의사항 중 발암성시험은 수행하지 않았음 등의 내용 추가).

6. 기타 독성시험

1) 국소독성시험

반복투여독성시험 등에서 투여 부위에 대한 평가가 가능하다면 별도의 국소독성시험은 필요하지 않다.

2) 면역독성시험

반복투여독성시험 등에서 면역독성과 관련한 평가가 가능하다면 별도의 면역독성시험은 필요하지 않다.

올리고뉴클레오타이드 구조의 화학적 변형 또는 접합체 등과 같은 구조 내 약물전달 시스템 성분으로 인하여 선천적 및 적응적 면역체계의 면역반응을 초래할 수 있다. 이러한 경우 국소적 및 전신적 면역체계 활성화에 대한 조직학적 분석 등을 포함한 올리고뉴클레오타이드 의약품에 대한 전반적인 독성 평가의 일부로서 비임상 개발 중에 고려되어야 한다. 원하지 않는 면역반응에 대한 영향은 인체 노출 전에 해결되어야 한다.

별도의 면역독성시험을 실시해야 하는 경우에는 「의약품의 면역독성시험 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고한다.

3) 광독성시험

화학적인 변형을 거친 올리고뉴클레오타이드 의약품의 경우 광독성에 대한 특별한 우려가 예상된다면 「의약품의 광안전성 평가 가이드라인(민원인 안내서)」을 참고하여 광독성시험을 평가해야 한다.

IV. 약리에 관한 자료

1. 개념 증명

개념 증명 자료는 작용기전을 입증하기 위하여 치료하고자 하는 질병이나 상태를 모방한 생체 내 동물 질병 모델 또는 시험관 내 및 생체 외 연구가 포함될 수 있으며, 인체 노출 전에 요구되어 진다. 치료 효과 입증에 매우 긴 시간(예 : 1년 이상)이 필요한 경우에는, 탐색적 임상 연구를 뒷받침하기 위한 짧은 기간의 비임상 개념 증명 자료에 대한 중간 분석 결과를 제공하는 것이 타당하다. 그러한 시험 기간은 치료 효과 입증에 충분한 기간이어야 한다. 장기 개념 증명 자료는 개발 후반 단계에서 제공될 수 있다.

2. 안전성약리시험

- 주요 필수 생리적 기능(중추신경계, 심혈관계 및 호흡기계)에 대한 바람직하지 않은 반응을 조사하기 위한 것으로 인체 노출 이전에 「의약품등의 약리시험기준 (식약처 고시)」 [별표] 및 「의약품 안전성약리시험 가이드라인(민원인 안내서)」를 참고하여 평가되어야 한다.
- 「의약품의 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」와 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」에서 설명하고 있는 3R 원칙에 따라 동물 수 사용을 줄이기 위하여 안전성약리시험의 일부 평가사항은 다른 독성시험에 포함될 수도 있으나, 올리고뉴클레오타이드 의약품의 안전성 약리 평가가 적절히 이루어졌는지에 대한 타당성 검토가 이루어져야 한다. 올리고뉴클레오타이드 의약품의 특성상 심혈관계 안전성 평가는 전반적인 안전성 약리 평가의 핵심 부분이다.
- 주요 필수 생리적 기능 연구 시기도 고려되어야 한다. 예를 들어 mRNA를 표적으로 하는 올리고뉴클레오타이드 의약품의 경우 혈액이나 표적 장기의 최고 농도는 표적 서열의 혼성화와 표적 서열에 의해 암호화된 단백질 형성 억제 사이의 시간 지연으로 인해 최고 약리학적 효과와 일치하지 않을 수 있다. 따라서 안전성약리

시험 평가 시기는 각 성분의 특성을 이해하고 정해야 한다.

- 화학적으로 변형된 올리고뉴클레오타이드 의약품의 분해와 대사의 결과로 생성되는 저분자 유기 화합물의 영향에 대한 이용가능한 자료가 많지 않기 때문에 체내에서 생성되는 분해산물과 대사체에 대한 영향은 임상 후보물질에 대한 영향과 함께 적절하게 설계된 생체 내 시험을 통하여 밝혀야 한다.

3. 독성동태/약물동태

- 합성 올리고뉴클레오타이드의 생체 내 분포에 대한 자료는 안전성 연구의 설계 및 시험 기간 설정 등을 뒷받침하기 위해 지속성, 효과 지속 기간 및 표적 장기에 대한 정보를 제공해야 한다.
 - 동일 투여경로를 이용한 유사 유형 의약품(product)에서 얻어진 정보를 외삽하여 사용할 수도 있다. 이와 반대로 특정 유형의 의약품에서는 다른 의약품의 결과로부터 추정하는 것이 적절하지 않을 수도 있어 첫 인체 노출 시험을 뒷받침하기 위한 비임상 생체 내 분포 연구가 수행될 수도 있다.
- 인체 첫 노출 임상 연구 이전에는 생체 시료 분석법의 검증이 필요하지 않을 수도 있지만, 특이성과 감도(검출한계) 등 분석 방법의 타당성에 대한 충분한 정보가 제공되어야 한다. 후기 임상 개발을 지원하기 위해서 생체 시료 분석법에 대한 추가 검증이 수행될 수도 있다.
- 합성 올리고뉴클레오타이드 독성 평가 설계에서 고려되어야 할 인자에는 동물 종, 투여 매개변수(투여 경로, 투여 기간, 투여 간격, 투여량 등)가 포함된다. 이러한 요소들은 인체에서 예측되는 합성 올리고뉴클레오타이드의 약동학적 양상을 기반으로 결정되어야 한다.
 - 중간 유사성 자료가 축적된 경우, 원칙적으로 「생명공학의약품의 비임상 안전성 평가(ICH S6(R1))」을 참고하여 임상에서와 동일한 투여 매개변수를 결정하는 기존 방법이 독성 평가에도 적절할 것이다.
 - 그러나 동물과 인간의 약동학적 양상이 크게 차이가 나는 경우에는 매우 신중하게 독성 평가가 이루어져야 한다. 예를 들어 동물에서 합성 올리고뉴클레오타이드의 혈중 농도가 빠르게 감소되나 인간에서는 그렇지 않은 경우, 빈번한 투여 등 노출

정도를 유지할 수 있는 방법을 설정해야만 동물에서의 독성 평가 정확히 이루어질 수 있다.

- 또한 대부분의 합성 올리고뉴클레오타이드는 세포 내에서 효과적이기 때문에 이들의 혈장 내 약동학적 정보는 다른 의약품들과 비교하면 적을 수 있다. 그러므로 적절한 방법을 사용하여 조직 내의 약동학적 특징을 평가하는 것도 고려될 수 있다.
- 합성 올리고뉴클레오타이드 독성시험에서 전신 노출에 대한 평가는 「독성독태시험 가이드라인 및 질의응답집(민원인 안내서)」, 「약물동태학 : 반복투여 조직분포 시험 가이드라인(민원인 안내서)」에 따라 수행되어야 한다.

V. 참고문헌

- 1) Guideline for preclinical safety assessment of oligonucleotide therapeutics, MHLW/PMDA(2020)
- 2) Nonclinical Testing of Individualized Antisense Oligonucleotide Drug Products for Severely Debilitating or Life-Threatening Diseases : Guidance for Sponsor-Investigators(Draft), FDA(2021)
- 3) Guideline on quality, non-clinical and clinical requirements for investigational advanced therapy medicinal products in clinical trials, EMA(2019)
- 4) IND Submission for Individualized Antisense Oligonucleotide Drug Products : Administrative and Procedural Recommendations, Guidance for Sponsor-Investigators(Draft), FDA(2021)
- 5) Aurélie Goyenvalle *et al.* Considerations in the Preclinical Assessment of the Safety of Antisense Oligonucleotides. *Nucleic Acid Ther* 33(1)(2023)
- 6) Yoko Hirabayashi *et al.* Considerations of the Japanese Research Working Group for the ICH s6 & Related Issues Regarding Nonclinical Safety Assessments of Oligonucleotide Therapeutics : Comparison with Those of Biopharmaceuticals. *Nucleic Acid Ther* 31(2)(2021)
- 7) Kornbrust D *et al.* Oligo Safety Working Group exaggerated pharmacology subcommittee consensus document, *Nucleic Acid Ther* 23(1)(2013)
- 8) Cindy L *et al.* Recommendations for Safety Pharmacology Evaluations of Oligonucleotide-Based Therapeutics, *Nucleic acid Ther* 24(4)(2014)
- 9) FDA review(casimersen, nusinersen)

「합성 올리고뉴클레오타이드 의약품의 임상시험 시 비임상시험 가이드라인(민원인 안내서)」

발 행 일 2024년 11월 28일

발 행 인 강 석 연

편 집 위 원 장 이 윤 숙

편 집 위 원 (임상심사과)

오우용, 임종미, 장정인, 김미지, 오명주, 이용선, 심상형

도움주신 분 첨단바이오의약품 및 관련 융·복합 의료제품 평가기술
고도화 연구사업단

발 행 처 식품의약품안전평가원 임상심사과

식품의약품안전처 식품의약품안전평가원

임상심사과 전화: 043-719-5154, 팩스: 02-2110-0818



【공직자 부조리 및 공익신고안내】

** 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

▶ 부조리 신고 : 식약처 홈페이지 "국민신문고 > 공직자 부조리 신고" 코너

▶ 공익 신고 : 식약처 홈페이지 "국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담" 코너