

비임상 신약개발과 성공적인 IND를 위한 현재와 미래

The Present and Future of Nonclinical Drug Development and Successful IND Filings

2026.05.27
(14:00-17:00)

AITOX

박영철 (독성학박사)

detox35@hanmail.net
<https://aitoxkorea.com>

<내용>

Part 1. 비임상 개발의 이해와 약물 모달리티

Part 2. Nonclinical Pharmacological Study

Part 3. Nonclinical Toxicological Study

Part 4. 임상시험에서의 안전용량 설정을 위한 독성시험

Part 5. AI(Artificial Intelligence)-기반 임상안전용량 설정의 시뮬레이션

Part 1-5: 결론

Part 6. 비임상 신약개발에서의 New approach methodologies

(NAMs: 신규접근 방법론 or 인체 기반 대체법) 이해와 글로벌 기술·규제 동향

Section-1. 비임상연구에서 동물실험의 한계성과 NAMs 출현의 배경

Section-2. 다양한 NAMs 원리와 소개 - In vitro(인간 세포 및 조직)

Part 7. 결론: NAMs의 규제학적 측면과 미래

9. MRSD 예측

- 임상최대권장초기용량(maximum recommended starting dose, MRSD)

- 산출 공식

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

- Rat NOAEL = 0.3633 mg/kg/day
- HED = 0.3633 mg/kg/day $\times$ (6/37)
- MRSD = 0.059 mg/kg/day $\div$ 10 = 5.9 $\mu\text{g/kg/day}$

<표> 체표면적 기준으로 동물용량을 HED로 전환하는 Km 계수

종(species)	체중 (kg)	체표면적 (m ²)	Km 계수
성인	60	1.6	37
어린이	20	0.8	25
비비원숭이(baboon)	12	0.6	20
개	10	0.5	20
원숭이(monkey)	3	0.24	12
토끼	1.8	0.15	12
기니아어 피그	0.4	0.05	8
랫드	0.15	0.025	6
햄스터	0.08	0.02	5
마우스	0.02	0.07	3

Part 1. 비임상 개발의 이해와 약물 모달리티

1. 비임상 개발의 이해

- 필요성: 21세기 들어 다양한 새로운 기전 치료제(new drug modality)의 등장에 따른 비임상개발에서의 비교 분석의 필요성 (Small molecules vs Biologics)

- 내용

- ① 새로운 Drug modality 출현에 따른 비임상시험의 특성
 - ② USFDA, EMA, ICH, OECD 등의 비임상시험 가이드라인 및 IND를 위한 차이와 사례
 - ③ 성공적인 IND를 위한 바람직한 방향
 - IND(investigational new drug, 임상시험신청)
- 목표: 글로벌 신약개발(1조 매출 신약)에 있어서 비임상자료-기반 성공적인 IND 추구

<참고> 우리나라의 글로벌 신약이 없음

2. 오늘날 신약 개발의 3가지 특징

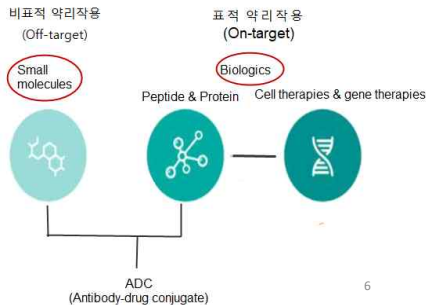
1) 신기전 치료제(Drug modality)의 빠른 변화 원인

1-1) 원인

- 높은 표적 특이성(target specificity)과 환자맞춤 의료 추구
- 독성 및 부작용 감소와 효능 증가 - (예시: ADC)

1-2) 동력

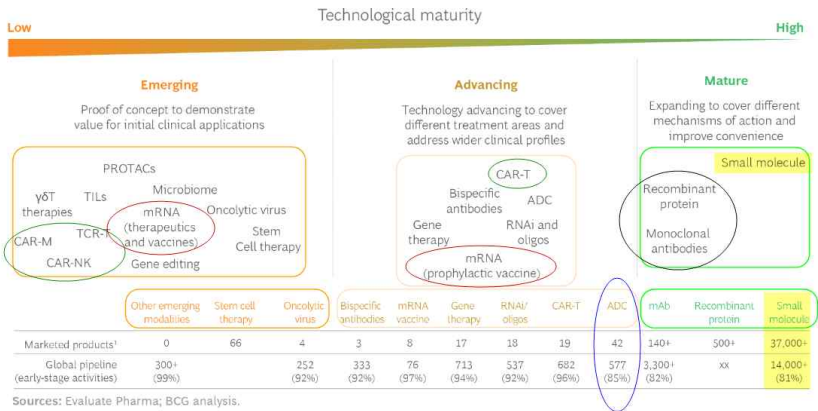
- 합성의약품(small molecules) vs **바이오의약품(biologics)** 출현



2. 오늘날 신약 개발의 3가지 특징

1) 신기전 치료제(Drug modality)의 빠른 변화

- 지난 20년 동안 세포 및 유전자 치료제 포함하여 **17 모달리티 출현**



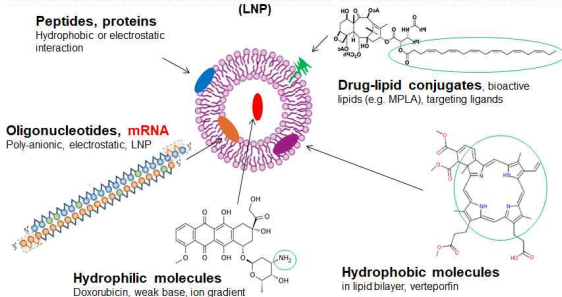
2. 오늘날 신약 개발의 3가지 특징

2) 플랫폼 기술 (Platform Technology) 시대

- 신약 플랫폼 기술 1개로 다양한 의약품 개발: (예시) **lipid nanoparticle <LNP>** 플랫폼
- 표적약리의 높은 정밀성

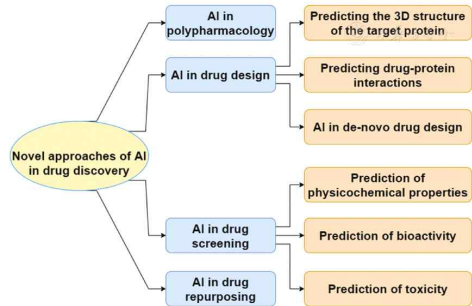
<플랫폼 기술 예시>

RECENT ADVANCES IN **LIPID NANOPARTICLE-MEDIATED DRUG DELIVERY**



2. 오늘날 신약 개발의 3가지 특징

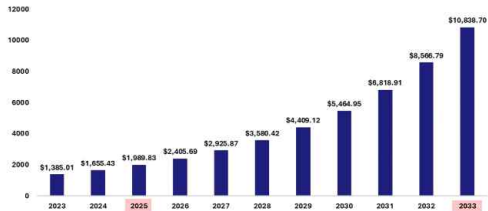
3) 인공지능-기반 신약개발과 비임상연구



(Patel 등, 2022)



AI in Drug Discovery Market Revenue 2023 to 2033
(USD Million)



Source: <https://www.towardshealthcare.com>

(<https://www.towardshealthcare.com>)

2. 오늘날 신약 개발의 3가지 특징

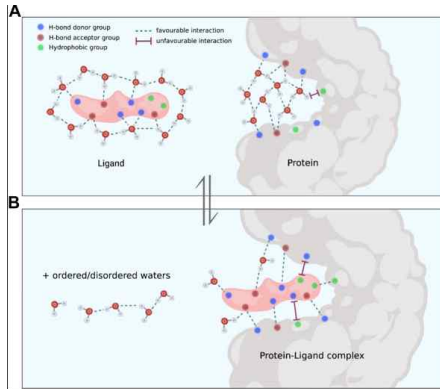
3) 인공지능-기반 신약개발과 비임상연구

- 구글딥마인드는 AI를 통해 단백질 구조를 예측할 수 있는 Alphafold(알파폴드) 1, 2, 3 개발
- 알파폴드 3는 **Ligand와 예측 정확도**

알파폴드2와 알파폴드3 비교

구분	알파폴드2	알파폴드3
출시 시기	2020년	2024년
예측 정확도	단백질 구조 예측에 높은 정확도	단백질-분자 간 상호작용 예측 정확도 50% 이상 향상
예측 대상	단백질 구조	단백질, DNA, RNA 등 다양한 생체 분자
기술적 특징	Transformer 기반	Transformer + 디퓨전 모델
소요 연산량	상대적으로 적음	연산량 증가(각 원자 좌표 정밀 예측)
권장 GPU	NVIDIA V100 이상	NVIDIA A100 이상
사용 용도	단백질 구조 연구 및 질병 치료 연구	단백질 구조, 상호작용 연구 및 다양한 생명과학 분야
소스 코드 공개 여부	오픈소스(무료 공개)	오픈소스(비상업적 무료 공개, 상업적 사용은 제한)
활용 가능성	구조 예측으로 신약 개발 초기 단계 지원	구조 및 상호작용 예측으로 신약 개발 및 생체 분자 연구 지원
주요 개선점	기존 실험적 방식 대체	범용성 확장, 예측 정확도 향상

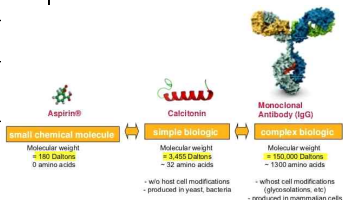
그래픽: 최길수 아시아경제



3. 약물 modality에 따른 특성 비교 분석

- 크기 및 성분에 의한 **Oral tolerance(경구투여내성)** 유무가 독성시험 방향 결정

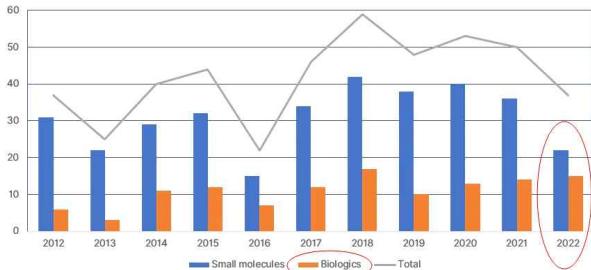
	합성의약품 (small molecule drugs)	바이오로직스 (biologics)
원천	대부분 유기물질로의 합성	세포 또는 생물체로부터 또는 생명공학 기술에 의해 생성
분차량	1000 달톤 이하의 저분자	5000에서 500000 달톤 이상의 고분자를 비롯하여 세포 수준
세포막	통과 - 경구 투여 - 전 신 혈 관계 - Off target(비표적) 약물	통과 못함 - 주사 투여 - 국소 한정 - On target(표적) 약물(target-specificity)
독성학적 특성	항원성이 없지만 Off-target 독성	항원성 높지만 Off-target 독성 우려 없음
Half-life	수 시간-수 일. 매일 경구	1회/매주 & 매달 - 특정 기간마다 주사
Test guideline for Non-clinical development	Standard plans	Case-by-case approach



4. 연도별 미국 FDA 승인 약물 수 : 합성신약(small molecule) vs biologics

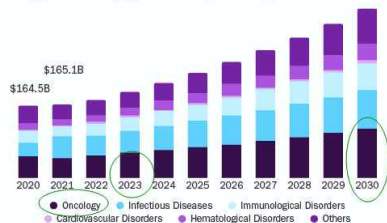
- 3:1 비(ratio)에서 1.5: 1
- 전체 biologics의 1/4 정도가 항암제

Small Molecules vs Biologic Approvals (2012-2022)



U.S. Biologics Market

Size, by Disease Category, 2020 - 2030 (USD Billion)



5. Nonclinical Development 개요

- 약물개발의 절차: 약물 물질 스크린 → 비임상연구 → IND → 임상시험 → NDA
- 비임상개발(Nonclinical development) = 임상시험(Nonclinical <study, testing, research>)을 위한 자료 확보 과정
- 비임상시험자료는 IND(Investigational New Drug Application = 임상시험계획승인 신청)의 기반
- 임상시험 → FDA 검토 → NDA(new drug application, 신약 신청)



6. Nonclinical vs Preclinical = 비임상 vs 전임상

- Preclinical study < Nonclinical study 선호

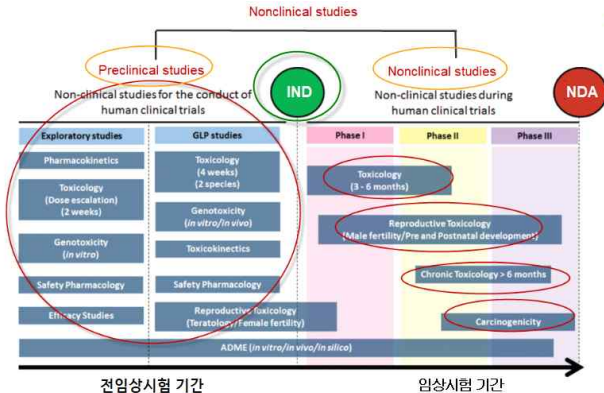


Figure 1. Steps of non-clinical studies in drug development process. GLP: Good laboratory practice; IND: Investigational new drug; NDA: New drug application; ADME: absorption, distribution, metabolism and elimination.

7. IND의 3 영역과 비임상연구의 2 영역

- IND 신청을 위해 **three broad areas**에 대한 정보 포함 (Regulatory guidance: USFDA, 2023; Korea 2018)
 - **Nonclinical studies: 2 종류의 연구인 ① Pharmacology ② Toxicology Studies**
 - Manufacturing(약물제조) Information - CMC(Chemistry, Manufacturing, Controls)
 - Clinical Protocols(임상시험계획) and Investigator(임상시험병원) Information

7. 비임상시험의 2 자료에 대한 비교 분석

- **약리학적 유효성(Pharmacological efficacy)** 확인을 위해 동물질환모델 이용하여 약물의 동태와 **효능시험**
- **독성학적 안전성(Toxicological safety)** 확보를 위해 **독성시험(toxicity testing)**

	효능(유효성)시험	독성시험
시험 주체	• 개발자	• 식약처-GLP 인증 기관
주체 차이의 의미	• 시장경제 원리	• 약물 독성에 의한 집단 사고 예방
시험 수행의 기반	• 동물질환모델 및 in vitro 등 다양한 을 통해 MOA(mode of action, 작용기전) 입증	• 국가(FDA, EMA) 및 국제기구(ICH, OECD)의 가이드라인 - 거의 유사
약물 modality에 따른 변화	• 최첨단 기술로 바이오로직스 개발의 선도적 역할 • Guidacne 불필요	• 경구투여보다 주사로 수행하여 고도의 투여기술이 요구됨 • 변화에 따른 시기 적절하게 new regulatory guidance 생산에 어려움

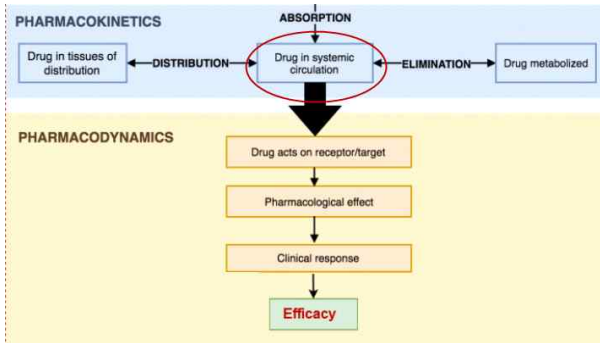
● GLP(good laboratory practice)

- ① 개념: 비임상시험관리기준으로 독성시험의 신뢰성보증 제도
- ② 방법: 업무분장(role responsibility)으로 상호감시 시스템 & 기록(recording)을 통해 역추적 가능 시스템

Part 2. Nonclinical Pharmacological Study

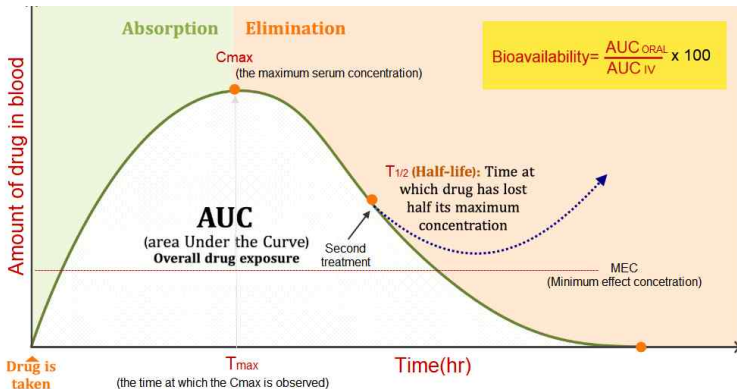
1. Nonclinical pharmacological study = PK+PD

- Pharmacokinetics(PK: 약물동태) + Pharmacodynamics(PD: 약리학, 약리작용기전)
- PK: 시간별 혈중 농도의 변화 (How the body affect a taken drug)
- PD: 약물의 생화학적 및 생리학적 효능 (How the drug affect your body)



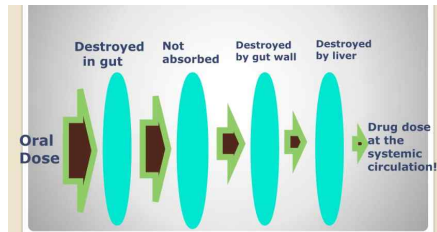
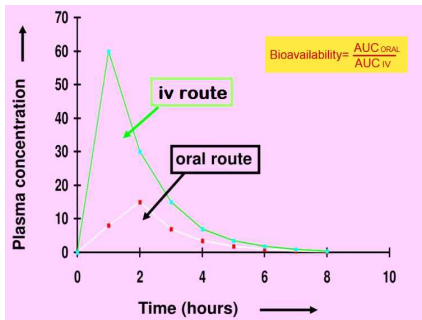
2. PK study

- Definition: Time-dependent concentration change of drug in **blood**
- 다른 표현: ADME(**A**bsorption<흡수>, **D**istributuion<분포>, **M**etabolism<대사>, **E**xcretion<배출>)
- ADME의 5가지 주요 지표: **C_{max}**, **T_{max}**, **AUC**, **T_{1/2}**. **Bioavailability**(생체이용률)



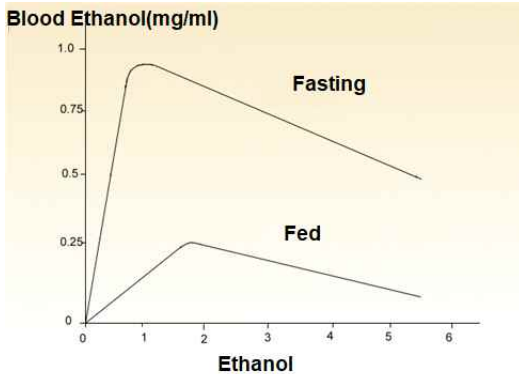
3. Bioavailability(생체이용률)

- Bioavailability: 흡수경로를 통해 전신혈관계로 유입되는 약물의 혈중농도
- Formula = $\text{AUC}_{\text{oral}} / \text{AUC}_{\text{iv}}$ (iv=intravenous)
- A bioavailability of 100%: $\text{AUC}_{\text{oral}} = \text{AUC}_{\text{iv}}$



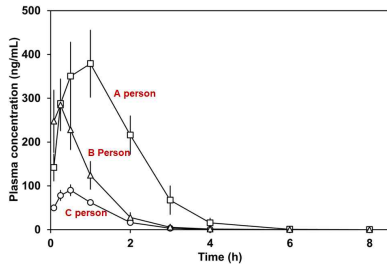
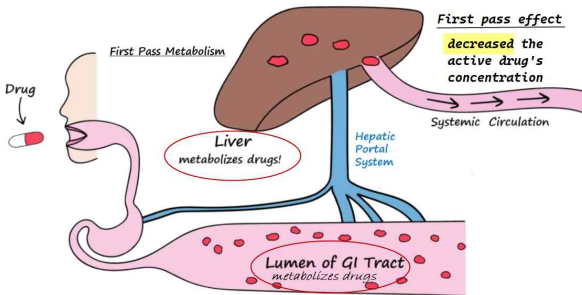
4. 식이 유무에 따른 Bioavailability

- 소장에 음식이 에탄올 흡수를 저해 Absorption < 흡수 >



5. Absorption ≠ Bioavailability (due to First pass effect)

- **First pass metabolism(초회통과대사):** 전신혈관계로 들어가기전 약물의 소장과 간에서의 대사
- **First pass effect(초회통과영향):** 전신혈관계로 들어가기전 약물이 대사에 의해 감소되는 용량 (Herman et al., 2023)
- 투여의 경로가 중요



6. First pass metabolism by Cytochrome P450 enzyme system

- Cytochrome P450(=CYP) system: 약물 등 외인성물질의 대사를 담당하는 효소계 → **Biotransformation(생화학적 전환)**
- Three main P450 families: **CYP1, CYP2 and CYP3** isoenzymes
- Among 15 CYP isoenzymes, 약물의 80%가 CYP3A 효소에 의해 biotransformation (Zhao et al., 2021)
- **CYP 효소**가 약물의 **PK에 영향**을 주는 핵심 요소

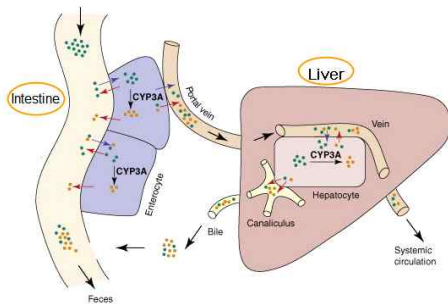
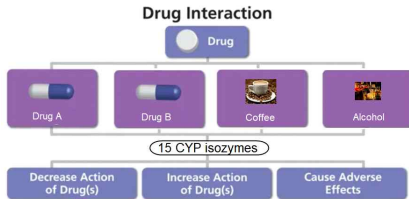


Figure 2. Frequency of the cytochrome P450 (CYP) system enzymes.

7. CYP450에 의한 약물상호작용(Drug-Drug Interaction)

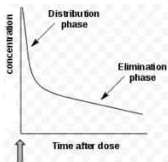
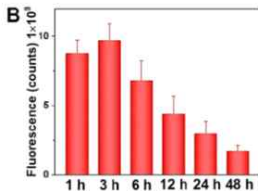
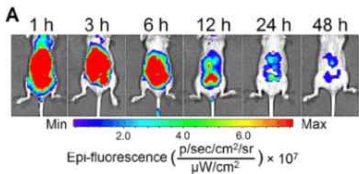
- 약물이 CYP450 효소를 증가시키거나 감소시킬 경우(Bibi et al., 2014)
- Coffee와 Alcohol도 CYP450 효소 유도과 저해



8. Biologics의 PK는 Biodistribution(체내분포)

- Biodistribution(체내분포) for Biologics instead of PK (Kamiyama et al., 2021)
- **국소주사**로 투여되는 세포 및 유전자 치료제 등은 전신혈관계로 유입되지 않음
- 아래의 2가지 방법으로 **Homing**, 다른 조직으로 이동 및 잔류기간 등을 추정
- 체내분포를 통해 약리 동태학적 및 독성 동태학적 이해가 가능

2가지 방법 중 Imaging method



2가지 방법 중 Polymerase chain reaction(PCR)

Study Design (qPCR analysis) Example:

Single Dose Biodistribution Study in the Mouse with 3 / 6-month Observation Period

Group (15 mice/sex/group)	Time point				
	24 h	14 day	28 day	90 day	180 day
Vehicle control	3/sex	3/sex	3/sex	3/sex	3/sex
Test item (SC)	3/sex	3/sex	3/sex	3/sex	3/sex
Test item (IV)	3/sex	3/sex	3/sex	3/sex	3/sex

In-life phase evaluations:

- Clinical observations, injection site scoring, Body weights, Food consumption.

qPCR analysis for detection of human-specific DNA:

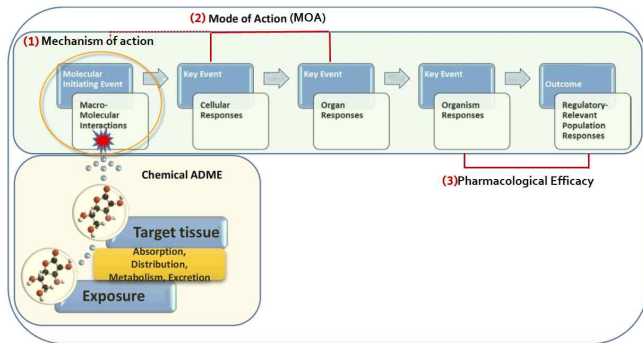
- Blood samples and selected major tissues and injection site collected and processed for qPCR analysis.

9. PD - Pharmacodynamics (약력학)

- 약물 작용에 의한 생화학적 및 생리학적 과정을 이해하는 학문으로 3가지 영역에서 이해

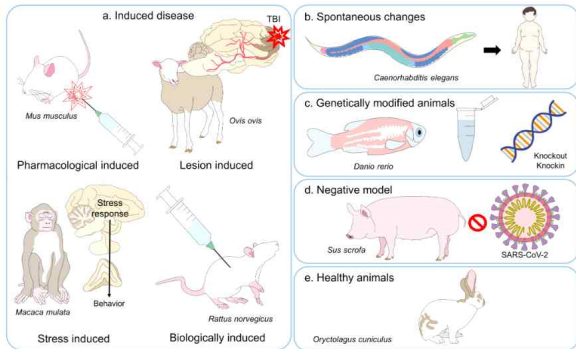
- 1) **Mechanism of action(MOA, 약리작용기전)**: 약물의 분자수준에서 약리작용에 의한 변화
- 2) **Mode of action (MOA, 약리작용기전)**: 기능적이고 해부학적 수준에서 약리작용에 의한 변화
- 3) **Pharmacological efficacy(Emax)**: 개체 수준에서 최대 효능 반응

→ **Proof of concept(약리기전 증명)**



10. MOA에 의한 개체 수준에서 변화 : Animal disease models for Drug's efficacy

- 임상시험에 환자 대상이므로 **비임상효능시험에서도 질환동물모델에서 변화 확인**
- 다양한 동물종을 이용한 동물질환모델
- 소형동물모델이 이용되며 genetic manipulation(유전자 조작)으로 생산** - Types of Genetic manipulation



Knockout Mice & Rats

Target gene 제거



Knock-in Mice & Rats

Target gene 도입



Transgenic Mice & Rats

다른 종의 유전자 도입
(인간화 model)



Knockdown Mice

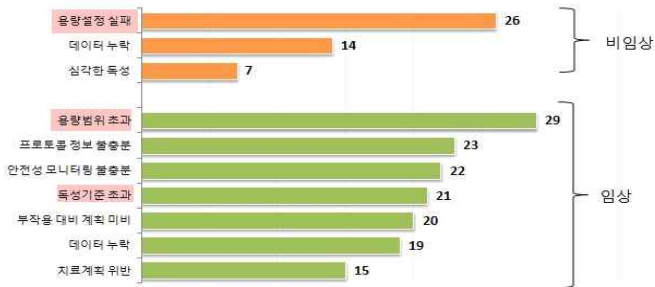
Target gene의 발현 저해

(Domínguez-Oliva 등, 2023)

Part 3. Nonclinical Toxicological Study

1. IND or Clinic hold(보류)와 원인

- US FDA가 최근 3년간(2014년 3월~2017년 8월) 반려한 종양학 분야 **IND 사례와 원인**
- **결론:** 비임상시험의 **독성시험을 통한 안전성**이 IND와 임상시험에서 결정적인 요인



(참고문헌) Manning ML, Thompson MD, Saber H, Maher VE, Crich JZ, Leighton JK. An FDA analysis of clinical hold deficiencies affecting **investigational new drug** applications for oncology products. Regul Toxicol Pharmacol. 2020 Feb;110:104511. (데일리팜, 2020-10-13)

2. 약물에 대한 다양한 독성시험

2-1) 붉은 색의 독성시험(toxicity test)이 Biologics를 위해 수행되는 독성시험

독성시험	개념	정성 및 정량 기술자
단회투여독성시험	독성시험을 시험동물에 단회투여(24시간 이내의 분할 투여 경우도 포함)하였을 때 단기간 내에 나타나는 독성을 질적,양적으로 검사하는 시험	정량: LD ₅₀ 및 ALD, MTD
반복투여독성시험	독성물질을 실험동물에 반복투여하여 중,장기간 내에 나타나는 독성을 질적, 양적으로 검사하는 시험	정량: NOEL, NOAEL , LOAEL, BMD, MTD, 정성: 표적장기, MABEL
생식,발생독성시험	독성물질이 포유류의 생식,발생에 미치는 영향을 규명하는 시험을 말하며 수태능 및 초기배 발생시험, 출생 전,후 발생 및 모체기능시험, 배,태자 발생시험 등이 있음	정량: NOEL, NOAEL, LOAEL, BMDL ₅ , TTC, MTD
유전독성시험	독성물질이 유전자 또는 유전자의 담체인 염색체에 미치는 상해작용을 검사하는 시험	정성(음성 vs 양성)
항원성시험	독성물질이 생체의 항원으로 작용하여 나타나는 면역원성 유발 여부를 검사하는 시험	정성(음성 vs 양성)
종양원성시험	줄기세포 치료제의 세포 자체의 문제(미분화 또는 형질전환) 등으로 종양발생의 위험성이 존재하고 있어 이에 대한 평가	
면역독성시험	반복투여독성시험의 결과, 면역계에 이상이 있는 경우 독성물질의 이상면역반응을 검사하는 시험	정성
발암성시험	독성물질을 실험동물에 장기간 투여하여 암(종양)의 유발 여부를 질적, 양적으로 검사하는 시험	정성 및 정량: T ₂₅ , TD ₅₀ , BMDL ₁₀ , TTC
국소독성시험 (피부자극 및 안점막자극 시험)	독성물질이 피부 또는 점막에 국소적으로 나타내는 자극을 검사하는 시험으로서 피부자극시험 및 안점막자극시험	정성(음성 vs 양성)
국소내성시험 (의존성)	독성물질이 실험동물에서 주사부위 에서 나타내는 임상,병리학적 반응을 검사하는 시험	정성
독성동태시험 & Biodistribution	독성시험 수행 시 독성물질의 전신노출을 평가하기 위하여 약물동태학적 자료를 산출하는 시험으로서 독성물질의 노출과 독성시험에서의 용량단계 및 시간 경과와의 상관성을 연구하는 것을 목적	정량: 생체이용률 T _{max} , C _{max} , AUC, T _{1/2}

2. 약물에 대한 다양한 독성시험

2-2) NAM(new approach methodologies) - 신규접근방법론

1) 미국의 Mordernization 3.0

- 미국 상원은 2025년 12월 16일 만장일치로 FDA 현대화법 3.0(S.355)을 통과
- 동물실험, 데이터, 연구, 모델 및 연구에 대한 언급을 '비임상' 실험('nonclinical' tests)으로 대체
- 기존 동물 연구와 새로운 접근법 (NAMs; New Approach Methodologies) 즉 인체 세포 기반 모델·오가노이드·장기온칩·AI 독성 예측 등 대체시험법을 공식 평가 수단으로 반영을 의미

2) 현대화법 3.0에 따라 FDA의 1년 내 수행 내용

- ① 승인 경로 수립(Establish a Pathway): 의약품 개발을 위한 NAM 승인을 신청할 수 있는 공식 절차를 마련해야 함
- ② 우선 심사(Prioritise Review): 승인된 비임상 방법을 사용하여 개발된 의약품에 대해 우선 심사 권한을 부여함
- ③ 투명성 및 보고(Transparency and Reporting): 접수된 신청 건수, 승인된 방법 유형, 그 결과로 예상되는 동물 구출 수에 대해 매년 보고

3. ICH - 권장 약물모달리티에 따른 독성시험

(Shen 등, 2021)

Table 1 ICH recommended preclinical studies enabling FIH trials

Study type	Small molecules	Large molecules ^a	GLP compliance Requirement
Pharmacodynamics			No
<i>In vitro</i> (MOA)	X	X	
<i>In vivo</i> (MOA and therapeutic effect)	X	X	
Safety pharmacology (ICH S7A ^(b) and S7B ^(b))			Yes
<i>In vitro</i> (concentration-effect relationship)	X	X	
<i>In vivo</i> (dose-response for CNS, CV, respiratory effects)	X	X	
Pharmacokinetics (ICH M3(R2) ^(b))			
<i>In vitro</i> metabolism (across species microsomal metabolism)	X	NA	No
<i>In vitro</i> plasma protein binding	X	NA	No
Toxicokinetics from repeat dose GLP toxicity studies (ICH S3A ^(b))	X	X	Yes
Genotoxicity battery (ICH S2(R1) ⁽⁷⁾)			Yes
<i>In vitro</i> Ames test	X	+b	
<i>In vitro</i> and/or <i>in vivo</i> mammalian cell chromosomal damage evaluation	X	+b	
Single-dose / dose range finding			No and Yes ^c
Rodent single-dose (could be MTD study)	X	NA	
Nonrodent single-dose (could be MTD study)	X ^e	X ^f	
Repeat dose toxicity ² (ICH M3(R2) ^(b))			Yes
Rodent multidose	X	Optional ⁹	
Nonrodent multidose	X ^e	X ^f	
Other studies			No
Immunotoxicity (ICH S8 ^(b))	X	X	
Photosafety (ICH S10 ^(b))	X	X	
Abuse liability ^h	X	X	

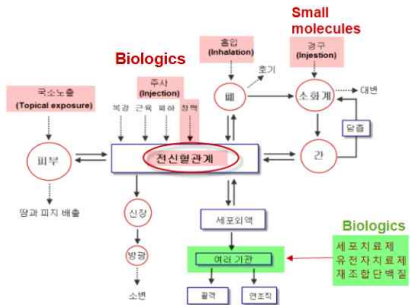
CNS, central nervous system; CV, cardiovascular; FIH, first-in-human; GLP, good laboratory practice; ICH, International Conference on Harmonization; MOA, mechanism of action; MTD, maximum tolerated dose; NA, not applicable.

4. 합성의약품 및 바이오의약품 등의 특성 차이를 고려한 독성시험 디자인

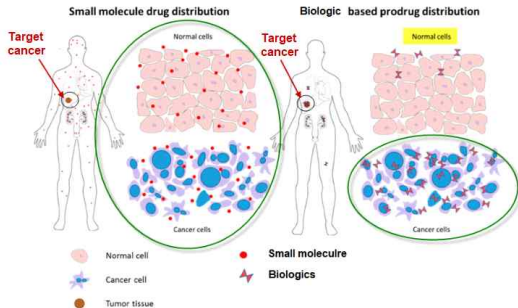
시험항목 및 가이드라인	• Small Molecule	• Biologics
• 동물종의 선택을 위한 우선 요소	• 인체와 유사한 약물대사 기전을 가진 설치류 및 비설치류에서 각각 선택	• 약물대사와 무관하며 약리작용 기전의 동일한 설치류 또는 비설치류로 단일 종일 수도 있음
• 단회 및 반복 수행 방법	• 수행 및 3 단계 용량군	• 단회 생략 및 임상용량 단회 투여 가능
• 투여용량의 선택 기준	• (Maximum tolerated dose, MT D)을 최고용량	• 최대투여 가능용량(maximum feasible dose, MFD) 또는 MABEL (minimum anticipated biological effect level, 생물학적영향-최소추정용량)
• 동물종의 수와 시험기간	• 설치류 및 비설치류 등 2종에서 2주에서 13주의 투여기간의 독성시험	• 단일종으로 투여 횟수와 관계가 없이 임상시험의 기준에 맞추어 단기간 또는 최대 6개월까지 관찰
• 안전성약리 시험	• 독성시험과 별개로 독립적으로 수행	• 유효성과 독성의 용량-반응 곡선이 하나의 시험에서 얻을 수 있기 때문에 독성시험으로 부분적 또는 전체적으로 대체 가능
• 유전독성시험	• 필수적	• 불필요
• 독성동태시험	• 일반적인 PK 지표: Cmax, Tmax, AUC	• Biodistribution: 국소주입 후 표적기간에서 사라지는 시간 및 타 조직으로 이동 확인
• 임상용량 결정	• NOAEL & MRSD	• MABEL & 동일용량 및 횟수, MRSD

5. 투여경로에 따른 약물 모다리티의 독성 차이

① 투여경로의 차이



② 전신독성 vs 국소독성

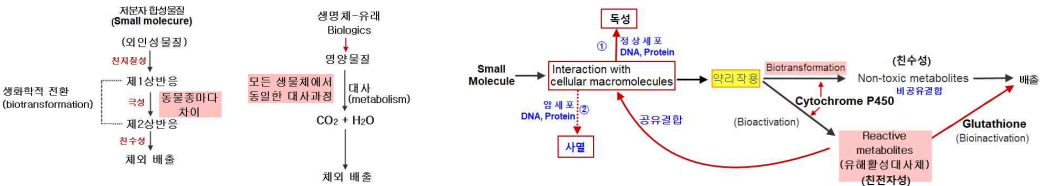


6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-1) 동물종의 수와 선택을 위한 우선 요소

① 합성신약의 약물대사(biotransformation) & Cytochrome P450

• 시험을 위한 항목	• Small Molecule	• Biologics
• 동물종의 선택을 위한 우선 요소	• 인체와 동일한 약물 대사 (biotransformation, 생화학적 전환) 기전 을 가진 설치류 및 비설치류에서 각각 2종 선택	• 약물대사가 아니라 영양물질의 소화이기 때문에 약리작용 기전(리간드-수용체)의 동일한 (설치류 또는 비설치류)로 1종 일 수도 있음



6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

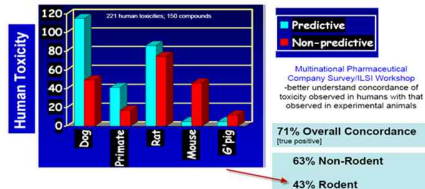
6-1) 동물종의 선택을 위한 우선 요소

② Cytochrome 450의 종간 차이와 독성 예측률 차이

Toxin-drug metabolizing CYP isozymes; CYP 1, 2, 3 families

CYP family	CYP subfamily	CYP isozyme				
		Human	Monkey	Rat	Mouse	
CYP1	CYP1A	CYP1A1 CYP1A2	CYP1A1 CYP1A2	CYP1A1 CYP1A2	CYP1A1 CYP1A2	
	CYP1B	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1	
CYP2	CYP2A	CYP2A6 CYP2A7 CYP2A13	CYP2A23 CYP2A24	CYP2A1 CYP2A2 CYP2A3	CYP2A4 CYP2A5 CYP2A12 CYP2A22	
	CYP2B	CYP2B6 CYP2B7	CYP2B17	CYP2B1 CYP2B2 CYP2B3	CYP2B9 CYP2B10	
	CYP2C	CYP2C8 CYP2C9 CYP2C18 CYP2C19	CYP2C20 CYP2C43	CYP2C6 CYP2C7 CYP2C11 CYP2C12 CYP2C13 CYP2C22 CYP2C23	CYP2C29 CYP2C37 CYP2C38 CYP2C39 CYP2C40 CYP2C44 CYP2C50 CYP2C54	
	CYP2D	CYP2D6 CYP2D7 CYP2D8	CYP2D17 CYP2D19 CYP2D29 CYP2D30 CYP2D42	CYP2D1 CYP2D2 CYP2D3 CYP2D4 CYP2D5 CYP2D18	CYP2D9 CYP2D10 CYP2D11 CYP2D12 CYP2D13 CYP2D22 CYP2D26 CYP2D34 CYP2D40	
	CYP2E	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1	
	CYP3	CYP3A	CYP3A4 CYP3A5 CYP3A7 CYP3A43	CYP3A8	CYP3A1/23 CYP3A2 CYP3A9 CYP3A18 CYP3A62	CYP3A11 CYP3A13 CYP3A16 CYP3A25 CYP3A41 CYP3A44
	Concordance rate to Human P450		26%	14%	11%	

(Konstandi 등, 2014)



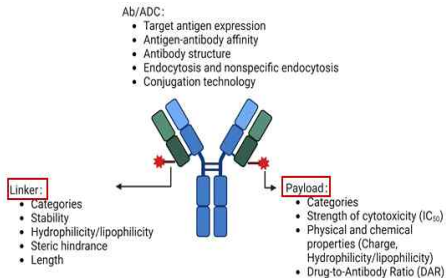
(Adami 등, 2010).

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-3) 동물종의 선택을 위한 우선 요소

③ Cytochrome 450과 ADC(antibody-drug conjugate)의 관계

- 거의 모든 항암제는 cytochrome P450에 의한 친전자성대사체로 전환
- Tumor-specific expression of cytochrome P450(Graeme 등, 1997)



(Cheng 등, 2026)

항체-약물 집합체 명칭(상표명)	약어	항체 표적	적응증	일반적인 부작용
세포독소로서의 DNA 손상 기전의 ADC				
Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg)	GO	CD33	Acute myeloid leukemia	세포감소증, 감염, 발열, 트랜스아미나제 수치 상승, 출혈, 메스꺼움/구토
Inotuzumab ozogamicin (Besponsa)	InO	CD22	B-cell acute lymphocytic leukemia	세포감소증, 아미노트랜스퍼라제 수치 증가, 빌리루빈 증가, 열성 호중구 감소증
Loncastuximab tesirine (Zynlonta)	LT	CD19	Lymphoma	세포감소증, 피로, 메스꺼움, 기침, 감마글루타밀 트랜스페티다제 증가, 설사
세포독소로서의 항미세관 작용 기전의 ADC				
Brentuximab vedotin (Adcentris)	BV	CD30	Certain lymphomas	말초 신경병증, 메스꺼움, 설사, 구토, 피로, 상기도 감염, 적혈구 감소증
Polatuzumab vedotin (Polivy)	Pola	CD79b	Lymphoma	말초 신경병증, 호중구 감소증, 빈혈, 혈소판 감소, 설사, 변비, 식욕 감소, 발열증
Enfortumab vedotin (Padcev)	EV	Nectin 2	Urothelial carcinoma	말초 감각 신경병증, 식욕 감소, 설사, 기후물동, 황반염색 발진, 빈혈
Tisotumab vedotin (Tivdak)	TV	Tissue factor	Cervical cancer	삼피, 메스꺼움, 구토, 피로, 말초 신경병증, 결막염, 탈모, 변비, 식욕 감소, 빈혈

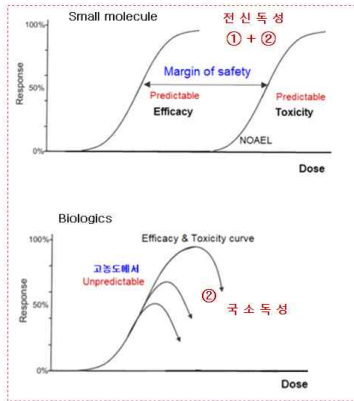
6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-4) 약물 모달리티별 독성의 차이

- 모든 독성은 ① 유해활성대사체, ② 과잉용량 등 2가지 기전에 의해 발생
- Small molecule(SM): ① + ②
- Biologics : ②



- Biologics는 효력과 독성의 반응 곡선이 동일하며 이는 표적-특이성이 대단히 높기때문. 따라서 적절 용량이 중요
- 가장 민감한 ligand-receptor 반응을 나타내는 biologics



6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-5) 일반독성시험 – 단회 및 반복 투여독성시험의 수행 유무

- 바이오로직스인 경우 - 단회투여독성시험 **생략** 및 반복투여독성시험에서 **단일 임상용량** 응용 가능 (ICH M3(R2), 2018; Shen 등, 2019)

Study type	Small molecules	Large molecules ^a
Single-dose / dose range finding		
Rodent single-dose (could be MTD study)	X	NA
Nonrodent single-dose (could be MTD study)	X ^b	X ^c
Repeat dose toxicity ^d (ICH M3(R2) ^e)		
Rodent multidose	X	Optional ^g
Nonrodent multidose	X ^b	X ^c

(ICH M3(R2), 2018; Shen 등, 2019)

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-5) 일반독성시험 – 독성시험 시험기간 비교 (식약처 vs FDA)

① 식약처: 의약품등의독성시험기준(2022)

1. 임상시험을 위한 반복투여독성시험의 최소 투여기간은 다음 표와 같다.

임상시험기간 중 약물투여기간	최소 투여기간	
	설치류	비설치류
~2주	2주	2주
2주 ~ 6개월	임상시험 중 약물투여기간	임상시험 중 약물투여기간
> 6개월	6개월	만성[주5]

Table 1

Recommended Duration of Repeated-Dose Toxicity Studies to Support the Conduct of Clinical Trials

② US FDA M3(R2) (2010)

Maximum Duration of Clinical Trial	Recommended Minimum Duration of Repeated-Dose Toxicity Studies to Support Clinical Trials	
	Rodents	Nonrodents
Up to 2 weeks	2 weeks ^a	2 weeks ^a
Between 2 weeks and 6 months	Same as clinical trial ^b	Same as clinical trial ^b
> 6 months	6 months ^{b, c}	9 months ^{b, c, d}

a. In the United States, as an alternative to 2-week studies, extended single-dose toxicity studies (see footnote c in Table 3) can support single-dose human trials. Clinical studies of less than 14 days can be supported with toxicity studies of the same duration as the proposed clinical study.

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-6) 안전성약리 시험 유무

안전성약리 시험 (신경계, 중추신경계, 호흡계)	<Small molecules> 독성시험과 별개로 독립적으로 수행	<Biologics> 유효성과 독성의 용량-반응 곡선이 하나의 시험에서 얻을 수 있기 때문에 반복독성시험으로 부분적 또는 전체적으로 대체 가능
--	---	--

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-7) 유전독성

유전독성 (복귀돌연변이, 염색체이상시험, 소핵 시험)	<Small molecules> 필수적	<Biologics> 불필요
---	--	--

<참고> 유전독성시험 결과에 대한 해석에 있어서 가이드라인 차이

- 2 종류의 in vitro 시험: 미생물 복귀돌연변이시험와 세포 염색체이상시험
- 1 종류의 in vivo 시험: **마우스의 소핵시험**
- 3 종류의 시험 중 **한 시험에서라도 양성이면 약물은 유전독성 양성 판정**

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-7-1) 유전독성시험 결과 및 해석에 있어서 가이드라인 차이

① 식약처: 의약품등의 독성시험기준

※ 유전독성시험의 종류

- 「의약품등의 독성시험기준」 (식약처 고시 제2017-71 호, 2017.8.30.) [별표 4]

- 원칙적으로 모든 시험물질에 대하여 아래 표준조합 중 1가지를 선택하여 각 호의 유전독성시험을 실시하여야 한다. 다만, 시험물질의 특성 및 시험의 실시목적 등을 고려하여 필요하다고 인정되는 경우에는 OECD 유전독성시험기준에서 정한 그 밖의 유전독성시험으로 대체하거나 추가적으로 실시할 수 있다. 이 경우 본 기준에 언급되지 아니한 시험에 대하여는 OECD 유전독성시험 기준에 준한다.

Three battery test: (노란색)

시험종류	내용	결과
표준조합 1	1) 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험 2) 포유류 배양세포를 이용한 다음 어느 하나의 시험 가) 체외 염색체이상 시험 (사례-1: 양성) 나) 체외 소핵시험 다) 체외 마우스 림포마 TK 시험 3) 설치류 조혈세포를 이용한 다음 어느 하나의 시험 가) 체내 소핵시험 나) 체내 염색체이상시험	양성
표준조합 2	1) 박테리아를 이용한 복귀돌연변이 시험 2) 설치류 조혈세포를 이용한 체내 소핵시험 3) 체내 코멧시험	

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-7-2) 유전독성시험 결과 및 해석에 있어서 가이드라인 차이

② 세포사멸의 고용량에서 양성 반응과 재현성에서도 양성반응

<표-1> GLP-기반 in vitro 염색체이상시험 결과

계열	대사 활성화 여부	시험물질 처리 및 회수 시간 (hrs)	시험물질 처리용량 ($\mu\text{g/mL}$)에 따른 결과					결과 해석
처리계열-1	+	6-18	용량군	0	250	500	1000	대사활성화가 유도된 상황에서 모든 용량군에서 양성이며 동시에 시험물질에 의한 세포증가율의 감소도 없었음
			판정	음성				
			대조군-대비 세포증가율(%)	100	100	98	93	
처리계열-2	-	6-18	용량군	0	75	150	300	대사활성화가 되지 않은 고용량군에서만 양성이며 이 용량군에서 세포증가율이 감소되었음
			판정	음성				
			대조군-대비 세포증가율(%)	100	99	92	48	
처리계열-3	-	24-0	용량군	0	62.5	125	250	대사활성화가 되지 않은 고용량군에서만 양성이며 이 용량군에서 세포증가율이 감소되었음
			판정	음성				
			대조군-대비 세포증가율(%)	100	93	85	42	

<표-2> in vitro 염색체이상시험의 재현성시험에 대한 결과 (Non-GLP)

계열	대사 활성화 여부	시험물질 처리 및 회수 시간 (hrs)	시험물질 처리용량 (ug/mL)에 따른 결과				결과 해석	
처리계열-1	+	6-18	용량군	0	250	500	1000	대사활성화가 유도된 상황에서 모든 용량군에서 양성이며 동시에 시험물질에 의한 세포증가율이 감소도 없었음
			판정	음성				
			대조군-대비 세포증가율(%)	100	98	99	96	
처리계열-2	-	6-18	용량군	0	225	450	900	대사활성화가 되지 않은 고용량군에서 양성이며 이 용량군에서 세포증가율이 감소되었음
			판정	음성				
			대조군-대비 세포증가율(%)	100	101	92	44	
처리계열-3	-	24-0	용량군	0	150	300	600	대사활성화가 되지 않은 고용량군에서 양성이며 이 용량군에서 세포증가율이 감소되었음
			판정	음성				
			대조군-대비 세포증가율(%)	100	93	93	49	

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

6-7-3) 유전독성시험 결과 및 해석에 있어서 가이드라인 차이

③ 세포사멸의 고용량에서 양성 반응에 대한 US FDA 및 EU EMA의 ICH 가이드라인

- ICH guideline S2(R1) on genotoxicity testing and data interpretation pharmaceuticals intended for human use

2. Evaluation of Positive Results Obtained In Vitro in Mammalian Cell Assays (5.2.1)

Therefore, any in vitro positive test result should be evaluated based on an assessment of the **weight of evidence** as indicated below. This list is not exhaustive, but is given as an aid to decision-making.

<2 가지 조건>

- The conditions do not occur in vivo (pH; osmolality; precipitates).
(Note that the 1 mM limit avoids increases in osmolality, and that if the test compound alters pH, it is advisable to adjust pH to the normal pH of untreated cultures at the time of treatment).
- The effect occurs only at the most toxic concentrations.
 - in the MLA increases, at ≥ 80 percent reduction in RTG
 - for in vitro cytogenetic assays, when growth is suppressed by ≥ 50 percent

<Weight of evidence>

If any of the above conditions apply, the weight of evidence indicates a lack of genotoxic potential; the standard battery (Option 1) can be followed. Thus, a single in vivo test is considered sufficient.

- 염색체 이상 시험의 세포사멸의 고용량에서 양성이라도 in vivo에서 음성이면 약물은 유전독성 음성이라고 판단함

6. 약물의 modality에 따른 시험디자인 및 가이드라인의 비교분석

7) **Biologics의 Biodistribution**의 GLP 준수 유무

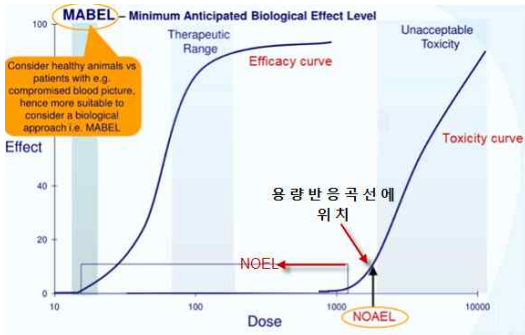
- **ICH 가이드라인**: ICH guideline S12 on nonclinical biodistribution considerations for gene therapy products- Step 2b (europa.eu)
- **GLP 준수 유무**: 기본적으로 **Non-GLP**이며 GLP-독성시험과 함께 수행할 경우 수도 있으며 이를 경우, GLP 준수 하에 자료 생산 (3R 측면)

<참고자료>: It is important to verify the data quality, integrity, and reliability of the BD evaluation. In principle, nonclinical BD studies that are not conducted in compliance with Good Laboratory Practice (GLP) are accepted; however, when BD evaluation is performed as part of a GLP-compliant toxicology study, it is important that all in-life parameters and sample collection procedures remain in compliance with GLP.

Part 4. 임상시험에서의 안전용량 설정을 위한 독성시험

1. 반복투여독성시험으로부터의 NOAEL

	• Small Molecule	• Biologics
Toxicological dose descriptor (독성용량기술치)	• 반복투여독성시험의 NOAEL	• 반복투여독성시험의 NOAEL



2. MRSD 산출에 위해 NOAEL의 이용

- 임상안전용량: MRSD(Maximum recommended starting dose: **임상최대권장초기용량**)

Small molecule

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

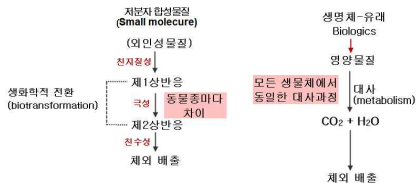
$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

Biologics

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

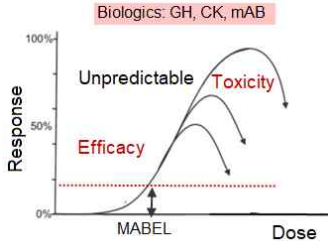
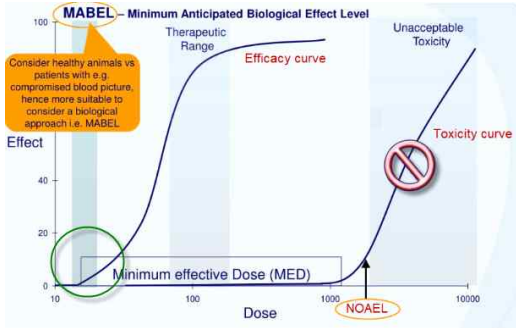
- 중간 차이: **HED** (Human equivalent dose: 동물-인체 등가용량)
- 종내 차이: **SF** (Safety Factor, 안전계수)



Species	To Convert Animal Dose in mg/kg to Dose in mg/m ² , Multiply by K_p	To Convert Animal Dose in mg/kg to HED ^a in mg/kg, Either:	
		Divide Animal Dose By	Multiply Animal Dose By
Human	37	---	---
Child (20 kg) ^b	25	---	---
Mouse	3	12.3	0.08
Hamster	5	7.4	0.13
Rat	6	6.2	0.16
Ferret	7	5.3	0.19
Guinea pig	8	4.6	0.22
Rabbit	12	3.1	0.32
Dog	20	1.8	0.54
Primates:			
Monkeys ^c	12	3.1	0.32
Marmoset	6	6.2	0.16
Squirrel monkey	7	5.3	0.19
Baboon	20	1.8	0.54
Micro-pig	27	1.4	0.73
Mini-pig	35	1.1	0.95

3. MRSD 산출에 위해 NOAEL 대신에 MABEL를 사용하는 Biologics

- Growth hormone, Monoclonal antibody, Cytokine, Immune agonistic properties



- MABEL (Minimum Anticipated Biological Effect Level; 최소약리효능용량) applied to MRSD
- $MRSD = MABEL / SF$
- $SF = RO \text{ ratio (in vitro)} = \frac{\text{Receptor Occupancy(Human)}}{\text{Receptor Occupancy(Animal)}}$

4. Systemic circulation(정맥)로 투입되는 Small molecule vs Peptide

- 펩타이드의 모달리티 구분: 국내 vs 미국

Small molecule

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

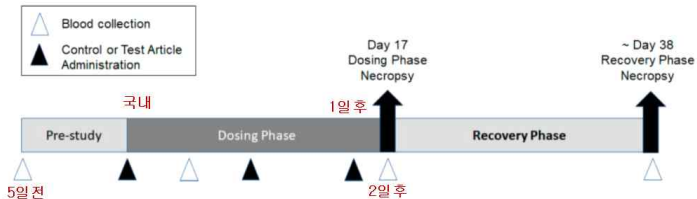
Peptide

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

5. 피하 또는 근육 주입되는 백신

- 동물용량 = 사람용량(Unit/kg)
- 임상시험에서 1회 주사하는 경우 독성시험에서는 2주 동안 3회 주사
- GLP 기업의 차이: 국내 vs 미국



Part 5. AI(Artificial Intelligence)-기반 임상안전용량 설정의 시뮬레이션

9. MRSD 예측

- 임상최대권장초기용량(maximum recommended starting dose, MRSD)

- 산출 공식

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

- Rat NOAEL = 0.3633 mg/kg/day
- HED = 0.3633 mg/kg/day x (6/37)
- MRSD = 0.059 mg/kg/day (÷) 10 = 5.9 µg/kg/day

<표> 체표면적 기준으로 동물용량을 HED로 전환하는 Km 계수

종(species)	체중 (kg)	체표면적 (m ²)	Km 계수
성인	60	1.6	37
어린이	20	0.8	25
비비원숭이(baboon)	12	0.6	20
개	10	0.5	20
원숭이(monkey)	3	0.24	12
토끼	1.8	0.15	12
기니아어 피그	0.4	0.05	8
랫드	0.15	0.025	6
햄스터	0.08	0.02	5
마우스	0.02	0.07	3

<Section -1> AI-based toxicity prediction - Small molecule

- 인공지능-기반 ① 신약개발과 ② 비임상연구
- AI-기반 독성예측 모달리티: Small molecule & Polypeptide 가능

	Small molecule	Polypeptide
구성	•분자량 1000 이하의 유기물질	•50-100 개 정도의 단일 체인의 아미노산
Input features for encoding	•물리화학적 특성	•물리화학적 특성과 독성과 관련된 특정 아미노산 서열
Model	•Regression & classification model	•Classification model
Learning approach	•Similarity-based approach	•Similarity/ alignment (배열순서)-based approach
Database	•Drugbank, ToxCast, ChEMBL, T3BD, Toxnet 등	•Primary database: Swissprot, TrEMBL, PIR, NRDB, OWL
Platform	•In vivo & in vitro •Clinical trial	•인체 비의도적 노출에 의한 독성을 유발한 Toxin의 아미노산 서열
Toxic endpoints	•다양하며 돌연변이원성과 발암성 포함	•Clinical toxicity으로 통칭되며 돌연변이원성과 발암성제외
CYP450 의한 Reactive metabolite로 전환	•CYP450의 기질이며 전환	•기질이 아니며 전환되지 않음
예측 프로그램	• Pro-Tox 3.0 prediction • Swissadme • ADMETlab 3.0 • BioTransformer 3.0 • TOXSTAR • ADMET-AI • OECD QSAR toolbox • ADMETSAR 3.0 • AI Drug Lab • Vega-GUI-1.2.4 • ADME/Tox Prediction - Profacgen • FP-ADMET • ADMETlab • pkCSM • Deep-PK • pkCSM • toxCSM	• Interpretable-ADMET • OptADMET • NN-ADMET • ADMET-score • ADMET-Print • DL-AOT Prediction • ToxRefDB v2.0 • eToxPred • ToxRead • ChemoSAR • MolToxPred • ToxMPNN • TCM • KEGG Drug • xenosite • SMARTcyp

1. 시험물질 - Methotrexate-OH

• Methotrexate Smiles

CN(CC1=CN=C2C(=N1)C(=NC(=N2)N)N)C3=CC=C(C=C3)C(=O)N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O

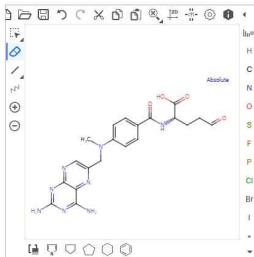
• Methotrexate-OH의 Smiles

CN(CC1=CN=C2N=C(N)N=C(N)C2=N1)C1=CC=C(C=C1)C(=O)N[C@@H](CCC=O)C(O)=O



[Home](#) [About](#) [FAQ](#) [Help](#) [Citing](#) [Contact](#) [Terms of Use](#)

For information: We have changed the look and feel of our tool. However, we have **NOT** changed the underlying technologies and parameters. Consequently, this updated Web tool provides exactly the same results as the previous version.



Enter a list of SMILES here:

CN(CC1=CN=C2N=C(N)N=C(N)C2=N1)C1=CC=C(C=C1)C(=O)N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O
CN(CC1=CN=C2N=C(N)N=C(N)C2=N1)C1=CC=C(C=C1)C(=O)N[C@@H](CCC=O)C(O)=O



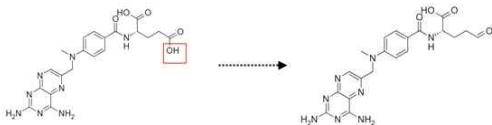
Fill with an example

Clear

Run!

2. 단회투여독성: LD₅₀ 예측

- LD₅₀: 계체군의 50% 치사량
- Methotrexate: 45 mg/kg
- Methotrexate-OH: 1.45mg/kg에서 3 mg/kg으로 평균 **2.363 mg/kg**
- 독성이 강해진 이유: -OH는 극성기(polar group)로 체내 흡수를 저해



Category	LD ₅₀ range
1	LD ₅₀ ≤ 50 mg/kg bw
2	50 < LD ₅₀ ≤ 200 mg/kg bw
3	200 < LD ₅₀ ≤ 1000 mg/kg bw
4	1000 < LD ₅₀ ≤ 2000 mg/kg bw

GHS = Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals ([United Nations, 2015](#)).

Acute Oral Test (LD50) prediction을 위해 이용된 Software

- Pubchem과 Marvin JS 프로그램
- **Pro-Tox 3.0 prediction: 3mg/kg**
- Swissadme
- ADMETlab 3.0
- BioTransformer 3.0
- TOXSTAR
- ADMET-AI
- OECD QSAR toolbox
- ADMETSAR 3.0
- **AI Drug Lab: 1.45 mg/kg**
- **Vega-GUI-1.2.4: Prediction is N/A**
- ADME/Tox Prediction - Profacgen
- FP-ADMET
- **ADMETlab: 2.762 mg/kg**

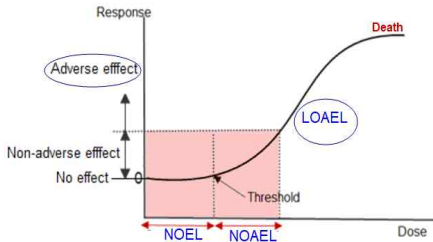
- **ADMET-AI: 2.24 mg/kg**
- Interpretable-ADMET
- OptADMET
- vNN-ADMET
- ADMET-score
- DL-AOT Prediction
- ToxRefDB v2.0
- eToxPred
- T3DB
- ToxRead
- ChemoSAR

3. 반복투여독성시험 - LOEL 예측

- LD_{50} : 평균 2.363 mg/kg
- LOEL(lowest observed adverse effect level, 최소독성용량): 1.8358 mg/kg/day으로 추정됨.
- 해석:(LD_{50} :LOEL)의 일반적인 ratio: 2-2.5이라는 고려할 때 LD_{50} 과 LOEL의 ratio는 1.28으로 낮다고 할 수 있음. 그러나 LD_{50} 의 독성 강도에 따라 분류한 GHS에 따르면 시험물질은 가장 강한 독성분류인 Category 1에 해당됨. 이는 독성의 용양반응곡선이 대단히 steep하기 때문에 시험물질의 LD_{50} 과 LOEL의 ratio인 1.28은 acceptable.

AI-based LOEL prediction을 위해 응용된 software

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Pubchem과 Marvin JS 프로그램• Pro-Tox 3.0 prediction :• Swissadme• ADMETlab 3.0• BioTransformer 3.0• TOXSTAR• ADMET-AI• OECD QSAR toolbox• ADMETSAR 3.0• AI Drug Lab:• Vega-GUI-1.2.4: LOEL 1.8358 mg/kg/day• ADME/Tox Prediction - Profacgen• FP-ADMET• ADMETlab: | <ul style="list-style-type: none">• ADMET-AI:• Interpretable-ADMET• OptADMET• vNN-ADMET• ADMET-score• ADMET-Print• DL-AOT Prediction• ToxRefDB v2.0• eToxPred• T3DB• ToxRead• ChemoSAR |
|--|---|



4. 반복투여독성시험 - LOAEL의 적용범위(Applicability domain)

VEGA

LOAEL (CONCERT/Coral) 1.0.0

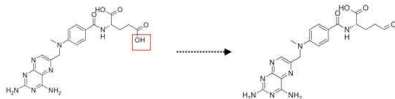
page 233

3.1 Applicability Domain:

Similar Compounds, with Predicted and Experimental Values



- Vega-GUI-1.2.4: LOAEL 1.8358 mg/kg/day
- Methotrexate-OH의 시험물질 구조



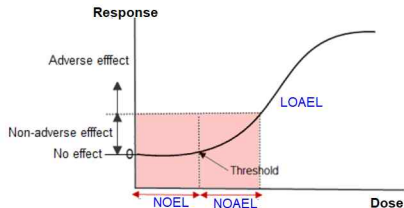
	Compound #1 CAS: 64-75-5 Dataset id:45 (Training Set) SMILES: <chem>O=C(N)C=3C(=O)C4(O)(C(O)=C2C(=O)c1q(O)cccc1C(O)(C)C2CC4(C(C=3(O))N(C)C))</chem> Similarity: 0.707 Experimental value : 2.799 Predicted value : 3.141
	Compound #2 CAS: 473289-62-2 Dataset id:521 (Training Set) SMILES: <chem>O=C(O)C3N2C(=O)C(NC(=O)C(C)C(C)SC(=O)C)Cc1cccc1C2CCCC3</chem> Similarity: 0.682 Experimental value : 3.204 Predicted value : 4.058
	Compound #3 CAS: 111991-09-4 Dataset id:516 (Training Set) SMILES: <chem>O=C(Nc1nc(OC)cc(n1)OC)NS(=O)(=O)c2ncccc2C(=O)N(C)C</chem> Similarity: 0.673 Experimental value : 1.176 Predicted value : 2.144
	Compound #4 CAS: 1397-94-0 Dataset id:343 (Training Set) SMILES: <chem>O=CNC2cccc(C(=O)NC1C(=O)OC(C)C(OC(=O)CC(C)C(C)C(=O)OC1(C))CCCCC)C2(O)</chem> Similarity: 0.671 Experimental value : 0.301 Predicted value : 1.193
	Compound #5 CAS: 87546-18-7 Dataset id:421 (Training Set) SMILES: <chem>O=C(OCCCCC)COc1cc(c(F)cc1C)N2C(=O)C3=C(C2(=O))OCCCC3</chem> Similarity: 0.665 Experimental value : 3.133 Predicted value : 2.888
	Compound #6 CAS: 134605-64-4 Dataset id:360 (Training Set) SMILES: <chem>O=C(OC(C(=O)OCC=C(C)C)C1cc(ccc1C)N2C(=O)C(=C(N(C2(=O))C)C(F)(F)F)</chem> Similarity: 0.665 Experimental value : 1.274 Predicted value : 1.856

5. 반복투여독성시험의 NOEL 예측

- LD₅₀ : 평균 2.363 mg/kg
- LOAEL(lowest observed adversed effect level, 최소독성용량): 1.8358 mg/kg/day 추정
- NOAEL(No observed adversed effect level. 최대무독성용량): 0.3633 mg/kg/day 추정
- 해석: 반복투여독성시험에서 고용량으로 MTD(maximum tolerated dose)으로 선택하지만 LOAEL 및 NOAEL을 실제시험에 동시에 얻기가 쉽지 않음

AI-based NOEL 예측을 위한 Software

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Pubchem과 Marvin JS 프로그램 • Pro-Tox 3.0 prediction: • Swissadme • ADMETlab 3.0 • BioTransformer 3.0 • TOXSTAR • ADMET-AI • OECD QSAR toolbox • ADMETSAR 3.0 • AI Drug Lab: • Vega-GUI-1.2.4: NOAEL 0.3633 mg/kg/day • ADME/Tox Prediction - Profacgen • FP-ADMET • ADMETlab: | <ul style="list-style-type: none"> • Interpretable-ADMET • OptADMET • vNN-ADMET • ADMET-score • ADMET-PrInt • DL-AOT Prediction • ToxRefDB v2.0 • eToxPred • T3DB • ToxRead • ChemoSAR |
|---|---|



$$\text{DNEL \& MRSD} = \frac{\text{NOEL}}{\text{SF (Human Km/Animal Km)}}$$

<그림> Risk assessment의 최종 목적

6. 돌연변이원성 예측

- 예측: Program 6개의 중 가장 높은 Positive 확률인 56.2% 모두 negative로 추정되었음
- 해석: Data의 차이에 기인하는 것으로 추정됨. 물론 각각의 프로그램이 복귀돌연변이, 염색체이상시험 그리고 소핵시험 등의 3가지 모두를 통해 mutagenicity를 결정된 것은 아님.

AI-based - Mutagenicity 예측을 위한 software

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">Pubchem과 Marvin JS 프로그램Pro - Tox 3.0 prediction : Negative (0.93)Swissadme:ADMETlab 3.0BioTransformer 3.0TOXSTARADMET-AI: Positive (0.33)OECD QSAR toolboxADMET SAR 3.0: Positive (0.562)AI Drug Lab: Positive (0.42)Vega-GUI-1.2.4: Non-mutagenicADME/Tox Prediction - ProfacgenFP-ADMETADMETlab: Positive (0.086) | <ul style="list-style-type: none">Interpretable-ADMETOptADMET: NegativevNN-ADMET: NoADMET-scoreADMET-PrintDL-AOT PredictionToxRefDB v2.0eToxPredT3DBToxRead |
|--|--|

7. 발암성 예측과 AUC

- **비발암성 (모델 정확도 : AUC - 0.85)**
- **해석:** 예측 프로그램 5개에서 시험물질의 발암성이 음성으로 확인되었으며 앞서 돌연변이성 결과에서의 음성과 일치한다는 것을 알 수 있음.

AI-based Carcinogenicity 예측을 위한 software

- Pubchem과 Marvin JS 프로그램
- **Pro-Tox 3.0 prediction: Inactive (0.52)**
- Swissadme:
- ADMETlab 3.0
- BioTransformer 3.0
- TOXSTAR
- **ADMET-AI: 0.19**
- OECD QSAR toolbox
- ADMETSAR 3.0:
- AI Drug Lab:
- **Vega-GUI-1.2.4: Non-carcinogen**
- ADME/Tox Prediction - Profacgen
- FP-ADMET
- ADMETlab:

- Interpretable-ADMET
- **OptADMET: Negative**
- **vNN-ADMET: No**
- ADMET-score
- ADMET-Print
- DL-AOT Prediction
- ToxRefDB v2.0
- eToxPred
- T3DB
- ToxRead

Toxicological endpoints

Name	Carcinogenicity
Predition Type	chemical induced carcinogenicity
End Point	active with confidence score
Group	Toxicological endpoints
Title	Carcinogenic
Training set	1391
Test set	155
Validation Approach	10 fold cross-validation
Balanced Accuracy	0.81
AUC	0.85
Descriptors	Molecular fingerprints
Method	Machine learning with oversampling
Applicability domain	Similarity measure
Reference	Ref1
Links	Carcinogenic Potency Database (CPDB)

8. 생식-발달독성 예측

- 예측: NOAEL, NOAEL 등과 같이 예측 프로그램 중 단 하나의 프로그램에서 생식발생독성에서 Non-toxicant로 추정됨

AI-based - Reproductive & Developmental toxicity 예측을 위한 프로그램

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Pubchem과 Marvin JS 프로그램• Pro-Tox 3.0 prediction:• Swissadme:• ADMETlab 3.0• BioTransformer 3.0• TOXSTAR• ADMET-AI:• OECD QSAR toolbox• ADMETSAR 3.0:• AI Drug Lab:• Vega-GUI-1.2.4: NON-Toxicant• ADME/Tox Prediction - Profacgen• FP-ADMET• ADMETlab: | <ul style="list-style-type: none">• Interpretable-ADMET• OptADMET• vNN-ADMET• ADMET-score• ADMET-Print• DL-AOT Prediction• ToxRefDB v2.0• eToxPred• T3DB• ToxRead |
|--|--|

9. MRSD 예측

- 임상최대권장초기용량(maximum recommended starting dose, MRSD)

- 산출 공식

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

- Rat NOAEL = 0.3633 mg/kg/day
- HED = 0.3633 mg/kg/day x (6/37)
- MRSD = 0.059 mg/kg/day (÷) 10 = 5.9 µg/kg/day

<표> 체표면적 기준으로 동물용량을 HED로 전환하는 Km 계수

종(species)	체중 (kg)	체표면적 (m ²)	Km 계수
성인	60	1.6	37
어린이	20	0.8	25
비비원숭이(baboon)	12	0.6	20
개	10	0.5	20
원숭이(monkey)	3	0.24	12
토끼	1.8	0.15	12
기니아 피그	0.4	0.05	8
랫드	0.15	0.025	6
햄스터	0.08	0.02	5
마우스	0.02	0.07	3

<Section -2> AI-based toxicity prediction - Polypeptide & Protein

- 인공지능-기반 ① 신약개발과 ② 비임상연구
- AI-기반 독성예측 모달리티: Small molecule & Polypeptide 가능

	Small molecule	Polypeptide
구성	•분자량 1000 이하의 유기물질	•50-100 개 정도의 단일 체인의 아미노산
Input features for encoding	•물리화학적 특성	•물리화학적 특성과 독성과 관련된 특정 아미노산 서열
Model	•Regression & classification model	•Classification model
Learning approach	•Similarity-based approach	•Similarity/alignment(배열순서)-based approach
Database	•Drugbank, ToxCast, ChEMBEL, T3BD, Toxnet 등	•Primary database: Swissprot, TrEMBL, PIR, NRDB, OWL
Platform	•In vivo & in vitro •Clinical trial	•인체 비의도적 노출에 의한 독성을 유발한 Toxin의 아미노산 서열
Toxic endpoints	•다양하며 돌연변이원성과 발암성 포함	•Clinical toxicity으로 통칭되며 돌연변이원성과 발암성제외
CYP450 의한 Reactive metabolite로 전환	•CYP450의 기질이며 전환	•기질이 아니며 전환되지 않음
예측 프로그램	• Pro-Tox 3.0 prediction • Swissadme • ADMETlab 3.0 • BioTransformer 3.0 • TOXSTAR • ADMET-AI • OECD QSAR toolbox • ADMETSAR 3.0 • AI Drug Lab • Vega-GUI-1.2.4 • ADME/Tox Prediction - Profacgen • FP-ADMET • ADMETlab • pkCSM • Deep-PK • pkCSM • toxCSM	• Interpretable-ADMET • OptADMET • vNN-ADMET • ADMET-score • ADMET-Print • DL-AOT Prediction • ToxRefDB v2.0 • eToxPred • ToxRead • ChemoSAR • MolToxPred • ToxMPNN • TCM • KEGG Drug • xenosite • SMARTyp
		• Toxteller • ToxinPredictor • ToxNet • NNTox • MAI-TargetFisher • ToxIBTL • ToxinPred • BloxyBetPrediction • ATSE

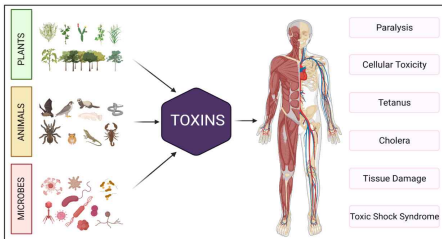
1. AI를 이용한 polypeptide & protein 독성예측과 특성

1-1) ToxinPred3.0 model - 예측 모델 특성

- Polypeptide 및 단백질의 4차원 구조 각각에 대한 amino acid sequence 입력한 모델 예측
- FASTA format - Peptide 및 단백질의 amino acid 서열에 대하여 문자열 표현

1-2) 기본 DATA

- ① TOXIN: 식물, 동물 그리고 미생물 등에서 인체 독성을 유발하는 Toxin은 1만여종 vs 독성을 유발하지 polypeptide도 1만여종
 - ② MERCI(The Motif-Emerging and with Classes-Identification) 자료: 독성 단백질이 아미노산의 서열 구성으로 recurring patterns(패턴 반복) 및 motifs(아미노산 배열의 작은 구조 부분)를 5518 toxic proteins를 분석
- 5518 toxic proteins: Proteins in cancer, neurodegenerative diseases, and infectious diseases



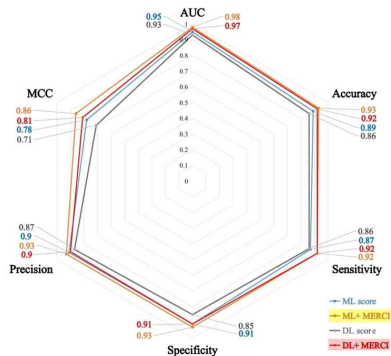
2. Model evaluation metrics(모델평가지표) 기반 ensemble approach (조합 접근)

2-1) 조합 접근

- ① ET(Extra Trees) Model - TOXIN
- ② Hybrid (ET+MERCI)
- ③ DL Model - TOXIN
- ④ Hybrid (DL+MERCI)

2-2) Model evaluation metrics(모델평가지표)의 종류와 개념

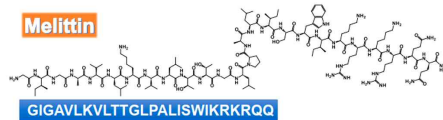
- 정확도(accuracy): 전체 예측 중 올바르게 예측한 비율 - $(TP + TN) / \text{전체 샘플 수}$
- 정밀도 (Precision): 실제 양성인 것으로 예측한 비율 - $TP / (TP + FP)$
- 재현율(Recall, Sensitivity) 실제 양성 중 모델이 양성으로 맞춘 비율- $TP / (TP + FN)$
- 특이도(Specificity) 실제 음성 중 모델이 음성으로 맞춘 비율- $TN / (TN + FP)$
- MCC(Matthews Correlation Coefficient, 메튜스 상관계수): 불균형 데이터에서 균형 잡힌 평가 지표(데이터 불균형이 심할 때)
- **AUC(Area under curve):** 양성과 음성을 얼마나 구분하는지에 대한 평가지표



<그림> 조합 모델의 평가 점수

3. Bee venom – Melittin

3-1) 멜리틴의 구조와 FASTA



3-2) 멜리틴의 유도체와 항균효능(MIC)

Table 1. Anti-bacterial properties of bee venom and its compounds.

Bee Venom/Isolated Compounds	Organism	Method	Dose/Mode of Action
Melittin	<i>S. aureus</i>	Disc diffusion	MIC 8 µg/mL
Melittin Hybrid			
Cecropin A–melittin (CAM)	<i>E. coli</i>	Microtiter broth dilution	MIC 3.7 µg /mL
CAM-W	<i>E. coli</i>	Microtiter broth dilution	MIC 0.3 µg/mL

MIC, Minimum inhibitory concentration

3-3) FASTA format

- Melittin: GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ
- CAM: KWKLFKKIEKVGQGIGAVLKVLTTGL
- CAM-W: KWKLWKKIEKWGQGIGAVLKWLTTWL-NH₂

4. 멜리틴의 ToxinPred3.0 model을 통한 예측

4-1) ToxinPred3.0에 Input

Paste peptide sequences (Fasta format): Example Input Sequences

```
>seq_1
GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ
>seq_2
KWKLFKKIEKVGQGIGAVLKVLTTGL
>seq_3
```

Or upload peptide sequence file in fasta format: 파일 선택 선택된 파일 없음

Select Machine Learning Technique used for developing model

☒ ET based ☐ Hybrid (ET+MERCI) ☐ DL based ☐ Hybrid (DL+MERCI)

4-2) ToxinPred3.0에 Input

Select the Threshold value:

0.5

Subject		Sequence	Dose/Mode of Action	ML Score	Prediction	PPV: Poisitive prediction value PPV
Seq_1	Melittin	GIGAVLKVLTTGLPAL...	MIC 8 µg/mL	0.82	Toxin	0.894
Seq_2		KWKLFKKIEKVGQGI...	MIC 3.7 µg /mL	0.485	Non-Toxin	0.48
Seq_3		KWKLWKKIEKWQG...	MIC 0.3 µg/mL	0.57	Toxin	0.585

4. 멜리틴의 ToxinPred3.0 model을 통한 예측

4-3) ToxinPred3.0의 선택적 model 조합의 결과

- ① ET(Extra Trees) Model
- ② Hybrid (ET+MERCI)
- ③ DL Model
- ④ Hybrid (DL+MERCI)

Select Machine Learning Technique used for developing model

ET based

Hybrid (ET+MERCI)

DL based

☒ Hybrid (DL+MERCI)

Select the Threshold value:

0.5

Subject	Sequence	Dose/Mode of Action	ML Score	Prediction	PPV
Seq_1	GIGAVLKVLTGTPAL...	MIC 8 µg/mL	0.82	Toxin	0.894
Seq_2	KWKLFFKKIEKVGQGI...	MIC 3.7 µg/mL	0.485	Non-Toxin	0.48
Seq_3	KWKLWKKIEKWQG...	MIC 0.3 µg/mL	0.57	Toxin	0.585

Subject	Sequence	ML Score	MERCI Score (+ve)	MERCI Score (-ve)	Hybrid Score	Prediction	PPV
Seq_1	GIGAVLKVLTGTPAL...	0.82	0	-0.5	0.32	Non-Toxin	0.262
Seq_2	KWKLFFKKIEKVGQGI...	0.485	0	-0.5	0.0	Non-Toxin	0.0
Seq_3	KWKLWKKIEKWQG...	0.57	0	-0.5	0.07	Non-Toxin	0.0

Subject	Sequence	Dose/Mode of Action	DL Score	Prediction	PPV
Seq_1	GIGAVLKVLTGTPAL...	MIC 8 µg/mL	0.636	Toxin	0.667
Seq_2	KWKLFFKKIEKVGQGI...	MIC 3.7 µg/mL	0.897	Toxin	0.989
Seq_3	KWKLWKKIEKWQG...	MIC 0.3 µg/mL	0.938	Toxin	1.0

Subject	Sequence	ML Score	MERCI Score (+ve)	MERCI Score (-ve)	Hybrid Score	Prediction	PPV
Seq_1	GIGAVLKVLTGTPAL...	0.636	0	-0.5	0.136	Non-Toxin	0.021
Seq_2	KWKLFFKKIEKVGQGI...	0.897	0	-0.5	0.397	Non-Toxin	0.362
Seq_3	KWKLWKKIEKWQG...	0.938	0	-0.5	0.438	Non-Toxin	0.416

ML model

ML + MERCI

DL model

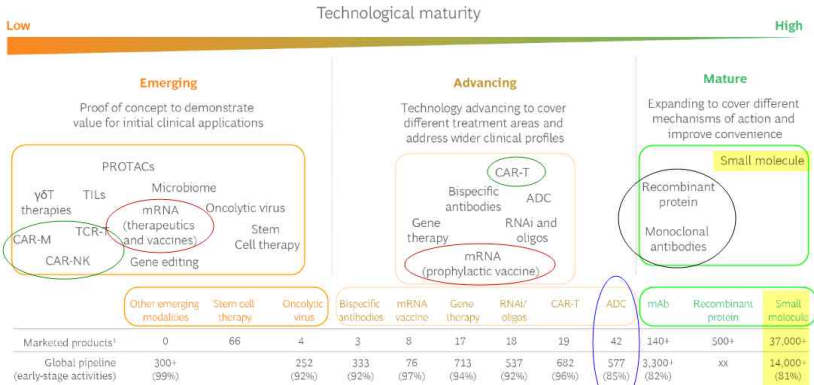
DL + MERCI

- MERCI:
- Cancer, neurodegenerative disease, 감염병 등의 질환과 관련 5518 toxic protein

Part 1-5: 결론

1. 신기전 치료제(New Drug modality)의 빠른 변화

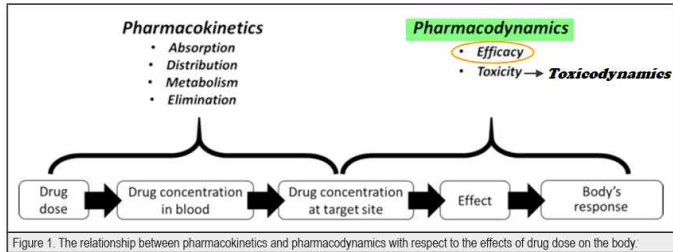
- 지난 20년 동안 17 모달리티 출현(Boston consulting group, 2022)



Sources: Evaluate Pharma; BCG analysis.

2. Nonclinical pharmacology study: PK & PD

- Nonclinical pharmacology study: Pharmacokinetics(PK) + Pharmacodynamics(PD)
- PK: The time-dependent concentration change of drug in blood(How the body affect a taken drug)
- PD: The biochemical and physiologic effects of drug(How the drug affect your body)



(Chu et al., 2017)

3. Nonclinical Toxicological Study

- 합성의약품 및 바이오의약품 등의 특성 차이를 고려한 독성시험 디자인

시험항목 및 가이드라인	• Small Molecule	• Biologics
• 동물종의 선택을 위한 우선 요소	• 인체와 유사한 약물대사 기전 을 가진 설치류 및 비 설치류에서 각각 선택	• 약물대사와 무관 하며 약리작용 기전의 동일한 설치류 또는 비설치류로 단일 종일 수도 있음
• 단회 및 반복 수행 방법	• 수행 및 3 단계 용량군	• 단회 생략 및 임상용량 단회 투여 가능
• 투여용량의 선택 기준	• (Maximum tolerated dose, MTD)을 최고용량	• 최대투여 가능용량(maximum feasible dose, MFD) 또는 MABEL(minimum anticipated biological effect level, 생물학적영향-최소추정용량)
• 동물종의 수와 시험기간	• 설치류 및 비설치류 등 2종에서 2주에서 13주의 투여기간의 독성시험	• 단일종으로 투여 횟수와 관계가 없이 임상시험의 기준 에 맞추어 단기간 또는 최대 6개월까지 관찰
• 안전성약리 시험	• 독성시험과 별개로 독립적으로 수행	• 유효성과 독성의 용량-반응 곡선이 하나의 시험 에서 얻을 수 있기 때문에 독성시험으로 부분적 또는 전체적으로 대체 가능
• 유전독성시험	• 필수적	• 불필요
• 독성동태시험	• 일반적인 PK 지표: Cmax, Tmax, AUC	• Biodistribution: 국소주입 후 표적기간에서 사라지는 시간 및 타 조직으로 이동 확인
• 임상용량 결정	• NOAEL & MRSD	• MABEL & 동일용량 및 횟수, MRSD

4. MRSD 산출에 위해 NOAEL의 이용

- 임상안전용량: MRSD(Maximum recommended starting dose: 최대권장초기용량)

Small molecule

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

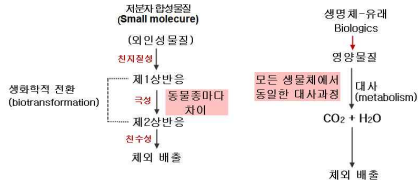
$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

Biologics

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)}$$

- 종간 차이: HED (Human equivalent dose: 동물-인체 등가용량)
- 종내 차이: SF (Safety Factor, 안전계수)



Species	To Convert Animal Dose in mg/kg to Dose in mg/m ² , Multiply by km	To Convert Animal Dose in mg/kg to HED ^a in mg/kg, Either:	
		Divide Animal Dose By	Multiply Animal Dose By
Human	37	---	---
Child (20 kg) ^b	25	---	---
Mouse	3	12.3	0.08
Hamster	5	7.4	0.13
Rat	6	6.2	0.16
Ferret	7	5.3	0.19
Guinea pig	8	4.6	0.22
Rabbit	12	3.1	0.32
Dog	20	1.8	0.54
Primates:			
Monkeys ^c	12	3.1	0.32
Marmoset	6	6.2	0.16
Squirrel monkey	7	5.3	0.19
Baboon	20	1.8	0.54
Micro-pig	27	1.4	0.73
Mini-pig	35	1.1	0.95

5. AI-based toxicity prediction와 MRSD의 시뮬레이션

- 현재까지 인공지능(artificial intelligence, AI)을 기반으로 독성예측의 약물도달리타는 small molecule(분자량 1000 이하의 합성물질)과 50개 이상 아미노산이 연결된 단일 체인 polypeptide이라고함.
- 물론 단일 체인의 polypeptide도 단백질이라고 하지만 대부분은 단백질은 2차, 3차 및 4차 등 다수의 polypeptide로 구성됨.

	Small molecule	Polypeptide
구성	•분자량 1000 이하의 유기물질	•50-100 개 정도의 단일 체인의 아미노산
Input features for encoding	•물리화학적 특성	•물리화학적 특성과 독성과 관련된 특정 아미노산 서열
Model	•Regression & classification model	•Classification model
Learning approach	•Similarity-based approach	•Similarity/alignment(배열순서)-based approach
Database	•Drugbank, ToxCast, ChEMBL, T3BD, Toxnet 등	•Primary database: Swissprot, TrEMBL, PIR, NRDB, OWL
Platform	•In vivo & in vitro •Clinical trial	•인체 비의도적 노출에 의한 독성을 유발한 Toxin의 아미노산 서열
Toxic endpoints	•다양하며 돌연변이원성과 발암성 포함	•Clinical toxicity으로 통칭되며 돌연변이원성과 발암성 제외
CYP450 의한 Reactive metabolite로 전환	•CYP450의 기질이며 전환	•기질이 아니며 전환되지 않음
예측 프로그램	- Pro-Tox 3.0 prediction - Swissadme - ADMETlab 3.0 - BioTransformer 3.0 - TOXSTAR - ADMET-AI - OECD QSAR toolbox - ADMET-SAR 3.0 - AI Drug Lab - Vega-GUI-1.2.4 - ADME/Tox Prediction - Profacgen - FP-ADMET - ADMETlab - pKCSM - Deep-PK - pKCSM - toxCSM	- Interpretable-ADMET - OptADMET - vNN-ADMET - ADMET-score - ADMET-Print - DL-AOT Prediction - ToxRefDB v2.0 - eToxPred - ToxRead - ChemoSAR - MolToxPred - ToxMPNN - TCM - KEGG Drug - xenosite - SMARTcyp
		- Toxteller - ToxinPredictor - ToxNet - NNTox - MAI-TargetFisher - ToxIBTL - ToxinPred - BloxyBetPrediction - ATSE

6. 성공적인 IND 전략

- 바이오의약품의 등장으로 drug modality의 다양성에 따른 효능시험 및 독성시험의 구성 차이에 대한 올바른 이해가 중요
- 외국 및 국내의 규제기관에 따른 독성시험의 구성과 해석에 대한 차이가 존재하며 이에 대한 고려의 필요성
- 바이오의약품 독성시험에서 용량과 기간은 합성의약품과의 비교하여 차이가 있으며 이는 임상시험의 디자인에 있어서 그 중요성에 대한 인식이 필요
- 비임상독성시험 이전에 AI-based toxicity prediction and MRSD 시뮬레이션의 필요성

Part 6. 비임상 신약개발에서의 New approach methodologies
(NAMs: 신규접근 방법론 or 인체 기반 대체법) 이해와 글로벌 기술·규제 동향

Section-1. 비임상연구에서 동물실험의 한계성과 **NAMs** 출현의 배경

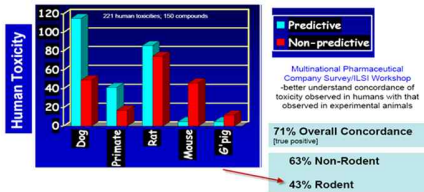
1. 동물실험의 문제점

1) 임상시험에서 낮은 예측률

- 동물 모델은 임상시험 전 의약품의 효능과 안전성을 입증하는 데 있어 가장 신뢰할 수 있는 방법으로 간주되었음.
- 그러나 약 80~90%의 의약품이 임상시험에서 실패
- 그중 40~70%는 임상적 효능 부족이나 독성으로 인해 임상시험에서 실패함.

1-1) 독성 측면

- **Concordance rate:** 비임상동물실험의 독성 대비 임상시험에서 발생할 독성의 비율

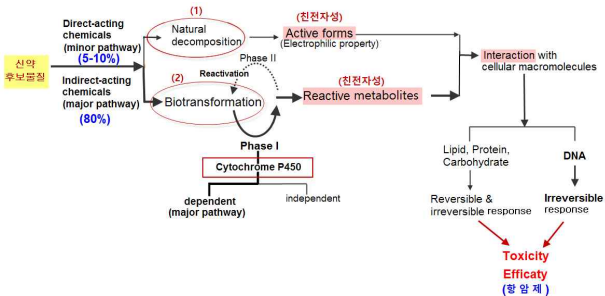


1. 동물실험의 문제점

1) 임상시험에서 낮은 예측률

1-1) 독성 측면

- 비임상 동물실험과 임상시험 사이 독성의 불일치
- NAMs에서는 중간차이가 없음



<그림> 유기물질의 독성기전
(박영철, 2011)

<표> 인체 cytochrome P450의 종별 일치율

CYP family	CYP subfamily	CYP isozyme			
		Human	Monkey	Rat	Mouse
CYP1	CYP1A	CYP1A1	CYP1A1	CYP1A1	CYP1A1
		CYP1A2	CYP1A2	CYP1A2	CYP1A2
	CYP1B	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1	CYP1B1
CYP2	CYP2A	CYP2A6	CYP2A23	CYP2A1	CYP2A4
		CYP2A7	CYP2A24	CYP2A2	CYP2A5
		CYP2A13		CYP2A3	CYP2A12
					CYP2A22
	CYP2B	CYP2B6	CYP2B17	CYP2B1	CYP2B9
		CYP2B7		CYP2B2	CYP2B10
				CYP2B3	
				CYP2B5	
	CYP2C	CYP2C8	CYP2C20	CYP2C6	CYP2C29
		CYP2C9	CYP2C43	CYP2C7	CYP2C37
		CYP2C18		CYP2C11	CYP2C38
		CYP2C19		CYP2C12	CYP2C39
				CYP2C13	CYP2C40
				CYP2C22	CYP2C44
			CYP2C23	CYP2C50	
				CYP2C56	
	CYP2D	CYP2D6	CYP2D17	CYP2D1	CYP2D9
		CYP2D7	CYP2D19	CYP2D2	CYP2D10
		CYP2D8	CYP2D29	CYP2D3	CYP2D11
			CYP2D30	CYP2D4	CYP2D12
			CYP2D42	CYP2D5	CYP2D13
				CYP2D18	CYP2D22
					CYP2D26
					CYP2D34
					CYP2D40
	CYP2E	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1	CYP2E1
CYP3	CYP3A	CYP3A4	CYP3A8	CYP3A1	CYP3A11
		CYP3A5		CYP3A2	CYP3A13
		CYP3A7		CYP3A9	CYP3A16
		CYP3A43		CYP3A18	CYP3A25
			CYP3A62	CYP3A41	
				CYP3A44	
인체 CYP와 일치율			4/15 = 27%	4/28 = 14.3%	4/34 = 11.8%

1. 동물실험의 문제점

1) 임상시험에서 낮은 예측률

1-2) 약리 측면 - 신약 개발의 실패원인

① 알츠하이머병 (Alzheimer's disease, AD) 치료제에 대한 동물 모델의 문제점

1. 질병의 다인성 병인을 고려하지 못한 점: 고전적 특징인 뇌 내 **아밀로이드 플라크**와 **신경섬유 엉킴**의 침착에 지나치게 집중

2. AD의 **염증성**, **면역성** 및 **대사성** 요소를 지닌 **다인성 증후군**이라는 증거 축적의 증가

3. 신약 후보물질의 효능, 표적 선택성, 약력학적 및 약동학적 특성 등 관련 측면을 **전임상 평가 과정에서 소홀히 하는 경향**:

4. 제한적 및 부적절한 질환모델:

- 근친 교배/자연 발생 동물모델 vs 형질전환 동물모델 예시
- **동반 질환의 위험요인이 반영되지 않은 질환모델**

1. 동물실험의 문제점

1) 임상시험에서 낮은 예측률

1-2) 약리 측면 - 신약 개발의 실패원인

② 파킨슨병(Parkinson's disease) 치료제에 대한 동물 모델의 문제점

- 파킨슨병 치료를 위한 동물모델 266건의 연구 분석(Zeiss 등, 2017)
- 마우스를 대상으로 한 연구의 90%, 랫드를 대상으로 한 연구의 95%, 비인간 영장류를 대상으로 한 시험의 67~80%에서 파킨슨병의 진행에서 개선이 되었음이 확인됨 → 인간 대상 시험에서는 단 32%만이 임상적 개선이 확인되었음
- 동물모델의 한계점
 - 비인간 영장류에서는 젊은 개체 사용
 - 마우스 및 랫드 모델에서는 수컷 편향 사용

1. 동물실험의 문제점

1) 임상시험에서 낮은 예측률

1-2) 약리 측면 - 신약 개발의 실패원인

③ 류머티즘성 관절염 치료제에 대한 동물 모델의 문제점

- 마우스, 랫드, 토끼, 원숭이 등의 다양한 종에서 유래한 많은 전임상 관절염 모델이 개발되었음.
- 진정한 류마티스 관절염(RA)을 재현하지 않음.
- 질병의 초기와 후기에서 질병 특성 변화를 적용하는 동물모델의 한계
- 류마티스 관절염의 유도 방법에 대한 약물 효능에서 차이점

1. 동물실험의 문제점

1) 임상시험에서 낮은 예측률

1-2) 약리 측면 - 신약 개발의 실패원인

④ 비인간-영장류(Non-human primate, NHP)를 이용한 HIV/AIDS 백신 시험의 문제점

- 비인간-영장류(침팬지와 마카크 원숭이 등)에서 고무적인 결과를 보인 85종의 서로 다른 백신 제품이 197건의 임상시험에도 불구하고 백신개발 실패
- 긴팔원숭이(cynomolgus macaques)와 인간 사이의 **CD4 T-세포 및 CD8 T-세포에서 현저히 다른 전사체 프로파일**(Tan 등, 2019).
- 항체의 **성별 차이와 기능차이**(Miller-Novak 등, 2018)
- NHP와 인간 간에 관찰되는 여러 **인터페론 유도형 막단백질(IFITM, interferon-induced trans membrane protein) 유전자의 차이점**(Sharma 등, 2019)
- 인도계 레서스원숭이는 **감염 후 1~2년 내에 AIDS를 발병**하는 반면, 인간은 8~10년이 소요됨.

1. 동물실험의 문제점

2) 윤리 및 여론 측면 - 3R

● 동물실험에 대한 윤리적 문제

- 3R 원칙 제시: 감소(Reduce), 대체(Replace), 개선(Refine)
- 지난 50년 동안 동물-대체시험(animal-alternative methods) 개발 →
- 동물 실험을 통해 여러 노벨상이 수여에 대한 문제점 지적
- 화장품 인허가에 동물실험 자료 제출 금지
- 미국 성인 85 % 이상이 "동물실험 단계적 폐지" 지지



1. 동물실험의 문제점

3) 경제적인 측면

- **mAb(monoclonal antibody) 1개 개발 예시**
- 전임상에 NHP(비인간영장류) 144마리 소요
- 최근 NHP 한 마리 가격 최대 5만 달러
- **평균 9년 동안 650~750 M 달러(약 1조원)**

Table 2. Approximate of the number of animals used in research worldwide between 2019–2020.

Country	Number of Animals
United States	20,000,000–24,000,000
China	16,000,000
Japan	11,000,000
European Union	9,400,000
Australia	6,700,000
Canada	5,067,778
South Korea	4,141,433
United Kingdom	3,300,000
Norway	2,282,710
Germany	2,151,805
France	1,865,403
Spain	761,012
Mexico	685,315
Switzerland	556,107
Belgium	437,275
New Zealand	240,000

(Dominguez-Oliva emd, 2025)

2. NAMs 출현

- **동물-대체시험법**(animal-alternative methods): 지난 50 여년 동안 사용되었으며 새롭게 등장한 비임상 기술을 표현하기에는 한계
- 동물 기반 데이터를 통해 **안전성 및 효능 측면에서 가장 낮은 예측 성공율**을 보인 질병은 암(Mak 등, 2014), 알츠하이머병(Pippin 등, 2019), 염증성 질환(Seok 등, 2013) 등이었음.
- **용어의 최초 기원**: **NAMs**(New Approach Methodologies)은 **2016년 4월** 헬싱키에서 열린 'New Approach Methodologies in Regulatory Science Proceedings of a scientific workshop'에서 공식적으로 제정된 용
- **새로운 시험 또는 평가 방법이 NAMs**로 인정받으려면 화학물질, 의약품 또는 기타 물질의 규제 위험성 또는 안전성 평가에 관련성이 있어야 함(ECHA, 2016).
- **동물-대체시험(animal-alternative methods) vs NAMs의 차이**
 - **여러 생명체-유래 기반 vs 인체-유래 기반 자료**
 - **Human relevance: 인체 기반 대체법**

3. 규제적 측면의 NAMs - 결정적인 요소

- **2022년: FDA Modernization Act 2.0** → 신약 임상시험 동물 실험 의무를 폐지 및 IND에 동물 대체데이터 허용
 - 합성의약품 허가: New Drug Application (NDA),
 - 바이오의약품 허가: Biologics Licensing Application (BLA)
- **2025년 4월: Animal Testing Phase-Out Roadmap** → 동물실험 의무 단계적 폐지가 정책-가이드-인센티브까지 구체화되어 실행 국면에 진입
 - NAMs의 표준화 절차 수립 → NAMs의 질적 평가 방법에 대한 방안 (Verification, Validation, Applicability)의 3축을 정량화 지표 제시)
 - IND를 위해 NAMs-기반 자료 제출 촉진 및 임상시험 승인을 위해 검토를 권장
 - 향후 3년 동안 신약 개발을 위한 전통적인 독성시험 자료와 더불어 NAMs-기반 독성시험 자료를 함께 심사하는 계획
- **2025년 12월: FDA Modernization Act 3.0** → 준수하지 않은 FDA 현대화법 2.0 중 FDA 규정을 개정하여 동물 연구 의무를 제거

4. FDA Modernization Act 3.0

1) 미국 상원의 Mordernization 3.0

- 미국 상원은 2025년 12월 16일 만장일치로 FDA 현대화법 3.0(S.355)을 통과
- 동물실험, 데이터, 연구, 모델 및 연구에 대한 언급을 '비임상' 실험('nonclinical' tests)으로 대체
- 기존 동물 연구와 새로운 접근법(NAMss; New Approach Methodologies) 즉 인체 세포 기반 모델·오가노이드·장기온칩, AI 독성 예측 등 대체시험법을 공식 평가 수단으로 반영을 의미

2) 현대화법 3.0에 따라 FDA의 1년 내 수행 내용

- ① 승인 경로 수립(Establish a Pathway): 의약품 개발을 위한 NAMs 승인을 신청할 수 있는 공식 절차를 마련해야 함
- ② 우선 심사(Prioritise Review): 승인된 NAMs를 사용하여 개발된 의약품에 대해 우선 심사 권한을 부여함
- ③ 투명성 및 보고(Transparency and Reporting): 접수된 신청 건수, 승인된 방법 유형, 그 결과로 예상되는 동물 구출 수에 대해 매년 보고

5. 2026년 FDA 규제 체계의 4대 변화

- FDA가 약물 개발 수명 주기 전반에 걸쳐 근거 기준(evidence standards)에 접근하는 방식에 있어 일관된 변화를 반영
 - **추진력**: 질병 생물학, 바이오마커 특성화, 유전체 의학, 통계 방법론의 발전으로 **현재 규제 기대와 현대 과학 간의 큰 격차**에 대한 대응
-
- ① **New approach methodologies**: 오가노이드, 장기 온 칩, 인실리코 모델 등 **인체 기반 대체**에 대한 4가지 검증 원칙에 대한 **초안 지침 확립** (4가지 검증: 의도된 사용에 대한 명확성, **인간 생물학적 관련성**, 신뢰성 및 재현성의 기술적 특성화, 그리고 방법의 규제 의사결정 지원력)
 - ② **Single-trial standard(단일시험표준)**: 확인 증거로 뒷받침된 적절하고 잘 통제된 **하나의 연구가 이제 신약 승인의 기본 요건**(default requirement)
 - ③ **Plausible mechanism framework(잠재적 기전 프레임워크)**: 새로운 경로의 개별화된 초희귀질환 치료제(individualized ultra-rare disease therapies)로 전통적인 임상시험이 불가능할 때 **기전 데이터(mechanistic data) 기반으로 승인 사례를 구축**
 - ④ **Bayesian methodology**: 적응형 임상시험 설계에 **베이지안 통계 방법**을 적용하고 **실제 시험 증거(real-world evidence)**와 기존 정보와 사후 정보의 **대조통제군(external controls)**을 통합하는 것에 대해 더 명확한 규제 지침

Section-2. 다양한 NAMs 원리와 소개 - **In vitro**(인간 세포 및 조직)

1. 기존 독성시험의 특성

1) 독성의 정성적 특성

- Target organ toxicity의 유무
- Positive vs Negative Response

2) 독성의 정량적 특성

- 독성통태학적 지표(Toxicokinetics Parameter)
- 독성의 용량-반응관계: **NOAEL**

3) 임상**최대**안전용량

- **MRSD** = **HED/10(SF)**
- **HED** = **NOAEL** x (Animal Km/Human Km)
- **HED** = Human equivalent dose(인체동등용량)

독성시험	정성 및 정량 개괄
단회투여독성시험	정량: LD ₅₀ 및 ALD, MTD
반복투여독성시험	정량: NOEL, NOAEL , LOAEL, BMD, MTD, 정성: 표적 장기, MABEL
생식.발생독성시험	정량: NOEL, NOAEL, LOAEL, BMDL _y , TTC, MTD
유전독성시험	정성(음성 vs 양성)
항원성시험	정성(음성 vs 양성)
중양원성시험	정성
면역독성시험	정성
발암성시험	정성 및 정량: T ₂₅ , TD ₅₀ , BMDL ₁₀ , TTC
국소독성시험 (피부자극 및 안점막자극 시험)	정성(음성 vs 양성)
국소내성시험 (의존성)	정성
독성동태시험 & Biodistribution	정량: T_{max} , C_{max} , AUC , T_{1/2} , 생체이용률

2. NAMs - 인체 기반 대체법의 핵심 플랫폼

● NAMs으로 간주되는 기술

- NAMs에 대한 가장 포괄적이고 규제 기준에 부합하는 정의: **“인간 생물학을 모델링하고 테스트하는 능력을 향상시키는 모든 새로운 과학적 방법”**. ----> **인체기반 대체법**

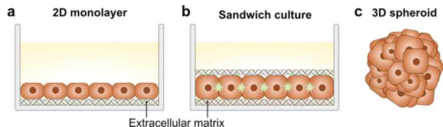
NAMs 카테고리	대표 플랫폼	규제 활용 포인트
In vitro(인간 세포 및 조직): 살아있는 인간 세포를 사용하여 동물 실험에서는 일관되게 재현되지 않는 인간 생리학의 핵심 특징들을 포착하는 기술	- 세포 기반 분석법 - Spheroid 및 Organoid 미세생리학적 시스템(MPS): 칩 위의 장기(Organs-on-a-Chip) - 줄기세포 유래 조직 시스템 - 신흥 세포 유래 기술	반복독성, 면역독성, DILI 예측 (인간 간손상 87 % 예측 정확도)
In silico model: 생물학적 및 화학적 데이터의 패턴을 분석하여 결과를 더 빠르고 대규모로 예측하는 기술 - 화학적 구조와 독성과의 관계(QSAR)	- 인공 지능 및 기계 학습 독성 모델 - 시스템 생물학 및 경로 기반 시뮬레이션 - 건강 결과를 평가하기 위한 언어 처리 모델 - 인간 행동을 평가하기 위한 기계 학습 시스템 - 신흥 계산 시스템	- FIH 용량 산출, 특수집단 시뮬레이션, Off-target 위험 탐지, PBPK(ADME 외삽) 반복 등 기존 동물시험으로부터 가능한 MRSD 추정 가능
In chemico(화학 상호작용 분석): 세포나 생물체 없이도 독성과 연관된 분자 상호작용을 측정하기 위한 실용적인 실험을 활용하는 기술	- 펩타이드 및 단백질 반응성 분석(예: DPRA, ADRA(피부감작성시험, GSH 반응성)) - 산화 스트레스 및 라디칼 생성 분석 - 광화학 및 환경 반응성 시험 - 신흥 화학 시스템	독성물질의 특성, Mechanism of action
HTS (High Throughput Screening, 초고속대량스크리닝)	대부분의 NAMs가 해당됨	

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

- In vitro(인간 세포 및 조직): 살아있는 인간 세포를 사용하여 동물실험에서는 일관되게 재현되지 않는 **인간 생리학의 핵심 특징들을 포착하는 기술**

3-1) 2D monolayer vs Sandwich culture vs 3D spheroid(구상체)

• 간세포 예시



<그림-1> 인간 간세포를 이용한 간 내 약물 분포 및 독성 연구를 위한 배양 구조 예시 **Extracellular matrix(ECM): 세포외기질**
(Ölander, 2019)

특징	(a) 2차원 단층	(b) 2D 샌드위치	(c) 3D 스펠로이드
셀 환경	ECM 단백질로 코팅된 표면에 배양하는 전통적인 2차원 단층 배양	세포 상부에 두 번 째 ECM 층을 추가하는 샌드위치 구조	세포가 응집하여 소형 구상 미세조직을 형성하는 3차원 구상 배양
세포 간 상호작용	낮게	로우-미디엄	높게
극성(세포 내 물질의 비대칭)	잃어버림/저울	복원됨	자연
약물 민감성	종종 낮게	중급	높음(생리적)
처리량	높게	매체	미디엄-로우
적합성	신속 선별	간 기능	독성 연구

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-2) 오가노이드(Organoid)

3-2-1) Spheroid vs Organoid

- **Spheroid vs Organoid:** 모두 3차원(3D) 세포 배양 모델이지만, 구조적 복잡성과형성 방식에서 큰 차이가 있음. 스페로이드는 단순한 세포 뭉침(군집)인 반면, 오가노이드는 줄기세포의 자가 조직화(Self-organization)를 통해 실제 장기의 구조와 기능을 모사하는 고도화된 구조체

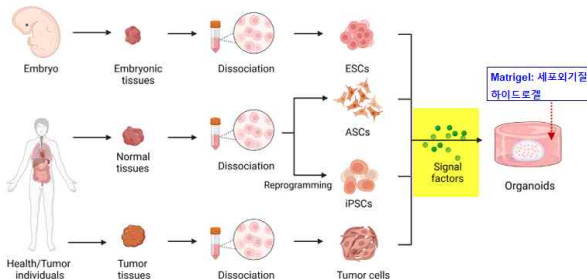
<핵심 차이>		
특징	스페로이드 (Spheroid)	오가노이드 (Organoid)
정의	• 3D의 단순 세포 뭉침 - 3D 군집	• 3D의 미니 장기유사체 - Self-organization
유래 세포	• 암세포주, 일차 세포 (분화된 세포)	• 조직줄기세포, 배아/유도만능줄기세포
형성 원리	• 단순 세포 간 상호작용, 물리적 응집	• 자가 조직화 (Self-organization): 외부의 자극의 없이도 신호전달 및 접착 등을 통해 스스로 3차원 구조와 기능을 함.
구조/기능	• 비교적 단순한 구형 구조	• 실제 장기와 유사한 복잡한 구조/기능
주요 용도	• 종양 모델, 암 연구, 약물 스크리닝	• 질병 모델링, 발생학 연구, 장기 이식
배양 방법	• 주로 부유 배양 (Low-attachment)	• ECM의 3D 배양을 위해 matrigel-3D scaffold 사용 - 마트리젤 돔(Dome) 기법 • 재현성 한계 또는 인체이식에 제한이 있어 이를 극복하기 위해 합성 고분자나 합성 하이드로젤 같은 마트리젤 대체제(Xeno-free alternatives)

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-2) 오가노이드(Organoid)

3-2-2) 제작 원리

- 배아줄기세포(ESC), 성체줄기세포(ASC) 유도만능줄기세포(iPSC)를 조절하여 원하는 장기로 분화 유도
- 장기별 신호전달물질의 차이(그림)
- Matrigel(천연 기저막 유래 hydrogel scaffold)의 ECM 내에서 줄기세포의 증식과 분화를 유도하여 3차원 구조물을 형성(Table 1)



<표>>장기별 오가노이드 제작을 위한 Signal factor

Table 1. Induction, differentiation and maturation factors for organoid generation.

Organoids	Differentiation elements
Brain	N2 supplement, NEAA, heparin for neural induction. Insulin, 2-mercaptoethanol for differentiation. Vitamin A, retinoic acid for maturation.
Intestines	Activin-A, BMP4, Wnt/beta-catenin signaling, Lgr5 marker for endoderm induction. FGF4, Wnt3A ligand. Respondin-1 for differentiation. Gremlin and Noggin, EGF, FGF4, Wnt, afamin, ZRNF3, RFN43 (ubiquitinases) for maturation.
Liver	Activin-A for endoderm induction. BMP4, FGF2, hepatocyte growth factor for differentiation. Oncostatin-M for maturation.
Kidneys	Wnt, GSK3 α inhibitor for induction of intermediate mesoderm. FGF9 for differentiation
Lungs	Activin-A for endoderm induction. Wnt, BMP, FGF, cAMP. γ -glucocorticoids for differentiation.

<그림> Organoid의 단순한 제작 과정 (Yang 등, 2023)

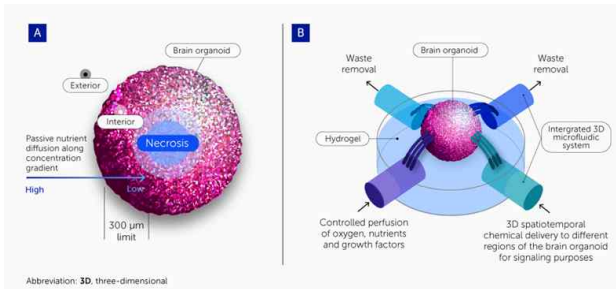
(Amiel-Pérez 등, 2023)

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-2) 오가노이드(Organoid)

3-2-3 개발의 동향 - 미세유체 장치(Microfluidic system)

- 그림(A): 뇌 오가노이드의 항상성 유지에 산소, 영양분, 성장 인자의 공급과 함께 노폐물의 제거가 필요. 수동 확산은 약 **300 μ m 깊이까지만 침투**하므로, 더 큰 오가노이드의 중심부에서는 **영양 결핍으로 인해 괴사**가 발생.
- 그림(B): 3차원 미세유체 시스템은 더 큰 오가노이드 전체에 걸쳐 **제어된 유체 공급을 제공**함으로써 확장성과 수명을 향상시킴. 또한 신호 전달을 위해 화학 물질을 3차원 공간-시간적으로 투여할 수 있게함.



(Smirnova 등, 2023)

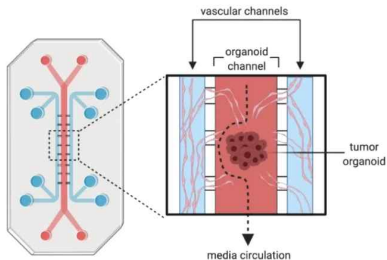
<그림> 오가노이드의 확장성 및 장기적 항상성 유지를 지원하는 **3차원 미세유체(microfluidic) 장치**

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

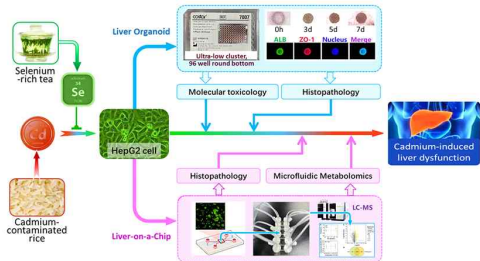
3-2) 오가노이드(Organoid)

3-2-4) 개발의 동향 : Microfluidic system + Sensor chip vs Organoid and organ-on-a-chip platform

- <그림-1> **Organoid-on-a chip**(칩 상의 오가노이드): 미세유체 칩은 배양액을 순환시킬 수 있는 유입구와 연결된 챔버 내에서 오가노이드를 배양하도록 설계. 하이드로겔 내에서 섬유아세포와 함께 내피세포를 배양으로 혈관신생 모방. 종양오이드 배양액은 혈관망을 통해 관류 및 투약
- <그림-2> **Organoid and organ-on-a-chip platform**: ①간 오가노이드 기반의 **분자 및 조직병리학적 분석**을 ②미세유체학 기반 **대사체학**과 혁신적으로 통합 형태. 미세유체학 오가노이드-온-어-칩 시스템에서 간 오가노이드를 배양함으로써 카드뮴 및 셀레늄 노출 수준을 정밀하게 제어하고 생리학적 유체 역학을 모사하여, **생체 내 미세환경을 보다 정확하게 재현**



Microfluidic Device



<그림-2> Organoid and organ-on-a-chip platform(예시: HepG2 cell: 인간 간암세포)

- <그림-1> 미세유체 장치 및 칩 상의 오가노이드(**Organoid-on-a chip**)

(Ren 등, 2026)

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

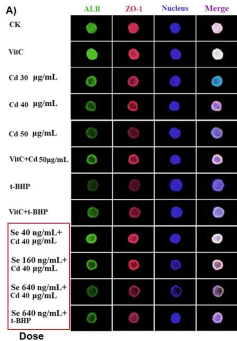
3-2) 오가노이드(Organoid)

3-2-4) 개발의 동향 - A cross-scale(교차 단위) toxicological system

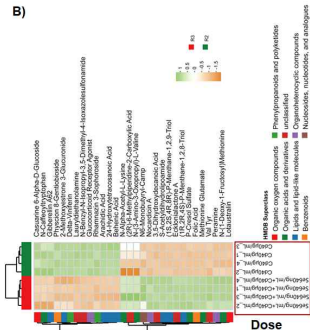
- 주요 결과:

- 카드뮴(Cd) 노출은 간 손상과 양의 독성의 용량-반응 관계
- 셀레늄(Se)은 40µg/mL Cd 동시 노출 하에서 조직병리학적 손상 완화 - 약리작용 확인

- **통합** (① 오가노이드의 조직병리학적 변화 + ② 간-온-어-칩의 미세유체 대사체학): **A cross-scale(교차단위) toxicological system**



① Liver-오가노이드의 조직병리학적 변화

② Liver-on-a chip의 미세유체 대사체학 변화¹¹⁵

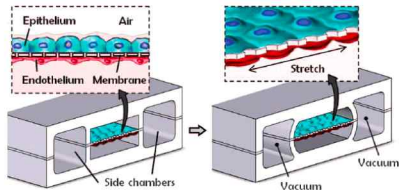
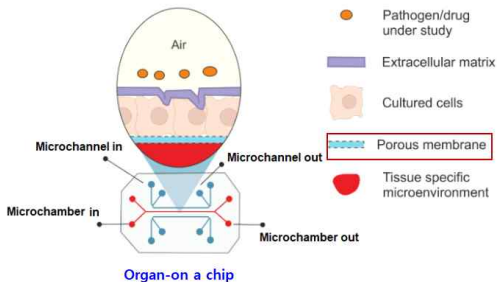
3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-3) Organ-on-a chip(칩상 장기)

3-3-1) 구조 및 설계 구성 요소 - Triple channel design 예시

- 세 개의 병렬 microchannel: 중앙 미세 챔버/채널(종종 3D 조직/ECM 젤용)이 두 측면 마이크로채널(주로 혈관/내피 흐름과 공기/하내류 흐름) 사이에 끼워져 있음
- Microporous membrane(미세다공성 막): 유연하고 다공성 막(일반적으로 PDMS, PET, 폴리카보네이트)이 채널을 분리하여 세포 간 상호작용, 영양분 전달, 세포 이동(예: 면역 세포 유출)을 가능하게 함.
- Microchamber 구성: 3D 공동 배양과 조직 특이적 세포외기질(ECM) 겔의 형성을 가능하게 하는 챔버
 - 진공 채널 (선택 사항): 일부 설계는 진공 작용을 통해 다공성 막을 늘리기 위한 측면 채널을 포함하여, 폐와 같은 장기에서 발생하는 기계적 신장을 재현

<그림> Triple channel design의 예시



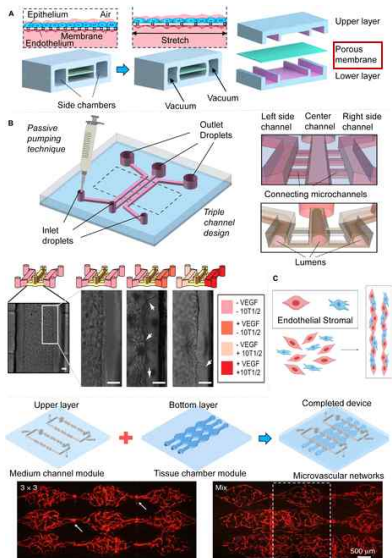
3-3-2) Organ chip and blood vessel formation.

<그림> Organ chip and blood vessel formation.

(A) 생물학적 원리에 기반한 **인간 호흡 폐-온-어-칩(lung-on-a-chip)** 마이크로 장치의 고전적 설계 및 주요 발전 단계

(B) **혈관내피 성장인자인 VEGF**(vascular endothelial growth factor)에 의한 모델 네트워크에 의해 유도된 혈관 발아

(C) **혈관 네트워크** 제작을 위한 자연 기반 접근법



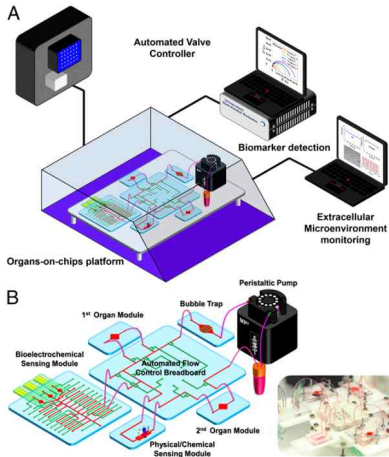
3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-3) Organ-on-a chip(칩상 장기)

3-3-3) 통합형 자동화 다기관-온-어-칩 및 센싱 플랫폼.

(A) 다기관-온-어-칩 플랫폼을 자체 설계한 벤치탑 인큐베이터에 내장한 전체 시스템의 개략도: 자동화 공압 밸브 제어기, 물리적 센서 작동용 전자 장치, 전기화학적 신호 측정용 전위차계, 그리고 모든 명령을 중앙에서 프로그래밍하여 통합하는 컴퓨터

(B) 모듈형 구성 요소로 이루어진 통합형 미세유체 장치의 개략도: 마이크로바이오리액터, 브레드보드, 저장소, 기포 트랩, 물리적 센서 및 전기화학적 바이오센서 등을 포함



3-3-4) 개발의 동향 - 3D 프린팅 기술

<중요한 목적>

- OoC의 **biocompatibility**(생체적합성)와 **마이크로 채널**의 정밀도
- 3D 프린팅 **센서**와 OoC와 통합

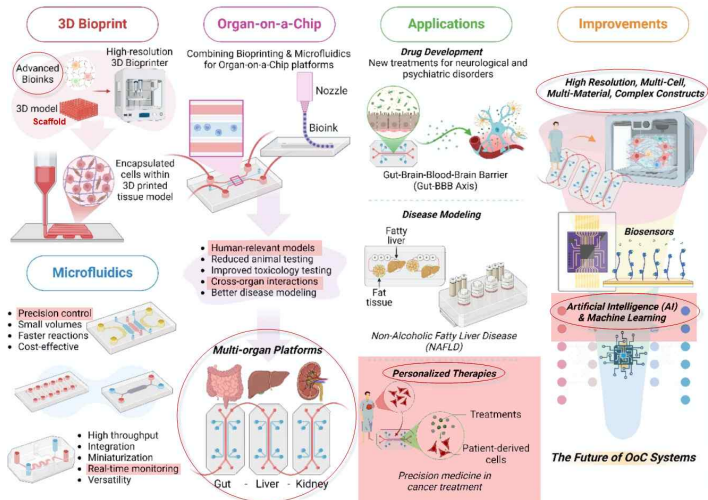
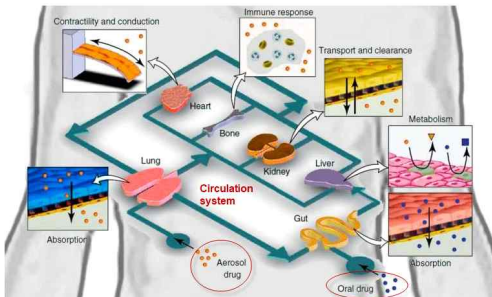


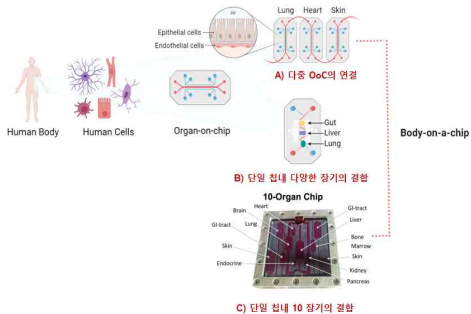
그림 1. OoC 플랫폼 및 응용을 위한 3D 바이오프린팅 및 마이크로플루이드스의 통합 개요.

3-3-4) 개발의 동향: Body-on-a chip

- 최근 칩 내 미세환경을 모델링한 최대 10개의 인간 장기계를 상호 연결하는 '바디 온 어-칩' 장치를 개발



([Organs-on-Chip - MedicalAvatars](#), 2026)

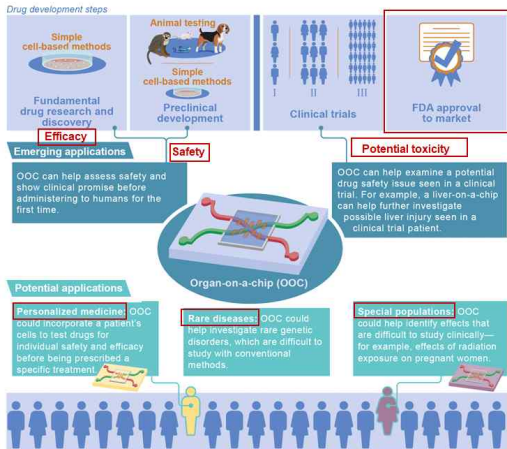


3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-3) Organ-on-a chip(칩상 장기)

3-3-5) 응용성

Figure 5: Organ-on-a-chip (OOC) and drug development



Source: GAO analysis of scientific literature (data); GAO (icons); U.S. Food and Drug Administration image licensed via BioRender.com as modified by GAO, Greenvector/HappyPictures/Creativestore/Marina/wordsotryal/stock.adobe.com (images). | GAO-25-107335

(GAO-25-107335, 2025)

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

3-4) Organoid vs Organ-on-a chip의 장단점

	Organoid	Organ-on-a chip
응용성	· 암 생물학: 종양 오가노이드는 이 종양의 이질성, 약물 내성 기전, 종양 미세환경을 탐구 가능 · 재생 의학: 장기 부전이나 흉터 조직 환자에게 이식 후 조직 수리와 장기 대체에 새로운 가능성을 제시 · 감염병: 뇌 오가노이드에서 감염을 모델링하는 데 사용되어 질병 기전을 이해하는 데 도움 · 맞춤형 의학: 환자 자신의 세포에서 유래한 오가노이드는 개별 약물 반응에 대한 통찰을 제공하여 맞춤형 치료 접근법의 길을 제공 · 발생생물학: 기관기형성을 모방하여 연구자들이 인간 발달의 복잡한 과정을 연구하는 데 도움	· 고처리량 약물 선별: 인간 장기 기능을 모방함으로써 OoC 시스템은 효율적인 약물 선별과 통제된 환경에서 약물 효능 및 독성 평가를 가능 · 질병 모델링: 폐 온-어-칩 장치는 폐 질환을 모델링하고 흡입 치료제의 안전성을 테스트하는 데 사용 · 간독성 검사: 간 온-어-칩 모델은 약물이 간 기능에 미치는 독성 효과를 평가하는 데 특히 유용 · 다중 장기 시스템: "바디 온 어칩" 플랫폼은 장기-장기 상호작용을 시뮬레이션하여 전신 약물 효과와 인간 생리학을 포괄적으로 보여줌. · 동물 실험 감소: 이 시스템들은 전임상 연구에 보다 윤리적이고 정확한 접근법을 제공하여 동물 모델에 대한 의존도를 크게 줄임
제한점	· 핵심 시스템 부족: 오가노이드는 일반적으로 면역계, 신경계, 순환계가 없어 서로 다른 생리계 간 복잡한 상호작용을 연구하기 어려움. · 괴사 핵 형성: 혈관 형성 부족으로 내부 세포가 영양분과 산소를 충분히 받지 못해 핵의 괴사. · 젤 조성에 대한 의존: 오가노이드는 종종 Matrigel과 같은 겔을 사용하는데, 이는 환경 제어가 제한적이고 배치마다 변동성이 있어 재현성 부족 · 유전적 부동(집단 내에서 유전자의 무작위한 변화): 유전적 부동이 시간이 지남에 따라 세포 집단에 변화를 일으키기 때문에 유전자 부활이 배양 내에서 유지되는 것은 어려울 수 있음. · 특수 배지 요구사항: 오가노이드는 조직 특이적 배지 제형이 필요해 이 배양 유지의 복잡성과 비용이 증가함.	· 복잡성과 유지보수: 이러한 시스템은 신중한 설계와 정밀한 운영이 필요하며, 종종 광범위한 설치와 지속적인 유지보수가 필요함. · 자원 제한: 많은 실험실이 소프트웨어 리소그래피 및 마이크로패브리케이션에 필요한 자원을 갖추지 못해 레이저 절단, 접착 필름 스테킹, 3D 프린팅 등 대체 방법을 모색하고 있음. · 오염 위험: 마이크로플루이딕 장치를 펌프와 튜빙에 연결하는 것은 오염 위험을 높이며, 이는 실험을 위태롭게 할 수 있음. · 기포 형성: 마이크로채널 내 기포는 배지 흐름을 방해하여 세포 생존력을 저해하고 실험 결과에 영향을 줄 수 있음. · 제작 및 확장성: 일관되고 재현 가능한 칩을 생산하는 것은 노동 집약적이고 비용이 많이 들기 때문에 산업용 확장성이 큰 도전의 과제. · 표준화 및 규제 승인: 이러한 시스템의 표준화와 규제 승인 달성은 광범위한 채택을 위해 극복해야 할 주요 장애물임.

3. In vitro(인간 세포 및 조직) NAMs

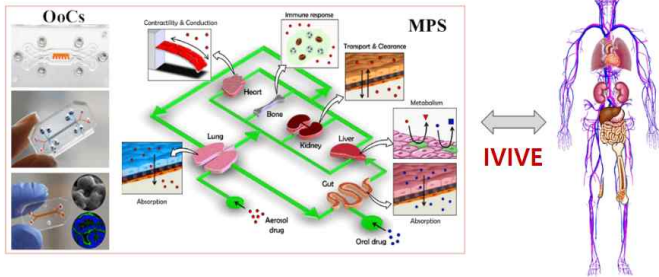
3-5) 장기-온-어-칩 기술과 장기-온-어-칩 독성학의 주요 차이점

Dimension	Organ-on-a-chip (OoC) technology	Organ-on-a-chip toxicology (OCT)
Positioning(핵심 학문)	· 기관 수준 생리학 및 미세환경 재현에 중점을 둔 공학 기반 플랫폼.	· 독성 효과 및 메커니즘 연구를 위해 생물학, 공학, 독성학을 통합하는 학제간 독성학 하위 분야.
Scientific objective(과학적 목적)	· 장기와 조직의 주요 기능을 시뮬레이션하는 현실적인 생리학적 미세환경 구축.	· 약물 또는 유해 물질의 독성학적 메커니즘을 규명하고, 인간 관련 독성 예측 모델을 수립하며, 안전성 평가의 메커니즘적 전환을 가능하게 함.
Methodological integration(방법론적 통합)	· 마이크로유체 장치 설계, 생체모방 미세환경, 3D 세포 배양 및 실시간 모니터링.	· 예측 평가를 위한 계산 및 실험 독성학 통합(AI, TK/TD, 정량적 시스템 독성학 등 포함).
Design principle(디자인 원리)	· 단일 또는 다중 장기를 모사하는 모델 구축.	· 독성학적 종말점(toxic endpoint), 분자 수준부터 전신 수준에 이르는 체계적 독성학적 평가에 중점.
Application value(응용성)	· 장기 생리 기능 복제, 조직 성숙 및 질병 모델링	· 예측 독성학, 위험 평가, 기전적 통찰력 및 규제 독성학 혁신을 강화
Future directions(향후 방향)	· AI 및 첨단 제조 기술과의 통합을 통해 다중 장기, 고처리량 플랫폼 구축.	· 개인 맞춤형 위험 평가를 위한 AI 기반 다중 규모 독성 모델, 맞춤형 독성학 및 디지털 트윈 플랫폼 개발.

4. NAMs의 IVIVE - 가장 중요한 이슈

4-1) IVIVE(in vitro to in vivo extrapolation)의 개념

- 개념: NAMs은 인체 기반 **In vitro data**이며 이를 인체로 외삽을 통한 예측
- MPS(microphysiological system, 미세생리시스템)



<그림> Organ-on-a chip을 통한 IVIVE

(Organs-on-chip, 2026)

4-2) IVIVE의 방법

4-2-1) IVIVE의 in vitro data

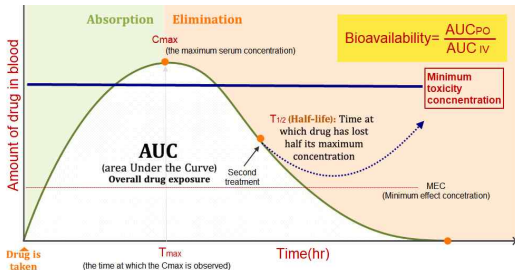
- **PBTK**(Physiologically-based toxicokinetic model): 생리학적인 기반 독성동태학 모델
- **PBPK**(Physiologically-based pharmacokinetic model): 생리학적인 기반 약동학 모델
- **IVIS**(In vitro-in silico methodology): 체외-컴퓨터 시뮬레이션 방법론



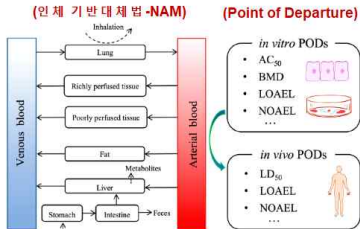
IVIVE(In vitro to in vivo extrapolation): 전반적인 시험관 내 결과의 생체 내로 외삽

- ① **IVIVT**(In vitro to in vivo PK or TK): 약물의 **동태학적 지표** 외삽
- ② **QIVIVE**(Quantitative in vitro to in vivo extrapolation): **정량적** 시험관 내-생체 내 외삽법

① IVIVT - 동태학적 지표 외삽



② QIVIVE: 인체 독성 예측을 위한 PBTK 모델 기반 POD



(Han 등, 2024)

4. NAMs의 IVIVE

4-3) IVIVE 과정: Human Liver toxicity & PK prediction from OoC

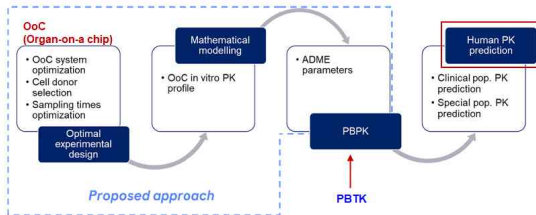
4-3-1) 기증자 2명-유래 Liver-on-a chip을 통한 18개 약물의 간독성(DILI) 시험 결과

Table 5 Sensitivity and specificity determination.						
Model	True positive	True negative	False positive	False negative	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Chip donor 1	16	5	0	6	73 [51.4-86.8%]	100
Chip donor 2	9	3	0	6	60 [35.3-80.3%]	100
Chip both donors	12	3	0	3	80 [54.2-92.8%]	100
Spheroid	8	2	1	11	42 [22.9-64.0%]	100

Predictive performance for chips and spheroids as determined by published analysis¹¹, which does not account for protein binding, and setting the threshold on the MOS-like values at 50 for both chips and spheroids (a value above 50 would indicate a drug as negative for toxicity).

(Ewart 등, 2022; Proctor 등, 2017; Hendriks 등, 2019; Li 등, 2020)

4-3-2) Human PK prediction from OoC



(Milani 등, 2023)

4. NAMs의 IVIVE

4-4) IVIVE 과정: 장기별 OoC로부터 독성 예측 POD 결정을 위한 Biomarker

Toxicity	Biomarker	Reference	Specification	Whether Utilized with Organ Chips
Hepatotoxicity	ALT (alanine aminotransferase) AST (aspartate aminotransferase)	[19]	Diagnostic marker of liver damage	✓
	ALP (alkaline phosphatase)	[19]	Diagnostic marker of cholestatic injury	✓
	GLDH (glutamate dehydrogenase)	[20]	Early detection biomarker	×
	HMGB-1 (high-mobility group box 1)	[21]	Early detection biomarker	×
	K18 (keratin-18)	[22]	Early detection biomarker	✓
	OCT (ornithine carbamoyltransferase)	[23]	Early detection biomarker	×
	GST-α (glutathione S-transferase α)	[24]	Early detection biomarker	✓
	CYP (cytochrome P450)	[25]	Metabolic ability biomarker	✓
	miRNA-122, miRNA-192	[26]	Genomic markers	✓
	CDH-5 (cadherin-5)	[27]	Proteomics biomarker	✓
	FABP1 (fatty acid binding protein 1)	[27]	Proteomics biomarker	×
	GFR (glomerular filtration rate)	[28]	Diagnostic marker of renal function	✓
	SCr levels and urine output	[29]	Diagnostic marker of AKI (acute kidney injury)	✓
	KIM-1 (kidney injury molecule-1)	[30]	Early detection biomarker	✓
Nephrotoxicity	NAG (N-acetyl-β-glucosaminidase)	[30]	Early detection biomarker	✓
	NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin)	[31]	Early detection biomarker	✓
	L-FABP (liver type fatty acid binding protein)	[32]	Early detection biomarker	×
	MCP-1 (monocyte chemoattractant peptide-1)	[33]	Early detection biomarker	×
	CYs C (cystatin C)	[34]	Early detection biomarker	✓
	OPN (osteopontin)	[35]	Early detection biomarker	×
	CLU (clusterin)	[36]	Early detection biomarker	×
	TFF3 (trefoil factor 3)	[37]	Early detection biomarker	×
	TEER (transendothelial resistance)	[38]	Biomarker of barrier functions	✓
	miRNAs	[39]	Genomic markers	✓

Cardiotoxicity

LVDP (left ventricular formation pressure) LVSP (left ventricular systolic pressure)	[40]	Diagnostic marker of myocardial injury	✓
TnI (troponin I) TnT (troponin T)	[41]	Early detection biomarker	×
BNP (brain natriuretic peptide) NT-proBNP	[42]	Early detection biomarker	×
MPO (myeloperoxidase)	[43]	Biomarker of oxidative stress	×
miR-146a, miR-1, miR-133, miR-208, miR-499	[44]	Genomic markers	✓
beating frequency, systolic stress, field potential	[45,46]	Mechanical markers	✓
TEER	[47]	Biomarker of barrier functions	✓

Neurotoxicity

plasma P-Tau (phosphorylated-Tau) T-Tau (total Tau)	[48]	Diagnostic marker of central nervous system (CNS) injury	×
NF-H (neurofilaments heavy subunit)	[49]	Diagnostic marker of axonal injury	×
miR-425-p, miR-21, miR-93, miR-191, miR-499, miR-328, miR-362-3p, miR-451, miR-486a	[50]	Genomic markers	✓
H-FABP (heart fatty acid binding protein)	[51]	Diagnostic marker of CNS injury	×
SP, sCD40L, TIMP-1, MDA, CK-18	[52]	Early detection biomarkers	✓
MBG (marinobufagenin)	[53]	Biomarker of neuro-inflammation	×

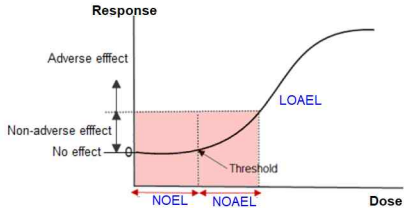
Other toxicities

Ghrelin	[54]	Biomarker of stomach/small intestine injury	×
DAO (diamine oxidase) Citrulline	[54]	Biomarker of small intestine injury	×
CD64, C-reactive protein	[54]	Biomarker of small/large intestine	✓
NOS isoenzymes	[55]	Breath biomarkers	✓
HO (heme oxygenase)	[56]	Biomarker of upper respiratory tract viral infections	✓
CYP (cytochrome P450) H2O2	[57]	Biomarker of pulmonary diseases	✓
Breath methylated hydrocarbons	[58]	Lipid peroxidation markers	×
TEER	[59]	Biomarker of barrier functions	✓

(Cong 등, 2020)

4. NAMs의 IVIVE

4-5) IVIVE의 최종목표: MRSD 추정을 위한 NOAEL 추정



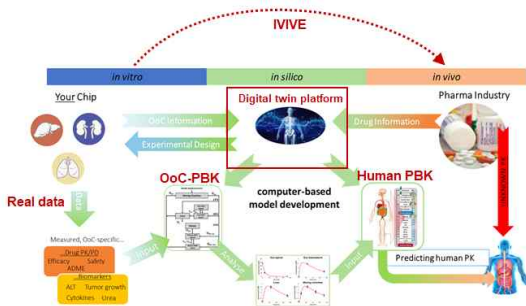
$$\text{DNEL \& MRSD} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{SF (Human Km/Animal Km)}}$$

<그림> Risk assessment의 최종 목적

5. OoC-digital twin model (DigioCS)

5-1) 개념

- Digital twin Platform: OoC의 real data + 디지털 트윈 플랫폼(복잡한 생물학적 과정, 연구된 시험관 내 하드웨어 특화 정보, 화합물 특이적 정보를 포함)
- Convergence(통합): 복잡한 인체 생리학적 및 약리학적 과정을 시뮬레이션하는 디지털 계산 모델로 연구 결과의 예측 가치를 가상 임상 시험의 영역으로 확장



<그림 1> 장기-온-어-칩(OoC) 및 디지털 트윈 플랫폼의 신약 개발에서 혁신적인 기술



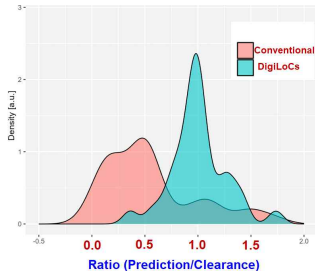
그림 2. 전임상 연구에서의 digital twin 워크플로우 (Gangwal 등, 2025)

5. OoC-digital twin model (DigioCS)

5-2) DigioCS의 OoC data 보정 예시 - (Liver-on-a-chip + digital twin)의 IVIVE 예시

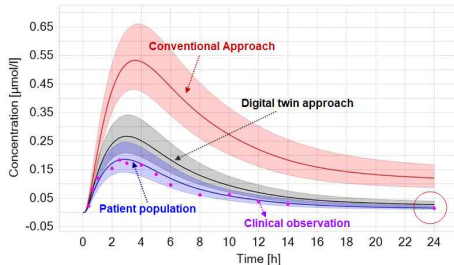
● Conventional approach vs Digital twin approach vs Clinical observation의 AUC(area under cover) 비교

● Conventional approach: 32개 화합물의 약물 배출 동역학은 상업적으로 이용 가능한 간-온-칩과 3D Spheroid 자료



<그림 1> 32개 약물의 기존 접근법 대비 DigiLoCs의 임상적 청소율 예측 영향

(Aravindakshan 등, 2025)



<그림 2> 단일 경우 투여(80mg) 후 프로프라놀롤(Propranolol)의 시뮬레이션된 동역학

(분홍색 점은 임상 관찰값(Borgström 등, 1981)에서 디지털화이며, 파란색 실선은 임상 관찰된 청소율 값을 사용한 환자 집단의 평균을 나타냄. 기존 접근법에 기반한 청소율 값(빨간색 선)을 사용할 경우, 곡선 아래 면적(AUC)이 6배 과대 예측됨. 반면 디지털 트윈 기반 청소율을 사용하면 AUC는 1.5배만 과대 예측되며, 24시간 시점의 정확한 동역학(검은색 곡선)도 시뮬레이션된다. 음영 영역은 ± 1 표준편차를 나타냄)

5. OoC-digital twin model (DigioCS)

5-3) OoC을 이용한 임신부에서 프레드니손(prednisone)의 IVIVE 예시(Graf 등, 2025)

5-3-1) 잠재적 독성

- Corticosteroid 호르몬인 프레드니손은 간에서 활성물질인 프레드니솔론으로 전환
- 프레드니솔론(Prednisolone)은 글루코코르티코이드 수용체와 결합하여 **염증성 유전자 전사 활성화를 억제**
- **<부작용> 임신 초기에 복용할 경우 태아 기형 등 잠재적 위험이 있음**
- 약물의 Placenta 도달을 조절하기 위해 이 임신부에 저용량 투여

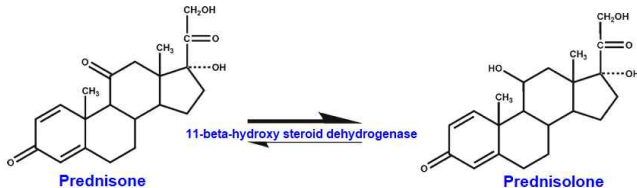


Fig. 1. Structures of prednisone and prednisolone and interconversion between each other.

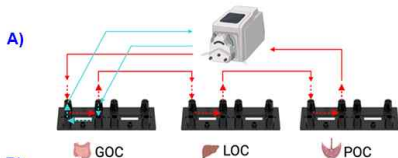
5. OoC-digital twin model (DigioCS)

5-3) OoC을 이용한 임신부에서 프레드니손(prednisone)의 IVIVE 예시(Graf 등, 2025)

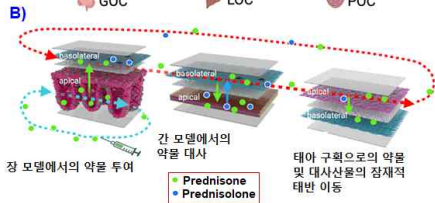
5-3-2) 3개 기관 연결된 OoC-digital twin model:

- Three-organ model <integrating gut-on-chip (GOC), liver-on-chip (LOC), placenta-on-chip (POC)> vs Single-organ model의 PK 비교 분석

A) 튜브와 연동 펌프를 통한 상호 연결된 3기관 모델 도식



B) 세 기관 모두에서의 약물 분포 경로

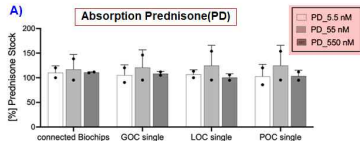


5-3-3) Three-organ model <integrating gut-on-chip (GOC), liver-on-chip (LOC), placenta-on-chip (POC)> vs Single-organ model의 PK 비교 분석

<결과>

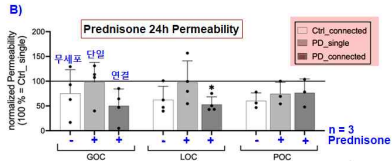
(A) 세포없이 칩 및 관류 물질과의 PD 결합 특성

→ **유의미한 흡착**은 없음



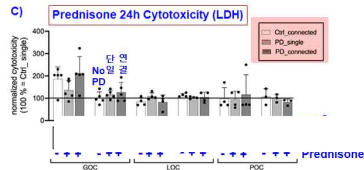
(B) 프레드니손 투과성

→ 무세포 관류에 비교하여 **투과성 개선**된 기능



(C) 삼중 연결 후 48시간과 55 nM PD(최고 Cmax) 투여 후 24시간 후의
상청액 LDH 정량 측정

→ 단일 및 3기관 연결 모델에서 **세포독성이 없음**



<결론>

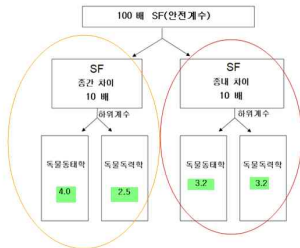
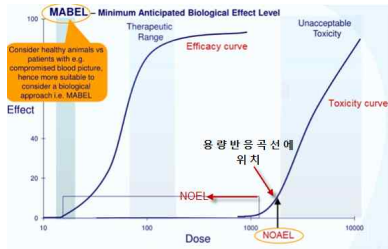
- **Three-organ model**은 디지털 트윈 시뮬레이션과 결합하여 프레드니손 예시를 통해, 연구자들은 태아 약물 노출을 예측할 수 있어 동물 실험 없이도 취약 인구 계층의 안전을 보장

6. Organ-on-a chip 기반 MRSD 추정

6-1) 식품첨가물 ADI(Acceptable daily intake, 1일 허용섭취량) 산출 방법

인체노출 안전기준 (단위)	안전계수 종류	수치	내용
ADI (mg/kg/day)	Default safety factors (기본안전계수)	10	동물과 사람 간의 민감도 차이
		10	사람들 사이의 민감도 차이
ADI 공식		$ADI = \frac{NOAEL}{SF(10 \times 10)}$	

• 반복투여독성시험의 NOEL



6. Organ-on-a chip 기반 MRSD 추정

6-2) Organ-on-a chip 기반 MRSD 추정

6-2-1) 약물의 MRSD(maximum recommended starting dose, 임상최대권장초기용량) 결정 방법

<Small molecule>

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{SF}(10) \times \frac{\text{Human Km}}{\text{Animal Km}}}$$

- HED(Human equivalent dose) = 인체등가용량
 - 동물과 사람 간의 민감도 차이: 체중 기반을 체표면적으로 전환하여 산출
- 예시) 랫드와 성인 간 민감도 차이의 안전계수(Safety factor: : 6/37)

Table 1: Conversion of Animal Doses to Human Equivalent Doses Based on Body Surface Area			
Species	To Convert Animal Dose in mg/kg to Dose in mg/m ² , Multiply by K_m	To Convert Animal Dose in mg/kg to HED ^a in mg/kg, Either:	
		Divide Animal Dose By	Multiply Animal Dose By
Human	37	---	---
Child (20 kg) ^b	25	---	---
Mouse	3	12.3	0.08
Hamster	5	7.4	0.13
Rat	6	6.2	0.16
Ferret	7	5.3	0.19
Guinea pig	8	4.6	0.22
Rabbit	12	3.1	0.32
Dog	20	1.8	0.54
Primates:			
Monkeys ^c	12	3.1	0.32
Marmoset	6	6.2	0.16
Squirrel monkey	7	5.3	0.19
Baboon	20	1.8	0.54
Micro-pig	27	1.4	0.73
Mini-pig	35	1.1	0.95

6. Organ-on-a chip 기반 MRSD 추정

6-2) Organ-on-a chip 기반 MRSD 추정

6-2-2) OoC에서 인체 기반 - 중간 safety factor의 불필요

<Small molecule>

$$\text{HED} = \text{NOAEL} \times (\text{Animal Km} / \text{Human Km})$$

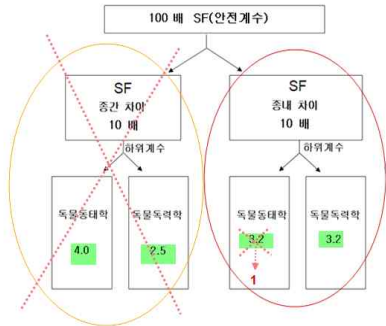
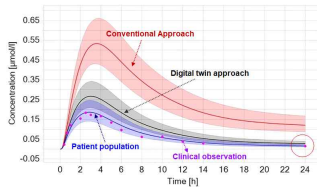
$$\text{MRSD} = \frac{\text{HED}}{\text{SF}(10)} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{SF}(10) \times \frac{\text{Human Km}}{\text{Animal Km}}}$$

↓

$$\text{MRSD} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{SF}(10)}$$

6-2-3) OoC의 독성동태학적 측면에서 1.5 - 6배 과잉 추정

$$\text{MRSD} = \frac{\text{NOAEL}}{(3.2)}$$



Section-2. In Chemico

1. NAMs - 인체 기반 대체법의 핵심 플랫폼

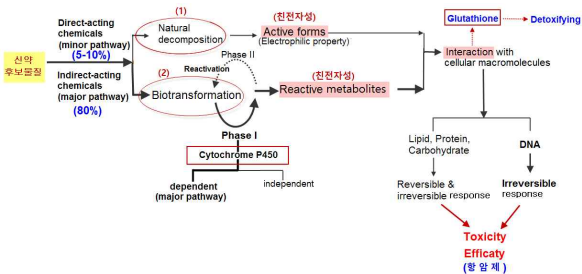
● NAMs으로 간주되는 기술

- NAMs에 대한 가장 포괄적이고 규제 기준에 부합하는 정의: **“인간 생물학을 모델링하고 테스트하는 능력을 향상시키는 모든 새로운 과학적 방법”**. ----> **인체기반 대체법**

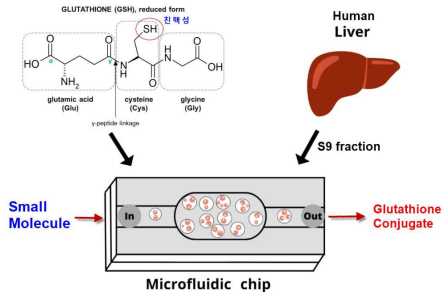
NAMs 카테고리	대표 플랫폼	규제 활용 포인트
In vitro(인간 세포 및 조직): 살아있는 인간 세포를 사용하여 동물 실험에서는 일관되게 재현되지 않는 인간 생리학의 핵심 특징들을 포착하는 기술	- 세포 기반 분석법 - Spheroid 및 Organoid 미세생리학적 시스템(MPS): 칩 위의 장기(Organs-on-a-Chip) - 줄기세포 유래 조직 시스템 - 신호 세포 유래 기술	반복독성, 면역독성, DILI 예측 (인간 간손상 87 % 예측 정확도)
In silico model: 생물학적 및 화학적 데이터의 패턴을 분석하여 결과를 더 빠르고 대규모로 예측하는 기술 - 화학적 구조와 독성과의 관계(QSAR)	- 인공 지능 및 기계 학습 독성 모델 - 시스템 생물학 및 경로 기반 시뮬레이션 - 건강 결과를 평가하기 위한 언어 처리 모델 - 인간 행동을 평가하기 위한 기계 학습 시스템 - 신호 계산 시스템	- FIH 용량 산출, 특수집단 시뮬레이션, Off-target 위험 탐지, PBPK(ADME 외삽) 반복 등 기존 동물시험으로부터 가능한 MRSD 추정 가능
In Chemico(화학 상호작용 분석): 세포나 생물체 없이도 독성과 연관된 분자 상호작용을 측정하기 위한 실용적인 실험을 활용하는 기술	- 펩타이드 및 단백질 반응성 분석(예: DPRA, ADRA(피부감작성시험)) GSH 반응성 - 산화 스트레스 및 라디칼 생성 분석 - 광화학 및 환경 반응성 시험 - 신호 화학 시스템	독성물질의 특성, Mechanism of action
HTS (High Throughput Screening, 초고속대량스크리닝)	대부분의 NAMs가 해당됨	

2. In chemico: Reactive metabolites + Glutathione

2-1) 약물의 독성과 무독화 기전



2-2) Glutathione을 이용한 In chemico



<NAMs - 인체 기반 대체법의 핵심 플랫폼>

● NAMs으로 간주되는 기술

- NAMs에 대한 가장 포괄적이고 규제 기준에 부합하는 정의: **“인간 생물학을 모델링하고 테스트하는 능력을 향상시키는 모든 새로운 과학적 방법”** . ----> **인체기반 대체법**

NAMs 카테고리	대표 플랫폼	규제 활용 포인트
In vitro(인간 세포 및 조직): 살아있는 인간 세포를 사용하여 동물 실험에서는 일관되게 재현되지 않는 인간 생리학의 핵심 특징들을 포착하는 기술	- 세포 기반 분석법 - Spheroid 및 Organoid 미세생리학적 시스템(MPS): 칩 위의 장기(Organs-on-a-Chip) - 줄기세포 유래 조직 시스템 - 신홍 세포 유래 기술	반복독성, 면역독성, DILI 예측 (인간 간손상 87 % 예측 정확도)
In Chemico(화학 상호작용 분석): 세포나 생물체 없이도 독성과 연관된 분자 상호작용을 측정하기 위한 실용적인 실험을 활용하는 기술	- 펩타이드 및 단백질 반응성 분석 (예: DPRA, ADRA (피부감작성시험)) GSH 반응성 - 산화 스트레스 및 라디칼 생성 분석 - 광화학 및 환경 반응성 시험 - 신홍 화학 시스템	독성물질의 특성, Mechanism of action
In silico model: 생물학적 및 화학적 데이터의 패턴을 분석하여 결과를 더 빠르고 대규모로 예측하는 기술 - 화학적 구조와 독성과의 관계(QSAR)	- 인공 지능 및 기계 학습 독성 모델 - 시스템 생물학 및 경로 기반 시뮬레이션 - 건강 결과를 평가하기 위한 언어 처리 모델 - 인간 행동을 평가하기 위한 기계 학습 시스템 - 신홍 계산 시스템	- FIH 용량 산출, 특수집단 시뮬레이션, Off-target 위험 탐지, PBPK(A DME 외삽) 반복 등 기존 동물시험으로부터 가능한 MRSD 추정 가능
HTS (High Throughput Screening, 초고속대량스크리닝)	대부분의 NAMs가 해당됨	

Part 7. 결론: NAMs의 규제학적 측면과 미래

1. 인체기반 대체법 MAM 활성화의 결정적인 계기 - 3가지

- **2022년: FDA Modernization Act 2.0** → 신약 임상시험 동물 실험 의무를 폐지 및 IND에 동물 대체데이터 허용
 - 합성의약품 허가: New Drug Application (NDA),
 - 바이오의약품 허가: Biologics Licensing Application (BLA)
- **2025년 4월: Animal Testing Phase-Out Roadmap** → 동물실험 의무 단계적 폐지가 정책-가이드-인센티브까지 구체화되어 실행 국면에 진입
 - NAMs의 표준화 절차 수립 → NAMs의 질적 평가 방법에 대한 방안 (Verification, Validation, Applicability의 3축을 정량화 지표 제시)
 - IND를 위해 NAMs-기반 자료 제출 촉진 및 임상시험 승인을 위해 검토를 권장
 - 향후 3년 동안 신약 개발을 위한 전통적인 독성시험 자료와 더불어 NAMs-기반 독성시험 자료를 함께 심사하는 계획
- **2025년 12월: FDA Modernization Act 3.0** → 준수하지 않은 FDA 현대화법 2.0 중 FDA 규정을 개정하여 동물 연구 의무를 제거

2. 인체기반 대체법 MAM 활성화의 프로그램 - **ISTAND**

2-1) ISTAND의 개념

- 비임상시험 및 임상시험에서 적격성 프로그램의 범위를 벗어났지만, 신약 개발에 여전히 유용할 수 있는 **신약 개발 도구의 혁신을 장려 프로그램**
- 2020년 **신약 개발을 위한 혁신적 과학 기술 접근법** (ISTAND, Innovative Science and Technology Approaches for New Drugs) 시범 프로그램을 설립
- 2025년 7월 31일 **ISTAND** 시범 프로그램이 **상설적인 의약품 개발 도구(DDT, drug development tools) 적격성 정규 프로그램으로 전환**되었음을 발표하였음
- 독성시험 신뢰성 확보 제도 GLP: 미국 vs 한국 = 사후인증 vs 사전인증**

2-2) 2025년 11월 18일 기준 FDA ISTAND 프로그램에 승인된 모든 기술의 최신 요약

NAMs in FDA ISTAND				
PRECLINICAL	SPECIFICITY	Integral Molecular	Specificity Screening Using the Membrane Proteome Array (MPA)	In Vitro
		Charles River	Retrogenix Platform for Specificity/Off-target Screening	In Vitro
	TOXICOLOGY	Fresenius Kabi	Local tolerance of epidurally/intrathecal administered leachables	In Vitro
		Emulate	Human Liver-Chip for Prediction of Drug-Induced Liver Injury	In Vitro
		Mt. Sinai	Human Kidney Chip for Assessment of Relative Nephrotoxicity	In Vitro
		Texas A&M	Human chorio-decidual organ on chip for derisking rodent DART studies	In Vitro
	DOSING	OPTin	Liver acinus microphysiological system for drug candidate dosing	In Vitro
CLINICAL	CLINICAL ENDPOINT ADJUDICATION	AstraZeneca	AI/ML-based adjudication of clinical events	AI
		Brigham and Women's Hospital	Heart Failure Natural Language Processing (HF-NLP) Model	AI
	CLINICAL OUTCOMES	Deliberate Solutions	AI-COA™ for Automated Depression and Anxiety Severity Measurement	AI
	STATISTICS	Independent	WKE to estimate survival function for time-to-event endpoints in clinical trials	Statistical Method

3. 글로벌 최초의 비임상 NAMs(New approach methodologies) 가이드라인

3-1. DRAFT GUIDANCE

- March 2026 Pharmacology/Toxicology. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER, 의약품평가연구센터)
- DRAFT GUIDANCE: **General Considerations for the Use of New Approach Methodologies(NAMs) in Drug Development Guidance for Industry**(신약 개발에서 NAMs의 활용에 관한 일반적인 고려 사항)

3-2. 검증 고려 사항(VALIDATION CONSIDERATIONS)

- 규제 결정을 내리기 위해 제출된 NAMs 연구의 해석 가능성과 신뢰성을 높이기 위한 일반적인 검증 원칙은 다음과 같은 4가지 사항에 중점을 둠: (1) **COU(Context of use, 사용맥락)**, (2) **인간 생물학적 적합성(human biological relevance)**, (3) **기술적 특성 분석(technical characterization)**, (4) **목적 적합성(fit-in-purpose)**.

3. NAMs의 발전을 위한 핵심 키워드와 역할

● 3 가지 Key words

① Organ-on-a chip (OoC)

② Digital twin (DT)

③ AI (Artificial Intelligence)

측면	OoC에서의 AI 역할	DT에서의 AI 역할
데이터 분석	OoC 센서(예: 유량, pH, 산소)를 통한 실시간 데이터 분석을 통해 미묘한 약물 반응을 감지	환자 특이적 데이터를 처리하여 약물 치료 하의 생리적 분자적 변화를 모델링함
약물 효과 예측	OoC 실험에서 데이터 기반 패턴을 활용해 세포 및 조직 수준의 반응을 예측하는 것.	환자 특화 시뮬레이션을 이용한 전신 및 장기 수준의 약물 반응 모델링.
실험 최적화	RL을 통해 매개변수(예: 투여 일정, 바이오마커 모니터링)를 최적화함	환자별 '만약에' 시나리오를 시뮬레이션하여 치료 계획을 맞춤화함
실험 오차 감소	이상 탐지를 통해 OoC 분석의 이상치와 불일치를 식별함.	실제 환자 데이터를 지속적으로 업데이트하여 시뮬레이션 오류를 최소화함
바이오마커 발견	고처리량 OoC 데이터를 통해 약물 효능 및 독성에 대한 새로운 바이오마커를 규명함	질병 및 약물 반응과 관련된 바이오마커를 밝히기 위해 다중 오믹스 데이터를 통합합니다.
약물 독성 예측	약물로 인한 OoC 시스템 변화와 잠재적 장기 독성학적 위험 연관성.	가상 시뮬레이션과 과거 환자 데이터를 활용한 장기 특이적 독성 예측.
개인화	AI 기반 분석을 통해 OoC 모델의 환자 특이적 세포주 선정을 안내.	유전, 생리학, 생활 습관 데이터를 통합하여 초개인화된 DT를 만듭니다.
다중 오믹스 데이터 통합	유전체, 전사체, 단백질체 데이터를 OoC 출력과 통합하여 포괄적인 약물 효과를 예측하는 것.	분자 데이터를 다중 규모 생리학 모델에 통합하여 DT 정확도를 향상시킵니다.
약물 후보의 가상 선별	OoC에서 생성된 프로필을 활용해 약물 선별을 지원하여 잠재력이 높은 후보자를 예측.	환자별 DT에서의 효과를 바탕으로 가상 시험 후보 우선순위 결정.
동적 모델링	OoC 플랫폼에서 세포-세포 및 세포-조직 상호작용의 동적 AI 기반 모델 개발.	DT 환경에서 질병 진행과 치료 반응을 시간에 따른 시뮬레이션.
중 간 번역	동물 데이터에 대한 의존도를 줄이기 위해 인간 생리학에 대한 외삽 효과.	인간 데이터를 이용해 동물 모델을 완전히 우회하여 DT 예측 정확도를 검증하는 것.
규제 통찰	규제 준수 인사이트를 OoC 데이터로부터 생성하여 약물의 안전성과 효능을 보장.	시뮬레이션된 임상시험 결과 및 안전성 프로필을 기반으로 규제 보고서 작성 자동화.

4. 우리나라의 현실

연구·비임상 현장의 반응	주요 의견	핵심 논거
비임상 CRO 대표	"독성 예측은 가능하나 아직 초기 단계"	동물 대신 인간 모델을 쓰면 예측 불가능한 독성 리스크가 규제 방향을 뒤흔들 우려
국내 CRO 경영진	" 질환 모사·유효성 평가는 동물 대체 어려워 "	오가노이드가 장기 일부 기능만 재현, '병태 생리 전체' 구현엔 기술 한계
VC(Venture Capital) 심사역	"NAMs은 보완 수단... 완전 대체 까지 5~10년은 필요"	동물실험을 전부 없애기엔 아직 규제·기술 검증이 미흡

지표	내용
임상 전환 실패율	동물에서 안전·유효해도 90 % 이상 이 임상에서 실패(안전·효능 문제)
질환별 예측 부진	암·알츠하이머·염증질환 등 주요 적응증에서 동물 데이터 신뢰도 저하
경제·윤리 부담	mAb 1개 개발에 평균 650~750 M 달러·9년 , 전임상에 NHP 144마리 소요, 최근 NHP 한 마리 가격 최대 5만 달러
입법 변화	2022 년 FDA Modernization Act 2.0→ IND·BLA에 동물 대체데이터 허용
여론	美 성인 85 % 이상 가 "동물실험 단계적 폐지" 지지