

**[보완사항]**

대한약품 LOLA에 관한 보완사항에 대하여 아래와 같이 제출하고자 합니다.

가. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목  
 1 검토의견: 미제출  
 보완사항: (3.2.S.2) 원료의약품에 관한 품질요약자료 중 2.3.S.1 일반정보, 2.3.S.5 표준품 및 표준물질, 2.3.S.6 용기 및 포장 시스템에 관한 자료 제출(제2부는 제출시 한글로 작성하는것을 원칙으로 함)

가. CTD – LOA 요약본: 3.2.S.1, 3.2.S.5, 3.2.S.6 자료 확인 부탁드립니다.

- 첨부파일 1: CTD-LOA 한글 요약본

나. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목  
 2 검토의견: 미제출  
 보완사항: (3.2.S.3) 원료의약품에 관한 자료 중 3.2.S.1. 일반정보(3.2.S.1. 일반정보, 3.2.S.1.1. 명칭, 3.2.S.1.2. 구조, 3.2.S.1.3. 일반적 특성), 3.2.S.5. 표준품 또는 표준물질, 3.2.S.6. 용기 및 포장에 관한 자료 제출.

나. DMF에 3.2.S.1, 3.2.S.5, 3.2.S.6 자료 확인 부탁드립니다.

- Attachment 2: DMF

다. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)  
 3 검토의견: 원료의약품 제조에 적합한 제조소 여부 확인필요. 무균. 비무균 시설 포함여부만 표기되어 있어 제조소의 소재지 중 신청 API를 제조하는 생산동 정보 확인 필요.  
 보완사항: (3.2.S.2.1.) 제조원 자료로서 신청 원료의약품 제조소가 신청한 원료 제조에 적격여부에 관한 내용 작성하고, 교차오염, 발열성물질 오염 등에 대한 위해가 없음을 확인 할 수 있도록 신청 API를 제조하는 생산동 정보 타당하게 작성하여 제출.

나. 아래와 같이 첨부 드린 SMF 4.5 Equipment, 도면 파일 제출합니다.

- 첨부파일 3A: SMF file

- 첨부파일 3B: Workshop Plan

라. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)  
 4 검토의견: 1) 화학반응식 및 공정흐름도 작성 미흡.  
 2) 실시되는 세부 공정에 관한 사항 일체 제출되지 않아 공정의 내용 확인되지 않음.



- 보완사항: 1) (3.2.S.2.2.) 화학반응식 및 공정흐름도에 사용되는 촉매의 종류, 용매 사용여부, 단위 공정으로 구분되는 화학반응의 정의(반응 메커니즘을 확인할 수 있는 수준) 포함하여 제출
- 2) (3.2.S.2.2.) 단위공정별 화학반응 정의 및 반응 메커니즘, 공정변수, 원료약품의 모든 성분, 작업조건(온도, Ph, 교반속도, 공정변수별 시간, 효소활성(역가) 및 반응시간, 효소의 회수, 여과용 필터 규격 및 재질, 출발물질 물비 등 공정 특성 반영), 제조장비, 수율, 공정관리 등 세부 공정 내용 일체를 포함한 공정 상세 작성자료 제출.

**라-1:** 해당신고증(첨부 4-1A)와 같이 확인 부탁드립니다.

- Attachment 4-1A Synthesis route, process flowchart, and production process description

**라-2:** 해당신고증에 공정 흐름도 서술 부분을 참조하시기 바랍니다. 여과용 필터는 0.22um, 20센츠 재질 PES 필터를 사용합니다.

- Attachment 4-1A Synthesis route, process flowchart, and production process description

마. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)

5 검토의견: 미제출

- 보완사항: 1) (3.2.S.2.3.) 각 출발물질의 화학적 식별정보(Chemical identity)를 제출하고 명칭에 광학활성을 반영하여 제출.
- 2) (3.2.S.2.3.) 각 출발물질의 제조원별 제조소 소재지 정보, 제조공정 정보 및 불순물관리 고찰자료 제출.
- 3) (3.2.S.2.3) 각 출발물질의 제조원별 제조공정 차이를 고려하여 제조원별 규격을 동등성 입증(제조원별 3배치 시험성적자료 포함)하고, 각 제조원 출발물질로부터 제조한 3배치 이상 원료의약품에서 불순물 프로파일 비교자료 제출.

**마-1:** 출발 물질은 아르기닌과 아스파르트산입니다.

아르기닌의 광학활성은 좌회전성. 화학명은 L-아르기닌입니다.

아르기닌의 화학적 식별법은 다음과 같습니다. 본품 약 50mg을 취하여 1ml의 물에 녹인다. 여기에 α-나프톨 용액(α-나프톨 0.5g을 10% 수산화나트륨 용액 10ml에 녹인다) 0.5ml와 차아브롬산나트륨 시험용액(브롬 0.2ml를 5% 수산화나트륨 용액 20ml에 녹인다) 0.5ml를 첨가합니다. 그러면 적색으로 변합니다.

아스파르트산의 광학활성 역시 좌회전성입니다. 화학명은 L-아스파르트산입니다.

아스파르트산의 화학적 식별법은 다음과 같습니다. 본품 10mg과 아스파르트산 표준품 10mg을 각각 25ml 용량플라스크에 넣고, 암모니아 시험용액 2ml로 녹인다. 물로 표시선까지 희석하여 잘 흔들어 시험용액과 대조용액으로 사용합니다. 기타 아미노산 항목에 준하는 방법에 따라 시험용액의 주요 반점의 위치와 색이 대조용액과 같아야 합니다.



L-아르기닌 품질기준은 첨부파일 5-1A를 참조하시기 바랍니다.

- Attachment 5-1A L-arginine quality standard

L-아스파르트산 품질기준은 첨부파일 5-1B 참조하시기 바랍니다.

- Attachment 5-1B L-aspartic acid quality standard

**마-2: 각 출발물질의 제조소 및 제조공정 정보**

**마-2-1: 아르기닌**

**마-2-1-1: 제조소 및 제조공정 정보**

아르기닌은 CJ(Shenyang) Biotech Co., Ltd에서 구매하였습니다. 생산 공정은 포도당을 발효시켜 아르기닌으로 전환한 후, 전환액을 막 여과, 감압 농축, 결정화, 건조, 체질, 포장하는 것입니다. 공급업체는 발효 과정에서 동물성 원료를 사용하지 않고, 생산 과정에서 유기 용매를 사용하지 않으며, 제품에 유기 용매 잔류물이 남지 않음을 약속합니다.

생산 공정 흐름도는 다음과 같습니다.



希杰(沈阳)生物科技有限公司  
中国辽宁省沈阳市  
沈北新区柏农路 38 号  
韩国 CJ 集团提供技术



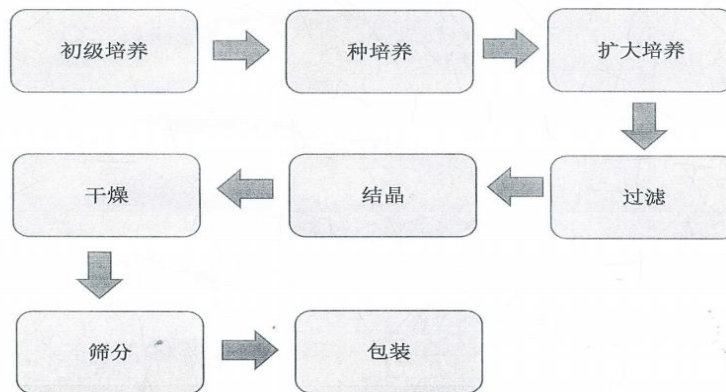
CJ (SHENYANG) BIOTECH CO., LTD.  
SHENBEI New District Yunong Road No.38,  
SHENYANG, LIAONING, CHINA  
UNDER THE LICENSE OF CJ CORP. KOREA

## L-Arginine 工艺流程图

### 工艺描述:

菌种经过逐级扩大培养得到发酵液, 发酵过程中会添加碳源/氮源/微量元素 等辅材料  
发酵液经过过滤将菌体和液体分离, 分离后的液体进行浓缩结晶等工艺得到湿晶体, 湿晶体  
经过干燥、筛分、包装后得到精氨酸产品。

主要辅材料: 葡萄糖(自产), 酵母, 烟酰胺, 硫酸铜, 硫酸 等。



CJ (SHENYANG) BIOTECH CO., LTD.



### 마-2-1-2: 아르기닌 출발물질에 관한 불순물 control

공급업체가 제공한 생산 공정을 통해 분석한 결과, 아르기닌 생산공정 중 유입되는 불순물은 주로 유기 불순물, 무기 염 등임을 확인할 수 있습니다. 제품 제조 공정에는 유기 용매를 사용하지 않습니다.

#### (1) 유기 불순물

아르기닌은 국내외 여러 국가의 약전에 수록되어 있으며, 유기 불순물은 기타 아미노산입니다. 국내외 약전에서는 기타 아미노산을 관리하기 위해 TLC법 또는 아미노산 분석기법을 사용하고 있습니다. 당사는 TLC법을 이용한 기타 아미노산 관리 외에도, 아미노산



분석기법을 개발하여 사용하고 있습니다.

기타 아미노산(TLC법): 기타 아미노산 불순물의 경우, 당사는 2020년 중국 약전에 수록된 아르기닌 품질 기준을 참조하여 아르기닌 기타 아미노산 검사 및 분석 방법(박층 크로마토그래피)을 확립하고, 아르기닌을 엄격하게 관리하며, 기타 아미노산 항목을 아르기닌 품질 기준에 포함시켰으며, 그 함량은 0.4% 이하로 제한합니다.

아미노산 분석법: 유럽 약전의 내용을 참조하여 다른 아미노산 분석법을 개발하고 여러 배치의 아르기닌을 시험하였습니다. 그 결과, 여러 배치의 아르기닌에서 가장 큰 불순물은 아르기닌 효소 전환의 표적 산물인 오르니틴이었고, 여러 배치의 시험 결과는 모두 0.05% 이하(보고 기준치 미만)였다. 글루탐산과 알라닌은 검출되지 않았으며, 라이신은 0.02% 이하(보고 기준치 미만)였다. 위 연구 결과는 아르기닌에 다른 아미노산이 잔류할 위험이 낮음을 보여주므로, 당분간 원료 기준에 포함하지 않습니다.

시험 방법 및 시험 결과는 보완사항 “바”에 자세히 나와 있습니다.

#### (2) 무기 불순물

아르기닌 제조 공정에서는 무기염이 사용됩니다. 공급업체는 이러한 무기 불순물을 제거하기 위해 결정화 및 여과 공정을 사용합니다. 또한, 다양한 재료 및 생산 장비에서 유입될 수 있는 금속 원소 불순물은 후속 결정화 단계를 통해 추가로 제거될 수 있습니다. 이러한 무기 불순물에 대해 공급업체는 강열 잔류물, 염화물, 중금속 및 비소염 항목을 분석하여 관리합니다.

오르니틴 아스파르트산 생산 과정에서 후속 결정화 공정이 무기 불순물을 다시 제거하는 능력을 가지고 있습니다는 점을 고려할 때, 당사는 생산 요건 및 완제품 품질 위험 관리 전략을 완벽하게 충족할 수 있는 염화물, 황산염, 중금속, 철염 및 비소염과 같은 아르기닌의 고위험 성분만을 관리합니다. 여러 배치의 아르기닌을 검사한 결과, 공급업체의 제품 배치별 품질이 안정적이며 당사의 요건을 충족할 수 있음을 알 수 있습니다.

#### (3) 세균 내독소(엔도톡신)

아르기닌은 발효를 통해 생산되므로 세균 내독소 잔류 위험이 있을 수 있습니다. 완제품은 제제 생산에 사용되며, 완제품 내 박테리아 내독소 관리가 필요합니다. 완제품의 품질을 보장하기 위해 아르기닌 원료의 박테리아 내독소를 조사했습니다. 자세한 내용은 표 6-2를 참조하시기 바랍니다. 박테리아 내독소는 원료 품질 기준에 포함되어 있으며, 정기 검사 항목으로 설정되어 매년 3회 배치(batch)를 검사합니다.

#### (4) 잠재적 유전독성 불순물

아르기닌 생산 과정에서 유전독성 경고 구조를 포함하는 물질은 사용하지 않으며, 생산되지 않으므로 아르기닌에는 유전독성 불순물이 포함되지 않습니다.



(5) 잔류 용매

아르기닌의 합성 및 결정화 공정중 유기 용매는 사용되지 않습니다.

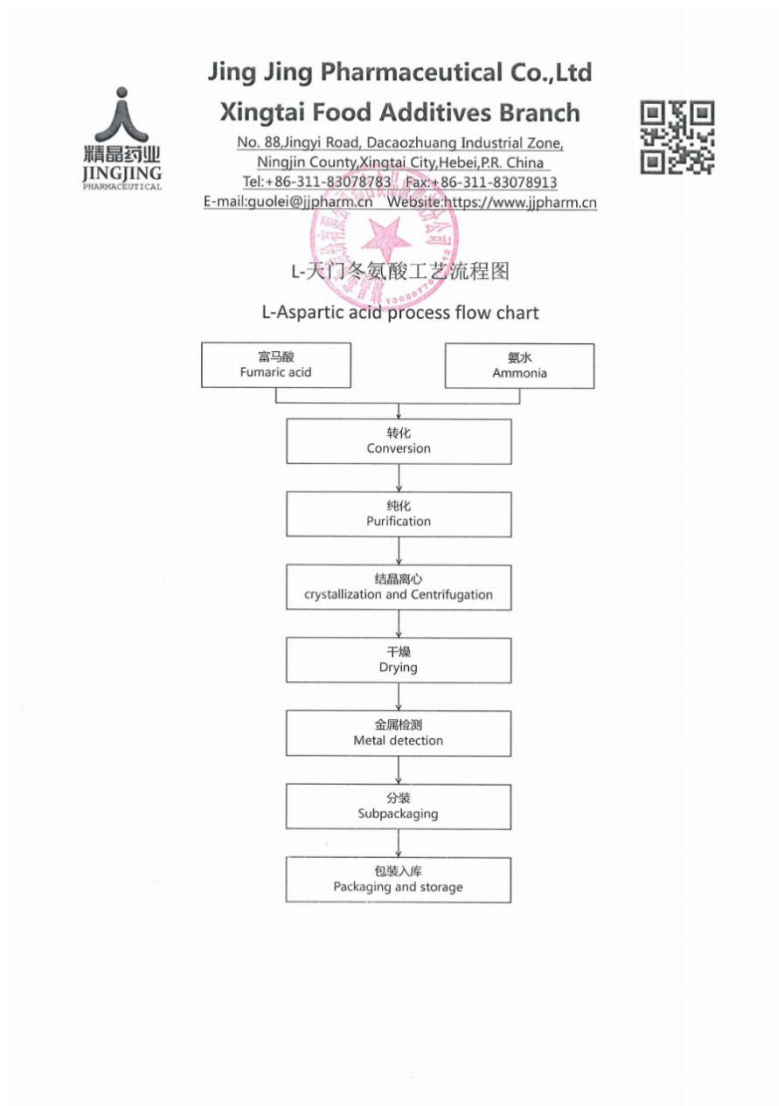
**마-2-2: 아스파르트산**

**마-2-2-1: 공급업체 및 제조공정 정보**

아스파르트산 공급업체는 징징제약(주) 신타이 식품첨가물 자회사이며, 생산 주소는 허베이성 신타이시 닝진현 다차오좡 공업원구 징이로 88호입니다. 생산 공정은 푸마르산을 아스파르트산으로 전환하는 것이며, 전환액은 정제, 결정화, 건조 및 포장작업을 거쳐 제조됩니다.

공급업체는 생산 과정에서 동물성 원료를 사용하지 않고, 유기용매를 사용하지 않으며, 제품에 유기용매 잔류물이 없음을 약속합니다.

생산 공정 흐름도는 다음과 같습니다.



#### 마-2-2-2: 아스파르트산 출발물질에 관한 불순물 control

공급업체가 제공한 생산 공정을 통해 분석 결과, 아스파르트산 생산공정 중 유입되는 불순물은 주로 유기 불순물, 무기 염 등임을 확인할 수 있습니다. 제품 제조 공정에는 유기 용매를 사용하지 않습니다.

##### (1) 유기 불순물

아스파르트산은 푸마르산에서 전환됩니다. 생산 공정에서 유기 불순물은 디카르복실산(푸마르산, 말레산, 사과산) 및 기타 아미노산(알라닌, 글루탐산, 아스파라긴)일 수 있습니다.

당사는 EP 표준을 참조하고 관련 물질 분석 방법 및 기타 아미노산 분석 방법을 개발하여 여러 배치의 제품을 테스트했습니다. 테스트 결과 아스파르트산의 디카르복실산 잔류물은 모두 보고 기준(0.05%) 미만이며, 다른 아미노산 잔류물도 모두 보고 기준(0.05%) 미만인 것으로 나타났습니다.



종합 평가 결과, 완제품에 디카르복실산 및 기타 아미노산이 잔류할 위험은 낮으며, 당분간 품질 기준에 포함되지 않습니다.

기타 아미노산(TLC법): 기타 아미노산 불순물에 대해 당사는 2020년 중국 약전에 등재된 아스파르트산 품질 기준을 참조하여 아스파르트산의 기타 아미노산 검사 및 분석 방법(박층 크로마토그래피)을 수립하고, 아스파르트산을 엄격하게 관리하며, 기타 아미노산 항목을 아스파르트산 품질 기준에 포함시키고 있으며, 그 허용 기준은 0.4% 이하입니다.

#### (2) 무기 불순물

아스파르트산 제조에는 무기염이 사용됩니다. 공급업체는 결정화 및 여과 공정을 통해 이러한 무기 불순물을 제거합니다. 또한, 다양한 재료 및 생산 장비에서 유입될 수 있는 금속 원소 불순물은 후속 결정화 단계를 통해 추가로 제거할 수 있습니다. 이러한 무기 불순물에 대해서는 공급업체가 강열 잔류물, 중금속 및 비소염 검사를 통해 관리합니다.

오르니틴 아스파르트산 생산 공정에서 후속 결정화 공정이 무기 불순물을 다시 제거하는 능력을 가지고 있습니다는 점을 고려할때, 당사는 염화물, 황산염, 암모늄염, 중금속, 철염, 비소염 등 아스파르트산의 고위험 품목만을 관리하여 생산 요건 및 완제품 품질 위험 관리 전략을 완벽하게 충족합니다. 여러 배치의 아스파르트산을 검사한 결과, 공급업체 제품의 품질이 배치 간 안정적으로 유지되고 있으며 당사 요건을 충족할 수 있음을 확인했습니다.

#### (3) 잠재적 유전독성 불순물

아스파르트산 생산 과정에서 유전독성 경고 구조를 포함하는 물질은 사용하지 않으며, 생산되지 않으므로 아스파르트산에 유전독성 불순물이 포함되지 않습니다.

#### (4) 잔류 용매

아스파르트산 생산 공정 및 결정화 공정에는 유기 용매를 사용하지 않습니다.

### 마-3: 동등성 입증, 불순물 스펙트럼 비교자료 제출

현재 아르기닌 공급업체는 CJ (Shenyang) Biotechnology Co., Ltd.이며, 3개 배치의 원료 성적서는 첨부 5-3A 아르기닌 원료 성적서에 제시되어 있습니다.

현재 아스파르트산 공급업체는 CJ (Shenyang) Biotechnology Co., Ltd.이며, 3개 배치의 원료 성적서는 첨부 5-3B에 제시되어 있습니다.

위의 원료를 사용하여 생산된 완제품은 품질이 안정적이며 배치 간 불순물 스펙트럼이 일관됩니다.

완제품 보고서는 첨부 5-3C에 제시되어 있습니다.

- Attachment 5-3A Report of Arginine Raw Materials





- Attachment 5-3B Aspartic Acid Raw Material Report
- Attachment 5-3C LOLA Finished Product Report

바. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)  
 6 검토의견: 출발물질 Arginine 규격설정 근거 미흡.  
 보완사항: 1) (3.2.S.2.3.) 함량시험 기준 상한 설정하여 제출  
 2) (3.2.S.2.3.) Ninhidrin 반응성 불순물 중 아미노산 계열 불순물만 관리하고 있어 Ninhidrin 반응성 불순물의 개개 불순물과 총 불순물 기준을 설정하여 관리.  
 3) (3.2.S.2.3.) 암모늄 시험 관리항목 미설정의 타당한 근거 제출.  
 4) (3.2.S.2.3.) 비소 시험 기준 설정의 타당한 근거 제출.  
 5) (3.2.S.2.3.) 출발물질이 발효공정으로부터 제조되는 경우, 엔도톡신 항목 설정하여 관리.

**바-1:** 보완사항에 따라 아르기닌 함량 기준의 상한을 101.0%로 설정하였습니다. 개정된 품질 기준은 첨부 5-1A에서 확인할 수 있습니다.

- Attachment 5-1A L-arginine quality standard

**바-2:** 아르기닌 내 기타 아미노산의 정량을 위한 방법(아미노산 분석기법)을 개발하였으며, 이는 EP10.0 아르기닌 기준에서 인덴케톤 양성물질(기타 아미노산) 관리를 기반으로 합니다. 아르기닌의 제조공정을 분석하여, 라이신과 오르니틴 등 잠재적 불순물을 분석 방법에 추가하였습니다.

위의 분석 방법을 사용하여 여러 배치의 아르기닌을 시험했으며, 시험 결과는 표 6-1에 자세히 나와 있습니다. 여러 배치의 아르기닌에서 가장 많이 검출된 불순물은 아르기닌 효소 전환의 목표 산물인 오르니틴이며, 여러 배치의 시험 결과는 모두 0.05% 이하(보고 한계 미만)이고, 글루탐산과 알라닌은 검출되지 않았으며, 라이신은 0.02% 이하(보고 한계 미만)입니다. 이상의 연구 결과를 바탕으로, 아르기닌 내 기타 아미노산 종류의 위험성은 비교적 낮은 것으로 판단되며, 현재는 원료의약품 기준에 포함하지 않습니다. 분석법은 첨부 5-2A에서 확인할 수 있습니다.

- Attachment 5-2A Analysis Methods for Other Amino Acids of Arginine

Table 6-1 Determination results of other amino acids in arginine samples

Batch number	Other amino acids ( % )					Total impurities
	glutamic acid	alanine	ornithine	lysine	Unknown single impurity	
DHAF220528	미검출	미검출	0.036	미검출	미검출	0.059
DHAF220529	미검출	미검출	0.046	미검출	미검출	0.082
DHAF240306	미검출	미검출	0.045	0.017	미검출	0.094



**바-3:** 아르기닌 공급업체의 제조공정에 따르면, 결정화 및 여과 과정을 통해 암모늄염과 같은 무기염을 제거할 수 있습니다. 당사에서는 아스파르트산 오르니틴의 결정화 공정을 통해 무기염 등 불순물을 추가로 제거할 수 있습니다. 아스파르트산 오르니틴 제품의 품질 기준에는 암모늄염을 포함하였으며, 완제품 검사 결과 암모늄염이 기준을 충족함을 확인하였습니다. 종합적으로 평가한 결과, 암모늄염이 제품 품질에 미치는 영향은 비교적 낮으므로, 현재 아르기닌의 품질 기준에는 암모늄염을 포함하지 않았습니다.

**바-4:** 중국약전의 아르기닌 기준에 따르면, 비소염(arsenic salts)의 기준은  $\leq 1\text{ppm}$ 으로 설정되어 있습니다.

- Attachment 6-1A Quality Standards for Arginine in the Chinese Pharmacopoeia

**바-5:** 원료 공급업체의 원료 분석 데이터를 기반으로 분석한 결과, 아르기닌 원료의 박테리아 엔도톡신은  $0.01\text{EU/mg}$  미만입니다. 분석 결과는 표 6-2에 제시되어 있습니다. 공급업체 원료의 품질은 배치 간 안정적으로 유지됩니다.

표 6-2 아르기닌 원료 박테리아 엔도톡신 분석 결과

Batch No.	박테리아 엔도톡신
DHAF250113	$< 0.01\text{EU/mg}$
DHAF240109	$< 0.01\text{EU/mg}$
DHAF240107	$< 0.01\text{EU/mg}$

당사에서는 아스파르트산 오르니틴의 생산 공정에서 활성탄을 사용하여 세균 엔도톡신을 추가로 제거하고 있습니다. 완제품의 세균 엔도톡신 함량은 모두  $< 0.006\text{EU/mg}$ 이며, 시험 결과는 표 6-3에 제시되어 있으며 모두 품질 기준을 충족합니다. 완제품의 품질을 엄격히 관리하기 위해 아르기닌 원료의 세균 엔도톡신을 정기 점검 항목으로 지정하였으며, 매년 3개 연속 배치에 대해 시험을 실시하고 있습니다.

표 6-3 오르니틴 아스파르트산의 세균 내독소(엔도톡신) 검사 결과

Finished product batch number	Bacterial endotoxins
C552202010	$< 0.006\text{EU/mg}$
C552202011	$< 0.006\text{EU/mg}$
C552202012	$< 0.006\text{EU/mg}$

사. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)

7 검토의견: 출발물질 Aspartic acid 규격설정 근거 미흡.



- 보완사항: 1) (3.2.S.2.3.) 닐히드린 반응성 불순물관리, Dicarboxylic acids 불순물 관리항목 미설정의 타당한 근거제출.
- 2) (3.2.S.2.3.) 암모늄 시험, 비소 시험 기준 설정의 타당한 근거 제출.
- 3) (3.2.S.2.3.) 출발물질이 발효공정으로부터 제조되는 경우, 엔도톡신 항목 설정하여 관리.

**사-1:** EP의 아스파르트산 기준을 참고하여 유연물질 및 기타 아미노산에 대한 분석법을 개발하고 시험을 수행하였습니다. 그 결과, 아스파르트산의 푸마르산, 말레산, 사과산 잔류물은 EP의 아스파르트산 보고 기준치(0.05%)보다 낮았고, 기타 아미노산도 보고 기준치(0.05%)보다 낮았다. 배치 간 제품의 품질은 안정적이었으며, 기타 아미노산과 디카복실산 불순물은 원료 품질 기준에 포함되지 않았습니다.

분석결과는 아래표와 같습니다.

Batch No.	Malic acid	Fumaric acid	Maleic acid	Other single impurities	Total impurities
JB552211016	0.03	0.02	미검출	미검출	0.05
JB552211017	0.03	0.01	미검출	미검출	0.04
JB552211018	0.02	0.01	미검출	미검출	0.03

Batch No	Glutamate	Alanine	Asparagine	Other single impurities	Total impurities
JB552211016	미검출	미검출	미검출	0.0016	0.0016
JB552211017	미검출	미검출	0.0032	0.0013	0.0013
JB552211018	미검출	미검출	미검출	0.0020	0.0041

분석방법은 첨부7-1을 참조하시기 바랍니다

- Attachment 7-1 Testing Method for Aspartic Acid Related Substances

**사-2:** 암모늄염, 비소 기준 설정 근거

**사-2-1:** 암모늄염

아스파르트산 공급업체의 생산 공정에 따르면, 생산 과정에서 암모니아수를 사용함에 따라 아스파르트산 원료에 암모늄염이 잔류할 수 있습니다. 제품의 품질을 보장하기 위해, 아스파르트산 오르니틴 의 암모늄염 한도(400ppm)를 기준으로 아스파르트산 내 암모늄염 한도를



0.04%로 설정하였습니다.

**사-2-2: 비소**

중국약전의 아스파르트산 품질 기준을 참고하여, 비소의 기준을 0.0001%로 설정하였습니다.

- Attachment 7-2 ChP aspartic acid

**사-3:** 아스파르트산의 생산 공정은 발효법이 아니므로, 엔도톡신 기준을 설정하지 않았습니다.

아. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)

8 검토의견: 미제출

- 보완사항: 1) (3.2.S.2.3.) 고정화효소의 구성요소인 효소, 지지체, 가교제 정보(각 규격 및 성적서, 효소기원, 지지체의 구성 등 포함) 및 고정화과정에 관한 자료 제출.
- 2) (3.2.S.2.3.) 고정화효소의 규격 및 시험성적 자료를 제출하되, 효소활성 역가(U/g) 및 제조 기원에 따른 특이불순물(단백질, 미생물 및 동물유래 효소일 경우 바이러스 등)의 관리를 포함하여 제출.

**아-1:** 고정화 효소의 구성 성분은 아르기나아제이며, 공급원은 Hunan Fulige Biotechnology Co., Ltd 입니다. 담체는 에폭시 고정화 효소 담체입니다. 아르기나아제의 고정화 공정에 대한 상세 내용은 부록 8-1에 제시되어 있습니다.

- Attachment 8-1 Relevant Information on Arginase Products

**아-2:** 고정화 효소의 품질 기준 및 시험성적서는 첨부 8-2A, 8-2B에서 확인할 수 있습니다.

- Attachment 8-2A Quality standard for arginase

- Attachment 8-2B Arginase COA

**아-2-1: 구체적인 불순물 관리:**

단백질 잔류물: 아르기나아제는 고분자량 에폭시 담체에 고정화된 정제 효소 단백질입니다.

담체 표면에 흡착되었습다가 탈착된 효소 단백질이 주요 단백질 불순물의 원인입니다.

공급업체는 아르기나아제를 제조할 때 여러 번 세척을 통해 담체 표면에 흡착된 단백질을 제거할 수 있습니다. 제품 품질을 보장하기 위해, 당사는 설포살리실산 침전법을 개발하여 아르기나아제 내 단백질 잔류물을 검출하고 있습니다. 여러 배치의 아르기나아제에 대해 단백질 잔류물을 시험한 결과, 모두 30ppm 미만이었다. 전환이 완료된 후 아르기나아제를 세척하면 단백질 잔류물을 추가로 제거할 수 있습니다.

**아-2-2: 단백질 잔류물 시험 방법**

공시험액(블랭크) 용액: 물 5ml를 정확히 취하여 25ml 비색관에 넣는다.

대조액: 적당량의 소혈청알부민을 정확히 칭량하여 물에 녹인 후, 1ml당 약 10 $\mu$ g의 소혈청알부민이 포함되도록 정량적으로 희석하여 소혈청알부민 표준액을 만든다. 이 표준액 3ml를 정확히 취해 25ml 비색관에 넣고, 물 2ml를 가하여 6 $\mu$ g/ml 농도의 용액을 만든다.



시험액: 아르기나아제 약 2g을 정확히 칭량하여 물 10ml를 정확히 가하고, 30분간 혼든 후 방치합니다. 상등액 5ml를 취하여 0.45 $\mu$ m 미세여과막으로 여과한 후 25ml 비색관에 넣어 약 0.2g/ml 농도의 시험액을 만듭니다.

측정 방법: 위의 각 비색관에 20% 설향살리실산 2ml를 가하고 잘 혼든 후 30분간 방치한다. 1000lx 조도의 투명도계가 설치된 암실에서 수직으로 세워 검정 배경을 두고 수평 방향으로 관찰 및 비교한다.

판정 기준: 시험액의 혼탁도가 대조액(30ppm)보다 짙지 않아야 한다.

Batch No.	단백질 잔류
G01220240304	< 30ppm
G01220240405	< 30ppm
G01220240606	< 30ppm

**아-2-3: 동물 유래 효소 관련 사항:**

아르기나아제의 생산 공정에는 동물 유래 성분이 사용되지 않습니다. 자세한 내용은 첨부 8-3, 공급업체 확인서를 참조하시기 바랍니다.

**아-2-4: 미생물 및 바이러스 관리 전략:**

공급업체가 아르기나아제를 생산할 때, 생산 공정에 소독 및 세척 과정이 포함되어 있습니다. 이 과정에서는 일정 비율의 소독제를 첨가하여 멸균한 후, 진공 여과 및 정제수로 3회 세척하고 배수합니다. 이러한 작업을 통해 아르기나아제 내 미생물과 바이러스를 억제 및 제거할 수 있습니다. 또한 아스파르트산 오르니틴의 생산 공정에서 정밀 여과를 사용하여 미생물 등 특정 불순물을 추가로 제거할 수 있습니다. 아스파르트산 오르니틴의 품질 기준에 미생물 한도를 도입할 계획이므로, 아르기나아제 내 미생물 등 특정 불순물이 제품 품질에 미치는 영향은 비교적 적다고 판단됩니다.

자. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)

9 검토의견: 미제출

보완사항: 1) (3.2.S.2.3.) 정제수 규격 중 전도도 관리기준 작성하여 제출.

2) (3.2.S.2.3.) 정제수 규격 중 비휘발성물질 기준 설정 근거 제출.

**자:** 정제수의 전도도 기준은  $\leq 5.1(25^{\circ}\text{C})$ 이며, 이는 Close-part에 포함된 일반규정 0681호에 명시되어 있습니다.

정제수

온라인 또는 오프라인 전도도 측정기를 사용하여 측정 온도를 기록할 수 있습니다. 표 1에서 측정 온도에 해당하는 전도도 값이 한계값입니다. 측정 온도가 표 1에 나열되지 않은 경우, 한계값은 선형 보간법을 사용하여 계산해야 합니다. 측정 전도도 값이 한계값보다 크지 않으면 규정을 준수하



는 것으로 판단하고, 측정 전도도 값이 한계값보다 크면 규정을 준수하지 않는 것으로 판단합니다.

표1 온도와 전도도의 한계(정제수)

온도(°C)	전도율(μS/cm)	온도(°C)	전도율(μS/cm)
0	2.4	60	8.1
10	3.6	70	9.1
20	4.3	75	9.7
25	5.1	80	9.7
30	5.4	90	9.7
40	6.5	100	10.2
50	7.1		

보간법의 계산식은 다음과 같습니다.

$$k = \left( \frac{T - T_0}{T_1 - T_0} \right) \times (K_1 - K_0) + K_0$$

해당 계산식에서 k는 측정 온도에서의 전도도 한계값;

k<sub>1</sub> 표 1에서 측정된 온도보다 높은 가장 가까운 온도에 해당하는 전도도 한계값. ;

k<sub>0</sub> 표 1에서 측정된 온도보다 낮은 가장 가까운 온도에 해당하는 전도도 한계값 ;

T 측정 온도 ;

T<sub>1</sub> 표 1에서 측정된 온도보다 높은 가장 가까운 온도. ;

T<sub>0</sub> 표 1에서 측정된 온도보다 낮은 가장 가까운 온도.

비휘발성 물질의 표준은 1mg/100ml이며, 중국약전 제2부 첨부9-1을 참조하시기 바랍니다.

- Attachment 9-1ChP Purified water quality standard

차. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 3)

- 10 검토의견: 1) 주요공정 미설정, 상세 제조공정을 확인할 수 있는 자료가 제출되지 않아 각 공정의 품질이 타당하게 관리되고 있는지 확인할 수 없으며, 일부 공정단계에서 관리하는 온도 및 PH 관리기준 미제출.
- 2) Wet 또는 Dry 중간체 관리로 건조감량만 설정하여 제출하였으나, 보관기간에 따른 수분과 미생물 고찰 포함되지 않았으며 그 외 중간체에서 제조단계에 따른 품질관리 연관성이 충분히 반영하여 관리될 수 있도록 중간체 시험을 설정
- 3) 제조공정 특성 기반 품질위해가 공정관리 또는 중간체관리 시험에서 고찰되지 않



음.

- 보완사항: 1) (3.2.S.2.4.) 주요공정 설정 자료를 제출하고, 공정별 범위 내에서 관리되어야 하는 작업조건(주요공정변수 및 범위 근거 포함)과 공정 단계별 품질과 연관된 공정관리 시험 자료 제출.
- 2) (3.2.S.2.5.) 핵심구조가 유도되거나 중요 화학치환 단계, 불순물 유입 위험이 있거나 불순물을 제거하는 단계의 중간체, 최종정제 등 분리되는 중간체 품질이 규격 내에서 충분히 관리될 수 있도록 중간체 규격 설정.
- 3) (3.2.S.2.4.) 제출한 일부 제조방법 자료로 확인되는 공정특성에 따라 고정화효소의 반응 후 회수, 재사용주기, 효소 활성과 전환속도, 전환율 관리, 지지체 잔류물, 미생물 및 엔도톡신 관리, 활성탄 흡착 및 여과필터 용출물, 수분 등이 공정 중 관리됨을 확인할 수 있는 공정관리 및 반제품 관리 자료 제출.

**차-1:** 공정 매개변수 설정 데이터 및 분서 데이터는 아래 첨부파일 참조 부탁드립니다.

- Attachment 10-1A Key process parameters

**차-2:** 생산공정의 중간생성물은 오르니틴 아스파르트산 wet분말과 오르니틴 아스파르트산 dry분말입니다. 두 제품 모두에 대한 품질 기준이 설정되어 있습니다. 습분말의 건조 중량 손실은  $\leq 50\%$ , 건조 분말의 건조 중량 손실은  $\leq 7.0\%$ 입니다.

**차-3:** 아르기나아제 처리 주기 평가, 전환율 평가 및 효소 활성 평가에 대한 지침은 아래 첨부파일을 참조 부탁드립니다.

- Attachment 10-1D Arginase Application Cycle, Conversion Rate, and Carrier Residue Control Strategy

담체 잔류물: 담체 잔류물 관리에 대한 내용은 아래 첨부파일을 참조 부탁드립니다.

- Attachment 10-1B Arginase Application Experiment Report

- Attachment 10-1C Carrier Residual Control Strategy

카. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 2)

11 검토의견: 1) 미제출

- 2) 결정형에 관한 자료 중 XRD 측정결과만 제출 되었으나, 결정다형이 있음이 확인되므로 고찰자료 제출 필요.

- 보완사항: 1) (3.2.S.3.1) 용점(분해유무 포함) 및 열분석치(배치정보, 열분석 기기 종류 및 분석자료 등)을 통한 결정형과의 연관성, 수화형태의 안정성, 분해유무 등의 고찰자료 제출.
- 2) (3.2.S.3.1) 신청 원료의약품의 결정형(수화물 형태 포함), 결정형의 안정성(사용기간까지 결정형 유지여부 등)자료, 알려진 결정형간의 상호관계 및 각 결정형의 물리적 성질(결정다형간 용해도 비교분석자료 등)에 관한 자료 제출.



카-1: 아스파르트산 오르니틴의 용점 기준은 203~208°C이며, 여러 배치의 시험 결과가 해당 기준을 충족합니다. 용점 분석 데이터는 다음 표와 같습니다.

Batch number	Melting point
C552202010	203.3~204.4°C
C552202011	203.6~204.8°C
C552202012	203.6~204.5°C

열분석 결과:

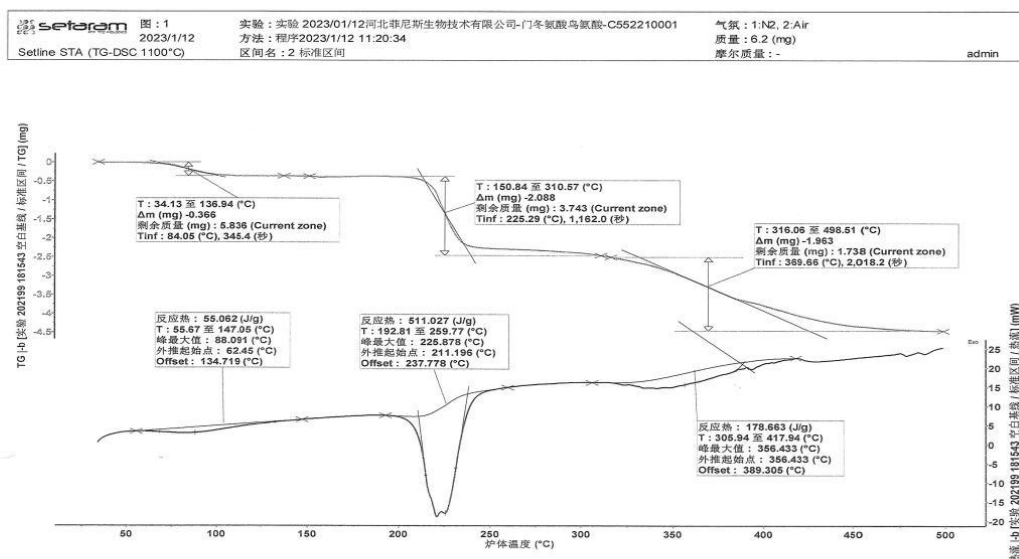
시험 배치: C552210001

사용 기기: Setline STA synchronous thermal analyzer

가스: N<sub>2</sub> Air

결과 분석: TG-DSC 곡선에서 75°C~110°C 구간에서 아스파르트산 오르니틴 시료의 무게는 6.2mg이었으며, 이 중 0.366mg의 무게 손실이 관찰되었습니다. 이 무게 손실은 수분 제거에 의한 것으로, 시료 내 자유수(Free water)의 무게에 해당합니다. 아스파르트산 오르니틴의 자유수(Free water) 함량은 약 5.9%로 나타났습니다. 211.196°C는 아스파르트산 오르니틴의 용점입니다.

열분석 스펙트럼: 아스파르트산 오르니틴 시료의 열중량-시차주사열량(TG-DSC) 곡선은 그림 11-1에 제시되어 있습니다.





**카-2: X-선 분말 회절**

기기명: X-ray powder diffractometer

기기 모델: D8 ADVANCE

시료 출처: C552210001-0일, C552210002-0일, C552211001-0일, C552210001 장기 24개월, C552210002 장기 24개월, C552211001 장기 24개월

결과 분석: X-선 분말 회절 패턴에 따르면, 안정성 고찰 보관 기간 동안 아스파르트산 오르니틴의 결정형은 일관되게 유지되었으며, 0일차와 비교해도 결정형의 변화가 없음을 확인할 수 있습니다.

- Attachment 11-1: X-ray Powder Diffraction Pattern

**Thermal analysis**

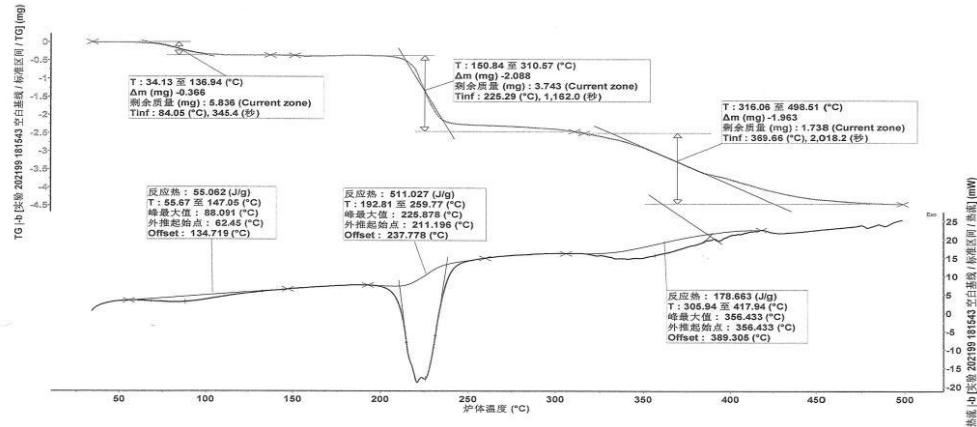
시료출처	기기모델
C552210001-0day	기기명: synchronous thermal analysis Model : SetlineSTA Equipment number : HBFC-YQ-108
C552210001-장기 24개월	기기명: synchronous thermal analysis Model : STA449F3 Equipment number : HBSDFC-0311-006

아스파르트산 오르니틴의 안정성 고찰 기간 동안 시료의 무게 손실에 뚜렷한 경향이 나타나지 않아, 안정성이 확인되었습니다.

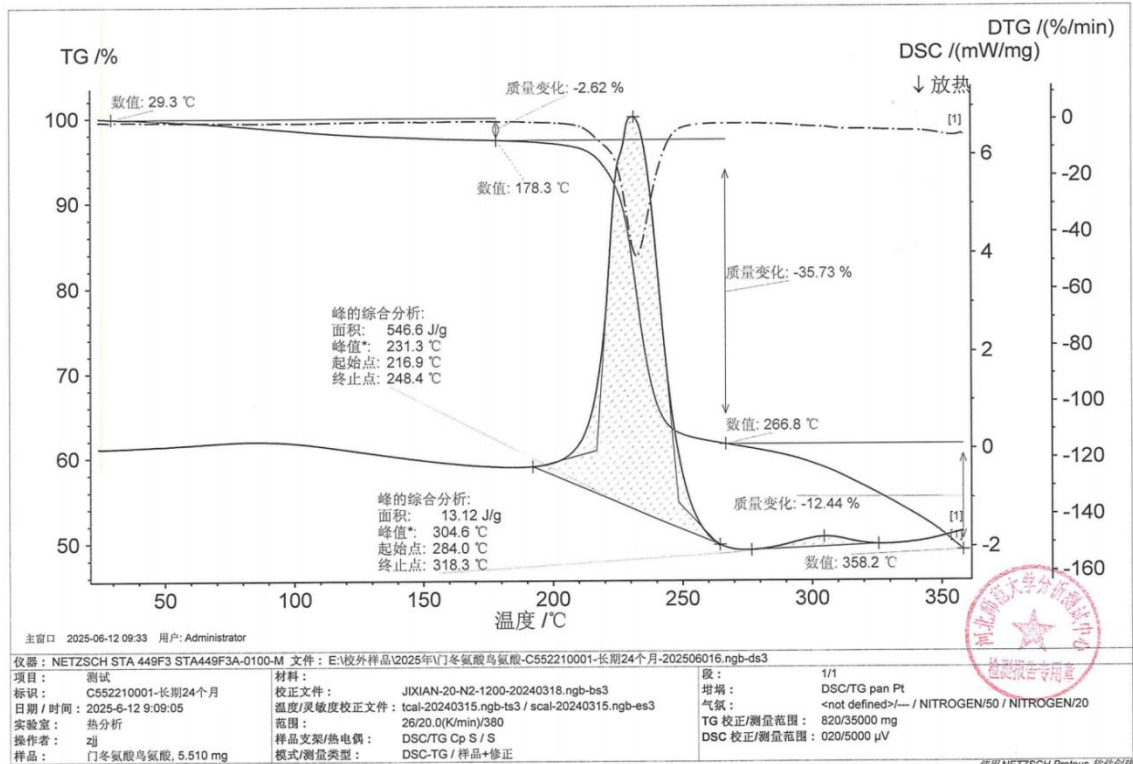
C552210001-0day Thermal analysis spectrum



Setaram 图: 1 实验: 实验 2023/01/12 河北菲尼斯生物技术有限公司-门冬氨酸鸟氨酸-C552210001 气氛: 1:N<sub>2</sub>, 2:Air  
2023/1/12 方法: 程序2023/1/12 11:20:34 质量: 6.2 (mg)  
Setline STA (TG-DSC 1100°C) 区间名: 2 标准区间 摩尔质量: - admin



C552210001-24 months Thermal analysis spectrum





아스파르트산 오르니틴의 경우 다형성을 가지고 있으며, 결정형 데이터 요약표는 아래와 같습니다.

결정형	수분	안정성	용점	특정 회절각 2θ
일수화물	6.2% ~ 6.5%	강한 빛(4500LX±500LX), 고온(60±2℃), 고습(92.5%) 조건에서는 0~10일 동안 외관, 유연물질, 함량의 변화가 없었다. 40℃, 습도 변화(75%, 92.5%)에서는 수분 함량이 일정하게 유지되었고 안정성이 양호했습니다.	/	7.340±0.2, 9.000±0.2, 9.240±0.2, 12.920±0.2, 13.260±0.2, 14.580±0.2, 15.600±0.2, 15.900±0.2, 17.900±0.2, 18.520±0.2, 19.420±0.2, 20.300±0.2, 21.280±0.2, 22.040±0.2, 22.440±0.2, 22.840±0.2, 23.180±0.2, 24.100±0.2, 25.620±0.2, 26.040±0.2, 27.680±0.2, 32.100±0.2.
결정형 IV (결정수가 없음)	/	3~5℃에 22일과, 27일 후에도 결정형태는 변화가 없었다.	203.3℃	13.780±0.2, 15.459±0.2, 16.640±0.2, 19.538±0.2, 20.740±0.2
신결정	/	6개월, 12개월, 24개월 동안 배치한 후에도 외관 색상과 결정 형태는 변하지 않았습니다.	/	8.161±0.2, 19.201±0.2, 19.759±0.2, 21.681±0.2, 22.400±0.2, 23.980±0.2, 27.061±0.2, 31.222±0.2, 31.620±0.2, 39.139±0.2, 45.340±0.2, 56.341±0.2,

타. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목

12 검토의견: 제출된 구조분석 자료에서 수화물 여부 확인되지 않으므로, 무수물 또는 수화물 여부를 명확하게 기재하여야 하며 그 근거자료 제출 필요.

보완사항: (3.2.S) 신청 원료의약품은 무수물, 다수의 수화물 형태가 보고된 경우로, 제출한 CTD 각 항목에 무수물 또는 수화물수 명확하게 기재하고 그 근거자료(결정다형, 열분석치를 포함한 기타 구조분석 자료를 통한 수화물 수 입증, 공정 일관성 등)제출.

타: 제품의 열분석 스펙트럼에서 100℃ 이상에서 수분 손실이 나타난다. 감량 결과를 바탕으로 본 제품은 반수화물(hemihydrate)로 추정됩니다. 열분석 스펙트럼은 그림 11-1에 제시되어 있습니다.

- Attachment Figure 11-1 X-ray Powder Diffraction Pattern



파. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 5)

13 검토의견: 미제출

- 보완사항: 1) (3.2.S.3.2) 원료의약품의 제조(출발물질 유래 포함), 정제 및 보관 동안 발생할 수 있는 실제적이고 잠재적인 불순물의 확인 규명(화학적 명칭, 구조) 및 물리적 혹은 화학적 성질에 대한 자료, 모든 종류의 불순물(유기물, 비유기물, 잔류 용매)에 대하여 설명하고 기재한 자료 제출.
- 2) (3.2.S.3.2) 유기물, 비유기물, 잔류 용매에 대하여 실제적 잠재적 불순물의 검출에 사용된 분석방법(검출한계와 정량한계 포함) 및 관리방안 자료 제출.
- 3) (3.2.S.3.2) 실측통계치, 안정성시험 중 장기보존시험의 결과 및 분해생성물에 관한 자료로서 가혹시험 결과를 고려한 불순물 관리 규격 설정 타당성 고찰자료 제출.

파-1: 불순물 list는 아래와 같습니다.

불순물 명칭		불순물 구조	방법	불순물 유 래	불순물 관리 한계	내부 통제 기 준 포함 여부
유기 불 순물	기타 아미노산	—	TLC	출발물질	0.02%	YES
무기 불순물	황산염	$\text{SO}_4^{2-}$	비색법	출발물질	200ppm 이하	YES
	염화무르	$\text{Cl}^-$	비색법	출발물질	200ppm 이하	YES
	암모늄염	$\text{NH}_4^+$	비색법	출발물질	400ppm 이하	YES
	철염	$\text{Fe}^{3+}$	비색법	출발물질	30ppm 이하	YES
	비소염	$\text{As}^{2+}$	비색법	출발물질	2ppm 이하	YES
잔류용매	메탄올	$\text{CH}_3\text{OH}$	GC	생산공정에	0.30% 이하	YES
잔류 단백질		-	출발물질	출발물질	/	NO

파-2: 분석방법과 MV자료는 아래와 같습니다.

- Attachment 20-1A LOLA Quality Standards and MOA
- Attachment 18-1 Validation Report on Residual Solvent Method for Aspartate and Ornithine

파-3: 가혹 안정성시험 결과는 DMF 3.2.S.7(P-)에 있습니다. 분석법에 따라 적합입니다.

36개월 장기안정성시험결과는 첨부파일 14-1A를 참조 부탁드립니다.

- Attachment 14-1A LOLA 36 months of long-term stability data



하. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 5)

14 검토의견: 미제출

- 보완사항: 1) (3.2.S.3.2) 장기보존시험, 가속시험, 가혹시험(광선)등 안정성시험 중에 생성되는 분해생성물의 안정성을 입증하는 자료를 제출(서로 다른 기전(전문적 경험 규칙기반, 통계 기반)의 2종 이상의 컴퓨터 독성예측시험자료((Q)SAR) 또는 복귀돌연 변이시험자료 등 유전독성시험자료 및 관리방안 포함).
- 2) (3.2.S.3.2) 니트로사민류 불순물의 생성 가능성에 대한 위해평가를 타당하게 실시하고, 관리방안 제출.

**하-1:** 장기(36개월) 안정성 시험을 완료하였으며, 그 결과 평가 지표가 품질 기준을 충족함을 확인하였습니다. 자세한 내용은 첨부 14-1A를 참조하시기 바랍니다.

고온, 고습, 광노출 등 영향 요인에 대한 실험도 실시하였으며, 시험 결과 조사된 지표가 모두 품질 기준을 충족하였습니다. 자세한 내용은 첨부 14-1B를 참조하시기 바랍니다.

- Attachment 14-1A LOLA , 36 months of long-term stability data
- Attachment 14-1B LOLA-Experimental data on influencing factors

**하-2:** 니트로사민 불순물에 대한 평가 보고서를 작성하였으며, 평가 결과 완제품에서 니트로사민 불순물의 위험성이 없는 것으로 확인되었습니다. 자세한 내용은 첨부 14-2A를 참조하시기 바랍니다.

- Attachment 14-2A Quality Risk Assessment Report on LOLA of Nitrosamine impurities

거. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 5)

15 검토의견: 금속불순물에 대한 관리방안 자료 미흡(공정 중 금속불순물 혼입 위해 확인되나 위해평가 자료 미제출, 시험방법 및 정량한계 자료 미제출, 3배치 원료의약품이 공정을 대표할 수 있는지 여부 미제출, 평가대상 불순물 목록 및 기준 설정 타당하지 않음)

보완사항: (3.2.S.3.2) 의약품에 잔류 또는 혼입될 수 있는 금속불순물에 대해 제조방법, 용법, 용량 등을 고려하여 안전성 입증 수준 이하로 관리됨을 입증하는 자료 제출.

#### 거: 금속불순물관련

고객사의 주사제 생산 용도에 따라, 투여 경로와 1일 투여량을 기준으로 금속 불순물 평가를 재실시 하였습니다. 평가 결과, 제품 내 잔류 금속 불순물은 ICH Q3D 기준을 충족하며, 30% 미만으로 나타나 품질 기준은 설정하지 않았습니다. 자세한 내용은 평가 보고서 15-1A를 참조하시기 바랍니다.

- Attachment 15-1A Elemental Impurity Assessment Report

너. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 5)

16 검토의견: 1) 미제출

2) 제조방법 중 메탄올 사용여부 확인되지 않으며, 금속불순물 고찰 자료 미흡하여 비



소시험 관리방안 제출필요.

- 3) 효소 촉매 반응을 포함하는 공정으로 제조되는 원료의약품에 해당하는 바, 엔도톡신 및 미생물한도시험을 규격에 미설정하는 경우 타당한 근거 제출 필요.

보완사항: 1) (3.2.S.4.5.) 선광도(범위), 아세트산수은반응(유해시약 사용 필요성 또는 대체시험법 설정), 몰리브도포스포릭산 반응, 수분시험(원료의약품의 수화물 형태에 따라 실측치 근거로 기준 설정), 함량(상한치)시험의 기준 설정 근거를 제출

2) (3.2.S.4.5.) 잔류용매(메탄올)시험 설정근거를 제출하고, 비소시험 미설정의 타당한 근거를 제출하거나 규격에 설정하여 관리.

3) (3.2.S.4.5.) 엔도톡신 및 미생물한도시험 미설정의 타당한 근거를 제출하거나 규격에 설정하여 관리.

#### 너-1-1: 선광도

DAB 기준에서 오르니틴 아스파르트산의 선광도 관리 범위는 +26.5°에서 +29.0°입니다.

2.0g의 시료(무수물 기준)를 25mL의 6mol/L 염산 용액에 녹여, 20±0.5°C, 100mm length 에서 나트륨 D line (589.3nm)으로 측정합니다(Ph. Eur. 2.2.7).

커머셜 스케일 PV 배치 C552202010, C552202011, C552202012의 선광도는 +28.0°에서 +28.3°로, 각 배치 간 선광도 차이가 크지 않았습니다. 또한 안정성 기간 동안에도 유의미한 변화가 없어, DAB의 본 제품 관리 범위(+26.5°~+29.0°)에 부합합니다.

실제 시험 결과와 제품의 안정성을 바탕으로, 본 제품의 선광도 기준을 +26.5°에서 +29.0°로 설정하였습니다.

#### 너-1-2: 아세트산수은반응

아스파르트산 오르니틴의 DAB 기준에서 확인 방법은 A: 선광도, B: 적외선 확인, C: 인덴온 반응, D: 아세트산수은 반응, E: 몰리브도포스포릭산 반응입니다.

설명: A, C, D, E를 실시한 경우 B는 생략할 수 있으며, A, B를 실시한 경우 C, D, E는 생략할 수 있습니다.

이 규정에 따라, 당사는 A와 B(선광도 및 적외선 확인) 확인을 실시하였으며, C, D, E(인덴온 반응, 아세트산 수은 반응, 몰리브도포스포릭산 반응)는 면제하였습니다.

#### 너-1-3: 수분시험

DAB 기준에 따르면, 본 제품의 수분 함량은 ≤ 7.0%입니다. 수분 함량은 DAB 약전 방법에 따라 측정합니다.

PV용 3개 배치의 수분 함량 및 안정성 시료는 다음과 같습니다.

배치 No.	Initial	3 M	6 M	9 M	12 M	18M	24 M	36 M
C552202010	0.81	1.20	1.20	1.3	1.4	1.2	1.2	1.4



C552202011	0.66	1.20	1.10	1.0	0.77	1.3	1.0	1.1
C552202012	0.77	1.20	1.40	1.3	1.4	1.2	1.2	1.2

PV용 제품의 안정성 기간 동안 모두  $\leq 7.0\%$ 입니다.

DAB를 참고하여 각 배치의 수분 함량 및 안정성 시험 중 수분 결과를 바탕으로, 본 제품의 출하 및 유효기간 기준 수분 함량을 모두  $\leq 7.0\%$ 로 설정하였습니다.

#### 너-1-4: 함량(상한) 시험의 기준 근거

DAB 기준에 따르면, 본 제품의 함량은 무수 및 무용매 상태를 기준으로 계산하며,  $C_5H_{12}N_2O_2 \cdot C_4H_7NO_4$ 의 함량은 98.0%~102.0%이어야 합니다. DAB 약전 방법에 따라, 본 제품의 함량을 전위차 적정법으로 측정하였고, 해당 방법의 타당성을 검증하였습니다. 그 결과, 본 방법은 정밀도와 정확도가 우수하여 본 제품의 함량 측정에 적용할 수 있음을 확인하였습니다.

PV 제품 3개 배치 및 안정성 시험의 함량은 모두 98.0% 이상이어야 합니다

DAB, 각 배치의 함량, 그리고 안정성 시험 중 함량 결과를 참고하여, 본 제품의 출하 및 유효기간 기준 함량을 “건조물로 계산하여,  $C_5H_{12}N_2O_2 \cdot C_4H_7NO_4$ 의 함량은 98.0%~102.0%이어야 합니다.”로 설정하였습니다.

#### 너-2-1: 잔류용매(메탄올)시험 설정근거

아스파르트산 오르니틴의 생산 공정에서 사용되는 용매는 메탄올이며, 건조 공정을 통해 제거됩니다. 제품 품질을 보장하기 위해 ICHQ3D 가이드라인과 「중국약전 2020년판 제4부 일반규정 0861」의 요구사항에 따라, 완제품 내 메탄올 잔류 한도를  $\leq 0.3\%$ 로 설정하였으며, 여러 배치의 시험 결과 모두 해당 기준을 충족하였습니다.

#### 너-2-2: 비소시험 설정근거

중국약전(ChP) L-오르니틴 L-아스파르트산 기준에 따라 비소염 시험 항목이 추가되었으며, 한도는  $\leq 2\text{ppm}$ 입니다.

#### 너-3-1: 미생물한도시험 설정근거

본 제품은 주사제 또는 경구용 비무균 원료입니다. 최초로 제출된 DMF는 경구 제조용으로, 미생물 및 엔도톡신 기준이 설정되어 있지 않았습니다. 그러나 고객의 제형이 주사제이므로, 제품 품질을 엄격히 관리하기 위해 완제품 품질 기준에 세균 엔도톡신 및 미생물 한도 기준을 추가하였습니다.

미생물 한도 기준은 다음과 같습니다:

- 총 호기성균  $\leq 1000 \text{ cfu/g}$
- 총 곰팡이 및 효모  $\leq 100 \text{ cfu/g}$
- 대장균 불검출



- 세균 엔도톡신 기준은 <0.006EU/mg

본 제품은 주사제용 비무균 원료로, 미생물 한도 시험 기준을 충족해야 합니다. 「비무균 제품의 미생물 한도 시험: 미생물 계수법」(중국약전 2020년판 제4부 일반규정 1105) 및 「관리균 시험법」(중국약전 2020년판 제4부 일반규정 1106)의 요구에 따라, 미생물 한도 시험에는 막여과 계수법을 적용하였습니다. 미생물 시험법의 검증 결과, 본 방법은 아스파르트산 오르니틴의 미생물 한도 시험에 적합함을 확인하였습니다.

따라서 본 제품의 미생물 한도는 “총 호기성균 ≤ 1000 cfu/g, 곰팡이 및 효모 ≤ 100 cfu/g, 대장균 불검출”로 설정하였습니다.

Batch No.		C552202010 (장기36개월)	C552202011 (장기36개월)	C552202012 (장기36개월)
microbial limit	total aerobic bacteria ≤1000cfu/g	< 1	< 1	< 1
	Mold and Yeast≤100cfu/g	< 1	< 1	< 1
	E. coli:불검출	미검출	미검출	미검출

#### 너-3-1: 엔도톡신 한도시험 설정근거

- 1) 중국약전 2020년 일반규정 1143에 따르면, 세균 엔도톡신 한도 계산식은 다음과 같습니다:

세균 엔도톡신 한도  $L = K/M$ , 여기서 K는 주사제의 경우 5EU/(kg·h), M은 인간 대상 1시간 당 체중 kg당 최대 투여량입니다.

오르니틴 아스파르트산 제제(주사제)의 사용설명서에는 최대 주입 속도가 시간당 5g(본 제품 1앰플에 해당)을 초과하지 않아야 한다고 명시되어 있습니다. 따라서, 1시간당 체중 kg당 최대 투여량 M은  $5g/h \div 60kg = 0.083g/(kg \cdot h)$ 입니다.

따라서 오르니틴 아스파르트산의 세균 엔도톡신 한도는 다음과 같이 계산됩니다:

$$\frac{5EU/(kg \cdot h)}{0.083g/(kg \cdot h)} = 60EU/g = 0.06EU/mg$$

- (2) L-오르니틴 L-아스파르트산 기준 제제의 세균 엔도톡신 관리 기준은 “세균 엔도톡신이 3EU/ml을 초과해서는 안 됩니다.”고 규정되어 있습니다. 또한, 규정상 주사제 1ml에는 500mg의 아스파르트산 오르니틴 원료가 포함되어 있습니다.

따라서 한도 값 계산은 다음과 같습니다:

$$3EU/500mg = 0.006EU/mg$$

두 가지 한도 계산 결과를 비교하여, 당사는 아스파르트산 오르니틴의 세균 엔도톡신 관리 기준을 0.006EU/mg으로 설정하였습니다.

「중국약전 2020년판 제4부 일반규정 1143」의 세균 엔도톡신 시험법을 참고하여, 본 제품에





대한 세균 엔도톡신 시험법을 개발 및 검증하였고, 제품에 대해 시험을 실시하였습니다.  
그 결과, PV 제품의 세균 엔도톡신은 모두 0.006EU/mg 미만으로, 기준을 충족하였습니다.

Batch number	C552202010	C552202011	C552202012
Bacterial endotoxin	< 0.006EU/mg	< 0.006EU/mg	< 0.006EU/mg

더. 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 5)

17 검토의견: 미제출

- 보완사항: 1) (3.2.S.3.2) 원료의약품의 제조(출발물질 유래 포함), 정제 및 보관 동안 발생할 수 있는 실제적이고 잠재적인 불순물의 확인 규명(화학적 명칭, 구조) 및 물리적 혹은 화학적 성질에 대한 자료, 모든 종류의 불순물(유기물, 비유기물, 잔류용매)에 대하여 설명하고 기재한 자료 제출.
- 2) (3.2.S.3.2) 유기물, 비유기물, 잔류 용매에 대하여 실제적, 잠재적 불순물의 검출에 사용된 분석방법(검출한계와 정량한계 포함) 및 관리방안 자료 제출.
- 3) (3.2.S.3.2) 실측통계치, 안정성시험 중 장기보존시험의 결과 및 분해생성물에 관한 자료로서 가혹시험 결과를 고려한 불순물 관리 규격 설정 타당성 고찰자료 제출.

더-1: 불순물 list는 아래와 같습니다.

불순물 명칭		불순물 구조	방법	불순물 유래	불순물 관리 한계	내부 통제 기준 포함 여부
유기 불순물	기타 아미노산	—	TLC	출발물질	0.02%	YES
무기 불순물	황산염	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	비색법	출발물질	200ppm 이하	YES
	염화무르	Cl <sup>-</sup>	비색법	출발물질	200ppm 이하	YES
	암모늄염	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	비색법	출발물질	400ppm 이하	YES
	철염	Fe <sup>3+</sup>	비색법	출발물질	30ppm 이하	YES
	비소염	As <sup>2+</sup>	비색법	출발물질	2ppm 이하	YES
잔류용매	메탄올	CH <sub>3</sub> OH	GC	생산공정에	0.30% 이하	YES
잔류 단백질		-	출발물질	출발물질	/	NO



**더-2:** 분석방법은 아래와 같습니다.

- Attachment 20-1A LOLA Quality Standards and MOA

**더-3:** 가혹 안정성시험 결과는 DMF 3.2.S.7(P-)에 있습니다. 분석법을 따라 적합입니다.

36개월 장기안정성시험결과는 첨부파일 14-1A를 참조 부탁드립니다.

- Attachment 14-1A LOLA 36 months of long-term stability data

**러.** 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 5)

18 검토의견: 3.2.S.4.2. 시험방법' 미제출되어, 밸리데이션 제출이 필요한 시험항목 확인되 않음.

보완사항: (3.2.S.4.3.) 각 시험항목 시험방법을 작성한 자료를 토대로 검증이 필요한 시험항목 (잔류용매 포함)에 대한 시험방법 밸리데이션 자료 제출.

**러:** 잔류용매, 엔도톡신, 미생물한도시험법 관련 밸리데이션 보고서는 아래와 같습니다.

- Attachment 18-1 Validation Report on Residual Solvent Method for Aspartate and Ornithine
- Attachment 18-2 LOLA Microbial Limit Method Validation Report
- Attachment 18-3 LOLA Bacterial endotoxin method validation report

**머.** 관련규정: 제6조 및 제7조제2호나목 4)

19 검토의견: 미제출

보완사항: (3.2.S.4.2.) 각 항목의 시험방법을 작성한 자료 제출하되, 아래 사항을 반영하여 제출.

- 1) 공정서의 일반시험법을 따르는 경우에는 세부사항을 각조에 기재하도록 되어 있는 경우나 시험법 또는 장치가 2개 이상인 경우에는 시험법명 또는 장치명을 기준치와 함께 기재하여 제출).
- 2) DAB(독일약전)의 시험법을 근거로 하는 경우 원칙적으로 한글요약문(주요사항 발췌) 및 원문을 제출하고 시험방법을 확인할 수 있는 전체 번역문(의. 약학 전문 지식을 갖춘 확인자 날인 또는 서명)을 제출

**머:** 관련 건거자료(「중국약전 일반규정」)는 아래와 같이 첨부 드립니다.

- 첨부파일 19-1A LOLA 분석항목(DAB) 한글번역문
- Attachment 19-1B EP 2.2.1. Clarity and degree of opalescence of liquids
- Attachment 19-1C EP 2.2.2. Degree of coloration of liquids.
- Attachment 19-1D EP 2.2.3. Potentiometric determination of pH
- Attachment 19-1E EP 2.2.7.0 optical rotation
- Attachment 19-1F EP 2.2.20. Potentiometric titration
- Attachment 19-1G EP 2.2.24. Absorption spectrophotometry, infrared.
- Attachment 19-1H EP 2.2.27. Thin-layer chromatography



- Attachment 19-1I EP 2.4.1. Ammonium
- Attachment 19-1J EP2.4.4. Chlorides
- Attachment 19-1K EP 2.4.8. Heavy metals
- Attachment 19-1LEP 2.4.9. Iron
- Attachment 19-1M EP 2.4.13. Sulfates
- Attachment 19-1N EP 2.4.14. Sulfated ash
- Attachment 19-10 EP 2.5.12. Water semi-micro determination
- Attachment 19-1P ChP - General Principles-0822
- Attachment 19-1Q ChP - General Principles -1105
- Attachment 19-1R ChP - General Principles -1143

버. 관련규정:	제6조 및 제7조제2호나목 6)
20 검토의견:	신청 규격으로 제출한 시험항목 중 투명도 및 혼탁도와 착색시험, 아세트산수는 반응시험, 몰리브도포스포릭산 반응시험 미 실시 되었으며, 기준 및 시험방법 관련 각 항목 보완중임.
보완사항:	(3.2.S.4.4) 타당하게 설정된 기준 및 시험방법에 따라 실시된 시험성적 자료 제출.

**버:**

아스파르트산 오르니틴의 DAB 기준에서 확인시험방법은 A: 선광도, B: 적외선, C: 인덴온 반응, D: 아세트산수는 반응, E: 몰리브도포스포릭산 반응입니다.

설명: DAB 품질 기준에 따르면 A, C, D, E를 실시한 경우 B는 생략할 수 있고, A, B를 실시한 경우 C, D, E는 생략할 수 있습니다.

DAB 기준에 따라, 당사는 A와 B(선광도 및 적외선) 2개 항목에 대해 시험을 실시하였으며, C, D, E(인덴온 반응, 아세트산 수은 반응, 몰리브도포스포릭산 반응)는 실시하지 않았습니다.

요약하면, 착색 시험, 아세트산 수은 반응 시험, 몰리브도포스포릭산 반응 시험은 품질 기준에서 삭제하였습니다.

품질 기준의 투명도 및 색상 기준은 "맑고 무색"입니다. 시험성적서에서는 용액의 투명도 기준이 ≤ 탁도 표준 1번, 용액의 색상 기준이 ≤ B9로 되어 있으므로, 시험성적서에 따라 품질 기준의 용액 투명도 및 색상 기준을 수정하였습니다(Attachment 20-1A).

- Attachment 20-1A LOLA Quality Standards and MOA

시험은 제안된 품질 기준에 따라 수행했으며, 분석결과는 다음과 같습니다.

Test		Specification	C552202010	C552202011	C552202012
Appearance		White crystal or crystalline powder	Conform	Conform	Conform
Identification	A.Optical Rotation,°	+26.5 ~ +29.0	+28.0	+28.0	+27.9



	B.IR	corresponds to standard	Conform	Conform	Conform
Purity	Clarity of the solution	≤No. 1 Turbidity Standard	Conform	Conform	Conform
	Color of solution	≤ B9	Conform	Conform	Conform
	pH	6.0 ~ 7.0	6.3	6.2	6.3
	Related substance (TLC)	Spots other than the main spots in the test solution are not larger than the spots obtained in the standard solution	Conform	Conform	Conform
	Chloride	≤ 300 ppm	<300ppm	<300ppm	<300ppm
	Sulfate	≤ 200 ppm	<200ppm	<200ppm	<200ppm
	Ammonium	≤ 400 ppm	<400ppm	<400ppm	<400ppm
	Iron	≤ 30 ppm	<30ppm	<30ppm	<30ppm
	Heavy metals	≤ 10 ppm	<10ppm	<10ppm	<10ppm
	Water	≤ 7.0 %	1.4%	1.1%	1.2%
	Sulfated ash	≤ 0.2 %	0.03	0.05	0.03
	Arsenic	≤ 2ppm	<2ppm	<2ppm	<2ppm
Assay		98.0 ~ 102.0 %	99.4%	99.4%	99.3%
Residual solvent(Methanol)		≤ 3,000 ppm	86ppm	88ppm	82ppm
bacterial endotoxin (EU/mg)		<0.006	<0.006	<0.006	<0.006
Total plate counts (cfu/g)		≤ 1000	<1	<1	<1
Yeast and Mould (cfu/g)		≤100	<1	<1	<1
E.coli (cfu/g)		Absence	Absence	Absence	Absence