

## [Editorial Board](#)

Article 105721

[View PDF](#)

### Discussion

[PBPk modeling demonstrates that exposure time adjustment is unnecessary for setting an acute manganese inhalation exposure guideline](#)

Camarie S. Perry, Ann H. Verwiel, Tammie R. Covington, Deborah M. Proctor

Article 105698

### Discussion

[Food for thought — Paving the way for a UK roadmap towards optimum consumer safety: Development, Endorsement and Regulatory acceptance of New Approach Methodologies \(NAMs\) in Chemical Risk Assessment and Beyond](#)

Olivia J. Osborne, Phil Botham, Cath Mulholland, Claire Potter, ... Alan Boobis

Article 105701

バイオサイエンス、化学、テクノロジー、コンピューターサイエンスの進歩により、ここ数年、ニューアプローチ手法の候補が他に類を見ないほど開発されている。これらの多くは、化学物質の安全性評価において非常に有用である可能性を秘めているが、規制上の意思決定に採用されたものはほとんどない。消費者の安全性をより確実にするために、より迅速、正確かつ効率的にリスクを予測できるようになることをビジョンとする安全性評価において、NAMを使用する機会が直ちに到来している。

これを達成するため、英国食品基準庁 (FSA) と食品・消費者製品・環境中の化学物質の毒性に関する委員会 (COT) は、規制上の意思決定のための安全性とリスク評価に、これらの新しいアプローチ手法を受け入れ、統合するためのロードマップを作成した。このロードマップは、研究室から規制上の意思決定における NAMs の使用へと移行するための英国の青写真を提供するものである。そのためには、適切なモデルを開発し、検証し、活用するために、化学者、毒物学者、情報科学者、リスク評価者などの分野を超えて、また化学部門を超えて、緊密な協力が必要となる。国際的な連携と調和が基本になる。

Advances in biosciences, chemistry, technology, and computer sciences have resulted in the unparalleled development of candidate New Approach Methodologies over the last few years. Many of these are potentially invaluable in the safety assessment of chemicals, but very few have been adopted for regulatory decision making. There is an immediate

opportunity to use NAMs in safety assessment where the vision is to be able to predict risk more rapidly, accurately, and efficiently to further assure consumer safety.

In order to achieve this, the UK Food Standards Agency (FSA) and the Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment (COT) have developed a roadmap towards acceptance and integration of these new approach methodologies into safety and risk assessments for regulatory decision making. The roadmap provides a UK blueprint for the transition of NAMs from the research laboratory to their use in regulatory decision making. This will require close collaboration across disciplines (chemists, toxicologists, informaticians, risk assessors and others), and across chemical sectors, to develop, verify and utilise appropriate models. Linking up internationally, and harmonization will be fundamental.

## Discussion

### [Building knowledge of NAMs through risk science](#)

Yadvinder Bhuller, Morgan Gale, Fevrellyn Yadao, Daniel Krewski

Article 105702

第12回ライフサイエンスにおける代替医療と動物使用に関する世界会議は、科学技術の進歩に関する知識を結集し、交換するためのプラットフォームを提供した。また、新たな戦略やツールの採用を加速させる方法について、専門家が議論する機会も提供された。これらの提言のひとつは、「新しいアプローチ方法論」(NAMs)についてまだ学んでいない次世代の科学者と、毒性学的リスク評価に対するこれらの非動物的アプローチの開発と検証の先駆者である現世代のオピニオンリーダーとの間のギャップを埋める必要性を提唱するものであった。その結果、カナダのオタワ大学で開催されたミニコースは、リスク科学について学び、ヒトの健康リスク評価にNAMsをどのように活用できるかを学びたい13~16歳の学生を対象に開発された。このコースはまた、本論文で提供するバーチャル・トレーニング・ロードマップを作成するためのプラットフォームとしても機能し、リスク科学の分野でキャリアを築こうとしているより多くの学習者にこの知識を提供することができた。

The 12th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences provided a platform for mobilizing and exchanging knowledge on the advancements in science and technology. It also provided an opportunity for experts to discuss how to accelerate the adoption of new strategies and tools. One of these recommendations advocated the need to bridge the gap between the next generation of scientists who have yet to learn about 'New Approach Methodologies' (NAMs) and the current generation of thought leaders who have pioneered the development and validation of these non-animal approaches to toxicological risk assessment. Consequently, a mini-course, held at Canada's University of Ottawa, was developed for students, aged 13–16 years, interested in learning about

risk science and how NAMs can be used to inform human health risk assessment. This course also served as a platform for creating a virtual training roadmap, provided in this paper, thereby bringing this knowledge to a broader audience of learners who are establishing their careers in the field of risk science.

## Discussion

### [Mapping new psychoactive substances: Leveraging GIS technology for advanced global surveillance and policy support](#)

Ting-Jung Ku, Tien-Chueh Kuo, Olivia A. Lin, Yufeng Jane Tseng

Article 105713

増大する新精神薬(NPS)の課題には、世界的なモニタリングと分析能力の強化が必要である。本研究では、UNODCの早期警戒勧告の機能性を向上させるため、地理情報システム(GIS)技術を用いた高度な対話型可視化ツールを紹介する。このツールは、NPSの地理的・時間的分布の動的な観察と分析を可能にし、それによって公衆衛生への影響の包括的な理解を促進する。このツールは、詳細な縦断図と年間および累積の棒グラフを組み込むことにより、政策立案者や研究者が、さまざまな地域にわたるNPSの使用と取締り努力の傾向を視覚的に追跡・分析することを可能にする。この結果は、NPS使用量の世界的な増加を抑制するための公衆衛生政策と介入策の戦略的開発を支援する、実用的な洞察を提供するツールの有効性を実証している。このイニシアチブは、新たな薬物動向に対する公衆衛生戦略や対応を強化する上で、デジタルツールが不可欠な役割を果たすことを示している。このような課題の高まりは、薬物動向のモニタリングにおける革新的なソリューションの緊急の必要性を強調している。ウェブツールは<https://nps-vis.cmdm.tw>、コードは<https://github.com/CMDM-Lab/nps-vis>。

The escalating challenge of New Psychoactive Substances (NPS) necessitates enhanced global monitoring and analysis capabilities. This study introduces an advanced interactive visualization tool that employs Geographic Information System (GIS) technologies to improve the functionality of the UNODC's Early Warning Advisory. The tool enables dynamic observation and analysis of NPS's geographical and temporal distribution, thereby facilitating a comprehensive understanding of their public health impacts. By incorporating detailed choropleth maps and annual and cumulative bar charts, the tool allows policymakers and researchers to visually track and analyze trends in NPS usage and control efforts across different regions. The results demonstrate the tool's effectiveness in providing actionable insights, which support the strategic development of public health policies and interventions to curb the global rise in NPS usage. This initiative illustrates the essential role of digital tools in enhancing public health strategies and responses to emerging drug trends. This rising challenge

underscores the urgent need for innovative solutions in monitoring drug trends, a theme explored in this paper. The web tool is available at <https://nps-vis.cmdm.tw>, and the code is available at <https://github.com/CMDM-Lab/nps-vis>.

## Research article

### [Aspects of complexity in quality and safety assessment of peptide therapeutics and peptide-related impurities. A regulatory perspective](#)

Cristiano Colalto

Article 105699

近年、多くの治療用ペプチドが EU 市場で承認され、その他いくつかのペプチドが臨床開発段階にあり、あるいは承認申請やジェネリック医薬品の審査中である。ペプチドに特化した品質と安全性のガイドラインは限られており、考慮しなければならない点もある。特に、不純物の分析調査や毒性学的評価に関する懸念がある。ガイドラインや薬局方には一定の参考文献があるが、治療用ペプチドが化学的なものか生物学的なものか、大きいものか小さいものかによって解釈すると、疑問が残るかもしれない。ペプチド関連不純物の特性評価は、低分子のアプローチに従うことはできないが、このような大きな分子が人体内で発揮する複雑な作用機序と密接に関連した側面を考慮すべきである。直接的な遺伝毒性メカニズムを排除することはできないが、天然ペプチド毒素や、それらが細胞や膜の標的と特異的に相互作用する場合のように、生物学的システムに対する危険な相互作用を排除することはできない。規制の観点からは、具体的なリスクの特定と特徴付けを行った後に初めて、潜在的な毒性に関連した同様に具体的な安全閾値が定義されるべきである。

In recent years, a number of therapeutic peptides have been authorized in the EU market, and several others are in the clinical development phase or under assessment for full dossier or generic applications. Quality and safety guidelines specific to peptides are limited, and some aspects have to be considered. In particular, concerns relate to the analytical investigation for impurities and the toxicological assessment of these substances. The guidelines and the compendial pharmacopoeias provide certain references but that may be questionable if interpreted according to whether therapeutic peptides are considered chemical or biological entities, large or small. The characterization of peptide-related impurities cannot follow the small molecule approach but should consider aspects closely linked to the complex mechanisms of action that these large molecules can exert in the human body. Although direct genotoxic mechanisms cannot be excluded, hazardous interactions on biological systems cannot be ruled out, as in the case of natural peptide toxins and their specific interactions with cellular or membrane targets. From a regulatory perspective, only after specific risk identification and characterization should an equally specific safety threshold in relation

to potential toxicity be defined.

## Research article

### [Safety assessment of protein A and derivation of a parenteral health-based exposure limit](#)

Jessica C. Graham, Sathanandam S. Anand, Joel Bercu, Lauren Besenhofer, ... Florian Semmelmann

Article 105700

プロテイン A (PA) は黄色ブドウ球菌の細胞壁成分であり、その機能は免疫グロブリン G (IgG) と結合することである。IgG と結合する能力だけでなく、その安定性と過酷な酸性および塩基性洗浄条件に対する耐性から、バイオ治療薬のアフィニティークロマトグラフィー精製に一般的に使用されています。このような使用により、医薬品中に PA が存在することになり、患者が暴露されることになる。興味深いことに、PA は非臨床試験だけでなく臨床試験でも評価され、その結果、健康に基づくばく露限度 (HBEL) を導出できるデータベースが構築された。製薬業界において PA が広く使用されていることから、IQ DruSafe 不純物安全性ワーキンググループ (WG) は、PA に関する調和された非経口用 HBEL を確立する目的で、入手可能な情報を評価した。PA に関する利用可能な非臨床および臨床データの徹底的な共同評価に基づき、バイオ治療薬に不純物として存在する場合、非経口 HBEL は  $1.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{投与}$  (体重  $50\text{kg}$  の人で  $60 \mu\text{g}/\text{投与}$ ) が患者の健康保護になると予想される。

Protein A (PA) is a bacterial cell wall component of *Staphylococcus aureus* whose function is to bind to Immunoglobulin G (IgG). Given its ability to bind IgG as well as its stability and resistance to harsh acidic and basic cleaning conditions, it is commonly used in the affinity chromatography purification of biotherapeutics. This use can result in levels of PA being present in a drug product and subsequent patient exposure. Interestingly, PA was previously evaluated in clinical trials as well as supporting nonclinical studies, resulting in a database that enables the derivation of a health-based exposure limit (HBEL). Given the widespread use of PA in the pharmaceutical industry, the IQ DruSafe Impurities Safety Working Group (WG) evaluated the available information with the purpose of establishing a harmonized parenteral HBEL for PA. Based on this thorough, collaborative evaluation of nonclinical and clinical data available for PA, a parenteral HBEL of  $1.2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{dose}$  ( $60 \mu\text{g}/\text{dose}$  for a  $50 \text{ kg}$  individual) is expected to be health protective for patients when it is present as an impurity in a biotherapeutic.

## Research article

### [Residue depletion profiles and withdrawal intervals of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in plasma and milk of lactating goats after repeated subcutaneous administrations](#)

Qiran Chen, Zhoumeng Lin, Jennifer L. Davis, Emily Toney, ... Lisa A. Tell

Article 105707

Florfenicol は、時間依存的な殺傷作用を有する広域スペクトラムの静菌性抗生物質である。ヤギの呼吸器疾患の治療に適応外使用されることが多い。本研究の目的は、授乳期のヤギにおけるフロルフェニコールとその主要代謝物であるフロルフェニコールアミンの血漿中薬物動態と乳汁中残留物減少プロファイルを測定し、乳汁離脱間隔(WDI)を算出することである。5頭の健康な泌乳ヤギに40mg/kgのフロルフェニコールを96時間間隔で2回皮下注射した。最初の注射から864時間後まで血漿と乳サンプルを採取した。血漿中薬物動態パラメータの推定には非コンパートメント解析を用いた。乳汁中WDIは、米国食品医薬品局(FDA)の方法および欧州医薬品庁(EMA)の方法を用いて算出した。FDA法のデータ要件を満たすため、モンテカルロシミュレーションを行い、5匹の仮想動物のシミュレーションデータを作成した。フロルフェニコール、フロルフェニコールアミン、および複合体(フロルフェニコールとフロルフェニコールアミンの合計)に基づいて計算された乳汁WDIは、FDA法を用いた場合、最後の注射から720.28時間後、690.45時間後、および872.69時間後であった。結論として、本研究により、授乳期の反芻動物における皮下注射後のフロルフェニコールおよびフロルフェニコールアミンの血漿中薬物動態および乳汁残留物減少動態に関する理解が深まった。

Florfenicol is a broad-spectrum and bacteriostatic antibiotic with a time-dependent killing action. It is commonly used to treat respiratory diseases in goats in an extra-label manner. This study aimed to determine the plasma pharmacokinetics and milk residue depletion profiles and calculate the milk withdrawal interval (WDI) of florfenicol and its main metabolite florfenicol amine in lactating goats. Five healthy lactating goats were administered with 40 mg/kg florfenicol by subcutaneous injection, twice, 96 h apart. Plasma and milk samples were collected up to 864 h post the first injection. Non-compartmental analysis was used to estimate the plasma pharmacokinetic parameters. Milk WDIs were calculated using the U.S. Food and Drug Administration (FDA) method and European Medicines Agency (EMA) method. A Monte Carlo simulation was performed to generate simulated data for five virtual animals to meet the data requirement of the FDA method. The calculated milk WDIs based on florfenicol, florfenicol amine, and the combined (the sum of florfenicol and florfenicol amine) were 720.28, 690.45, and 872.69 h after the last injection using the FDA method. In conclusion, this study improves our understanding on the plasma pharmacokinetics and milk residue depletion kinetics of florfenicol and florfenicol amine in lactating ruminants after



subcutaneous injections.

## Research article

### [Neurobehavioral assessment of BMEDA by modified Irwin test in Sprague-Dawley rats](#)

Liang-Cheng Chen, Te-Wei Lee, Chih-Hsien Chang

Article 105703

N,N-ビス(2-メルカプトエチル)-N',N'-ジエチレンジアミン(BMEDA)は、レニウム 188(<sup>188</sup>Re)とキレートを形成し、<sup>188</sup>Re-BMEDA-リポソームを生成することができるが、その神経行動学的評価を行った。本研究の目的は、Sprague-Dawley ラットに BMEDA を静脈注射したときの潜在的な神経行動変化を、機能的観察バッテリーの観察手順を用いて評価することであった。ラットに BMEDA を 1、2、5mg/kg の用量で投与した。死亡例は観察されなかった。BMEDA 投与に関連して、投与後 10 分で 5 mg/kg 投与群に見られた観察がいくつかある。雄ラット 1 匹と雌ラット 7 匹に振戦が観察された。また、雄雌ともに呼吸の亢進、発声の亢進、四肢の扱いにくさ及び緊張の低下が観察され、体温の上昇が雄で観察された。この結果より、BMEDA をラットに単回静脈内投与した場合、5 mg/kg の投与量で呼吸数増加、発声増加、手に負えない、四肢の緊張消失が認められた。2mg/kg までは神経行動学的な影響は認められなかった。本試験の情報は、将来ヒトに使用するための適切な治療研究をデザインするための参考となるであろう。

The neurobehavioral assessment of N,N-bis(2-mercapatoethyl)-N',N'-diethylenediamine (BMEDA), which can form a chelate with rhenium-188 (<sup>188</sup>Re) to produce the <sup>188</sup>Re-BMEDA-liposome, was evaluated. The purpose of this study was to evaluate the potential neurobehavioral changes by using the functional observational battery observation procedures when intravenous injection of BMEDA to Sprague-Dawley rats. Rats were administered BMEDA at dose levels of 1, 2, and 5 mg/kg. No mortalities were observed. There are some observations related to BMEDA treatment found in the 5 mg/kg dose group at 10 min post-dose. Tremor was observed in one male rat and seven female rats. The increased respiration, vocalization, not easy to handle and/or loss of tone in the limb were observed in both males and females, and increased body temperature was observed in male animals. Based on the results, a single intravenous dose of BMEDA administered to rats resulted in increased respiration, vocalization, not easy to handle and/or loss of tone in the limb increasing at the dose level of 5 mg/kg. No neurobehavioral effects were noted after BMEDA administration up to the dose level of 2 mg/kg. The information of this study will provides a point of reference to design appropriately therapeutic studies for future human use.

## Research article

### [Reevaluating safety pharmacology respiratory studies within the ICH S7A core battery: A multi-company evaluation of preclinical utility and clinical translation](#)

G.S. Friedrichs, M.M. Abernathy, D. Ackley, M. Clark, ... T.A. Wisialowski

Article 105706

ICH の安全性ガイドラインに沿った試験を規制当局に提出するために最適化することは、資源の節約、動物使用の削減、効率的な医薬品開発にとって極めて重要である。2001 年に採択された安全性薬理学 (SP) 試験に関する ICH S7A ガイダンスでは、First in Human (FIH) 試験の前に、想定される医薬品分子の急性安全性を評価するための中核的な試験群が特定されている。臨床的な有害事象の予測における呼吸器系試験の有用性を評価するため、製薬企業 7 社は前臨床および臨床の呼吸器系所見をプールした。新規化合物の大規模データベースには、標準的な S7A 呼吸器試験 (n = 459) および FIH 試験 (n = 309) のすべての関連データが含まれた。データは、これらの分子の進行、同じ分子の臨床有害事象報告、達成された曝露に関して分析された。これらの S7A 呼吸器アッセイ所見は化合物の進行に影響を与えず、前臨床試験で「陽性」であり、臨床試験で呼吸器関連の有害事象 (咳、呼吸困難など) を報告した薬剤候補は 309 例中 12 例のみであり、全体の発生率は 3.9% であった。分割表/統計は、これらの前臨床試験の一致性の欠如を裏付けている。全体として、我々の広範な分析は、前臨床呼吸器アッセイが臨床的に関連する呼吸器有害事象を検出するための予後予測的価値を提供できないことを明確に示した。

Optimization of ICH safety guideline studies for inclusion into regulatory submissions is critical for resource conservation, animal use reduction, and efficient drug development. The ICH S7A guidance for Safety Pharmacology (SP) studies adopted in 2001 identified the core battery of studies to evaluate the acute safety of putative pharmaceutical molecules prior to First in Human (FIH) trials. To assess the utility of respiratory studies in predicting clinical AE's, seven pharmaceutical companies pooled preclinical and clinical respiratory findings. A large database of novel molecules included all relevant data from standard S7A respiratory (n = 459) and FIH studies (n = 309). The data were analyzed with respect to the progression of these molecules, clinical adverse event reporting of these same molecules, and achieved exposures. These S7A respiratory assay findings had no impact on compound progression, and only 12 of 309 drug candidates were 'positive' preclinically and reported a respiratory-related AE in clinical trials (i.e. cough, dyspnea, etc.), an overall incidence rate of 3.9%. Contingency tables/statistics support a lack of concordance of these preclinical assays. Overall, our extensive analysis clearly indicated that the preclinical respiratory assay fails to provide any prognostic value for detecting clinically relevant respiratory adverse events.



## Research article

### [Rethinking the necessity of long-term toxicity studies for biotherapeutics using weight of evidence assessment](#)

Payal Rana, Brett Hollingshead, Raja Mangipudy

Article 105710

バイオ医薬品の慢性適応症の登録には、6ヵ月間の毒性試験が必要である。しかし、豊富な経験から、バイオ医薬品の非臨床安全性プロファイルは一般的に予測可能であることが示されている。このことは、複数の試験、特に6ヶ月の試験を実施する必要があることを示唆している。ファイザーで過去25年間に非腫瘍学的適応で開発された生物学的製剤のメタアナリシスにおいて、我々は短期(1-3ヶ月)と長期(6ヶ月)の動物試験で臓器系の所見を比較した。我々の目的は、2つの試験期間の間に安全性プロファイルに違いがあるかどうか、そしてヒトのリスク評価との関連性を明らかにすることであった。解析の結果、臨床的に重要な毒性はほとんどが短期間の試験で検出された(87%; 26/30 プログラム)。このことは、安全性プロファイルが短期と長期の間に区別されていないか、あるいは免疫原性や誇張された薬理作用のようなモダリティに基づいて予測される毒性のいずれかを示唆している。しかしながら、30プログラム中4プログラム(13%)では、長期試験により新たな毒性の可能性、あるいは薬理作用の誇張がより重篤に発現していることが確認され、臨床試験デザインとヒトリスク評価の修正につながった。我々の経験から、標準的なバイオ治療プログラムの大部分では、後期臨床開発をサポートするには3ヶ月の毒性試験で十分であることが示唆された。この実用的で科学的根拠に基づいたアプローチは、非臨床安全性評価における3Rのイニシアチブを推進するという目標に沿ったものである。

The registration of biotherapeutics for chronic indications requires 6-month toxicity studies. However, extensive experience has shown that the non-clinical safety profiles of biotherapeutics are generally predictable. This suggests that conducting multiple studies, especially a 6-month study may not be necessary. In a meta-analysis of biologics developed for non-oncology indications over last 25 years at Pfizer, we compared organ system findings between short-term (1–3 month) and long-term (6-month) animal studies. Our goal was to determine if there were differences in the safety profiles between the two study durations and their relevance to human risk assessment. Our analysis revealed that most clinically relevant toxicities could be detected in shorter-term studies (87%; 26/30 programs). This suggests either an undifferentiated safety profile between short-and long-term studies, or anticipated toxicities based on the modality, such as immunogenicity or exaggerated pharmacology. However, for 4 out of 30 programs (13%), long-term studies did identify either potential new toxicities or more severe manifestation of exaggerated pharmacology, leading to modifications in clinical trial designs and human risk assessment. Our experience suggests that 3-month toxicity

studies may be sufficient to support late-stage clinical development for a majority of standard biotherapeutic programs. This pragmatic and science-based approach aligns with the goal of advancing 3R's initiatives in nonclinical safety assessment.

## Research article

### [Re-evaluation of the reduced heart weights in male rats in a 28-day oral repeated-dose toxicity study of tetramethylammonium hydroxide](#)

Akira Kawashima, Kaoru Inoue

Article 105712

我々は最近、化審法の優先化学物質である水酸化テトラメチルアンモニウム (TMAH) の詳細な有害性評価を行った。その中で、ラット 28 日間経口反復投与毒性試験において、雄の投与群で観察された心臓重量の減少について議論があった。この所見は、塩化テトラメチルアンモニウム (TMAC) およびフタル酸テトラメチルアンモニウム水素 (TMAHP) の経口毒性試験の雌性では観察されなかった。TMAH の発生・生殖毒性 (DART) 経口スクリーニング試験の未発表個体データも入手したが、心臓重量への影響は認められなかった。さらに、既存化学物質データベース (JECDB) から、TMAH 試験と同じ施設、年、系統、年齢、飼育者で実施された 6 つの 28 日間経口毒性試験から、ラットの心臓重量に関するバックグラウンドデータを入手した。これらの調査から、28 日間毒性試験で処理雄の心臓重量が統計的に有意に低かったのは、心臓重量の重い個体が対照雄群に偶発的に偏ったためであり、TMAH 処理によるものではないと考えられる。従って、毒性試験で予期せぬ所見を確認したり、反論したりするためには、できるだけ多くの関連データを含める価値がある。

We recently conducted a detailed hazard assessment of tetramethylammonium hydroxide (TMAH), a priority chemical substance under the Japan Chemical Substances Control Law. During this assessment, there was debate regarding the reduced heart weight observed in the treated male groups in the 28-day rat oral repeated-dose toxicity study. This finding was not observed in females in this study and in both sexes of oral toxicity studies for tetramethylammonium chloride (TMAC) or tetramethylammonium hydrogen phthalate (TMAHP). Unpublished individual data from the oral TMAH developmental and reproductive toxicity (DART) screening study were also obtained; no effect on heart weight was observed. In addition, background data on rat heart weight from six 28-day oral toxicity studies conducted in the same facility, year, strain, age, and breeder as the TMAH study were obtained from the Japan Existing Chemical Substances Database (JECDB). These investigations suggest that the statistically significant lower heart weight in the treated males in the 28-day toxicity study is likely caused by an incidental skewing of individuals with heavier heart weights toward control male groups and is not due to TMAH treatment. Thus, it is worthwhile to include as much relevant

data as possible to confirm or refute unexpected findings in toxicity studies.

## Research article

### [Optimizing the detection of \*N\*-nitrosamine mutagenicity in the Ames test](#)

Robert H. Heflich, Michelle E. Bishop, Roberta A. Mittelstaedt, Jian Yan, ... Aisar H. Atrakchi

Article 105709

低分子の *N*-ニトロソアミン医薬品不純物およびニトロソアミン医薬品物質関連不純物 (NDSRI) の変異原性を正確に測定することは、変異原性および癌の危険性を同定する上で極めて重要である。本研究では、細菌逆変異原性 (Ames) 試験における *N*-ニトロソアミンの変異原性を評価するためのアッセイ感度を向上させるためのいくつかのアプローチを評価した。プレインキュベーションアッセイは、5 つの活性化条件 (外因性代謝活性化なし、酵素活性誘導剤で前処理したハムスターとラットの肝臓 S9 の 10% と 30% の両方を用いた代謝活性化ミックス) を用いて実施した。さらに、60 分間と 30 分間のプレインキュベーションを行った。これらの試験変数を、12 種類の低分子 *N*-ニトロソアミンと 17 種類の NDSRI について、*Salmonella typhimurium* 試験菌株 TA98、TA100、TA1535、TA1537 および *Escherichia coli* 株 WP2 uvrA (pKM101) を用いて変異原性を試験することにより評価した。29 種類の *N*-ニトロソアミン試験物質のうち 18 種類が 1 つ以上の試験条件で陽性となり、18 種類の陽性物質すべてが、試験菌株 TA1535 および WP2 uvrA (pKM101)、30 分間のプレインキュベーション、および 30% のハムスター肝臓 S9 を含む S9 ミックスを用いることで検出できた。一般に、NDSRI が変異原性を示す条件は、低分子の *N*-ニトロソアミンに見られる条件と同様であった。

Accurately determining the mutagenicity of small-molecule *N*-nitrosamine drug impurities and nitrosamine drug substance-related impurities (NDSRIs) is critical to identifying mutagenic and cancer hazards. In the current study we have evaluated several approaches for enhancing assay sensitivity for evaluating the mutagenicity of *N*-nitrosamines in the bacterial reverse mutagenicity (Ames) test. Preincubation assays were conducted using five activation conditions: no exogenous metabolic activation and metabolic activation mixes employing both 10% and 30% liver S9 from hamsters and rats pretreated with inducers of enzymatic activity. In addition, preincubations were conducted for both 60 min and 30 min. These test variables were evaluated by testing 12 small-molecule *N*-nitrosamines and 17 NDSRIs for mutagenicity in *Salmonella typhimurium* tester strains TA98, TA100, TA1535, and TA1537, and *Escherichia coli* strain WP2 uvrA (pKM101). Eighteen of the 29 *N*-nitrosamine test substances tested positive under one or more of the testing conditions and all 18 positives could be detected by using tester strains TA1535 and WP2 uvrA (pKM101), preincubations of 30 min, and S9 mixes containing 30% hamster liver S9. In general, the conditions under which

NDSRIs were mutagenic were similar to those found for small-molecule *N*-nitrosamines.

## Research article

### [Quantitative risk assessments of skin sensitization for 26 allergens in different consumer products in the Saudi market](#)

Adnan S. AL-Mussallam, Rawan S. Alshathri, Bart Desmedt, Fahad S. Aldawsari, ...  
Abdullah T. Bawazir

Article 105714

香料の化学物質は化粧品に広く使われているが、アレルギー性接触皮膚炎との関連が指摘されている。アレルギー予防には、主に2つの戦略がある。第一に、アレルギーを誘発しないよう、製品に含まれる香料の最大濃度を制限することで消費者を保護する。第二に、すでに感作されている消費者は、そのような香料の存在を知らせることによって保護される。本研究では、サウジアラビアで販売されている108の製品中の26のアレルゲン定量するために、有効なGC-MS法を用いた。さらに、アレルギーを誘発するリスクを決定するために、研究対象の化粧品に対して定量的リスク評価(QRA)を実施した。その結果、ほとんどのアレルゲンは許容濃度で存在したが、19製品にはアレルギーを誘発するリスクがあることが示された。さらに、禁止されている香料であるリリアルとリラルが97製品から検出された。これはサウジアラビアで実施された、よく知られた26種類の香料アレルゲンの安全性を評価する初めての研究であることを強調しておきたい。従って、本研究は今後の研究の地域標準となる可能性がある。

Fragrance chemicals are ubiquitous in cosmetics; however, they have been linked to allergic contact dermatitis. Allergy prevention involves two main strategies. Firstly, consumers are protected by limiting the maximum concentration of fragrance in a given product to avoid inducing allergies. Secondly, consumers who are already sensitized are protected by having the presence of such fragrance communicated to them. In this study, a validated GC-MS method was employed to quantify 26 allergens in 108 products marketed in Saudi Arabia. Additionally, a quantitative risk assessment (QRA) was performed on the studied cosmetics to determine the risk of inducing allergies. The results indicated that most allergens were present at acceptable concentrations, while 19 products carried a risk of inducing allergies. Furthermore, Lillal and Lyril, two prohibited fragrances, were detected in 97 products. It should be emphasized that this is the first study conducted in Saudi Arabia to evaluate the safety of the well-known 26 fragrance allergens. Hence, this study can potentially serve as a regional standard for future research.

## Short communication

### [Botanical-induced toxicity: Liver injury and botanical-drug interactions. A report on a society of Toxicology Annual Meeting symposium](#)

Igor Koturbash, R. Philip Yeager, Constance A. Mitchell, Stephen Ferguson, ... Amy L. Roe

Article 105708

植物性サプリメントやハーブ製品は、様々な健康効果を謳って消費者に広く利用されており、その人気はますます高まっている。これらの天然製品の中には、肝機能に悪影響を及ぼすものや、処方薬や一般用医薬品と相互作用を起こすものがある。しかし、すべての規制当局が市販前の安全性審査や試験を義務付けているわけではない。このような植物の安全性に関する新たなニーズに対応し、議論するために、2024年3月11日にソルトレークシティ（UT）で開催された毒性学会年次総会でシンポジウムが開催された。シンポジウムでは、毒性スクリーニングのための新しいアプローチ方法、植物の安全性評価における課題、ヒトの有害事象と特定の製品との関連など、植物が誘発する肝毒性および植物と薬物の相互作用に関する最新の研究が取り上げられた。講演者と聴衆によるプレゼンテーションと活発なパネルディスカッションは、消費者の健康を守るという究極の目標のもと、植物性サプリメントとハーブ製品の安全性を向上させるためのさらなる研究と協力の必要性を浮き彫りにした。シンポジウムで発表された多くの最新ツールの有用性についてはさらなる研究が必要であるが、多様な専門家による相乗的な努力は、植物薬による肝毒性および植物薬-薬物相互作用の可能性を効果的に予測・評価するための有望なものとなった。

Botanical supplements and herbal products are widely used by consumers for various purported health benefits, and their popularity is increasing. Some of these natural products can have adverse effects on liver function and/or interact with prescription and over-the-counter (OTC) medications. Ensuring the safety of these readily available products is a crucial public health concern; however, not all regulatory authorities require premarket safety review and/or testing. To address and discuss these and other emerging needs related to botanical safety, a symposium was held at the Society of Toxicology Annual Meeting in Salt Lake City (UT) on March 11, 2024. The symposium addressed the latest research on botanical-induced liver toxicity and botanical-drug interactions, including new approach methods to screen for toxicity, challenges in assessing the safety of botanicals, and relating human adverse events to specific products. The presentations and robust panel discussion between the speakers and audience highlighted the need for further research and collaboration to improve the safety of botanical supplements and herbal products, with the ultimate goal of protecting consumer health. Although utility of many of the modern tools presented in the symposium requires further study, the synergistic efforts of diverse experts hold promise



for effective prediction and evaluation of botanical-induced hepatotoxicity and botanical-drug interaction potential.

## Review article

### [The new paradigm in animal testing – “3Rs alternatives”](#)

Wen Tsin Poh, Johnson Stanslas

Article 105705

規制研究は時代とともに変革してきた。今日、規制当局による安全性試験の焦点は、動物毒性試験から非動物毒性試験へと移行している。この動きは国際的な 3R (Replacement, Reduction, Refinement) 原則に沿ったものであり、規制当局の視点も変化している。3R 原則は、多くの国々において、医薬品開発における政策、規制、安全性評価への新たなアプローチの変化を促した。3R のアプローチは、研究における非ヒト霊長類を含む動物の使用を最小限に抑え、動物福祉を向上させる新しい技術や、よりヒトに関連した *in vitro* アプローチの発見と適用につながっている。2016 年、欧州医薬品庁は、3R 試験アプローチの規制上の受け入れ原則に関するガイドラインを発表し、その後 2023 年には、現在の 3R 基準に合わせるためのコンセプトペーパーを発表した。さらに、米国食品医薬品局は 2023 年に、すべての新ヒト医薬品を動物実験することを義務付けない新たな法案を可決し、現在の試験のパラダイムが変わることになる。この総説では、3R の採用と、その実施に関する現在の規制当局の見解を示す。

Regulatory studies have revolutionised over time. Today, the focus has shifted from animal toxicity testing to non-animal for regulatory safety testing. This move is in line with the international 3Rs (Replacement, Reduction, and Refinement) principle and has also changed the regulator's perspective. The 3R principle has stimulated changes in policy, regulations, and new approaches to safety assessment in drug development in many countries. The 3Rs approach has led to the discovery and application of new technologies and more human-relevant *in vitro* approaches that minimise the use of animals including non-human primates, in research and improve animal welfare. In 2016, the European Medicines Agency published the Guidelines on the principles of regulatory acceptance of 3Rs testing approaches, followed by a conceptual paper in 2023 to align with current 3R standards. Additionally, the United States Food and Drug Administration passed new legislation in 2023 that no longer requires all new human drugs to be tested on animals, which will change the current testing paradigm. This review paper provides the adoption of the 3Rs and the current regulatory perspective regarding their implementation.



## Review article

### [Safety assessment of drug impurities for patient safety: A comprehensive review](#)

Frank Liu

Article 105715

医薬品不純物とは、医薬品のライフサイクルを通して発生する可能性のある、望ましくないが避けられない化学物質のことである。不純物は医薬品の安全性、品質、有効性に影響を及ぼす可能性があること、また不純物によっては変異原性、発がん性、催奇形性があることを考えると、医薬品不純物の安全性への影響は重大です。薬剤不純物の特徴は薬剤の様式（例えば低分子と生物学的製剤）に特有である可能性がある。一般的に遭遇する薬剤不純物には、元素不純物、残留溶媒、有機不純物、宿主細胞タンパク質および DNA、残留ウイルスベクター、抽出性および溶出性、粒子などがある。これらの薬物不純物は、重大な曝露により、免疫原性、感染症、遺伝毒性、発がん性などの様々な悪影響を引き起こす可能性がある。従って、これらの医薬品不純物を効果的に管理することは、患者の安全にとって中心的な課題である。不純物を管理するための規制やガイドラインは、医薬品開発者のために用意されています。これらの不純物の認可は、権威ある認可基準値に基づいて行われるか、古典的な毒性学的リスクアセスメントに従った安全性評価に基づいて行われる。今回の総説では、様々な種類の医薬品不純物に対する安全性評価の科学と方法論に焦点を当てる。多様な医薬品不純物の性質が異なるため、その安全性評価は医薬品開発者にとって重要な課題である。

Drug impurities are undesirable but unavoidable chemicals which can occur throughout the drug life cycle. The safety implications of drug impurities can be significant given that they can impact safety, quality, and efficacy of drug products and that certain drug impurities are mutagenic, carcinogenic, or teratogenic. The characteristics of drug impurities could be specific to drug modalities (e.g., small molecules vs. biologics). The commonly encountered drug impurities include elemental impurity, residual solvent, organic impurity, host cell protein and DNA, residual viral vector, extractable and leachable, and particle. They can cause various adverse effects such as immunogenicity, infection, genotoxicity, and carcinogenicity upon significant exposure. Therefore, the effective control of these drug impurities is central for patient safety. Regulations and guidelines are available for drug developers to manage them. Their qualification is obtained based on authoritative qualification thresholds or safety assessment following the classic toxicological risk assessment. The current review focuses on the safety assessment science and methodology used for diverse types of drug impurities. Due to the different nature of diverse drug impurities, their safety assessment represents a significant challenge for drug developers.

Correspondence

[Letter to the editors regarding “Inter-laboratory validation of bioaccessibility testing for metals” by Henderson et al. \(2014\)](#)

P.E. Rasmussen, P. Huntsman, T.M. Singer, M.N. Jacobs, C.C. Trevithick-Sutton

Article 105688

DeepL translation / AEIC trial