

가이드라인 등록번호

[안내서-0166-03]

청렴  세상

의약품 불순물 유전독성 평가 가이드라인 [민원인 안내서]

2023. 9.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

의약품심사부 첨단약품품질심사과

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

의약품 불순물 유전독성 평가 가이드라인

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

| | | |
|--|---|--|
| 등록대상 여부 | <input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서 · 안내서 중 동일 · 유사한 내용의 지침서 · 안내서가 있습니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | ☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서 · 안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서 · 안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 : _____) | |
| | <input type="checkbox"/> 법령(법 · 시행령 · 시행규칙) 또는 행정규칙(고시 · 훈령 · 예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 일회성 지시 · 명령에 해당하는 내용입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 외국 규정을 단순 번역하거나 설명하는 내용입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| ☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다. | | |
| 지침서 · 안내서 구분 | <input type="checkbox"/> 행정사무의 통일을 기하기 위하여 내부적으로 행정사무의 세부 기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용) | <input type="checkbox"/> 예(☞ 지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용) | <input checked="" type="checkbox"/> 예(☞ 안내서) <input type="checkbox"/> 아니오 |
| 기타 확인 사항 | <input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | ☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다. | |
| 상기 사항에 대하여 확인하였음. | | |
| 2023 년 9 월 27 일 | | |
| 담당자 확 인(부서장) | | 박 상 애 |

이 안내서는 의약품 불순물의 유전독성 평가에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술 방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 본 안내서는 2023년 9월 27일 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

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

전화번호: 043-719-3118

팩스번호: 043-719-3100

목 차

| | |
|---|----|
| 1. 서론 | 1 |
| 2. 가이드라인의 적용 범위 | 1 |
| 3. 일반원칙 | 2 |
| 4. 시판 의약품에 대한 고려사항 | 4 |
| 4.1 원료의약품의 화학, 제조 및 관리에 대한 허가 후 변경 | 4 |
| 4.2 완제의약품의 화학, 제조 및 관리에 대한 허가 후 변경 | 4 |
| 4.3 시판 의약품의 임상사용에 대한 변경 | 5 |
| 4.4 시판 의약품에 대한 또 다른 고려사항 | 5 |
| 5. 원료의약품과 완제의약품의 불순물 평가 | 5 |
| 5.1 합성 불순물 | 6 |
| 5.2 분해산물 | 6 |
| 5.3 임상개발에 관한 고려사항 | 7 |
| 6. 위해 평가 요소 | 7 |
| 7. 위해 특성화 (Risk characterization) | 9 |
| 7.1 TTC에 기반한 섭취 허용량 | 9 |
| 7.2 화합물 특이적 위해 평가에 기반한 섭취 허용량 | 9 |
| 7.2.1 발암성 양성 데이터를 가진 변이원성 불순물(표 1의 클래스 1) | 9 |
| 7.2.2 실행 역치 (Practical Threshold)에 근거한 변이원성 불순물 | 9 |
| 7.3 LTL(Less than Lifetime) 노출에 대한 섭취 허용량 | 10 |
| 7.3.1 임상개발 | 10 |
| 7.3.2 시판 의약품 | 11 |
| 7.4 변이원성 복합 불순물에 대한 섭취 허용량 | 11 |
| 7.5 접근방식의 예외 및 유연성 | 11 |

| | |
|--|----|
| 8. 관리 | 12 |
| 8.1 제조공정 유래 불순물의 관리 | 13 |
| 8.2 관리방법에 대한 고려사항 | 14 |
| 8.3 주기적 검사에 대한 고려사항 | 15 |
| 8.4 분해산물의 관리 | 15 |
| 8.5 전주기 관리(Lifecycle management) | 16 |
| 8.6 임상개발에 대한 고려사항 | 17 |
| 9. 문서화 | 17 |
| 9.1 임상 시험 신청 | 17 |
| 9.2 공통기술문서(허가신청) | 17 |
| 노트 | 19 |
| 용어 해설 | 25 |
| 부록 | 27 |

제·개정 이력

| 연번 | 제·개정번호 | 승인일자 | 주요내용 |
|----|---------------|-------------|--|
| 1 | B1-2015-2-005 | 2015.06.25. | 제정 |
| 2 | B1-2015-2-077 | 2015.12.22. | 가이드라인 명칭변경, 법적효력 문구 통일, 양식표준화, 연락처 현행화 |
| 3 | 안내서-0166-01 | | 「식약처 지침서등의 관리에 관한 규정」 개정에 따른 등록번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호,2017.5.16) |
| 4 | 안내서-0166-02 | 2017.10.31. | ICH M7 부록 3 추가로 인한 내용 반영 |
| 5 | 안내서-0166-03 | 2023.09.27 | ICH M7의 노트에 일부 변경, 부록 3의 목록 추가로 인한 내용 반영 |

1. 서론

원료의약품의 합성에는 반응성 화학물질, 시약, 용매, 촉매, 기타 보조시약 등이 사용된다. 화학적 합성과 합성 이후 분해의 결과, 모든 원료의약품과 완제의약품에는 불순물이 존재한다. ICH Q3A(R2): "새로운 원료의약품의 불순물에 관한 지침" 및 Q3B(R2): "새로운 완제의약품의 불순물 지침"에서 대부분의 불순물에 대한 특성규명 및 관리에 대한 지침을 제시하고 있으나, DNA 반응성 불순물에 대한 지침(guidance)은 거의 없었다. 이 가이드라인의 목적은 이러한 변이원성 불순물의 구조결정, 분류, 안전성 확인(qualification) 및 관리를 통하여 잠재적 발암 위험을 낮추는데 적용할 수 있는 실용적인 지침을 제공하는 것이다. 이 가이드라인의 의도는 ICH Q3A(R2), Q3B(R2) (노트 1) 및 ICH M3(R2): "의약품의 임상시험 및 품목허가를 위한 비임상시험 실시에 관한 지침"을 보완하는 것이다.

이 가이드라인은 무시할 수 있을 정도의 발암 위험을 유발할 것으로 예상되는 변이원성 불순물의 수준을 확립하는 데 있어서 안전성과 품질 양면에서의 리스크 관리 요소를 강조한다. 또한 이 가이드라인은 최종 원료의약품 혹은 완제의약품에 존재하는 (또는 존재가 합리적으로 예상되는) 변이원성 불순물의 평가와 관리를 위한 권고사항의 개요를 제공하는 것으로 법적인 구속력을 가지지 않는다.

2. 가이드라인의 적용 범위

본 가이드라인은 임상시험 단계 및 의약품 품목허가 신청 중인 새로운 원료의약품과 새로운 완제의약품에 관한 지침을 제공하기 위한 것이다. 본 가이드라인은 또한 시판 의약품에 대한 새로운 의약품 품목허가 신청(제네릭의약품을 포함¹⁾) 및 시판의약품의 허가 후 변경에 대해, 다음과 같은 경우에 적용된다.

- 원료의약품 합성과정 중 변경이 새로운 불순물을 생성하거나 기존의 불순물에 대한 허용 범위를 높이는 경우
 - 제제(처방), 구성 혹은 제조 공정의 변경이 새로운 분해 산물을 생성하거나 기존 분해 산물에 대한 허용 범위를 높이는 경우
 - 적응증 또는 용량의 변경이 허용 가능한 암 위해 수준에 유의한 영향을 미치는 경우
- 이 가이드라인에 기술된 잠재적 변이원성 불순물의 평가는 '생물학적 제제, 펩티드, 올리

1) ICH M7 가이드라인에 'New marketing application for product with a drug substance that is present in a previously approved product'로 기술되어 있으며, "이미 허가된 의약품에서 사용되고 있는 원료의약품을 사용하는 의약품에 대한 새로운 허가신청"은 제네릭의약품을 포함하는 개념으로 기술됨

고뉴클레오티드, 방사성 의약품, 발효 제품, 생약제제 및 동식물 유래 의약품(crude products)에 해당하는 원료의약품과 완제의약품에 적용되지 않는다.

ICH S9의 적용 범위에서 정의된 진행성 암을 적응증으로 하는 원료의약품이나 완제의약품은 이 가이드라인의 적용을 받지 않는다. 또한, 다른 적응증을 위한 어떤 원료의약품 자체가 치료농도에서 유전독성이 있고 발암 위험의 증가와 연관된 것으로 예상되는 경우, 인체가 그 원료의약품의 어떤 변이원성 불순물에 노출된다 하더라도 이는 원료의약품 자체에 의한 발암 위험에 추가적으로 심각한 위험을 더하지는 않을 것이다. 따라서, 이런 불순물은 비변이원성 불순물에 대한 허용 수준으로 관리할 수 있을 것이다.

이 가이드라인에 기술된 잠재적 변이원성 불순물의 평가는 기허가 의약품의 첨가제, 착향제, 착색제, 향료에 적용되지 않는다. 완제의약품 포장과 관련된 침출물에는 이 가이드라인이 적용되지 않으나, 잠재적 발암 위험을 줄이기 위하여 이 가이드라인에 제시된 안전성 위해 평가(safety risk assessment) 원칙을 필요에 따라 인용할 수 있다. 완제의약품에 처음으로 사용된 화학적으로 합성한 첨가제의 불순물에 대하여 필요에 따라 이 가이드라인에 제시된 안전성 위해 평가(safety risk assessment) 원칙을 인용할 수 있다.

3. 일반원칙

이 가이드라인은 낮은 농도에서 DNA에 직접 손상을 주어 돌연변이를 나타낼 가능성이 있고, 그 결과 암 유발 가능성이 있는 DNA 반응성 물질에 초점을 둔다. 이런 종류의 변이원성 발암물질은 일반적으로 박테리아 복귀돌연변이 시험에 따라 검출된다. 이외의 다른 타입의 비변이원성 유전독성물질은 일반적으로 역치 기전(threshold mechanism)을 가지며, 불순물로서 일반적으로 존재하고 있는 수준에서는 대개 사람에서 발암 위험을 주지 않는다. 따라서 잠재적 변이원성 불순물 노출과 관련된 사람의 잠재적 발암 위험을 낮추기 위하여, 박테리아 변이원성 시험이 불순물의 변이원성과 관리의 필요성을 평가하기 위해 사용된다. 화학구조에 기반한 평가방법(structure-based assessment)은 확립된 지식으로부터 박테리아를 이용한 변이원성시험의 결과를 예측하는데 유용하다. 이러한 평가를 수행하는데 문헌검토 및 / 혹은 독성 예측 프로그램 등 다양한 방법이 사용된다.

시험이 실시되지 않은 화학물질에 대하여, 발암성 또는 다른 독성을 나타내지 않는 섭취 허용량을 규정하기 위하여 독성학적 역치(TTC : Threshold of Toxicological Concern) 개념이 개발 되었다. TTC에 기반한 방법은 가장 감수성이 높은 동물종과 가장 감수성이 높은 중앙유발부위에 대한 TD₅₀ (중앙발생률이 50%인 용량) 데이터를 이용하여, TD₅₀ 에서

부터 단순 선형 외삽에 의해 종양 발생을 10^6 이 되도록 계산된, 일반적으로 매우 보수적인 방법으로 생각되고 있다. TTC가 적용된 원료의약품 및 완제의약품의 변이원성 불순물의 허용 한계를 평가하는 경우에는 일생동안 이론상 10^5 발암율에 해당하는 값인 $1.5\mu\text{g/day}$ 가 정당화된다. 한편, TTC 이하의 섭취에도 이론상, 유의한 잠재적 발암 위해와 관련이 있는 활성이 높은 구조에 속하는 화학클래스가 발견되고 있다. 이러한 강한 변이원성 발암물질은 cohort of concern으로서 알려져 있으며, 아플라톡신 유사 화합물 (aflatoxin-like), N- 니트로소 화합물 및 알킬-아조시(alkyl-azoxy) 화합물이 있다.

의약품개발에 있어 전체적인 개발경험이 제한적인 초기단계에는 관리전략과 방법이 충분히 개발되지 않았을 것으로 예상된다. 이 가이드라인은 확립된 위해 평가 전략에 기초하여, 변이원성 불순물에 대한 섭취 허용량을 규정한다. 개발 초기단계에 있어 허용 위해는 이론적으로 계산하여 100만 중의 1의 암에 걸릴 확률이다. 개발 후기단계 및 시판 의약품에 있어서, 허용 가능한 증가된 발암 위해성은 이론적으로 대략 10^5 발생률의 수준으로 설정된다. 이러한 위해 수준은 어떠한 종류의 암이든 평생 동안 3명 중 1명이 암에 걸릴 확률과 비교했을 때, 이론상 경미한 위험의 증가일 뿐이다. 더욱이, 확립된 발암 위해 평가는 평생 노출량에 기초하고 있으므로 평생보다 짧은 기간(less than lifetime) 노출되는 개발단계 및 시판 의약품 모두에서, 불순물의 섭취 허용량을 더 높게 적용하여도 동등한 위해성을 가질 것이다. 발암 위해(10만 중의 1)와 이에 상응하는 위해에 기반한 용량 (TTC)은 극히 이론적인 개념으로서, 실제 위해를 나타내는 현실적인 지표는 아니다. 그럼에도 불구하고, TTC 개념은 모든 변이원성 화합물의 안전한 노출량에 대한 추정치를 제공한다. 그러나, TTC 산출은 보수적인 가정에 근거하고 있기 때문에 TTC를 초과했다고 해서, 반드시 발암 위해의 증가와 관계있는 것은 아니다. 암 발생률 증가는 실제적으로 10^5 보다 훨씬 작다. 더구나 변이원성 물질이 설치류를 이용한 시험(rodent bioassay)에서 비발암 물질로 확인된 경우, 발암 위해는 증가되지 않을 것으로 예측된다. 이러한 상기의 모든 고려사항에 근거하여, 환자에 이미 노출된 불순물이 이후에 돌연변이원으로 확인되었다고 하더라도, 이로 인해 발암 위해성이 반드시 증가되었다고 할 수는 없다. 위해 평가 결과에 따라 이후에 어떤 조치를 취할 것인지가 결정된다.

불순물에 대한 잠재적 위해가 확인된 경우, 변이원성 불순물이 발암 위해 허용치 이하인 것을 보장하기 위해, 제조 공정의 이해 및 / 또는 분석 관리를 활용한 적절한 관리 전략을 개발한다.

불순물이 원료의약품의 대사산물인 경우가 있다. 이러한 경우에, 대사산물의 변이원성 위해 평가가 불순물 위해평가로 갈음될 수 있다.

4. 시판 의약품에 대한 고려사항

이 가이드라인은 후향적 적용 (즉, 이 가이드라인의 완료 전에 허가된 제품에 대한 적용)을 의도하고 있지는 않다. 그러나, 일부 허가 후 변경에 대해서는 변이원성 불순물에 관한 안전성 재평가가 필요할 수 있다. 이번 섹션은 이 가이드라인 개발 전, 또는 개발 후에 시판된 의약품의 허가 후 변경에 적용된다. 8.5항 (전주기 관리)에는 이 가이드라인 채택 후에 시판된 의약품에 관한 추가 권고가 기재되어 있다.

4.1 원료의약품의 화학, 제조 및 관리에 대한 허가 후 변경

원료의약품의 화학, 제조, 관리에 대한 허가 후 변경 신청 시, 합성경로, 시약, 용매, 출발물질 이후 공정조건의 변경에 의한 변이원성 불순물과 연관된 잠재적인 위해 영향을 평가한다. 특히, 변경으로 인해 새로운 변이원성 불순물이 생성되거나, 기존 변이원성 불순물에 대해 허용 범위를 높이는지를 확인하기 위해, 변경 사항의 평가를 한다. 변경에 의해 영향을 받지 않는 불순물의 재평가는 불필요하다. 예를 들어, 제조 공정의 일부분만 변경되었을 경우, 변이원성 불순물의 위해 평가는 변경에 의해 새로운 변이원성 불순물이 생성되는지, 변경된 공정에서 생성 변이원성 불순물이 증가하거나, 상위단계 공정에서 알려진 변이원성 불순물이 증가하는지에 한정한다. 이러한 변경과 관련된 규제당국의 신청은 9.2항에 따라 평가결과를 기술한다. 원료의약품, 중간체, 출발물질 제조소 변경 또는 원료 물질 공급처 변경은 일반적으로 변이원성 불순물의 위해성 재평가가 불필요하다.

원료의약품의 새로운 제조원에 대한 변경 신청의 경우, 이 공급 업체에서 생산된 동일 합성 경로인 원료 의약품이 허가된 기존 의약품에 사용되었다는 증거가 있으면, 변이원성 불순물의 허용 가능한 위해 / 이익에 대한 충분한 근거로 간주되며, 이 가이드라인에 따른 평가는 불필요하다. 그렇지 않은 경우에는 이 가이드라인에 따른 평가수행이 예상된다.

4.2 완제의약품의 화학, 제조 및 관리에 대한 허가 후 변경

완제의약품에 관한 허가 후 변경신청 (조성, 제조 공정, 제형 변경 등)은 새로운 변이원성 분해 산물이 생성되거나 기존 변이원성 분해 산물에 대한 허용 범위가 높아진 경우에 대한 평가를 포함한다. 해당되는 경우, 규제 당국에 변경 신청 시 새로운 관리 전략을 제시한다. 원료의약품의 변경이 없는 경우, 완제의약품에 사용되는 그 원료의약품의 재평가는 권고되지 않거나 또는 예상되지 않는다. 제조소 변경은 일반적으로 변이원성 불순물의 위해 재평가가 불필요하다.

4.3 시판 의약품의 임상 사용에 대한 변경

변이원성 불순물의 한계 재평가가 필요할 수 있는 시판의약품의 임상사용 변경은 임상용량의 유의한 증가, 투여기간의 연장(특히, 변이원성 불순물이 이전의 적응증에 대해서 평생 섭취 허용량 내로 관리되고 있었지만, 투여 기간이 연장되는 새로운 적응증에서는 더 이상 적절하지 않게 관리될 때) 또는 더 높은 섭취 허용량이 정당화될 수 있는 심각하거나 생명을 위협하는 질환 (7.5 항)에서 기존 불순물의 섭취 허용량이 더 이상 적절하지 않은 덜 심각한 적응증으로의 변경 등이 있다. 1 일 투여량 또는 투여 기간의 증가가 없다고 가정하면, 새로운 투여 경로 또는 임신부 및 / 또는 소아를 포함하는 환자 집단으로의 적응증 확대에 따른 시판 의약품의 임상 사용의 변경 내용은 재평가에 해당되지 않을 것이다.

4.4 시판 의약품에 대한 다른 고려사항

특히 우려할 만한 원인이 있는 경우에만, 시판 의약품에 대해 이 가이드라인이 적용될 수 있다. 구조적 위험성이 있는 클래스(cohort of concern)(3 항 참조)로 분류되는 구조가 아닌 경우에 한하여, 불순물에 경고 구조가 있다는 것만으로는 추가 조치를 시작하기에 충분하지 않다고 생각된다. 그러나 시판 허가를 위한 전체 관리 전략 및 규격을 설정한 후 얻은 새로운 관련 불순물의 위해 데이터(클래스 1 또는 2로 분류, 6 항)는 특별히 우려할 만한 원인이 된다. 이 새로운 관련 불순물 위해 데이터는 관련된 허가당국의 시험 가이드라인을 준수하는, 이미 확립된 데이터 기록이나 보고서와 같은 고품질의 과학적 연구 산물로부터 얻어야 한다. 유사하게, 시판의약품에 존재하는 클래스 1 또는 2 변이원성 물질로서 새롭게 발견된 불순물도 마찬가지로 우려의 원인이 될 수 있다. 이러한 2가지 경우 모두 품목신청자가 이러한 새로운 정보를 알게 된 때에는 이 가이드라인에 따라 적용을 검토한다.

5. 원료의약품과 완제의약품의 불순물 평가

새로운 원료의약품 합성 공정, 보관 및 새로운 완제의약품의 제조, 보관 중 발생할 수 있는 실제 불순물과 잠재적 불순물을 평가한다.

불순물의 평가는 2 단계의 과정으로 실시한다.

- 구조 결정된 실제 불순물의 변이원성에 대해 검사한다.
- 최종 원료의약품에 존재 가능성이 있는 잠재적 불순물의 평가를 실시, 그 변이원성에 대해 추가적인 평가가 필요한지를 판정한다.

합성 불순물 및 분해산물에 적용하는 단계는 각각 5.1 항 및 5.2 항에서 기술한다.

5.1 합성 불순물

실제 불순물에는 ICH Q3A에 정의된 원료의약품 중 보고가 필요한 역치를 초과하는 수준으로 존재하는 불순물이 포함된다. 실제 불순물의 구조결정은 그 양이 ICH Q3A에서 규정된 구조결정이 필요한 역치를 초과하는 경우에 실시하는 것으로 기대된다. 일부의 불순물은 구조결정이 필요한 역치 미만에서도 구조가 확인되어질 수 있는 것으로 알려져 있다.

원료의약품의 잠재적 불순물로는 출발물질, 시약, 출발물질부터 원료의약품까지 합성경로에서의 중간체 등을 들 수 있다. 원료의약품에 잔류될 수 있는 위해서는 출발물질과 중간체의 구조 확인 불순물 및 출발물질부터 원료의약품까지 합성경로에서 합리적으로 예상되는 반응 부산물인 불순물에 대해 평가한다. 몇몇 불순물(예, 긴 합성경로의 합성 초기 불순물)의 잔류 가능성에 대한 위해가 무시할 만한 수준이라면, 그 다음 합성 단계에서부터 잠재적 변이원성 평가가 필요한 불순물에 대하여 위해기반의 타당성 설명을 제시할 수 있다. 원료의약품 합성 후기단계에 도입되는 출발물질(그리고 출발물질의 합성 경로가 알려진)의 경우, 출발물질 합성 마지막 단계의 잠재적 변이원성 불순물에 대해 평가한다.

구조가 알려진 실제 불순물 및 위에서 정의된 잠재 불순물은 변이원성 가능성에 대해 6항에 따라 평가된다.

5.2 분해산물

원료의약품의 실제 분해 생성물은 허가 신청된 장기 보존 조건, 1차 포장 및 2차 포장에서, ICH Q3A에 따른 보고가 필요한 역치를 초과하여 존재하는 분해 생성물이 포함된다. 완제의약품의 실제 분해 생성물은 허가 신청된 장기 보존 조건, 1차 포장 및 2차 포장에서 ICH Q3B에 따른 보고가 필요한 역치를 초과하여 존재하는 분해 생성물 및 해당 의약품의 제조 중에 생성되는 불순물이 포함된다. 실제 분해 생성물의 구조 결정은 그 양이 ICH Q3A/Q3B에 따라 구조 결정이 필요한 역치를 초과하는 경우에 실시한다. 일부 분해 생성물은 구조 결정에 필요한 역치 미만이라도 확인된 바 있다.

원료의약품 및 완제의약품의 잠재적 불순물은 장기 보존 조건하에서 생성될 것으로 합리적으로 예측되는 것이다. 잠재적 불순물은 가속안정성시험 (예, 40도, 75% RH, 6개월) 및 ICH Q1B에 따른 광안정성을 확인하기 위한 시험에 있어, ICH Q3A/B의 구조결정이 필요한 역치를 초과하여 생성되지만, 1차 포장과 장기안정성 보존 조건에서 원료의약품과 완제의약품에서는 확인되지 않은 분해산물을 포함한다.

관련 분해 경로의 지식(예, 분해 화학 원리, 관련 가혹 시험, 및 개발 안정성 시험)은 변

이원성 평가의 대상이 되는 잠재적 분해 생성물을 선택하는 데 있어 지표로서 도움이 될 것이다.

실제 분해산물 및 잠재적 분해산물에 있어, 최종 원료의약품과 완제의약품 중에 존재할 가능성이 높고 구조가 알려진 경우, 변이원성 가능성에 대해 6 항에 따라 평가한다.

5.3 임상개발에 관한 고려사항

5.1항 및 5.2항에 기술된 불순물 평가가 임상단계 의약품에 적용될 것으로 예상된다. 그러나, 이용할 수 있는 정보는 제한적일 것이다. 예를 들어, 장기 안정성시험에서의 정보는 임상개발 중에는 이용할 수 없고, 따라서 잠재 분해산물에 대한 정보도 제한적이다. 추가적으로 ICH Q3A/B에 따른 역치는 개발단계 의약품에 적용하지 않으므로, 결과적으로 더 적은 수의 불순물이 확인될 것이다.

6. 위해 평가 요소

실제 및 잠재적 불순물을 표 1에 따라 클래스 1, 2 또는 5로 분류하기 위하여, 발암성시험과 박테리아를 이용한 변이원성시험에 관한 데이터 베이스 및 문헌검색을 수행하는 실제 및 잠재적 불순물에 대한 초기분석을 통해 위해 평가를 실시한다. 이와 같은 분류에 사용되는 데이터를 얻을 수 없는 경우에는 박테리아를 이용한 변이원성시험의 결과를 예측하기 위한 목적으로 구조-활성 상관관계(Structure-Activity Relationships, SAR) 평가를 실시한다. 이 방법에 따라, 불순물을 클래스 3, 4 또는 5로 분류한다.

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

| 클래스 | 정의 | 관리를 위한 제안 조치 (7항 및 8항에 자세한 사항들이 있음) |
|-----|--|---|
| 1 | 변이원성과 발암성이 확인된 물질 | 화합물 - 특이적 허용 한계 수준 (compound-specific acceptable limit) 또는 그 이하로 관리 |
| 2 | 변이원성은 확인되고 발암성은 확인되지 않은 물질 (박테리아 변이원성 양성* 및 설치류 발암성 유발 데이터 없음) | 허용 한계 수준 또는 그 이하로 관리 (일반적 혹은 조정된 TTC) |
| 3 | 경고구조(structural alert)가 있으나, 원료의약품 구조와 관련 없는 것; 변이원성 데이터 없음 | 허용 한계 수준 또는 그 이하로 관리 되거나 (일반적 혹은 조정된 TTC), 박테리아 변이원성 시험 시행; 만약, 비- 변이원성 = 클래스 5, 변이원성 = 클래스 2 |
| 4 | 경고구조(structural alert)가 있으나, 검사된 원료의약품 또는 원료의약 | 비- 변이원성 불순물로서 관리 |

| | | |
|---|---|------------------|
| | 품과 관련된 화합물(예, 공정 중간체)에 동일한 경고구조(structural alert)가 있고 비-변이원성임 | |
| 5 | 경고구조(structural alert) 없음 또는 변이원성이 없음을 증명하기에 충분한 데이터를 가진 경고구조(structural alert) | 비- 변이원성 불순물로서 관리 |

* 또는 유전자 돌연 변이 유도과 관련된 DNA-반응성을 나타내는 다른 관련된 양성 돌연변이 데이터 (예, 생체 내(in vivo) 돌연변이 연구에서 양성)

컴퓨터를 이용한 독성평가는 박테리아 변이원성시험의 결과를 예측하는 (Q)SAR 방법을 이용하여 실시하며 서로 보완적인 2 종류의 (Q)SAR 예측 방법을 이용한다. 첫째는 전문적 경험 규칙에 기반한 (expert rule-based) 방법, 둘째는 통계에 기반한 방법이다. 이러한 예측방법을 사용한 (Q)SAR 데이터는 OECD 밸리데이션 원칙을 따른다.

해당되는 경우, 컴퓨터 시스템에 기초한 모든 결과 해석은 양성, 음성, 상충된 결과, 예측 결과 없음에 대한 추가적인 입증 근거를 제시하고 최종 결론의 타당성 입증에 위하여 전문 지식에 기초한 검토를 수행할 수 있다.

경고구조(structural alert) (표 1의 클래스 3)의 조치로서, 적절한 관리방법이 적용되거나 불순물 단독으로 박테리아 변이원성시험을 실시할 수 있다. 적절히 잘 수행된 박테리아 변이원성시험(노트 2) 결과가 음성이면 구조에 기초한 우려를 없앨 수 있고, 추가적인 유전독성 평가는 필요하지 않다(노트 1). 이러한 불순물은 비 변이원성으로 간주된다(표 1의 클래스 5). 박테리아 변이원성 시험의 결과가 양성이면, 위해 평가 및 / 또는 관리 대책을 세울 필요가 있다 (표 1 클래스 2). 예를 들어 불순물이 적절한 허용한도로 관리될 수 없는 경우, 불순물은 *in vivo* 조건에서 박테리아 변이원성 시험결과의 관련성을 이해하기 위하여 *in vivo* 유전자 돌연변이 시험(gene mutation assay)을 실시하는 것이 권고된다. 다른 *in vivo* 유전 독성 시험(genotoxicity assay)을 선택하는 경우, 그 불순물의 작용 기전 및 예상되는 타겟 조직 노출에 관한 지식을 기반으로 (노트 3), 과학적인 타당성을 입증한다. *In vivo* 시험은 ICH 유전독성 가이드라인을 고려한다. 적절한 *in vivo* 시험에서 음성 결과는 화합물 특이적 불순물 허용 한계의 근거가 될 수 있다.

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

7. 위해 특성화 (Risk Characterization)

6 항에 기술되고 있는 위해 평가 결과에 따라, 각 불순물은 표 1의 5개 클래스 중 하나로 분류된다. 클래스 1, 2, 3으로 분류된 불순물에 대하여, 섭취 허용량 계산을 위한 위해성 해석은 이 항에 기술된 원칙을 따른다.

7.1 TTC에 기반한 섭취 허용량

변이원성 불순물의 TTC에 기반한 섭취 허용량 1.5 μ g/사람/일에 따른 위해는, 무시해도 좋을 정도 (이론상 발암 위해는 평생 노출된 경우 10만 명 중 1 미만)이고, 대부분의 의약품 관리에 이용되는 허용 한계를 계산하는 기본값으로서 일반적으로 사용된다. 일반적으로 장기투여(10년 초과)되는 의약품에 존재하는 변이원성 불순물의 발암성 데이터를 얻을 수 없는 경우(클래스 2 및 3), 이 방법을 사용한다.

7.2 화합물 특이적 위해 평가에 기반한 섭취 허용량

7.2.1 발암성 양성 데이터를 가진 변이원성 불순물(표 1의 클래스 1)

충분한 발암성 데이터가 존재하는 경우에는 TTC에 기반한 섭취 허용량 대신, 화합물 특이적인 위해 평가에 기반한 섭취 허용량 계산을 적용한다. 변이원성과 발암성이 확인된 물질에 대해서는 발암성 강도와 선형 외삽에 근거한 계산을 기본 방법으로 화합물 특이적 섭취 허용량을 산출할 수 있다. 혹은 국제적인 규제 기관에서 사용되는 다른 확립된 위해 평가 기법을 이용해 섭취 허용량을 산출하거나 또는 규제당국이 인정한 기준 값을 사용하여도 좋다 (노트 4).

화학적 유사성에 대한 이론적 근거 및 관련 데이터를 입증할 수 있는 경우는 알려진 발암 물질의 화합물 클래스 (클래스 특이적 섭취 허용량)와 화학적으로 유사한 불순물에 대한 화합물 특이적 섭취 허용량의 산출을 사례별로 적용할 수 있다 (노트 5).

7.2.2 실행 역치(Practical Threshold)에 근거한 변이원성 불순물

DNA 이외의 표적과 상호 작용하는 화합물뿐만 아니라, DNA와 직접 반응하는 화합물에서도 용량반응 관계가 비선형 또는 실행 역치를 가지는 작용기전의 존재가 점차 인식되어 가고 있다. 그 작용은 DNA와의 접촉 이전 신속한 해독 작용과 유도된 손상의 효과적인 복구 등에 의해 조절될 가능성이 있다. 이들 화합물은 데이터가 있는 경우에는 1일 노출 허용량(PDE)을 계산하기 위해 최대 무작용량 (NOEL: no- observed effect level)의 확인 및 불확실성 계수 (ICH Q3C(R5))를 사용하는 것으로, 규제상의 대응을 할 수 있다. 화합물 특이적 위해 평가(7.2 항)에서 계산된 섭취 허용량은, 단기간 사용에 있어서는 다

음의 항(7.3.1항과 7.3.2항)에 규정된 동일한 비율로써 조절하거나 또는 어느 쪽이든 0.5%보다 크지 않도록 제한한다. 예를 들어, 화합물 특이적 허용 한도가 평생 노출 시 15 µg/일인 경우, LTL(표 2) 허용 한도는 투여기간이 1-10년인 경우 100µg/일, 1-12개월인 경우 200µg/일, 1개월 이하인 경우 1200µg/일까지 증가될 수 있다. 그러나 1일 최대투여량이 100mg인 의약품을 예로 들면, 투여기간이 1개월 이하인 경우 허용한도는 1200µg/일보다 0.5%(500µg/일)로 제한될 것이다.

7.3 LTL(Less Than Lifetime) 노출에 대한 섭취 허용량

발암성이 이미 알려진 물질에 대한 표준 위해 평가는 축적량에 따라 발암 위험이 증가된다는 것을 가정한다. 그러므로 작은 양에 일생동안 지속적으로 노출되는 발암 위험은 짧은 기간에 걸친 동일한 축적 노출량과 발암 위험이 동등할 것으로 평가될 수 있다. TTC에 기초한 섭취 허용량 1.5µg/day는 평생 동안 매일 노출되어도 안전하다고 생각된다. 의약품 변이원성 불순물의 평생보다 짧은 기간 (LTL: less-than-lifetime)동안 노출에 대해, LTL 노출 기간에 있어서 평생 누적 용량 ($1.5 \mu\text{g} / \text{day} \times 25,550 \text{ days} = 38.3 \text{ mg}$)을 총 노출 일수에 균등하게 분산하여 계산하는 방법이 적용된다. 그러면 변이원성 불순물의 1일 섭취량은 일생에 걸친 노출보다 높아지지만, 매일 투여와 간헐적 (비 연일) 투여의 경우도 위해 수준은 TTC 평생 노출과 동등하게 유지할 수 있다. 표 2는 이러한 개념에서 만들어진 것으로 평생 노출에 대한 LTL 노출의 허용 한도를 나타낸다.

간헐적 투여의 경우, 1일 허용한도는 투여되는 기간 대신에 투여일의 총 횟수를 기반으로 설정되어야 하며, 투여 일수는 표 2의 해당되는 투여기간과 관련짓는다. 예를 들어 2년간 1주일에 1번 투여되는 의약품의 경우(즉 104일 투여)는 20µg의 허용한도를 설정한다.

표 2 : 개별 불순물에 대한 섭취 허용량

| 투여 기간 | ≤ 1달 | > 1 - 12달 | > 1 - 10년 | > 10년 - 평생 |
|-----------------|------|-----------|-----------|------------|
| 1일 섭취 [µg/ day] | 120 | 20 | 10 | 1.5 |

7.3.1 임상개발

1개월 이하, 1~12 개월 및 1 년 이상부터 제 III 상 임상 시험완료까지의 개발단계의 제한된 투여기간 동안 변이원성 불순물의 섭취 허용량은 LTL 개념을 사용하는 것이 권장된다(표 2). 여기서 산출된 섭취 허용량은 아직 이익이 확립되지 않은 임상 개발의 초기 단계에서는 10⁻⁶의 위해를, 개발 후기에 10⁻⁵의 위험 수준을 유지하고 있다 (노트 6).

14일 투여 이내의 제 I 상 임상 시험은 변이원성 불순물에 대한 보정된 섭취 허용량을

엄격하게 적용하지 않고, 다른 접근법도 적용할 수 있다. 이러한 방식은, 변이원성과 발암성이 확인된 물질(클래스 1), 변이원성은 확인되고 발암성은 확인되지 않은 물질(클래스 2) 및 "cohort of concern"로 분류되는 불순물만 7 항에 기재된 허용 한도 값으로 관리한다 (8 항 참조). 이외의 모든 불순물은 비변이원성 불순물로 취급한다. 여기에는 경고 구조 불순물(클래스 3)이 포함되어 있으며, 경고 구조만으로 제 I 상 임상 시험기간 동안 평가를 실시하여야 하는 것은 아니다.

7.3.2 시판 의약품

표 2에 제시된 투여기간에 따른 허용한도를 시판의약품에 적용할 경우, 대부분의 환자가 노출될 것으로 예상되는 투여기간을 적용한다. 이러한 섭취를 적용하기 위한 다양한 시나리오와 제시된 한도는 노트 7, 표 4에 기술되어 있다. 몇몇 경우에, 환자군의 일부는 시판 의약품 범주의 상한선을 넘는 투여를 받을 수 있다(예, 10 μ g/일의 허용한도를 가진 10년 투여 의약품으로 분류되었으나 15년 투여되는 경우). 이러한 경우는 10년 동안 투여 받는 대부분 환자의 전반적인 위해와 비교하면 무시할 만한 증가로 결론 내릴 수 있다.

7.4 변이원성 복합 불순물에 대한 섭취 허용량

TTC에 기반한 섭취 허용량은 개개의 불순물에 적용한다. 클래스 2 또는 클래스 3 불순물이 2개 있는 경우에는 개별 한도를 적용한다. 원료의약품의 규격에 규정된 클래스 2 또는 클래스 3 불순물이 3개 이상인 경우, 임상 개발 및 시판 제품에 대한 변이원성 불순물의 합계는 표 3에 따른 한도로 한다. 복합체는 각각 주성분에 대해서 별도로 관리된다.

표 3 : 복합 불순물에 대한 1일 총 섭취 허용량

| 투여 기간 | ≤ 1달 | > 1 - 12달 | > 1 - 10년 | > 10년 ~ 평생 |
|------------------------|------|-----------|-----------|------------|
| 1일 섭취량 [μ g/ day] | 120 | 60 | 30 | 5 |

원료의약품의 규격에서 설정된 클래스 2 또는 클래스 3 불순물만 총 허용한도 계산에 사용한다. 그러나, 화합물 특이적 또는 클래스와 관련된 허용한도를 가진 불순물(클래스 1)은 클래스 2와 클래스 3의 총 한도에 포함되지 않는다. 또한, 완제의약품에서 생성된 분해산물은 별도로 관리하고 총 허용 한도에는 적용되지 않는다.

7.5 접근방식의 예외 및 유연성

- 불순물이 음식과 내인성 대사(예 포름알데히드) 등 다른 기원에서 유래하여 사람에게 대한 노출량이 매우 높은 경우, 섭취 허용량을 더 높게 설정하는 것에 대해 정당화

할 수 있다.

- 중증 질환, 감소된 기대 수명, 늦게 발병된 만성 질환 또는 대안적 치료방법이 제한되어있는 경우, 사례별로 적절한 섭취 허용량의 예외를 설정할 수 있다.
- 몇몇 변이원성 구조를 가진 그룹, 즉 아플라톡신 양 구조, N-니트로소 구조, 아족시 구조 화합물 등은 매우 강한 발암성(cohort of concern)을 나타낼 수 있다. 이러한 화합물이 의약품의 불순물로 확인된 경우, 이러한 강한 발암 물질에 대한 섭취 허용량은 이 가이드라인에 규정된 섭취 허용량보다 훨씬 낮은 값이 될 것이다. 이 가이드라인의 원칙이 적용될 수 있다고 하더라도, 의약품 개발 및 시판 의약품의 섭취 허용량을 정당화하기 위해, 유사한 구조를 가진 물질의 발암성 데이터를 이용하는 방법을 인용하는 등 사례별로 대응 방법을 개발한다.

7항에 기술된 위해 접근방식은 모든 투여 경로에 적용 가능하며, 일반적으로 섭취 허용량에 대한 보정은 필요 없다. 그러나 투여 경로 특이적인 우려가 발생할 수 있는 상황에서는 이러한 우려에 대해 사례별로 평가할 필요가 있다. 이러한 접근방식은 보수적인 위해 대응에 기반하고 있기 때문에, 모든 환자집단에 적용 가능하다.

8. 관리

관리 전략은 현재 의약품 및 제조 공정의 이해에서부터 출발하며, 제조 공정 수행 및 제품 품질을 보장하는 계획된 관리 세트이다 (ICH Q10). 관리 전략에는 다음과 같은 사항이 포함되지만, 이에 국한되지는 않는다.

- 원료 특성의 관리(원료, 출발물질, 중간 생성물, 시약, 용매, 1차 포장재질 등을 포함)
- 시설 및 장비의 조작조건
- 제조공정의 설계에 내포된 관리
- 공정 중 관리(공정 중 시험 및 공정변수를 포함)
- 원료의약품 및 완제의약품에 대한 관리(예: 출하시험)

존재하는 불순물이 표 1에 있는 클래스 1, 2 또는 3인 것으로 판명된 경우에는 원료의약품 및 완제의약품의 불순물 수준이 허용한계 이하임을 보증하는 관리 전략을 개발하는 것이 중요하다. 원료의약품 제조 공정 및 완제의약품의 제조 공정과 관련된 화학에 대한 충분한 지식과 함께, 원료의약품 및 완제의약품의 종합적인 안정성에 대한 이해는 적절한 관리를 개발하는데 있어서 중요하다. 완제의약품의 변이원성 불순물을 줄이기 위한 전략의 개발은 ICH Q9에서 정의된 위해 관리 과정과 일치한다. 제품, 공정의 이해에 기반한

관리전략 및 위해 관리의 원칙은 공정 설계, 관리, 적절한 분석 시험의 조합으로 이어질 것이며, 따라서 관리를 공정 상위단계(upstream)로 이동하고 최종 제품에 대한 시험의 필요성을 최소화할 수 있는 기회도 제공한다.

8.1 제조공정 유래 불순물의 관리

원료의약품 관리전략을 수립하기 위하여, 다음의 4가지 방법이 가능하다.

옵션 1

적절한 분석 방법을 이용하여 허용 한계 수준 또는 그것보다 낮은 판정기준이 설정된 불순물 시험을 원료의약품 규격에 포함한다. 옵션 1 관리 방법에 대해서, ICH Q6A에 따른 주기적 검증 시험을 실시하는 것이 가능하다고 생각된다. 주기적 검증 시험은 원료의약품 유전독성 불순물 수준이 적어도 6개 연속 파일럿 배치 또는 3개 연속 실생산 배치에서 허용한도의 30% 이하인 경우 타당한 것으로 본다. 이러한 조건이 입증되지 않으면 원료의약품의 규격으로 설정하여 시험하는 것이 권장된다. 추가적인 고려사항은 8.3항을 참고한다.

옵션 2

적절한 분석 방법을 이용하여 허용 한계 수준 또는 그것보다 낮은 판정기준이 설정된 불순물 시험을 원재료, 출발물질 혹은 중간 생성물의 규격 또는 공정 중 시험에 포함한다.

옵션 3

적절한 분석방법을 이용하여 원료의약품 중 불순물 허용한계 수준 또는 허용한계 수준보다 높은 판정기준이 설정된 불순물 시험을 원재료, 출발물질, 중간생성물 규격 또는 공정 중 시험에 포함한다. 이러한 방법으로 관리하기 위해, 적절한 분석방법과 불순물의 분해와 제거에 관한 이해, 그 제조공정 이후의 추가 시험 필요성이 없을 정도로 원료의약품 불순물 양이 허용 한계 이하임을 보증하는 제조공정에 대한 이해를 동반한다. 이 옵션은 원료의약품 중 불순물이 실험실 규모 시험(스파이킹 시험을 권장함)의 데이터 검토에 의해 허용한도의 30% 이하인 경우 및 반드시 파일럿 배치 또는 실생산 배치 데이터에 의해 검증된 경우 타당한 것으로 본다. 사례 1과 2를 참고한다. 다른 방식으로도 옵션 3의 타당성을 입증할 수 있다.

옵션 4

그 불순물에 대한 시험이 필요하지 않을 정도로 원료의약품 중 불순물 양이 허용 한계 이하라고 하는 충분한 확신을 가지고 공정변수와 잔류 불순물 양에 대한 영향(불순물의 분해와 제거에 관한 지식을 포함)을 이해한다(불순물을 규격에서 관리할 필요가 없는 것).

분석시험을 실시하는 대신 제조공정 관리를 통한 관리 전략은 불순물 수준에 영향을 주는 공정 화학 및 공정 파라미터를 이해하고 최종 원료의약품에 불순물이 잔류할 수 있는 위험이 무시할 만한 것이라고 결정되는 경우 적절하다. 많은 경우에, 관리 전략의 타당성은 과학적 원리를 기반으로 한 것만으로도 충분하다. 과학적 위해 평가의 요소는 옵션 4 방식의 타당성을 입증하는데 사용될 수 있다. 위해평가는 화학적 반응성, 용해도, 휘발성, 이온화 및 불순물을 제거하도록 디자인된 다른 물리적 공정 단계를 포함하는 불순물의 분해와 제거에 영향을 주는 물리화학적 특성과 공정 요인에 근거를 둘 수 있다. 이러한 위해 평가의 결과는 공정 중 불순물 제거에 대하여 예측된 퍼지 인자(purge factor)로서 제시될 수 있다. 옵션 4는 특별히 본질적으로 불안정한 불순물(예, 물과 완전히 빠르게 반응하는 염화티오닐) 또는 합성단계 초기에 도입되고 효과적으로 제거되는 불순물에 적절하다. 몇몇 경우, 옵션 4 방식은 합성 후기에 도입 또는 형성되는 것으로 알려진 불순물이지만 공정 특이적 데이터가 이러한 방식의 타당성을 입증하는 경우에 적절할 수도 있다.

8.2 관리방법에 대한 고려사항

옵션 3 뿐만 아니라, 과학적 원리에 근거한 타당성만으로 충분히 정당화되지 않는 옵션 4에 대해서는, 관리방법을 지지할 분석 데이터가 필요하다. 이는 하위공정의 화학(downstream chemistry)에 의한 불순물의 구조적 변화(분해)에 대한 적절한 정보, 파일럿 생산규모에 대한 분석 데이터, 경우에 따라서는, 의도적으로 해당 불순물을 첨가한 실험실 생산규모에서의 연구(스파이크 시험)가 포함된다. 이러한 경우에는 불순물의 분해, 제거에 관한 근거가 확실하고, 최종 원료의약품 중의 불순물이 허용한계를 초과하여 잔류할 가능성이 무시할 정도임을 지속적으로 보증하는 것이 중요하다. 퍼지 인자가 개발 데이터에 기초한 경우에는, 예측되는 생산규모 의존성 또는 비의존성에 대한 논의가 중요하다. 개발단계에서 이용되는 소규모 생산 모델이 실생산 규모를 대표하지 못할 것으로 생각되는 경우에는 일반적으로 파일럿 생산규모 및/또는 초기의 실생산 규모에서 관리의 적합성 확인이 적절하다. 파일럿/실생산 배치에서의 데이터 필요성은, 실험실 규모 또는 파일럿 규모의 데이터로부터 계산된 퍼지인자의 크기, 불순물 도입 시점, 하위 공정 제거 포인트에 대한 지식에 따라 좌우된다.

옵션 3과 옵션 4의 타당성을 제시하기 어려운 경우에는 원재료, 출발물질, 중간생성물의 규격, 공정 중 시험 (옵션 2), 또는 원료의약품의 규격(옵션 1)에 허용 기준으로 불순물에 대한 시험을 포함한다.

변이원성 불순물의 값이 허용기준보다 크게 낮을 경우, “합리적으로 실행 가능한 한 최

소” (As Low As Reasonably Practicable, ALARP)를 반드시 적용하지는 않는다. 유사하게, 다른 합성경로가 탐색되었다는 것을 반드시 증명하지 않아도 좋다. 관리를 해도 변이 원성 불순물의 값이 허용기준 이하로 낮아지지 않고, 합리적으로 실행 가능한 가장 낮은 경우, 위해/이익 분석에 근거하여 높은 허용 한계가 정당화 될 수 있다.

8.3 주기적 검사에 대한 고려사항

위의 옵션은 시험을 규격에 포함하는 것을 권고하지만, 모든 배치의 출하에 대해 정기적인 시험이 필요하지 않은 경우가 있다. 이는 ICH Q6A에서 주기적 시험 또는 스킵 테스트(skip test)라고 하는 것으로서, “주기적 검증 시험”이라고 부를 수 있다. 이 방법은 불순물의 생성/도입 후에 실시되는 공정에서 불순물이 제거되는 것이 입증되는 경우에는 적절하다. 주기적 검증 시험이 허용되는 경우에는 관리 상태(즉, 일관되게 규격이 충족되고, 적절하게 확립된 시설, 장비, 공정, 작업 관리 방법에 따라 고품질의 제품을 생산하는 것)에 있는 공정 사용을 전제로 한다. 시험 결과, 유전독성 불순물 수준이 주기적 시험에 대해 확립된 허용기준을 충족시키지 못하면 의약품 제조자는 즉시, 전체시험 (모든 배치에 대해 설정된 항목을 시험하는 것)을 실시하여야 하며, 부적합 원인이 명확해지고 시정조치가 이루어져, 공정이 다시 관리 상태에 있는 것이 증명될 때까지 전체시험을 계속한다. ICH Q6A에서 언급된 것처럼, 주기적 검증 시험이 부적합한 경우에는 규제당국이 시험이 실시되지 않은 이미 출시된 배치에 대한 위해/이익을 평가할 수 있도록, 부적합 결과를 통보한다.

8.4 분해산물의 관리

변이원성이 있는 잠재적 분해산물에 대해, 그 분해경로가 원료의약품과 완제의약품의 제조공정, 제안된 포장, 보관기간과 관련이 있는지를 이해하는 것이 중요하다. 잠재적 분해산물의 관련성에 대하여, 허가 신청된 포장에서 적절하게 계획된 가속 안정성시험(예, 40 °C / 75 % 상대습도, 6개월)을 적절한 분석방법을 이용하여 실시하는 것이 타당하다. 혹은 분해경로와 관련성을 명확히 하기 위하여, 장기 안정성시험을 실시하기 전에, 허가 신청된 시판의약품의 포장형태로 고온에서 역학적으로 동등한 단기간 안정성시험을 실시할 수 있다. 이러한 종류의 시험은 잠재적인 분해경로에 관한 지식에 기초하여 제품에서는 아직 관찰되지 않은 잠재적 분해산물의 관련성을 이해하는데 특별히 유용하다.

이러한 가속시험 결과에 근거하여, 허가 신청된 포장 및 보관 조건하에서 허용한계에 근접하는 수준으로 분해산물이 생성될 것으로 예측되는 경우에는, 분해산물 생성을 관리하는 노력이 요구된다. 이러한 경우, 다른 타당성이 입증되는 경우를 제외하고 일반적으로 허가 신청된 보관조건(제안된 시판 포장형태)에서 장기 안정성시험을 통한 원료의약품 또는 완제의약품에 대한 모니터링이 필요하다. 변이원성 분해산물에 대한 규격 설정이 적절

할 것인가는 일반적으로 이러한 안정성시험의 결과에 따라 결정된다.

제형 개발 및 포장 디자인 선택에도 불구하고 변이원성 분해산물의 값이 허용한계 이하 또는 실제 가능한 최소한의 수준 이하로 관리되지 않는 경우에는, 위해/이익 분석에 따라 높은 허용기준이 정당화될 수 있다.

8.5 전주기 관리(Lifecycle management)

이 항은 이 가이드라인의 개발 후에 승인된 제품에 적용하도록 의도되었다.

ICH Q10에서 제시한 품질 시스템 요소 및 관리 책임은 각 라이프사이클(lifecycle) 단계에서 과학-기반 및 위해-기반 방법의 사용을 권장하기 위한 것이며, 그에 따라 제품 라이프사이클 전기간에 걸친 지속적인 개선을 촉진한다. 제품 및 제조공정의 지식은 의약품 개발에서부터 제품의 판매중지를 포함한 상업적 수명 전기간을 통하여 관리한다.

원료의약품 및 완제의약품의 제조공정 개발 및 개선은 일반적으로 라이프사이클 전체를 통하여 지속적으로 계속된다. 관리전략의 유효성을 포함하여, 제조공정 작동은 주기적으로 평가한다. 상업용 생산에서 얻어진 지식은 공정이해, 공정수행을 더 많이 개선시키고 관리전략을 수정하는데 이용될 수 있다.

제안된 제조공정에서 어떠한 변경에 대해서도 원료의약품 및 완제의약품 품질에 대한 영향을 평가한다. 이러한 평가는 제조공정 이해에 근거하여야 하며, 제안된 변경의 영향을 분석하는 적절한 시험이 필요한지를 결정한다. 게다가, 분석방법의 개선은 불순물의 구조 확인으로 이어질 수 있다. 이러한 경우에는 이 가이드라인에 따라 새로운 구조에 대한 변이원성 검토가 필요할 수 있다.

제품의 라이프사이클 전기간에 걸쳐 공정에서 의도하거나 혹은 의도하지 않은 변경이 발생한 경우, 시험이 권장되는지를 전주기적 측면에서 평가하는 것이 필요하다. 이는 허용한계에서 일상적인 모니터링이 실시되지 않은 경우(옵션 3, 옵션 4의 관리법), 혹은 모든 배치가 시험되지 않은 주기적 시험을 실시하는 경우에 적용된다. 이 시험은 제조공정 내의 적절한 지점에서 실시한다.

몇몇 경우에, 통계적 공정 관리방법의 사용 및 공정 측정값의 추세분석은 불순물을 적절히 관리하기 위한 공정의 지속적 적합성 및 성능 평가에 유용하다. 불순물이 정기적으로 모니터링 되지 않는 경우(예, 옵션 4)에도, 통계적 공정 관리는 불순물의 형성 또는 제거에 영향을 주는 공정 파라미터에 근거할 수 있다.

모든 변경사항은 품질시스템(ICH Q10)의 일부로서 내부변경 관리과정의 대상이다. 허가시에 기재되고, 승인된 정보에 대한 변경은 각국의 규정 및 가이드라인에 따라 규제당국에 보고한다.

8.6 임상개발에 대한 고려사항

제품과 공정에 대한 지식은 개발과정을 통하여 축적되고 인식되어지며, 임상개발 단계에서는 시판허가 신청단계와 비교하여 관리전략을 지지하는 데이터가 적을 것으로 예상된다. 원료의약품과 완제의약품에 존재할 가능성이 가장 높은 불순물에 대해, 분석적 노력보다 우선하여, 공정화학 기본원리에 기초한 위해 기반 방법이 권장된다. 불순물이 존재할 가능성이 낮은 경우 분석 데이터는 임상개발 초기에는 예상되지 않을 수도 있지만, 의약품 허가신청 시 유사한 상황에서 관리방법을 지지하는 분석 데이터가 적절할 수 있다. 또한, 시판 제형의 설계는 임상개발 후기에 행해지기 때문에, 완제의약품 분해산물에 관련된 노력들은 임상개발 초기에는 제한적인 것으로 인식되어지고 있다.

9. 문서화

이 가이드라인의 적용과 관련된 정보는 다음의 단계에서 제공한다.

9.1 임상 시험 신청

- 변이원성에 대해 평가된 구조의 수 및 분석 데이터는 모든 임상개발 기간을 통하여 증가될 것으로 기대된다.
- 14 일 이하의 임상 1 상 시험에 대해, 7항에 따른 클래스 1, 2 불순물 및 “cohort of concern” 불순물에 중점을 맞춘 변이원성 불순물의 위해를 경감시키는 노력에 대한 내용을 포함한다. 14일 초과인 임상 1상 시험과 임상 2a 시험에 대해 추가적으로 분석 관리가 요구되는 클래스 3 불순물에 대한 정보를 포함한다.
- 임상 2b 시험과 임상 3상 시험에 대해, (Q)SAR에 의해 평가된 구조 목록을 제시하고, 모든 클래스 1, 2, 3에 속하는 실제 및 잠재적 불순물의 관리계획을 함께 기재한다. 평가에 사용된 *in silico* (Q)SAR 시스템에 대해 기술한다. 실제 불순물에 대한 박테리아 변이원성 시험 결과도 보고한다.
- 존재할 가능성이 낮은 잠재적 불순물에 대해서는, 8.6항에서 기재된 대로, 분석 데이터 대신에 화학적 논의가 적절할 수 있다.

9.2 공통기술문서(허가신청)

- 이 가이드라인에 따라 평가된 실제 및 잠재적 제조공정 유래의 불순물과 분해산물

에 대해, 변이원성 불순물 분류와 그 분류 근거를 기재한다.

○ 여기에는 결과와 사용된 *in silico* (Q)SAR 시스템에 관한 설명, 필요한 경우에, 클래스 4 와 5 불순물에 대한 종합적 결론에 이르게 하는 근거 정보를 기재한다.

○ 불순물에 대해 박테리아 변이원성 시험이 실시된 경우에는, 박테리아 변이원성 시험 보고서를 제시한다.

- 제안된 규격과 관리방법에 대한 타당성을 기재한다(예, ICH Q11 예 5b). 예를 들어, 이 정보에는 섭취허용량, 관련된 일상적 모니터링의 위치 및 민감도를 포함한다. 옵션 3 과 옵션 4 관리방법에 대해, 퍼지 인자 (제거 인자) 및 관리로 이어지는 요소(예, 공정 단계, 세척액에서 용해도 등)를 확인하는 지식의 요약이 중요하다.

노트

노트 1 본 가이드라인의 권고사항은 불순물이 유전자 돌연변이를 초래할 가능성을 평가하기 위한 최신의 방법을 제시하며, 이러한 불순물이 안전한 수준으로 관리될 수 있도록 보장하고 있기 때문에, ICH Q3A/B 안전성 확인이 필요한 역치보다 높은지 낮은지에 상관없이, 변이원성에 관한 추가적인 안전성 평가를 실시할 필요는 없다. 여기에는 박테리아 변이원성을 예측하는 (Q)SAR 방법의 사용을 포함한다. 장기투여에 있어서 1일 불순물의 양이 1mg을 초과하는 경우는 ICH Q3A/B 에서 권장되는 유전독성평가를 고려할 수 있다. 불순물의 양이 1mg 이하인 경우, 다른 안전성 입증 역치에도 불구하고 추가적인 유전독성 시험은 요구되지 않는다.

노트 2 불순물의 변이원성을 평가하기 위해, ICH S2 (R1) 및 OECD 471 가이드라인에 근거한 적절한 프로토콜을 이용한 단일의 박테리아 변이원성시험을 실시할 수 있다. 시험은 GLP 규정을 준수하여 실시하는 것이 요구된다. 그러나, GLP 규정을 완벽히 준수하지 않았다는 것이 반드시 임상시험 및 의약품 허가신청을 지지하기 위한 데이터로 사용할 수 없다는 것을 의미하지는 않는다. 이러한 경우에 이탈은 시험 보고서에 기재한다. 예를 들어, 시험물질의 조제 또는 분석을 GLP 규정에 준수하여 행하지 않은 경우가 있다. 일부 시험에 있어 시험 균주의 선택은 경고구조에 대한 감수성이 증명된 시험 균주로 제한될 수 있다. 분리 또는 합성할 수가 없는 불순물 또는 화합물 양이 제한적인 분해산물에 대해서는, 현행의 시험 가이드라인을 준수한 ICH에 적합한 박테리아 변이원성 시험에서 권장하는 최고시험 농도를 달성할 수 없는 경우가 있다. 이러한 경우, 박테리아 변이원성 시험은 고농도에서 시험하기 위해, ICH에서 권장하는 시험과 높은 일치성이 입증된 소형화된 시험으로 실시할 수 있다.

노트 3 생체 외(*in vitro*) 돌연변이 물질(박테리아 변이원성시험에서 양성)의 생체 내(*in vivo*) 관련성을 연구하기 위한 시험

| | |
|---|--|
| 생체 내 검사 | 목적에 적합한 시험법 선택의 타당성을 제시하는 항목 |
| 형질 전환 돌연 변이 시험 (Transgenic mutation assays) | • 박테리아를 이용한 변이원성시험에서 양성인 경우. 시험에 이용한 조직 / 장기 선택의 타당성 제시 |
| Pig- a assay (혈액) | • 직접 작용하는 변이원성 물질인 경우(S9 없는 박테리아를 이용한 변이원성시험에서 양성) * |
| 소핵 시험 (혈액 또는 골수) | • 직접 작용하는 변이원성 물질(S9 없는 박테리아를 이용한 변이원성시험에서 양성)과 염색체 이상유발 작용이 확실시 되는 화합물*인 경우 |

| | |
|--|--|
| 랫드 간 Unscheduled DNA Synthesis (UDS) 검사 (Rat liver UDS test) | <ul style="list-style-type: none"> • 특히 S9 존재하에서 박테리아를 이용한 변이원성시험에서만 양성인 경우 • 간 대사산물에 대한 다음 사항을 확인할 수 있다. <ul style="list-style-type: none"> ○ 사용된 시험균종에서 형성 ○ 대량 첨가물들(bulky adducts)을 유도 |
| 코멧 시험 (Comet assay) | <ul style="list-style-type: none"> • 정당성이 요구됨 (돌연변이를 일으킬 가능성이 있는 DNA 손상에 선행하는 알칼리 감수성 부위 또는 가닥 절단을 형성하는 화학적 분류에 특이적인 작용기전) • 시험에 이용한 조직 / 장기 선택의 타당성 제시 |
| 기타 | <ul style="list-style-type: none"> • 설득력 있는 근거를 제시 |

* 간접적으로 작용하는(대사 활성화를 필요로 하는) 변이원성물질을 사용하는 경우, 대사산물에 의한 적절한 노출을 입증한다.

노트 4 TD₅₀으로부터 선형 외삽의 예

TD₅₀수치(중양발생률이 50%가 되는 용량이며, 발암 위해 확률이 1 : 2인 것과 동등)와 같은 설치류 발암성 데이터로부터 화합물-특이적인 섭취 허용량을 계산 할 수 있다. 100,000 중에서 1 (즉, 사용된 평생 허용 위해 수준)의 확률에 대한 선형 외삽은 TD₅₀을 50,000으로 나누어 얻어진다. 이것은 TTC의 계산에 사용되었던 방법과 유사하다.

계산 예 : 에틸렌 옥사이드

발암성 데이터 베이스에 따른 에틸렌 옥사이드의 TD₅₀은 21.3 mg/kg body weight/day(랫드) 및 63.7 mg/kg body weight/day (마우스) 이다. 섭취 허용량 계산에는, 더 낮은 랫드 값(즉, 좀 더 보수적)을 사용된다.

동물 100,000 분의 1의 비율로 중양을 일으키는 용량은 아래와 같이, 50,000으로 나누어 얻을 수 있다:

$$21.3 \text{ mg/kg} \div 50,000 = 0.42 \text{ } \mu\text{g/kg}$$

사람에 대한 1일 총 용량은 아래와 같이 얻을 수 있다:

$$0.42 \text{ } \mu\text{g/kg/day} \times 50 \text{ kg body weight} = 21.3 \text{ } \mu\text{g/person/day}$$

이와 같이, 평생에 걸친 에틸렌 옥사이드의 1일 당 섭취량 21.3 μg 은 이론상의 발암 위해 10⁻⁵에 해당하며 따라서 원료의약품 중 불순물로써 존재하는 경우에 대한 섭취 허용량이 된다.

암 위해 평가에 대한 대안적 방법 및 발표된 규제한계치

사람과의 관련성이 없는 설치류 발암성 연구들로부터 얻은 가장 보수적인 TD₅₀수치를 이용하는 대신에, 선형 외삽의 기준점(reference point)을 얻기 위한 근거로서, 사람 위해 평가와 가장 관련이 높은 발견들 (종, 장기 등)을 초기에 확인하기 위해, 이용 가능한 발암성 데이터의 면밀한 독성학적 전문가 평가가 행해질 수 있다. 또한, 용량-반응 곡선 형태를 직접적으로 고려하기 위해, 발암성에 대한 수치적 지표로서 TD₅₀ 대신에 BMDL10(benchmark dose lower confidence limit 10%, 설치류에서 10 % 이하의 암 발생을 일으키는 95 % 신뢰도를 가진 가장 낮은 용량 추정치)과 같은 벤치마크 용량(benchmark dose)을 사용할 수 있다. 그러면, 100,000 중 1의 확률 (즉, 사용된 평생 허용 위해 수준)로의 선형 외삽은 단순히 BMDL10을 10,000으로 나누어 얻어질 수 있다.

또한, 화합물-특이적인 섭취 허용량은 적절한 평생 위해 수준 10⁻⁵을 사용하여 세계보건기구(WHO, 화학적 안전에 관한 국제적 프로그램 [International Program on Chemical Safety, IPCS] 암 위해 평가 프로그램) 등과 같은 국제적으로 인정된 기관에서 권장하는 수치로부터 얻어질 수 있다. 일반적으로, 적용되는 규제 한계는 최신 과학으로 뒷받침되는 데이터 및/혹은 방법론에 근거한다.

노트 5 변이원성 불순물에 대한 화합물-특이적인 섭취 허용량 계산은, 화학적으로 정의된 알려진 발암 물질의 클래스와 구조적으로 유사한 변이원성 불순물(발암성 데이터 없이)을 적용할 수 있다. 예를 들어, 단일 작용기(monofunctional) 염화알킬의 발암성과 관련된 인자는 알려져 있고, 이 인자는 의약품 합성에 자주 사용되는 염화알킬 그룹인 단일 작용기(monofunctional) 염화알킬의 안전한 섭취 허용량을 수정하기 위해 사용할 수 있다. 다작용기(multifunctional) 염화알킬과 비교하여, 단일 작용기(monofunctional) 화합물은 극히 약한 발암물질이며, TD₅₀ 값은 36~1810 mg/kg/day(n = 15, 두 개의 뚜렷하게 다른 관능기 그룹을 갖는 에피클로로 히드린은 제외됨) 범위이다. 그러므로, 36mg/kg/day의 TD₅₀ 값은 단일 작용기(monofunctional) 염화알킬에 대한 섭취허용량 계산에 있어, 여전히 매우 보수적인 클래스-특이적인 발암성 기준점(reference point)으로 사용할 수 있다. 이 발암 수준은 기본 값인 평생 TTC (1.5 µg/day)에 해당하는 TD₅₀, 1.25mg/kg/day보다 최소 10배 이상 낮으며, 따라서 단일 작용기 염화알킬의 평생 및 평생보다 짧은 기간(less than lifetime) 1일 섭취량을 기본값의 10배로 하는 것을 정당화한다.

노트 6 의약품 중의 변이원성 불순물에 대한 평생보다 짧은 기간(less than lifetime) 섭취 허용량의 설정에 있어 임상 개발에서 단계적 TTC 한계를 설정한 전례가 있다.

평생보다 짧은 기간(less than lifetime) 섭취허용량 (AI)은 독성학의 기본 개념인 Haber 법칙에 따라 농도 (C) x 시간 (T) = 상수 (k)를 전제로 한다. 그러므로, 발암성은 투여량과 노출 기간 모두에 근거한다.

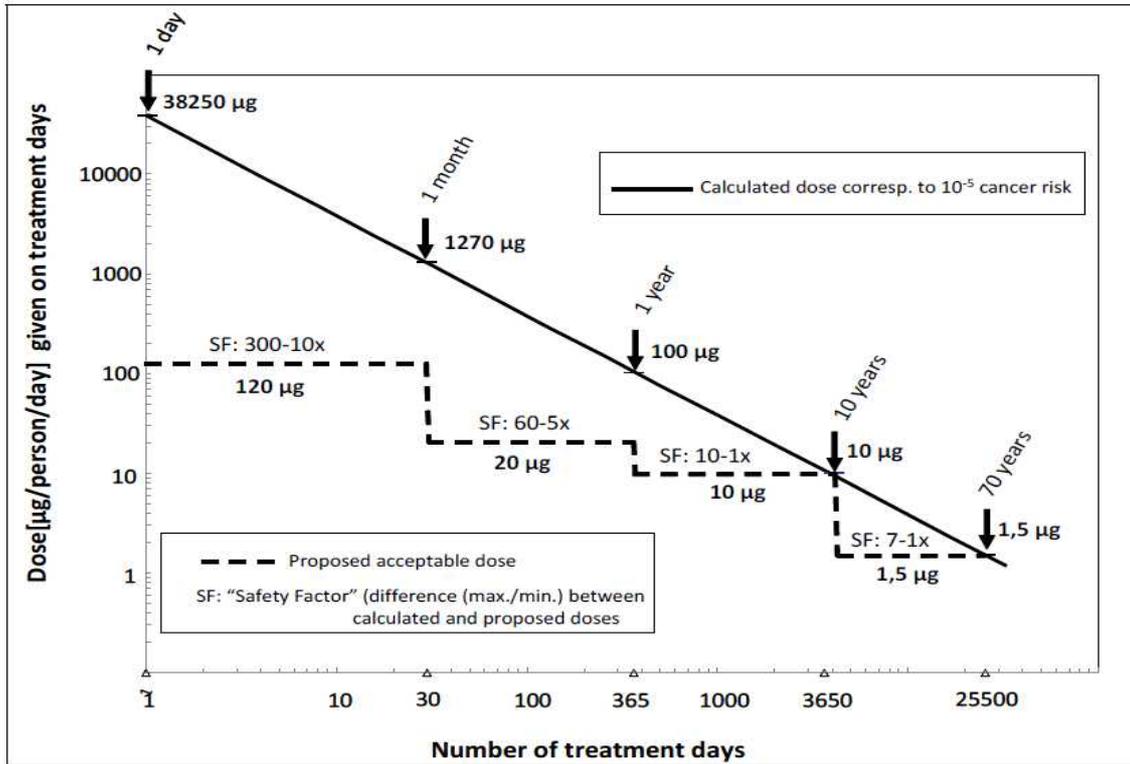


그림 1 : 7.3 항에서 제시한 섭취 허용량과 비교하여 투여기간의 함수로 계산된 이론상 100,000분의 1의 발암 위해에 해당하는 변이원성불순물의 양

그림 1의 실선은 발암 위해 10^{-5} 에 상응하는 변이원성 불순물의 1일 섭취량과 치료 일수 사이의 선형 관계를 나타낸다. 이 가이드라인에서 적용한 계산 값은, 평생치료에 대해 적용하는 TTC 수치($1.5\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$)에 근거하여, 다음의 공식을 이용하여 계산되었다.

$$\text{평생보다 짧은 기간 섭취허용량(AI)} = \frac{1.5\mu\text{g} \times (365\text{일} \times 70\text{년 평생} = 25,550)}{\text{총 치료 일수}}$$

계산된 1일 섭취량은 투여 기간 70 년에 대해 $1.5\mu\text{g}$, 10 년에 대해 $10\mu\text{g}$, 1 년에 대해 $100\mu\text{g}$, 1 개월에 대해 $1270\mu\text{g}$ 이고, 단회 투여로서 약 38.3mg 이며, 모두 누적 섭취량은 동일하다. 따라서 이론상 발암 위해는 동일하다 (1 : 100,000).

점선 계단형 곡선은 임상 개발 및 시판 의약품에 대해 이 가이드라인의 7항에서 권고한

바와 같이, 평생보다 짧은 기간 노출로써 조정된 실제 1일 섭취량 수준을 나타낸다. 제안된 이러한 수준은 보통 계산된 값보다 유의하게 낮으며, 투여 기간이 짧을수록 안전 계수 (safety factor)는 증가하게 된다.

또한, 제안된 1일 섭취 허용량은 투여 기간이 6개월* 이하이면 발암 위해 10^{-6} 에 적합하므로, 아직 이익(benefit)이 확립되지 않은 피험자/환자를 대상으로 하는 초기 임상 시험에 적용할 수 있다. 이러한 경우에 그림에서 제시된 바와 같이 안전 계수는 10분의 1 수준으로 낮아질 것이다.

노트 7 표 4 : 허용한도를 적용하기 위한 다른 투여기간을 가진 의약품의 임상사용 시나리오 예시

| 시나리오 ¹ | 섭취 허용량 (µg/일) |
|--|---------------|
| 투여기간 ≤ 1달 예, 비상시에 사용하는 의약품(해독제, 마취제, 급성 허혈성 뇌졸중), 광선 각화증 치료, 머리이 치료 | 120 |
| 투여기간 > 1 - 12달 예, 최대 12개월까지 투여되는 감염 치료제(C형 간염), 정맥영양주사제, 독감치료제(~5 개월), 소화성 궤양치료제, 불임치료를 위한 보조 생식기술(Assisted Reproductive Technology, ART), 조산, 임신중독, 수술(자궁절제술) 전 치료, 골절 치료(급성 사용해야 하지만 긴 반감기를 가진 의약품의 경우) | 20 |
| 투여기간 > 1 - 10년 예, 짧은 수명이 예상되는 질병(심각한 알츠하이머), 장기 생존 환자 집단에서 사용되는 비-유전독성 항암제 치료(유방암, 만성 골수성 백혈병), 특히 10년 미만 사용으로 표지된 의약품, 간헐적으로 투여되어 급성 반복증상을 치료하는 의약품 ² (만성포진, 통풍, 금연 보조제와 같은 물질의존성), 황반변성 | 10 |
| 투여기간 > 10년 ~ 평생 예, 폭 넓은 연령 범위에서 평생 사용할 가능성이 높은 만성 사용 질환(고혈압, 이상지질혈증, 천식, 알츠하이머(중증 알츠하이머질환 제외), 호르몬요법(성장 호르몬, 갑상선 호르몬, 부갑상선 호르몬), 지방이 영양증, 정신분열증, 우울증, 건선, 아토피 피부염, 만성 폐쇄성 폐질환 | 1.5 |

| | |
|--|--|
| 환, 낭포성 섬유증, 계절성 및 통년성 알레르기성 비염, 에이즈 ³ | |
|--|--|

¹ 이 표는 일반적인 예를 제시한다; 각 예시는 사례별로 조사한다. 예를 들면 중증 알츠하이머의 경우, 10년 넘게 약물이 사용될 수 있지만 예상 수명이 한정된 환자의 경우 10µg/day도 허용 가능하다.

² 10년을 초과한 기간에 걸쳐 간헐적으로 투여되지만, 계산된 누적 투여를 근거로 투여기간 > 1-10년 범주에 포함될 수 있다.

³ HIV 질환의 임상 치료 발전으로 인해 투여기간이 > 10년 ~ 평생으로 변경되었으며, Q&A를 참고한다.

용어 해설

섭취 허용량 (AI) (Acceptable intake):

이 가이드라인에서는, 실질적으로 발암 위험이 없는 섭취량 수준을 의미함.

허용 한계 (Acceptable limits):

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

판정 기준 (Acceptance criterion):

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

관리 전략 (Control strategy):

제품 및 제조 공정에 대한 최선의 이해에 기반을 두고, 제조 공정 수행과 품질의 확보를 위하여 행하는 일련의 계획된 관리 활동들. 관리는 원료의약품 및 완제의약품 재료와 관련된 변수 및 특성 요소, 시설 및 설비의 운전 조건, 공정 중 관리, 최종 제품 규격, 그리고 모니터링 및 관리에 관련된 방법과 주기를 포함할 수 있다.

누적 섭취량 (Cumulative intake):

시간 경과에 따라 사람이 노출되는 물질의 총 섭취량

분해 산물 (Degradation product):

ICH Q3B에서 정의되어 있는 분해 생성물

DNA-반응성 (DNA-reactive):

DNA 와의 화학 반응을 통해 DNA에 직접 손상을 유도할 가능성이 있는 물질

전문가 지식 (Expert knowledge):

이 가이드라인에서 전문가 지식은, 변이원성에 관한 컴퓨터를 활용한(in silico) 모델 예측의 정확성을 기존 데이터와 기타 관련 정보를 이용하여 평가하는 것을 일반화하여 말한다.

유전 독성 (Genotoxicity):

유발 기전에 관계없이 유전물질에서 발생한 모든 유해한 변화를 포괄하는 용어

불순물 (Impurity):

원료의약품 또는 완제의약품에서 주성분 또는 첨가제가 아닌 다른 구성요소

변이원성 불순물 (mutagenic impurity):

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

주기적 (검증) 검사 (Periodic verification testing):

ICH Q6A에서는 주기적 검사 혹은 스킵 테스트라고도 함.

(Q)SAR 및 SAR:

이 가이드라인에서는, 실험 데이터에서 얻은 (정량적)구조-활성 관계를 이용한 변이원성과 화합물의 분자(부분) 구조사이의 상관관계를 말한다.

퍼지 인자 (제거 인자) (Purge factor):

퍼지(purge)는 어떤 공정이 불순물의 양을 낮추는 능력을 나타내며, 퍼지 인자는 공정의 상위 지점의 불순물 양을 하위 지점의 불순물 양으로 나눈 값으로 정의 된다. 퍼지 인자는 측정하거나 예측할 수 있다.

경고구조(Structural alert):

이 가이드라인에서는, 변이원성과 관련된 화학 물질군 또는 분자(부분) 구조를 의미함.

부록

부록 1 : 가이드라인 적용을 위한 시나리오

| 시나리오 | 원료의약품에 대한 적용 | 완제의약품에 대한 적용 | 비고 |
|--|--------------|--------------|--|
| 새로운 원료의약품 및 관련 완제의약품 허가 신청 | ○ | ○ | 가이드라인 적용 범위 |
| 새로운 원료의약품 및 관련 완제의약품 임상 신청 | ○ | ○ | 가이드라인 적용 범위 |
| ICH S9에 따른 새로운 원료의약품 및 항암제의 임상 신청 | X | X | 가이드라인 제외 범위 |
| 새로운 원료의약품을 사용한 희귀의약품에 대한 임상 신청 | ○ | ○ | 사례별로 불순물의 높은 허용한도를 예외적으로 적용 가능 |
| 기 사용 중이며, 제조공정에 변화가 없는 원료의약품을 이용한 새로운 완제의약품의 임상 신청 | X | ○ | 합성과정 중의 변화가 없다면 시판의약품에 본 가이드라인을 회고적으로 적용하지 않음. 제조공정 변화가 없으므로 원료의약품에 적용하지 않음. 완제의약품은 새로운 신청이므로 가이드라인 적용 |
| 이미 승인된 원료의약품에 대한 새로운 조성을 가진 의약품 허가 신청 | X | ○ | 4.2 항 참조 |
| ICH 회원국가에서 이미 승인 받은 의약품이나, 다른 국가에서 최초로 허가 신청(의약품은 변경 없음) | ○ | ○ | 상호 인정 조항이 없으므로, 각 국가에서 새로운 허가 신청으로 간주 |
| 원료의약품의 새로운 공급자 또는 새로운 사이트 등록 신청(이미 등록된 신청과 제조방법 변경 없음) | X | X | 원료의약품 합성공정이 이미 승인받은 방법과 동일한 경우, 유전독성 불순물 재평가 및 위해평가는 필요하지 않음. |

| | | | |
|--|---------------------------------------|---|--|
| | | | 신청사는 이미 승인 받은 제조방법과 변경이 없음을 입증하여야 함 (4.1항 참조) |
| 진행성 암치료제로 이미 허가받은(본 가이드라인 발행 이후, ICH S9를 고려하여 높은 기준을 적용 받은 경우) 의약품이 사망 위험이 적은 효능으로 새로운 허가 신청 | ○ | ○ | 환자군과 허용 가능한 발암 위험이 변경되었으므로, 이전에 승인 받은 불순물 관리전략 및 한도는 재평가가 필요함(4.3항 참조) |
| 새로운 원료의약품과 기 사용 원료의약품으로 만든 새로운 복합제 허가 신청 | ○ (새로운 원료의약품) X (기 사용 원료의약품) | ○ | 본 가이드라인은 새로운 원료의약품에 적용하며, 기 사용 원료의약품에 회고적으로 적용하지 않음. 완제의약품은 새로운 의약품으로 분류되므로 분해산물 기준을 새로 신설하거나 높은 수준으로 설정할 수 있음 |

부록 2 : 예상되는 관리방식 사례 예시

사례 1 : 옵션 3 관리 전략

중간체 X는 원료의약품 합성 2 단계 이전에 형성되고, 불순물 A는 중간체 X에서 일반적으로 검출된다. 불순물 A는 안정한 화합물이며 원료의약품까지 이행된다. 중간체 X에 다른 농도의 불순물 A를 스파이킹한 시험을 실험실 스케일에서 수행하였다. 시험결과, 중간체 X에 불순물 A가 1% 존재하는 경우, 원료의약품의 TTC 기반 한도의 30% 이하 수준으로 일관성 있게 제거되었다. 중간체 X는 원료의약품 2단계 이전에서 형성되고, 중간체 X 중 불순물 A 수준은 비교적 높았으므로, 공정의 제거 능력이 여러 파일럿 배치 원료의약품에서 추가적으로 확인되었고, 그 결과 TTC 기반 한도의 30% 이하였다. 그러므로, 중간체 X 중 1.0%의 허용 한도가 설정된 불순물 A 관리는 타당하며, 원료의약품 규격에서 이 불순물에 대한 시험을 실시하는 것이 보증된다.

사례 2 : 옵션 3 관리 전략 - 표준 분석방법을 사용한 스파이킹 시험으로부터 예측된 제거에 기반한 관리 방법

출발물질 Y는 5단계 합성과정 중 3단계에서 투입되며, 불순물 B는 일반적으로 표준 분석방법을 사용하였을 때 출발물질 Y에서 0.1% 수준으로 검출되었다. 출발물질에서 0.1% 기준 설정이 타당한지를 확인하기 위해서, 퍼지 시험(purge study)이 실험실 규모에서 수행되어 출발물질 Y에 10% 범위까지 다른 농도의 불순물 B를 스파이킹하였고, 퍼지 인자는 마지막 3 단계 합성 단계를 거치는 동안 500배 이상으로 확인되었다. 출발물질 Y에서의 기준 0.1%에 이 퍼지 인자를 적용하면, 원료의약품에서 불순물 B의 수준은 2ppm 이하일 것으로 예측된다. 이 수치는 원료의약품에서 TTC 기반의 불순물 B의 한도인 50ppm 보다 더 작으므로, 파일럿 배치 또는 실생산 배치의 원료의약품 데이터를 제공하지 않더라도 출발물질 Y에서 불순물 B를 0.1% 규격으로 관리하는 것이 타당한 것으로 입증된다.

사례 3 : 옵션 2 및 옵션 4 관리 전략 - 구조적으로 유사한 변이원성 불순물의 관리

5단계 합성과정 중 1 단계 중간체는 nitroaromatic 화합물로서, 1 단계 중간체의 positional 이성체이며 nitroaromatic 화합물인 미량의 불순물 C를 포함한다. 일반적인 분석방법으로 1 단계 중간체에서 불순물 C는 검출되지 않으며, 미량 존재할 것으로 생각된다. 1 단계 중간체는 박테리아 변이원성 시험 양성이다. 2단계

수소화 반응(hydrogenation reaction) 결과 1단계 중간체 99%가 대응되는 aromatic 화합물로 전환된다. 이것은 공정 중 검사를 통해 확인된다. 잔류하는 1단계 nitroaromatic 중간체에 대한 제거 평가가 수행되었고, 이어지는 3단계, 4단계 공정 중 제거 반응을 근거로 높은 퍼지 인자가 예측되었다. 5단계 공정을 통한 제거는 예상되지 않으며, 4단계 중간체에서 1단계 중간체에 대한 기준을 TTC 수준으로 확립하였다(옵션 2 관리 방식). positional 이성체인 불순물 C는 1단계 중간체와 동일한 제거반응을 거쳐 제거될 것으로 예상되고, 항상 1단계 중간체보다 훨씬 낮은 수치일 것이므로 시험은 요구되지 않으며, 불순물 C에 대한 옵션 4 관리 전략은 추가적인 실험실 또는 파일럿 규모 데이터의 필요 없이 타당할 것이다.

사례 4 : 옵션 4 관리 전략 - 높은 반응성을 가진 불순물

염화티오닐은 높은 반응성 물질로서 변이원성이다. 이 시약은 5단계 합성과정 중 1단계에서 투입된다. 합성과정 중 여러 포인트에서, 아주 많은 양의 물이 사용된다. 염화티오닐은 물과 즉시 반응하므로, 원료의약품에서 염화티오닐이 잔류할 가능성은 없다. 옵션 4 관리 방식은 실험실 또는 파일럿 데이터 필요 없이 적절하다.

부록 3 : ICH M7 부록

화합물 특이적 섭취 허용량 산출 시 ICH M7 가이드라인 원칙 적용

목 차

| | |
|--|-----|
| 약어 목록 | 33 |
| 서론 | 36 |
| 방법 | 37 |
| 섭취 허용량(AIs) 또는 1일 노출 허용량(PDEs) | 43 |
| 아세트알데히드(CAS# 75-07-0) | 46 |
| 아크릴로니트릴(CAS# 107-13-1) | 54 |
| 아닐린(CAS# 62-53-3), 아닐린염산염(CAS# 142-04-1) | 61 |
| 염화벤질(α -클로로톨루엔, CAS# 100-44-7) | 69 |
| 비스(클로로에틸)에테르 (BCME, CAS# 542-88-1) | 76 |
| <i>p</i> -클로로아닐린 (CAS# 106-47-8), <i>p</i> -클로로아닐린 HCl (CAS# 20265-96-7) | 80 |
| 1-클로로-4-니트로벤젠(para-클로로니트로벤젠, CAS# 100-00-5) | 86 |
| <i>p</i> -크레시딘(2-메틸-5-메틸아닐린, CAS# 120-71-8) | 92 |
| 1,2-디브로모에탄(CAS# 106-93-4) | 97 |
| 염화디메틸카르바밀(CAS# 79-44-7) | 103 |
| 디메틸황산(CAS# 77-78-1) | 108 |
| 에피클로로히드린(CAS# 106-89-8) | 112 |
| 브롬화에틸(브로모에탄, CAS# 74-96-4) | 117 |
| 염화에틸(클로로에탄, CAS# 75-00-3) | 121 |
| 포름알데히드(CAS# 50-00-0) | 124 |
| 글리시돌(CAS# 556-52-5) | 136 |
| 히드라진(CAS# 302-01-2) | 140 |
| 과산화수소(CAS# 7722-84-1) | 147 |
| 염화메틸(클로로메탄, CAS# 74-87-3) | 154 |
| 스타이렌(CAS# 100-42-5) | 158 |
| 아세트산비닐(CAS# 108-05-4) | 167 |
| 노트 1 | 176 |
| 노트 2 | 178 |

| | |
|------------|-----|
| 노트 3 | 181 |
| 노트 4 | 182 |
| 노트 5 | 184 |

약어 목록

| | | |
|-------|---|-------------------------|
| AI | Acceptable Intakes | 섭취허용량 |
| ACGIH | American Conference of Governmental Industrial Hygienists | 미국 산업위생전문가협회 |
| API | Active Pharmaceutical Ingredient | 원료의약품 |
| ATSDR | Agency for Toxic Substances & Disease Registry | 독성물질 질병등록국 |
| BC | Benzyl Chloride | 염화벤질 |
| BCME | Bis(chloromethyl)ether | 비스(클로로메틸)에테르 |
| BUA | Biodegradable in water Under Aerobic conditions | 호기성 조건 하에서 물에서 생분해가 가능한 |
| CAC | Cancer Assessment Committee | 암평가위원회 |
| CCRIS | Chemical Carcinogenesis Research Information System | 화학적 발암성 연구정보 시스템 |
| CHL | Chinese Hamster Lung fibroblast cell line | 중국 햄스터 폐 섬유아 세포주 |
| CICAD | Concise International Chemical Assessment Document | 국제화학물질평가문서 |
| CIIT | Chemical Industry Institute of Toxicology | 미국 산업화학독성연구소 |
| CNS | Central Nervous System | 중추신경계 |
| CPDB | Carcinogenicity Potency Database | 발암성 활성 데이터베이스 |
| CYP | Cytochrome P-450 | 시토크롬 P-450 |
| DMCC | Dimethylcarbamyl Chloride | 염화디메틸카르바밀 |
| DMS | Dimethyl Sulfate | 황산디메틸 |
| DNA | Deoxyribose Nucleic Acid | 디옥시리보오스핵산 |
| DP | Drug Product | 완제의약품 |
| EC | European Commission | 유럽위원회 |
| ECHA | European Chemical Agency | 유럽화학물질청 |
| EFSA | European Food Safety Authority | 유럽식품안전청 |
| EMA | European Medicines Agency | 유럽의약품청 |
| EPA | Environmental Protection Agency | 미국환경보호청 |
| EU | European Union | 유럽연합 |
| FDA | Food and Drug Administration | 미국식품의약품 |

| | | |
|-------|--|---|
| GRAS | Generally Recognised As Safe | 일반적으로 안전하다고 인정되는 물질 |
| HSDB | Hazardous Substance Database | 유해물질 데이터베이스 |
| IARC | International Agency for Research on Cancer | 국제암연구소 |
| I.P. | Intraperitoneal | 복강 |
| IPCS | International Program on Chemical Safety | 국제화학물질안전계획 |
| IRIS | Integrated Risk Information System | 통합위해성정보시스템 |
| JETOC | Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & information Center | 일본 화학산업생태-독성 및 정보센터 |
| JRC | Joint Research Centre | 공동연구개발센터 |
| LOAEL | Lowest Observed Adverse Effect Level | 최소유해용량 |
| MTD | Maximum Tolerated Dose | 최대내약용량 |
| NA | Not applicable | 적용대상 아님 |
| NC | Not calculated as individual tumor type incidences not provided in WHO, 2002 | 2002년 WHO에서 미제공하여 개별 종양 유형 발병률로 계산되지 않음 |
| NCI | National Cancer Institute | 국립암연구소 |
| NOAEL | No Observed Adverse Effect Level | 최대무독성용량 |
| NOEL | No Observed Effect Level | 최대무작용량 |
| NSRL | No Significant Risk Level | 무해기준 |
| NTP | National Toxicology Program | 국립독성프로그램 |
| OECD | Organisation for Economic Cooperation and Development | 경제협력개발기구 |
| OSHA | Occupational Safety and Health Administration | 미국 산업안전보건청 |
| PCE | Polychromatic Erythrocytes | 다염성적혈구 |
| PDE | Permissible Daily Exposure | 1일 노출 허용량 |
| RfC | Reference Concentration | 독성참고치 |
| ROS | Reactive Oxygen Species | 활성산소종 |
| SCCP | Scientific Committee on Consumer Products | 소비자제품과학위원회 |
| SCCS | Scientific Committee on Consumer Safety | 소비자안전과학위원회 |

| | | |
|------------------|---|--------------------|
| SCE | Sister Chromatid Exchanges | 자매 염색분체 교환 |
| SIDS | Screening Information Dataset | 대량생산화학물질 위해평가사업 |
| TBA | Tumor Bearing Animal | 종양동물 |
| TD ₅₀ | 대조 동물의 종양 유형의 발생 빈도를 고려하여 해당 종에서 표준 수명 종료 시 동물 절반에서 종양을 유발할 수 있는 체중/일, mg/kg 기준의 만성 용량-비율 | |
| TDI | Tolerable Daily Intake | 일일 허용섭취량 |
| TTC -based | Threshold of Toxicological Concern-based | 독성학적 역치 기반 |
| UDS | Unscheduled DNA Synthesis | 무계획 DNA 합성 |
| UNEP | United Nations Environmental Programme | 유럽연합환경계획 |
| US EPA | United States Environmental Protection Agency | 미국환경보호국 |
| WHO | World Health Organization | 세계보건기구 |

서론

ICH M7 가이드라인은 발암성 양성 데이터를 가진 변이원성 불순물의 섭취 허용량(AI) 산출에 대해 논의하였으며 7.2.1항에 다음과 같이 서술되어 있다: “충분한 발암성 데이터가 존재하는 경우에는 TTC에 기반한 섭취 허용량 대신, 화합물 특이적인 위해 평가에 기반한 섭취 허용량 계산을 적용한다. 변이원성과 발암성이 확인된 물질에 대해서는 발암성 강도와 선형 외삽에 근거한 계산을 기본 방법으로 화합물 특이적 섭취 허용량을 산출할 수 있다. 혹은 국제적인 규제 기관에서 사용되는 다른 확립된 위해 평가 기법을 이용해 섭취 허용량을 산출하거나 또는 규제당국이 인정한 기존 값을 사용하여도 좋다”

이 부록에서는 변이원성과 발암성물질로 간주되며 의약품 제조 시 널리 사용되거나 ICH M7에 기술된 화합물 특이적 섭취량 산출 원칙을 설명하는데 유용한 화합물의 섭취 허용량(AI) 또는 1일 노출 허용량(PDE)을 산출하였다.²⁾ 이런 변이원성 작용기전 가능성이 있는 발암성물질에 대한 섭취 허용량(AI) 산출 시 사용된 1차 방법은 ICH M7의 산출된 암 발생 추정치인 TD₅₀으로부터 선형 외삽하는 “기본 방법(default approach)”이다. 몇몇 변이원성과 발암성이 확인된 화합물(클래스 1)은 비변이원성 작용기전을 통해 종양을 유발할 수도 있다. 따라서 화합물 특이적 섭취량을 산출하는 다른 방법(예, PDE 아래 참조)을 강조하기 위한 화합물도 추가되어 있다. 아닐린 등의 경우 역사적으로 유전독성 발암 물질로 인식되었기 때문에 비변이원성을 나타내는 데이터가 존재하더라도 포함하였다.

ICH M7 가이드라인 7.2.2항에 다음과 같이 서술되어 있다: “DNA 이외의 표적과 상호 작용하는 화합물뿐만 아니라, DNA와 직접 반응하는 화합물에서도 용량반응 관계가 비선형 또는 실행 역치를 가지는 작용기전의 존재가 점차 인식되어 가고 있다. 그 작용은 DNA와의 접촉 이전 신속한 해독 작용과 유도된 손상의 효과적인 복구 등에 의해 조절될 가능성이 있다. 이들 화합물은 데이터가 있는 경우에는 1일 노출 허용량(PDE)을 계산하기 위해 최대 무작용량 (NOEL: no-observed effect level)의 확인 및 불확실성 계수 (ICH Q3C(R5))를 사용하는 것으로, 규제상의 대응을 할 수 있다.”

이 부록에는 일부 클래스 1 화학물질에 대한 작용기전 평가를 설명하기 위하여 ICH Q3C(R5)(참고 1)에 기술된 불확실성 계수를 사용하여 산출한 1일 노출 허용량(PDE)의 예시도 포함되어 있다. 이런 화합물에는 산화 스트레스를 야기하는 과산화수소, 메트헤모글로빈혈증으로 인한 헤모시데린증(hemosiderosis)으로 종양을 유발하는 아닐린

2) 일부 화학물질은 대부분 합성 경로 단계 중 효율적인 제거가 가능한 화학물질의 특성(화학 반응성, 용해도, 휘발성, 이온화능력 등)을 가지고 있어 섭취 허용량 기반 기준 설정이 일반적으로 필요하지 않다.

등이 있다.

이 부록에 제시된 섭취 허용량(AI) 또는 1일 노출 허용량(PDE) 값은 발암성 위해와 관련이 있다는 점이 강조된다. 품질 기준 등 다른 고려사항이 완제품 규격에 영향을 줄 수 있다. 예를 들어 ICH M7 가이드라인 7.2.2항에서 화합물 특이적 위해 평가를 통해 섭취 허용량을 산출할 때 상한선은 0.5%(1일 최대 투여량이 100mg인 의약품의 경우 500 μ g)일 것이다.

방법

이 부록에서는 일반적으로 문헌 검토, 암 발생 추정치를 선택[CPDB(Carcinogenicity Potency Database)(참고 2)에서 얻거나 CPDB와 동일한 방법을 사용하여 수행한 시험을 통해 계산한 TD_{50}]하여 최종적으로 적절하게 산출한 섭취 허용량(AI), 역치 작용 기전에 대한 충분한 증거가 있는 1일 노출 허용량(PDE)(3항 참고)을 통해 섭취 허용량을 산출하였다.

문헌 검토는 일반적인 노출(식품, 물, 공기 등), 변이원성/유전독성, 발암성 관련 데이터에 중점을 두었다. ICH M7의 DNA 반응성 변이원성 설명을 기반으로, 표준 박테리아 복귀돌연변이시험(Ames 시험)의 결과를 화학물질의 변이원성을 판단하는 주요 기준으로 사용하였다. 생체 내(*in vivo*) 데이터 등 다른 유전독성 데이터도 종양 유발 작용기전 가능성 평가 시 고려하였다. 화합물 특이적 평가 시 국가 또는 국제 규제기관(예, 미국환경보호국(EPA), 미국식품의약국(FDA), 유럽의약품청(EMA), 유럽화학물질청(ECHA), 세계보건기구(WHO) 등)의 허용 노출 수준도 포함된다. 급성, 반복투여, 생식, 신경, 발달 시험의 독성 정보는 자극/염증 또는 메트헤모글로빈혈증 등의 발암성 전구체 발생으로 관찰되는 변화를 제외하고 심도있는 검토가 이루어지지 않았다.

1. 표준방법

1.1 선형 작용 기전 및 AI 계산

ICH M7 노트 4에는 다음과 같이 서술되어 있다: “ TD_{50} 수치(중양발생률이 50%가 되는 용량이며, 발암 위해 확률이 1 : 2인 것과 동등)와 같은 설치류 발암성 데이터로부터 화합물-특이적인 섭취 허용량을 계산 할 수 있다. 100,000 중에서 1 (즉, 사용된 평생 허용 위해 수준)의 확률에 대한 선형 외삽은 TD_{50} 을 50,000으로 나누어 얻어진다. 이것은 TTC의 계산에 사용되었던 방법과 유사하다.”

따라서 “역치 메커니즘(threshold mechanism)” 이 확립되지 않은 즉, 비선형 용량-반응 곡선 결과로 이어지는 작용 기전에 대한 정보가 없는 Class 1 불순물(변이원성 발암물질로 알려진)에 대하여 TD₅₀ 값을 통한 선형 외삽 방법을 사용하였다. 많은 경우, 발암성 데이터는 CPDB에서 활용할 수 있었고 결과는 발암성 연구 보고서 원 저자들의 의견(CPDB 중 저자 의견) 또는 CPDB에 제공된 통계적 분석 결론을 기반으로 하였다. 선정된 화학물질의 미리 계산된 TD₅₀ 값이 CPDB에 있을 경우, AI를 계산하는 데 사용하였으며 관련 발암성 자료를 재분석 하지 않았으며 TD₅₀ 값도 재계산하지 않았다.

견고한 데이터를 CPDB가 아닌 문헌에서 찾을 수 있는 경우 TD₅₀은 CPDB(참고 3) 명시된 방법을 기반으로 계산하였다. 용량 계산을 위한 동물 체중, 호흡량, 수분 소비량 추정치는 ICH Q3C, ICH Q3D(참고 1, 4)를 참고하였다.

1.2 연구 선정

시험 동물의 노출 기간이 평생에서 차지하는 비율 등을 포함하는 CPDB 기준을 적용하더라도 CPDB의 연구 품질은 다양하다. 이 부록의 목적에 따라 연구 품질이 낮은 경우에는 추가 기준을 적용하였다. 이 부록에서는 정의된 품질이 더 낮은 연구는 다음 시나리오 중 1개 또는 그 이상에 부합하는 경우이다:

- 성별, 용량 당 50 개체 미만
- 3가지 용량 미만
- 동시 대조군 부재
- 간헐적인 투여 (주 5회 미만)
- 평생 보다 낮은 용량

가장 견고한 연구는 일반적으로 한계값을 산출하는 데 사용하였다. 그러나 위의 기준을 모두 충족하지 못한 연구라도 일부의 경우, 연구의 다른 부분이 견고할 때 AI 산출에 적절하다고 여겨졌다. 예를 들어, 염화벤질의 경우 국립독성프로그램(NTP) 또는 ICH S1C(R2)(참고 5)에 정의된 최대내약용량(MTD) 같이 더 높은 용량에 견딜 수 없다는 증거가 있기 때문에 주 3회 투여한 연구 결과를 사용하였다. 염화벤질의 경우 활성은 계산할 때 중간 또는 평생 용량보다 낮은 용량을 사용한다. 예를 들어, CPDB의 일일용량은 연구자료를 토대로 조정된 추정값이다. 즉, 주 3회 투여 시 일일용량에 3/7을 곱하여 평균 일일용량을 계산하고, 만약 24개월 미만 동안 투여한 경우 비교하여 조정한다. TD₅₀이 10만 분의 1의 발암 가능성을 외삽한 매우 보수적인 값을 고려하여 더 이상 충분한 자료가 없는 경우 때때로 덜 견고한 자료를 사용하였다. 이런 경우, 화합물 특이적 평가에 권고된 방법의 기본을 뒷받침하는 근거를 제공하였다.

1.3 종양 및 부위 선택

동물의 종과 성별에 대한 특정 장기의 최저 TD₅₀은 가장 견고한 연구 결과에서 선택하였다. 연구가 1개 이상인 경우, CPDB에서는 계산된 조화평균 TD₅₀를 제공하지만 이 부록에서는 더 보수적인 최저 TD₅₀를 사용하였다. CPDB에서는 “모든 종양 동물(Tumor Bearing Animals, TBA)” 자료는 TD₅₀ 선정 시 고려하지 않았지만, 한 장기(예. 간)에 종양 종류가 혼합된 경우(선종 및 암종)는 때때로 더 민감한 활성 추정값이므로 적절한 경우 사용하였다.

1.4 투여경로

ICH M7 7.5항: “7항에 기술된 위해 접근방식은 모든 투여 경로에 적용 가능하며, 일반적으로 섭취 허용량에 대한 보정은 필요 없다. 그러나 투여 경로 특이적인 우려가 발생할 수 있는 상황에서는 이러한 우려에 대해 사례별로 평가할 필요가 있다.”

이 부록에서 견고한 자료가 1개 이상의 투여경로에 대한 발암성 연구이며 종양 부위가 투여경로에 특이적이지 않은 경우, 가장 낮은 TD₅₀를 AI 계산을 위해 사용하였고 이는 모든 투여경로에 적합한 것으로 여겨진다. 예외사항은 사례별로 다를 필요가 있다. 예를 들어, 접촉 부위에 영향이 있는 발암물질의 경우, 투여경로 특이적인 AI 또는 PDE가 필요할 수 있다. 자극 등 다른 독성 역시 특정 경로에 대한 섭취 허용량을 제한할 수도 있지만 이 부록에서는 M7과 유사하게 종양형성만 고려하였다. 종양이 부위 특이적(예. 말단 부위에 종양이 없으나 호흡기에 종양을 발생시키는 흡입 노출)이거나 TD₅₀이 다른 경로보다 낮은 경우, 해당 경로에 대한 별도의 AI를 설정하였다(예. 디메틸카바모일클로라이드, 히드라진).

1.5 TD₅₀에서의 AI 계산

TD₅₀에서의 AI는 다음과 같이 계산한다(예시는 ICH M7의 노트 4 참조)

$$AI = TD_{50} / 50,000 \times 50 \text{ kg}$$

체중은 성별에 관계없이 50 kg로 한다. 상대적으로 낮은 이 체중은 이러한 계산에 종종 사용하는 60 kg 또는 70 kg의 표준 체중에 비해 추가 안전 계수를 제공한다. 일부 성인 환자의 체중은 50 kg 미만이다. 이러한 환자들은 AI 계산에 내재되어 있는 보수성에 의해 맞춰질 것으로 여겨진다(즉, 가장 민감한 장기의 독성 자료를 통한 선형 외삽).

2. AI 계산 대체법 고려

2.1 종양의 인체 관련성

ICH M7의 노트 4: “사람과의 관련성이 없는 설치류 발암성 연구들로부터 얻은 가장 보수적인 TD_{50} 수치를 이용하는 대신에, 선형 외삽의 기준점(reference point)을 얻기 위한 근거로서, 사람 위해 평가와 가장 관련이 높은 발견들 (종, 장기 등)을 초기에 확인하기 위해, 이용 가능한 발암성 데이터의 면밀한 독성학적 전문가 평가가 행해질 수 있다.”

AI 산출 시 이용 가능한 발암성 데이터의 인체 관련성을 고려하였다. 설치류에게 나타난 비선형 용량 반응에 따른 독성은 의약품 불순물의 저농도, 비독성 농도에서 인체와 관련이 없다. 예를 들어, *p*-클로로아닐린의 경우 종양이 가장 민감하게 발생하는 장기는 비장이지만 비장의 종양은 비선형 용량 반응 작용기전을 고려할 때 헤모시데린증(hemosiderosis)과 관련이 있으며 저용량에서는 헤모시데린증을 유발하지 않으므로 인체와 관련성이 없다. *p*-클로로아닐린이 유발하는 간 종양에 대한 AI값을 산출하기 위해 더 높은 TD_{50} 값을 선형 외삽에 사용하였다. 왜냐하면 간 종양에 대한 변이원성 작용 기전을 배제할 수 없기 때문이다. 인체와 관련이 없는 2차 종양은 종마다 대사작용이 다른 설치류 특이적 작용기전과 관련된 종양으로 염화메틸이 있다.

2.2 발표된 규제 한계

ICH M7의 노트 4: “화합물-특이적인 섭취 허용량은 적절한 평생 위해 수준 10^{-5} 을 사용하여 세계보건기구(WHO, 화학적 안전에 관한 국제적 프로그램 [International Program on Chemical Safety, IPCS] 압 위해 평가 프로그램) 등과 같은 국제적으로 인정된 기관에서 권장하는 수치로부터 얻어질 수 있다. 일반적으로, 적용되는 규제 한계는 최신 과학으로 뒷받침되는 데이터 및/혹은 방법론에 근거한다.”

이 부록에는 적용 가능한 규제 한계가 명시되어 있다(일반적으로 직업적 보건 한계는 지역별로 다르고 다른 위해 수준을 사용할 수 있으므로 제외함). 그러나 ICH M7의 기본 방법인 TD_{50} 에서 보수적으로 하는 선형 외삽은 일반적으로 주요 AI 산출법으로 사용되며 화합물 전반적으로 일관성을 위해 사용하였다. 압 위해 평가 방법의 사소한 차이는 상이한 권고 한계로 이어질 수 있다는 점을 인지하고 있으나(예를 들어 계산 시 체표면적 조정), 일반적으로 선형 외삽을 기본으로 하는 경우 그 차이는 미미하다.

3. 비선형(역치) 작용기전 및 PDE 계산

ICH M7 7.2.2항: “DNA 이외의 표적과 상호 작용하는 화합물뿐만 아니라, DNA와 직접 반응하는 화합물에서도 용량반응 관계가 비선형 또는 실행 역치를 가지는 작용기전의 존재가 점차 인식되어 가고 있다. 그 작용은 DNA와의 접촉 이전 신속한 해독 작용과 유도

된 손상의 효과적인 복구 등에 의해 조절될 가능성이 있다. 이들 화합물은 데이터가 있는 경우에는 1일 노출 허용량(PDE)을 계산하기 위해 최대 무작용량 (NOEL: no- observed effect level)의 확인 및 불확실성 계수 (ICH Q3C(R5))를 사용하는 것으로, 규제상의 대응을 할 수 있다.”

에틸메탄설포네이트는 시험관 내(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*) 변이원성에 대한 역치가 수립된 DNA 반응하는 화합물에 대한 예시이다(참고 6, 7). 역치가 수립되어 있는 경우 선형 외삽 대신 불확실성 계수를 사용하여 PDE값을 계산하는 것이 적절하다.

이 역치 방식은 종양 유발에 대한 비선형 용량 반응과 관련성을 기반으로 하며, 낮은 용량에서 인체 관련성이 부족한 작용기전(2.1장)을 가진 발암물질에 대한 화합물 특이적 평가에 적합한 것으로 여겨진다.

- 메트헤모글로빈혈증, 비장 등의 세포 내 헤모시데린 침전을 유발하고 이어 염증 및 종양을 발생시키는 화합물(예. 아닐린 및 관련 화합물)
이 경우 변이원성이 작용기전의 핵심이 아니라는 증거를 포함하거나(아닐린 등), *in vivo* 유전독성(예, DNA 첨가물(adducts))을 나타낸 종 또는 장기와 종양이 유발된 종 또는 장기 사이의 상관관계 부족 등
- 국소적 자극/염증과 관련된 종양(예. 설치류 전위(forestomach) 종양)을 유발하고 접촉부위 발암성을 나타내는 화합물은 의약품 내 잠재적 불순물로서 비자극적인 낮은 농도에서 인체 노출에 관련성이 있다고 고려하지 않는다(예. 염화벤질)
- 산화적 손상을 통해 작용하는 화합물의 경우 다양한 내인성 보호 기전이 있기 때문에 저용량에서는 유해한 영향이 발생하지 않는다(예. 과산화수소).

역치 작용기전이 있는 발암물질의 허용 노출 수준은 PDE로 계산하였다. PDE 방법론에 대한 추가 설명은 ICH Q3C(R5) (참고 1)와 ICH Q3D (참고 4)를 참고하면 된다.

4. 환경(예. 식이) 내 노출에 기반한 허용 한계

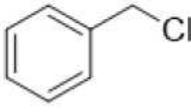
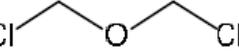
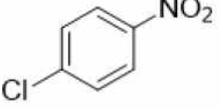
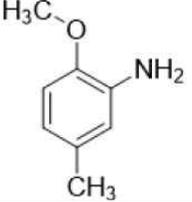
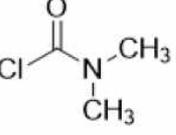
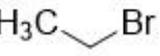
ICH M7 7.5장: “불순물이 음식과 내인성 대사(예 포름알데히드) 등 다른 기원에서 유래하여 사람에게 대한 노출량이 매우 높은 경우, 섭취 허용량을 더 높게 설정하는 것에 대해 정당화 할 수 있다.”

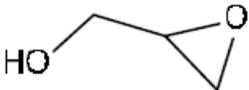
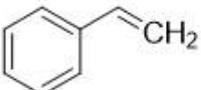
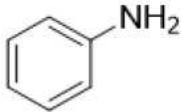
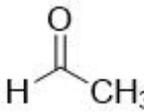
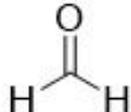
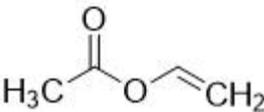
예를 들어, 포름알데히드는 경구 투여 시 발암물질이 아니기 때문에 규제 한계는 비종양 종말한계점을 기반으로 하였다. 캐나다연방보건부(Health Canada, 참고 8), 국제화학물질안전계획(IPCS, 참고 9), 미국환경보호국(EPA, 참고 10)에서 권고하는 경구 투여 용량 한계는 0.2 mg/kg/day 즉, 50kg 사람의 경우 10 mg/day이다.

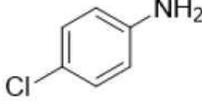
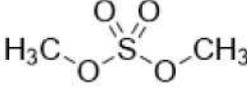
참고

1. International Conference on Harmonisation (2011). Q3C(R5): Impurities: Guideline for Residual Solvents
2. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
3. Carcinogenicity Potency Database (CPDB): [Online]. Available from: URL: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/td50.html>
4. International Conference on Harmonisation (2014). Q3D: Impurities: Guideline for Elemental Impurities
5. International Conference on Harmonisation (2008). S1C(R2): Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals
6. Müller L, Gocke E, Lave T, Pfister T. Ethyl methanesulfonate toxicity in Viracept-A comprehensive human risk assessment based on threshold data for genotoxicity. *Toxicol Lett* 2009;190:317-29.
7. Cao X, Mittelstaedt RA, Pearce MG, Allen BC, Soeteman-Hernández LG, Johnson GE, et al. Quantitative dose-response analysis of ethyl methanesulfonate genotoxicity in adult gpt-delta transgenic mice. *Environ Mol Mutagen* 2014;55:385-99.
8. Health Canada. 2001 Priority substances list assessment report: Formaldehyde. Ottawa. Ministry of Public Works and Government Services. February. [Online]. Available from: URL: http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index_e.html
9. World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2002. Concise International Chemical Assessment Document 40. Formaldehyde. [Online]. Available from: URL: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad40.pdf>
10. US Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1990; Available from: URL: <http://www.epa.gov/iris/>

섭취허용량(AD) 또는 1일 노출 허용량(PDE)

| 화합물 | CAS번호 | 화학구조 | AI/PDE (μ g/day) | 비고 |
|--------------------------|----------|---|--------------------------|-----------------------|
| TD ₅₀ 에서 선형외삽 | | | | |
| 아크릴로니트릴 | 107-13-1 |  | 6 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 염화벤질 | 100-44-7 |  | 41 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 비스(클로로메틸)에테르 | 542-88-1 |  | 0.004 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 1-클로로-4-니트로벤젠 | 100-00-5 |  | 117 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| <i>p</i> -크레시딘 | 120-71-8 |  | 45 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 1,2-디브로모에탄 | 106-93-4 |  | 2 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 염화디메틸카르바밀 | 79-44-7 |  | 5 0.6 (흡입)* | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 에피클로로히드린 | 106-89-8 |  | 3 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 브롬화에틸 | 74-96-4 |  | 32 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 염화에틸 | 75-00-3 |  | 1,810 | TD ₅₀ 선형외삽 |

| | | | | |
|--------------------|---------------------|---|--|--|
| 글리시돌 | 556-52-5 |  | 4 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 히드라진 | 302-01-2 | $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$ | 39 0.2 (흡입)* | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 염화메틸 | 74-87-3 | $\text{H}_3\text{C}-\text{Cl}$ | 1,361 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 스타이렌 | 100-42-5 |  | 154 | TD ₅₀ 선형외삽 |
| 역치 기반 PDE | | | | |
| 아닐린 아닐린HCl | 62-53-3 142-04-1 |  | 720 | 역치 작용기전 기반 PDE(혈철증) |
| 내인성 및 환경 노출 | | | | |
| 아세트알데히드 | 75-07-0 |  | 185 2,000 (경구)* | 경구 PDE는 평균 음식 섭취량 기반 기타 모든 경로는 흡입 시험의 TD ₅₀ 선형 외삽 기반 |
| 포름알데히드 | 50-00-0 |  | 10,000 8,000 또는 215ppb 중 낮은 수치 (흡입)* | 흡입 경로는 TD ₅₀ 선형 외삽법 또는 국소 자극 기반 기타 모든 경로는 평균 음식 섭취량 기반 |
| 과산화수소 | 7722-84-1 | $\text{HO}-\text{OH}$ | 68,000 또는 0.5% 중 낮은값 | 68 mg/day는 내인성 생성 추정치의 1% |
| 아세트산비닐 | 108-05-4 |  | 758 2,000 (경구)* | 경구 PDE는 아세트알 데히드 평균 식품 섭취 량 기반 기타 모든 경로는 흡입 시험의 TD ₅₀ 선형 외삽 기반 |

| 기타 | | | | |
|--|------------------------|---|-----|--|
| <i>p</i> -클로로아닐린 <i>p</i> -클로로아닐린 HCl | 106-47-8 20265-96-7 |  | 34 | 변이원성 작용기전을 배제할 수 없는 간 중 양 기반 AI |
| 디메틸황산 | 77-78-1 |  | 1.5 | 이용가능한 발암성 데 이터이지만 AI를 산출 하기엔 부적절함. 기 본적인 독성학적 역치 (TTC)로 설정 |

* 경로 특이적 기준

아세트알데히드(CAS# 75-07-0)

인체 노출 가능성

아세트알데히드는 소화관의 박테리아뿐만 아니라 에탄올과 탄수화물의 대사를 통해 인체에서 내인적으로 발생한다. 인간은 주로 음식, 주류, 담배 연기를 통해 아세트알데하이드에 노출되고 이보다 낮은 비율로 환경 배출로 인해 노출된다(참고 1, 2). 인공 산물과 오염 물질에 기술(technique)이 취약하기 때문에 혈액, 숨, 타액에 있는 내인성 아세트알데히드를 확인하는 것이 어렵다(참고 3, 4). 그럼에도 불구하고 혈액 $2.2 \pm 1.1 \mu\text{mol/L}$ 내 일정한 총 내인성 아세트알데히드 농도(참고 3)와 아세트알데히드 제거율인 0.95 L/min (참고 5)을 기준으로 아세트알데히드 360 mg/day 의 일일 내인성 생산을 계산했다. 알코올음료 섭취로 평균 최대 아세트알데히드 48 mg/day 를 섭취한다(참고 6). 내인성 아세트알데히드 농도와 관련된 암 위험은 ALDH2(acetaldehyde dehydrogenase) 유전적 다형성이 있는 사람의 경우 훨씬 높다(참고 7). (알코올음료 또는 착향제로 아세트알데히드가 첨가되지 않은) 음식의 외인성 노출은 독일 평균에서 약 2 mg/day , 인구의 상위 95%에서 약 8 mg/day 인 것으로 추정되었다(참고 8).

FAO/WHO합동식품첨가물전문가위원회(JECFA)는 아세트알데히드가 착향료로 첨가된 식품을 섭취하는 소비자를 대상으로 식품 첨가물 소비량을 미국에서 9.7 mg/day , 유럽에서 11 mg/day 로 추정했다(참고 9). 일본식품안전위원회(FSC)는 국내 소비량을 유럽에서 9.6 mg/day , 미국에서 19.2 mg/day 로 추정했다(참고 10). 아세트알데히드는 의약품 합성에 사용된다.

변이원성/유전독성

아세트알데히드의 유전독성은 이미 일본 화학평가연구소(Chemical Evaluation and Research Institute)(참고 11) 및 다른 저자들이 검토한 바 있다(참고 1, 5, 12~18). 아세트알데히드가 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames)에서 음성이었지만 아세트알데히드는 염기서열 분석으로 증명된 점 돌연변이(Point mutation)를 유발한 포유동물 세포의 HPRT 유전자좌에서 변이원성 증가를 유발했다(참고 13). DNA- 및 DNA-단백질 부가물을 아세트알데히드로 처리한 배양 세포에서 관찰했고(참고 14, 15) DNA 부가물은 건강한 시험대상자의 소변과 알코올을 남용하는 사람의 혈액 세포에서 측정했다(참고 5). 아세트알데히드는 주로 대규모 염색체 효과 유도체이다. *in vitro*에서 염색체 이상과 소핵을 유발하고 마우스 림프종 L5178Y TK+/-시험에서 양성이었다(참고 13). 아세트알데히드는 랫드와 마우스의 골수에서 소핵 증가를 유발했다.

발암성

아세트알데히드는 IARC 2B 발암물질이고 “알코올성 음료의 섭취 관련 아세트알데히드”는

IARC 1 발암물질(즉, “인체 발암성 물질”)이다. 아세트알데히드는 흡입 노출 후 랫드와 햄스터에서 발암성을 나타냈다(참고 1).

인체에서 아세트알데히드는 알코올의 주요 대사물질이며 높은 알코올 섭취와 낮은 알코올 섭취 모두에서 특정 인체 암(예: 구강, 인두암, 유방암)의 상대적 위험 증가와 상관관계가 있다(참고 19, 20). 알코올 소비량이 많은 흡연자와 담배 연기에서 유래된 아세트알데히드의 기여가 상대적 위험을 증가시켰다(참고 19). 또한, 아세트알데히드 농도가 높은 알코올 음료를 소비하는 지역은 편평세포암과 식도암 발생률이 높은 경향이 있었다(참고 21). 또한, 가용한 역학 데이터에 따르면 ALDH로 인한 아세트알데히드를 아세트산으로 해독하는 능력이 부족한 사람의 경우 알코올 관련 암 발생 위험이 증가한다. 특히 유전적 변이인 ALDH2*1/*2는 과음을 하는 사람뿐만 아니라 중간 수준의 알코올 섭취에서도 알코올 관련 암과 밀접한 관련이 있었다(참고 1, 7, 19). 메타 분석과 대규모 코호트 시험에서는 ALDH 결핍이 비교적 드물게 발생하는 미국 인구에서 중간 정도의 알코올 섭취와 관련된 두경부 및 유방에서 종양의 위험 증가 여부에 대해 상충되는 결론이 보고되었다. 과음, 흡연, 및 ALDH 결핍이 있으며 중간 정도로 음주하는 사람의 아세트알데히드 노출과 관련된 두경부암의 위험 증가에 대한 문헌에서 이러한 노출이 자극 또는 조직 증식과 일치하는 조직병리학적 변화와 관련이 있는지에 대한 논의는 이루어지지 않았다(참고 22).

설치류의 경우 발암성 활성 데이터베이스(CPDB)에서 흡입 발암성 시험만 확인해 볼 수 있다(참고 23). 가장 강력한 시험은 0, 750, 1500 또는 3000/1000 ppm(독성으로 인해 11개월 후 감소)으로 5 day/week에서 6 h/day 동안 전신 흡입 노출된 위스타 랫드(참고 24)를 대상으로 최대 28개월 동안 진행했다. CPDB에서 해당 용량은 수컷 쥐의 경우 0, 70.8, 142, 147 mg/kg, 암컷 쥐의 경우 0, 101, 202, 209 mg/kg이었다. 고용량 시험군에서 67주까지 수컷의 50%와 암컷 동물의 42%가 사망했고 102주에 생존한 고용량군 동물은 없었다. 시험 종료 시, 수컷(대조군, 저/중/고 용량군에서 각각 1/49, 1/52, 10/53, 15/49)과 암컷(각각 0/50, 0/48, 5/53, 17/53)에서 접촉 부위 종양(예, 비강 편평 세포 암종) 발생률 증가가 관찰되었다. 또한 모든 용량에서 비강 선암이 증가했고 발생률은 수컷의 경우 각각 0/49, 16/52, 31/53, 21/49이었고 암컷의 경우 0/50, 6/48, 26/53, 21/53이었다. 이러한 자료에 따라 CPDB에서 TD₅₀ 값은 가장 민감한 성별과 조직에서 수컷 랫드의 비강 선암의 경우 185 mg/kg으로 추정되었다.

경구 발암성 시험(참고 25)은 식수로 아세트알데히드를 투여하여 SD 랫드를 대상으로 수행했다. 이 시험에서 시험군 별로 50마리 랫드에게 아세트알데히드 0, 50, 250, 500, 1500, 2500 mg/L를 식수로 104주 동안 투여하고 마지막 동물이 161주에 사망했을 때 실험을 종료했다. 농도는 수컷 랫드의 경우 각각 0, 5, 25, 49, 147, 246 mg/kg/day와

암컷 랫드의 경우 0, 5, 27, 53, 155, 260 mg/kg/day였다. 연구자에 따르면 선암종, 림프종, 백혈병, 유선 종양, 두개골 골육종의 발생률이 대조군에 비해 최소 노출된 랫드의 한 시험군에서 유의미하게 더 높은 것으로 확인되었다. 접촉 기관 부위(예, 구강 및 위장관 또는 간)에서 악성 종양의 증가는 없었다. 이 시험은 아세트알데히드가 식수를 통해 섭취된 뒤 발암성이 있을 수 있다는 것을 시사한다. 그러나 명확한 용량-반응 관계가 없으므로 많은 평가자가 이 시험에서 명확한 결론을 도출할 수 없는 것을 확인했다(참고 5, 12, 19). 동일한 데이터의 또 다른 평가에서 두 가지 다른 용량-반응 모델을 사용하여 발암력을 추정했으며 저자는 정량적 위해성 평가에 따르면 일반적인 모집단에서 아세트알데히드 노출을 낮출 필요가 있지만 자연적으로 발생하는 아세트알데히드를 줄일 수 없는 것으로 결론 내렸다(참고 21). 이 모델에서 평가자가 모든 암 부위에 대한 모델을 생성하기에는 통계적 검정력이 충분하지 않은 것으로 확인했기 때문에 모든 종양이 있는 동물의 발암성 강도를 산출했다. 아세트알데히드의 경구 투여와 관련된 TD₅₀은 산출하지 않았다.

아세트알데히드 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|---------------------------|-------------|-----|--|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 24 | 위스타 랫드 그룹 성별 당 55 | 28개월, 흡입 | 55 | 3: M: 70.8; 142; 147. F: 101; 202; 209 mg/kg/day | 비강/ 선암종 /수컷 | 185 ^a |
| 참고 25 | SD 랫드 그룹 성별 당 50 | 24개월, 식수 | 50 | 5: M: 5; 25; 49; 147; 246. F: 5; 27; 53; 155; 260 mg/kg/day | 확인 불가 | NC ^b |
| 참고 26 | 시리아 골든 햄스터그룹 성별당 30 | 52주, 흡입 | 30 | 1: M: 344, F: 391 mg/kg/day | 후두/혼합된 종양 유형 /수컷 | 461 |

목록에 있는 시험은 발암성 활성 데이터베이스(CPDB)에서 확인 가능(참고 24)

NC = 계산되지 않음

^a CPDB에서 얻은 TD₅₀(AI 도출을 위해 선택된 발암성 시험)

^b 용량 반응과 충분한 통계 검정력 부족으로 인해 TD₅₀ 산출되지 않아 CPDB에 시험이 제시되지 않음

발암성 작용기전

아세트알데히드는 강한 친전자체이며 강력한 친핵체(예: 단백질의 아미노산 잔기 또는 DNA 염기)에 반응할 수 있다. 세균을 이용한 표준 복귀 시험에서 변이원성이 없었지만, 아세트알데히드의 DNA 반응성 및 변이원성에 대한 증거가 *in vitro* 및 *in vivo* DNA 및 DNA 단백질 부가물의 존재와 포유류 세포의 *in vitro* HPRT 변이원성 시험에서 양성 결과를 통해 확인되었다. 반응성 특성에도 불구하고 아세트알데히드의 유전독성과 발암성 관련 비선형 용량-반응 증거가 있다(참고 14). 1~1000 μM 농도에서 아세트알데히드 유도 부가물의 용량-반응은 추가된 아세트알데히드로 유도된 내인성 부가물과 외인성 부가물을 구별할 수 있는 세포 배양 시스템에서 측정되었다. 이 농도는 아세트알데히드 포함 여부와 관계없이 알코올이 함유된 음료를 섭취하기 전후에 측정된 타액의 아세트알데히드 농도와 비슷하다(참고 27, 28). 외인성 부가물은 임계 농도를 초과하는 부가물의 내인성 배경 수준만 초과했다.

아세트알데히드를 효율적으로 해독하는 ALDH는 비선형 용량-반응 관계를 담당한다. ALDH 효소는 대부분의 조직(예: 간, 위장관, 신장, 비강 상피/후각 상피, 폐)의 미토콘드리아와 세포질에서 발현되며 아세트알데히드를 대사하여 아세테이트와 하나의 양성자를 생성한다(참고 29). 양성자 방출은 세포 pH를 감소시킬 수 있고 이에 따라 후속 증식 효과 및 비특이적 세포 독성을 유발할 수 있다. ALDH 결핍 동물 모델에서 해독의 중요성에 관해 확인할 수 있다. 예를 들어, 흡입 및 경구(위관 영양) 노출 후 ALDH2 활성 결핍 마우스에서 아세트알데히드 유발 염색체 손상과 변이원성이 관찰되었지만, ALDH2-proficient 마우스에서는 관찰되지 않았다(참고 30). 마찬가지로 효율적인 유전자형 ALDH2*1/2*1(참고 31)이 있는 경우에 비해 알데히드 탈수소효소 유전자형(약 10% 잔류 ALDH 활성의 대립형질 변이형 ALDH2*1/2*2)이 결핍된 알코올 중독자에게서 더 많은 아세트알데히드 유래 DNA 부가물이 확인되었고 유전자형이 있는 중간 정도로 음주를 하는 사람에서는 두경부암 위험이 증가한다(참고 19).

흡입 발암성 데이터와 기전 시험 데이터에 따르면 아세트알데히드 암 위험은 접촉 부위에서 가장 높다. 흡입 발암성 시험에서 비강 종양은 돌연변이 세포의 성장 축진이 있을 수 있다는 가설과 일치하는 재생 증식을 유발하는 세포 독성 및 심각한 자극과 관련된 흡입 용량에서만 발견되었다(참고 5, 14). 기도 세포에서 ALDH의 아세트알데히드 해독은 낮은 비자극 용량에서 종양 유발 가능성을 낮출 수 있다. 그러나 자극 효과와 암 발병의 잠재적 돌연변이 유발 효과를 구분할 수 있는 발표된 측정값은 없다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

아세트알데히드는 미국 식품의약국(FDA)에 ‘일반적으로 안전하다고 인정되는(GRAS)’ 착향료와 보조제 목록에 등재되어 있다(21 CFR 182.60)(참고 32). 일본 FSC는 아세트알데히드를 착향제로 사용할 경우 미반응 아세트산에서 최종적으로 CO₂로 완전히 대사되어 착향제로서

수준이 생리학적 범위를 넘지 않는 것으로 추정되기 때문에 안전성 우려가 없는 것으로 보았다(참고 10). JECFA 평가는 착향제로 사용할 경우 현재 섭취 수준으로는 안전성에 문제가 없다고 결론 내렸다(참고 9).

선정된 해저 오염 물질에 대한 긴급 및 지속 노출 지침 수준 위원회(참고 33)는 3.6 mg/m³에 해당하는 지속 노출 지침 수준(CEGL) 2 ppm을 권고했다. 이는 3.6 mg/m³ x 28.8m³(하루 24시간 - ICH Q3C 가정) = 104 mg/day의 노출을 의미한다.

미국환경보호국(EPA)이 아세트알데히드 발암성에 대한 역치를 고려하지 않았으며 랫드 흡입 발암성 시험과 선형 외삽법 적용을 기반으로 아세트알데히드 농도 5 μg/m³가 초과 발암 위해성(excess lifetime cancer risk)인 10⁻⁵를 나타내는 것으로 산출했다(참고 34). 24시간 노출은 5 μg/m³ x 28.8 m³ = 144 μg/day를 나타냈다. EPA는 경구 경로를 통한 위해성은 고려하지 않았다.

경구 1일 노출 허용량

PDE 산출을 위한 시험 선정 근거

경구 투여 및 다양한 식품을 통한 높은 노출의 배경에 따라 아세트알데히드 발암성에 대한 비선형 용량 반응에 대한 증거 가중치를 고려해 음식을 통해 예상되는 평균 아세트알데히드 섭취량(약 2mg/day)을 바탕으로 경구 한도를 PDE 2mg/day로 확인했다(참고 8).

PDE(경구) = 2 mg/day

기타 모든 경로 섭취허용량(AI)

AI 산출을 위한 시험 선정 근거

다른 모든 경로의 AI를 도출하기 위해 Woutersen et al.의 랫드 대상 흡입 시험을 활용했다(참고 24). 이 시험은 55/sex/dose 규모의 시험군으로 구성되었고 평생 (즉, 28개월) 투여를 진행했다. AI를 도출하기 위해 가장 관련성이 높은 시험을 선정하기 위한 ICH M7 권고 사항에 따르면, 이 시험이 가장 적절하고 강력한 아세트알데히드와 관련해 사용할 수 있는 것으로 여겨진다. 비강 종양이 재생 증식(돌연변이 세포의 성장 촉진)을 일으키는 세포 독성 및 심한 자극과 관련된 용량에서만 발견되었기 때문에 흡입 발암성 데이터 및 기전 시험 데이터에 따르면 아세트알데히드 암 위험은 접촉 부위의 세포 독성과 관련이 있는 것으로 시사했다.

섭취허용량(AI) 계산

평생 AI = $TD_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI = $185 \text{ mg/kg/day}/50000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI (기타 모든 경로) = $185 \mu\text{g/day}$

참고

1. IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Acetaldehyde. 1999;71:319-35.
2. O' Brien PJ, Siraki AG, et al. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. Crit Rev Toxicol 2005;35:609-62.
3. Fukunaga T, Sillanaukee P, Eriksson CJP. Problems involved in the determination of endogenous acetaldehyde in human blood. Alcohol and Alcoholism 1993;28:535-541.
4. Jones AW. Measuring and reporting the concentration of acetaldehyde in human breath. Alcohol and Alcoholism 1995;30:271-285.
5. Maximum Workplace Concentration Commission (MAK). The MAK Collection for Occupational Health and Safety. Acetaldehyde. 2013;1-58.
6. Lachenmeier DW, Gill JS, Chick J, Rehm J. The total margin of exposure of ethanol and acetaldehyde for heavy drinkers consuming cider or vodka. Food Chem Toxicol 2015;83:210-214.
7. Väkeväinen S, Tillonen J, Agarwal DP, Srivastava N, Salaspuro M. High salivary acetaldehyde after a moderate dose of alcohol in ALDH2-deficient subjects: strong evidence for the local carcinogenic action of acetaldehyde. Alcohol Clin Exp Res 2000;24:873-7.
8. Uebelacker M, Lachenmeier DW. Quantitative determination of acetaldehyde in foods using automated digestion with simulated gastric fluid followed by headspace gas chromatography. J Autom Methods Manag Chem 2011;2011:907317.
9. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-Ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 1999; WHO Technical Report Series 884:30p.
10. Food Safety Commission (FSC). Evaluation of Food Additives: Acetaldehyde, Tokyo, Japan. 2005.

11. Chemicals Evaluation and Research Institute Japan (CERI). Hazard Assessment Report Acetaldehyde, Japan. 2007.
12. European Commission (EC). Scientific Committee on Consumer Safety: SCCS/1468/12: Opinion On: Acetaldehyde. 2012; SCCS/1468/12.
13. Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products (SCCNFP). Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and non-food products for consumers concerning acetaldehyde. 2004; SCCNFP/0821/04.
14. Albertini RJ. Vinyl acetate monomer (VAM) genotoxicity profile: Relevance for carcinogenicity. *Critical Reviews in Toxicology* 2013;43:671-706.
15. Grafström RC, Dypbukt JM, Sundqvist K, Atzori L, Nielsen I, Curren RD, Harris CC. Pathobiological effects of acetaldehyde in cultured human epithelial cells and fibroblasts. *Carcinogenesis* 1994;15:985-990.
16. Moeller BC, Recio L, Green A, Sun W, Wright FA, Bodnar WM, Swenberg JA. Biomarkers of Exposure and Effect in Human Lymphoblastoid TK6 Cells Following [13C2]-Acetaldehyde Exposure. *Toxicological Sciences* 2013;133:1-12.
17. Morita T, Asano N, Awogi T, Sasaki YF, Sato S-I, Shimada H, Sutou S, Suzuki T, Wakata A, Sofuni T, Hayashi M. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B). The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. *Mutation Research* 1997;389:3-122
18. Speit G, Froehler-Keller M, Schuetz P, Neuss S. Low sensitivity of the comet assay to detect acetaldehyde-induced genotoxicity. *Mutation Research* 2008;657:93-97.
19. IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Personal habits and indoor combustions. 2012; Volume 100 E.
20. Shield KD, Soerjomataram I, Rehm J. Alcohol Use and Breast Cancer: A Critical Review. *Alcohol Clin Exp Res* 2016;40:1166-81.
21. Lachenmeier DW, Kanteres F, Rehm J. Carcinogenicity of acetaldehyde in alcoholic beverages: risk assessment outside ethanol metabolism. *Addiction* 2009;104:533-50.
22. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, Scotti L, Jenab M, Turati F, Pasquali E, Pelucchi C, Galeone C, Bellocco R, Negri E, Corrao G, Boffetta P, La Vecchia C. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer* 2015;112:580-93.
23. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
24. Woutersen RA, Appelman LM, Van Garderen-Hoetmer a and Feron VJ. Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats. III. Carcinogenicity study. *Toxicology* 1986;41:213-231.

25. Soffritti M, Belpoggi F, Lambertini L, Lauriola M, Padovani M, Maltoni C. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of formaldehyde and acetaldehyde in rats. *Ann N Y Acad Sci* 2002;982:87-105.
26. Feron VJ, Kruyssen A, Woutersen RA. Respiratory tract tumours in hamsters exposed to acetaldehyde vapour alone or simultaneously to benzo(a)pyrene or diethylnitrosamine. *European Journal of Cancer Clinical Oncology* 1982;1:13-31.
27. Homann N, Jousimies-Somer H, Jokelainen K, Heine R, Salaspuro M. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption: methodological aspects and pathogenetic implications. *Carcinogenesis* 1997;18:1739-43.
28. Salaspuro V, Hietala J, Kaihovaara P, Pihlajarinne L, Marvola M, Salaspuro M. Removal of acetaldehyde from saliva by a slow-release buccal tablet of L-cysteine. *Int J Cancer* 2002;97:361-4.
29. Sladek NE. Human aldehyde dehydrogenases: Potential pathological, pharmacological and toxicological impact. *Journal of Biochemical Molecular Toxicology* 2003;17:8-23.
30. Kunugita N, Isse T, Oyama T, Kitagawa K, Ogawa M, Yamaguchi T, Kinaga T and Kawamoto T. Increased frequencies of micronucleated reticulocytes and T-cell receptor mutation in ALDH2 knockout mice exposed to acetaldehyde. *Journal of Toxicological Science* 2008;33:31-6.
31. Matsuda T, Yabushita H, Kanaly RA, Shibutani S, Yokoyama A. Increased DNA damage in ALDH2-deficient alcoholics. *Chemical Research in Toxicology* 2006;19:1374-1378.
32. United States Food and Drug Administration (US FDA) Title 21- Subchapter B - Food for human consumption Part 182 -Substances generally recognized as safe. 21CFR182.60]
33. Committee on Emergency and Continuous Exposure Guidance Levels for Selected Submarine Contaminants (CECEGL). Emergency and continuous exposure guidance levels for selected submarine contaminants, Volume 3, National Academies Press, Washington. 2009.
34. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Acetaldehyde (CASRN 75-07-0) Carcinogenicity Assessment. 1988; Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0290_summary.pdf

아크릴로니트릴(CAS# 107-13-1)

인체 노출 가능성

일반 대중 노출 데이터는 없음

변이원성/유전독성

아크릴로니트릴은 시험관 내(*in vitro*)에서 변이원성과 유전독성이 있고 생체 내(*in vivo*)에서 잠재적으로 양성 반응이 있다.

세계보건기구(WHO) 국제화학물질평가문서(CICAD, 참고 1)는 아크릴로니트릴의 철저한 위해성 평가를 제공한다. 이 문서에서 산화 대사가 아크릴로니트릴이 유전독성 영향을 미치는 데 중요하다는 사실이 제기되고 이는 산화 시아노에틸렌이 DNA 반응성 대사물질이라는 것을 암시한다. 조직(System) 범위에서 유전독성시험의 상세한 검토가 참고문헌과 더불어 제시되어 있고(참고 1) 이 문서에서는 몇 가지 주요 결론을 요약하고 있다.

아크릴로니트릴은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

랫드 또는 햄스터 S9에서만 존재하는 *Salmonella typhimurium* TA 1535와 TA 100 내, 대사활동이 없는 일부 *Escherichia coli* 계통 내 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames), S9으로 재현가능하고 때때로 S9 없이 가능한 인간 림프아세포와 마우스 림프종 세포, 식수를 통해 노출된 랫드의 비장 T 세포.

생체 내(*in vivo*) 유전독성 시험은 음성이거나 결과가 불분명하고 DNA 결합 보고는 간에서 계속해서 양성이지만 뇌에서는 상충되는 결과를 보인다.

발암성

IARC에서는 아크릴로니트릴을 인체 발암 가능성이 있는 Group 2B 발암물질로 분류하였다(참고 2).

아크릴로니트릴은 랫드의 주표적 장기인 뇌를 포함 마우스와 랫드의 다기관 발암물질이다. CPDB(참고 3)에 4개의 구강 발암성 연구가 있고 3개의 추가 경구 연구 결과가 참고 1에 요약되어 있다. 7개 연구 중 단 한 건만 음성이었으나 이 연구는 단기간 단회투여로 시험한 것이었다(참고 4).

CPDB의 아크릴로니트릴에 대한 마우스 대상 NCI/NTP(미국국립암연구소) 연구(참고 5)는

견고한 연구 설계와 가장 보수적인 TD₅₀ 수치를 기반으로 경구 및 흡입 AI 산출을 위해 선정하였다. 이 2년간의 연구에서 암컷 마우스와 수컷 마우스에게 경구로 아크릴로니트릴을 3회 투여했다. 하더리안 선(Harderian gland)과 전위의 종양이 통계적으로 유의미한 증가가 있었다.

Dow Chemical의 보고에 따른 CPDB에서 인용된 1980년 Quast *et al.* 연구(참고 6)에서 CPDB에서 가장 민감한 TD₅₀은 암컷 랫드(5.31 mg/kg/day)의 정상세포종에 대한 것으로 보인다. 그러나 이 연구는 추후 상세히 설명한대로(참고 7) 해당 논문에서 계산된 용량은 CPDB의 용량 보다 더 높다. Quast(참고 7)는 이 연구에서 체중과 감소한 물 섭취량을 조정하여 식수 농 35, 100, 300 ppm에서 mg/kg/day 기준 용량 산출을 설명한다. 이렇게 산출된 정상세포종의 TD₅₀은 수컷의 경우 20.2 mg/kg/day, 암컷은 20.8 mg/kg/day였고 CPDB의 6.36 mg/kg/day, 5.31 mg/kg/day와 대조적이다. (전위 종양에 대한 Quast(참고 7)의 용량 추산에서 산출된 TD₅₀ 역시 아래 표에 제시된 바와 같이 동일한 연구를 기반으로 한 CPDB 보다 더 높다.) 중추신경계(CNS) 종양이 서술되어 있으나(참고 7), 가장 민감한 TD₅₀은 아래 표에 제시된 바와 같이 전위 종양에 해당한다.

덜 견고한 연구에는 랫드 식수 시험 3건이 포함되어 있다. 가장 규모가 큰 연구에는(참고 8) 용량 당 100 마리가 포함된 5개 아크릴로니트릴 투여군과 200마리의 대조군을 대상으로 했으나 투여군 당 20 마리를 6, 12, 18, 24개월 마다 부검하였다. WHO(참고 1)와 US EPA(참고 9)에 제시된 데이터 요약에서 모든 시점을 통합한 데이터를 기반으로 종양 발생률을 제시한다. 따라서 보고된 종양 발생률은 모든 동물이 연구가 진행되는 2년간 유지되는 경우 관찰될 전체 종양을 과소평가할 수 있다. 두 연구(참고 10, 11)는 2종류의 용량만 사용했으며 위, 짐발선(Zambal gland), 뇌에서 종양이 관찰되었음에도 불구하고 개별 종양 유형이 보고되지 않았다(참고 1).

아크릴로니트릴은 흡입 경로로도 시험이 이루어졌다. 2년 간 용량별로 성별에 따라 50마리 랫드를 아크릴로니트릴에 노출시켰고 뇌종양이 관찰되었다(참고 12). 그러나 이 연구에서 2종류의 용량만 사용했다. 다른 흡입 시험에서는 뇌종양이 관찰되었지만 그룹당 동물 수, 노출 기간 또는 단회투여가 부족했다.

아크릴로니트릴 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------------------------|--------------------------------|----------------|------|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 5* | B6C3F1 마우스 50 (F) | 2년/ 위관영양 | 50 | 3: 1.79;7.14; 14.3 mg/kg/d | 전위 | 6.77+ |
| | B6C3F1 마우스 50 (M) | 2년/ 위관영양 | 50 | 3: 1.79;7.14; 14.3 mg/kg/d | 전위 | 5.92+ |
| 참고 6 | SD Spartan 랫드 ~50 (F) | ~2년/ 식수 | ~80 | 3: 2.00;5.69; 15.4 mg/kg/d | 성상세포종 | 5.31++ (20.8) |
| | SD Spartan 랫드 ~50 (M) | ~2년/ 식수 | ~80 | 3: 1.75;4.98; 14.9 mg/kg/d | 위, 비선상 | 6.36++ (9.0) |
| Ref 7 (참고 6 보고서) | SD Spartan 랫드 ~50 (F) | ~2년/ 식수 | ~80 | 3: 4.4;10.8; 25 mg/kg/d | 위, 비선상 | 19.4 |
| | SD Spartan 랫드 ~50 (F) | ~2년/ 식수 | ~80 | 3: 3.4;8.5;21.3 mg/kg/d | 위, 비선상 | 9.0 |
| 참고 8 ^㉞ | 수컷 랫드 100 | ~2년/ 식수 | ~200 | 5: 0.1-8.4 mg/kg/d | 뇌 성상세포종 | (22.9)+ |
| | 암컷 랫드 100 | ~2년/ 식수 | ~200 | 5: 0.1-10.9 mg/kg/d | 뇌 성상세포종 | (23.5)+ |
| 참고 11 ^㉞ | 랫드 성별 당 100 | 19-22개월/ 식수 | ~98 | 2: ~0.09; 7.98 mg/kg/d | 위, 짐발선, 뇌, 척수 | NC |
| 참고 10 ^㉞ | 랫드 성별 당 50 | 18개월/식 수 | 없음 | 2: 14;70 mg/kg/d | 뇌, 짐발선, 전위 | NC [^] |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|------------------------------|----------------------------|------------|---|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 13 | CD 랫드 20 (M) | 2년/ 식수 | 없음 | 3: 1; 5; 25 mg/kg/d | 짐발선 | 30.1 |
| 참고 4 | SD 랫드 성별 당 40 | 1년/ 주 3일 위관영양 | 성별 당 75 | 1: 1.07 mg/kg/d | 두 성별에서 음성 | NA |
| 참고 12 | SD Spartan 랫드 성별 당 100 | 2년/일 6시간; 주 5일 흡입 | ~100 | 2: M: 2.27; 9.1 F: 3.24; 13.0 mg/kg/d | 뇌 성상세포종 | 32.4 |
| 참고 4 | SD 랫드 성별 당 30 | 1년 주 5일; 1년 관찰 흡입 | 30 | 4: M: 0.19; 0.38; 0.76; 1.52 F: 0.27;0.54;1 .0; 2.17 mg/kg/d | 뇌 신경교종 수컷 | 19.1 |
| 참고 4 | 암컷 SD 랫드 54 | 2년 주 5일 흡입 | 60 | 1: 11.1 mg/kg/d | 뇌 신경교종 | (132) [¶] |

다른 표시가 없는 한 위에 명시된 연구는 CPDB(참고 3)에 있다.

TD₅₀ 수치는 가장 민감한 종양 부위의 TD₅₀을 대표한다.

괄호 속 TD₅₀ 수치는 주석에 설명된 대로 신뢰도가 낮은 것으로 여겨진다.

* CPDB 내 AI 계산용으로 선정된 발암성 연구

^NC= 2002년 WHO(참고 1)에서 미제공하여 개별 종양 유형 발병률로 계산되지 않음

+ WHO(참고 1)에 가장 중요한 부위로 여겨지는 성상세포종 발생률을 기반으로 계산된 TD₅₀. 연속 검체채취로 2년 간 노출되는 동물 수가 감소함에 따라 종양 발생률이 과소평가될 수 있다.

++ CPDB에서 차용. 저자(참고 7)의 용량 계산을 기반으로 한 Spartan 랫드의 성상세포종과 위 종양의 TD₅₀은(20.8, 9.0) CPDB의 수치와 비교할 때 더 높다는 사실을 주지해야 한다.

NA=적용대상 아님

[†]CPDB에 없음. 참고 1 및 참고 9에 요약됨.

[¶]단회투여시험

발암성 작용기전

발암작용 기전이 완전히 확실하지 않지만 DNA 상호작용의 영향을 배제할 수 없다(참고 1). 발암성연구(CNS) 종양이 여러 랫드 시험에서 발견되고 전위 종양 역시 두드러졌다. 이는 마우스에서 가장 민감한 종양 유형이다.

전위 종양은 국소적 자극 및 염증과 관련이 있고 Quast(참고 7)는 기타 염증 및 퇴행성 변화와 더불어 랫드에서 이 종양과 세포증식증 및/또는 각화부전증의 전형적인 상관관계에 주목한다. 고농도로 경구 투여 받은 설치류에서 전위 종양은 비자극적인 낮은 농도의 인체 노출과 관련이 없을 수 없다(참고 14). 그러나 아크릴로니트릴은 접촉 부위 발암물질만은 아니다. 종양은 직접 노출될 가능성이 있는 조직(예. 위장관, 혀)과 더불어 CNS에서 나타났다. 전위 종양은 랫드에 식수로 마우스에 위관영양으로 아크릴로니트릴을 투여한 후 나타났다. 따라서 이 문서에서 아크릴로니트릴 AI는 마우스 전위 종양을 기반으로 산출하였다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA(참고 9)는 랫드 식수 연구에서 대기관 종양 발생 기준으로 경구 경사도 인자는 0.54 mg/kg/day이고 식수 한계는 10만 분의 1 위험수준에서 0.6 μ g/L로 계산했다. 이는 일일용량 기준 50kg인 사람의 경우 $\sim 1 \mu$ g/day와 동일하다.

섭취허용량(AI)

AI 계산을 위한 시험 선정 근거

흡입 시험과 경구 시험(위관영양, 식수) 모두 이용할 수 있다. CNS의 종양은 두 투여 경로 모두에서 발견되었고 아크릴로니트릴은 모든 노출 경로를 통해 빠르게 흡수되고 관찰된 조직을 통해 퍼진다(참고 1). 이를 통해 특정 흡입 AI가 불필요한 것으로 여겨진다. 아크릴로니트릴에 대한 식수 한계 산출에서 US EPA(참고 9)가 사용한 모든 발암성 연구를 AI 산출을 위한 가장 강력한 발암성 연구 선정 시 검토하였다. 경구 위관영양으로 수컷 마우스와 암컷 마우스에게 아크릴로니트릴을 투여하여 산출한 TD₅₀을 기반으로 AI를 계산하기 위해 NCI/NTP 연구(참고 5)를 선정하였고 가장 낮은 TD₅₀을 지닌 종양 유형은 수컷 마우스에서 5.92 mg/kg/day의 TD₅₀ 수치로 전위 종양이었다. Section 2.2 방법에서 기술하였듯이 TD₅₀에서 선형외삽은 AI를 산출하는 데 사용하였고 사소한 방법론적 차이로 계산된 한계가 상이해질 수 있다. 따라서 아래 제시된 잠재적 의약품 불순물에 대해 계산된 AI는 식수에 대한 US EPA(참고 9)가 산출한 값보다 약간 더 높다.

AI 계산:

평생 AI = $TD_{50}/50,000 \times 50\text{kg}$

평생 AI = $5.92 \text{ (mg/kg/day)}/50,000 \times 50\text{kg}$

평생 AI = $5.9 \mu\text{g/day}$ ($6 \mu\text{g/day}$)

참고

1. World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 39. Acrylonitrile. [Online]. Geneva. 2002; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad39.htm>
2. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. Acrylonitrile 1999; Vol. 71, 43.
3. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
4. Maltoni C, Ciliberti A, Cotti G, Perino G. Long-term carcinogenicity bioassays on acrylonitrile administered by inhalation and by ingestion to Sprague-Dawley rats. Annals of the New York Academy of Sciences 1988;534:179-202.
5. National Toxicology Program (NTP) Toxicology and Carcinogenesis Studies of Acrylonitrile (CAS No. 107-13-1) in B6C3F1 Mice (Gavage Studies). NTP TR 506 NIH Publication No. 02-4440. 2001;198.
6. Quast JF, Wade CE, Humiston CG, Carreon RM, Hermann EA, Park CN et al, Editors. A Two-Year Toxicity and Oncogenicity Study with Acrylonitrile Incorporated in the Drinking Water of Rats, Final Report. Dow Chemical USA, Midland, MI; 1980.
7. Quast, JF Two-year toxicity and oncogenicity study with acrylonitrile incorporated in the drinking water of rats. Toxicol Lett 2002;132:153-96. Bio/Dynamics Inc. Monsanto Company. 1980. A twenty-four month oral toxicity/carcinogenicity study of acrylonitrile administered in the drinking water to Fischer 344 rats. Final report. Four volumes. St. Louis, MO. Project No. 77-1744; BDN- 77-27.
8. US EPA. Acrylonitrile (CAS# 107-13-1). Integrated Risk Information System (IRIS) [Online]. 1987. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=206

9. Bigner DD, Bigner SH, Burger PC, Shelburne JD, Friedman HS. Primary brain tumors in Fischer 344 rats chronically exposed to acrylonitrile in their drinking water. *Food and Chemical Toxicology* 1986;24:129-37.
10. Bio/Dynamics Inc. Monsanto Company, Division of Biology and Safety valuation. 1980. A twenty-four month oral toxicity/carcinogenicity study of acrylonitrile administered to Spartan rats in the drinking water. Final report. Two volumes. St. Louis, MO. Project No. 77-1745; BDN-77-28.
11. Quast JF, Schuetz DJ, Balmer MF, Gushow TS, Park CN, McKenna MJ, editors. A Two-Year Toxicity and Oncogenicity Study with Acrylonitrile Following Inhalation Exposure of Rats, Final Report. Dow Chemical USA, Midland, MI; 1980.
12. Gallagher GT, Maull EA, Kovacs K, Szab S. Neoplasms in rats ingesting acrylonitrile for two years. *J Am Col Toxicol* 1988;7:603-15.
13. Proctor DM, Gatto NM, Hong SJ, Allamneni KP. Mode-of-action framework for evaluation of the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment. *Toxicol. Sci* 2007;98:313-26.

아닐린(CAS# 62-53-3), 아닐린염산염(CAS# 142-04-1)

인체 노출 가능성

아닐린은 일부 식품에서 자연적으로 발생한다(즉, 옥수수, 곡물, 콩류, 차). 그러나 대부분의 노출원은 산업 환경이다.

변이원성/유전독성

아닐린은 *Salmonella*의 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames)에서 변이원성이 없고 변이원성과 유전독성이 약한 것으로 여겨진다. 아닐린은 유전독성 발암물질이라는 뿌리 깊은 인식 때문에 이 문서에서 논의하게 되었다.

아닐린은 S9 여부와 관계없이 5개 *Salmonella* 계통에서 또는 S9가 있는 *E.Coli* WP2 *uvrA*에서 변이원성이 없다(참고 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

상당히 높은 농도(예, 0.5~21 mM)에서 아닐린은 마우스 림프종 L5178Y 세포 tk 시험법에서 S9 여부와 관계없이 양성이었다(참고 9, 10, 11).

염색체 변이 시험들의 결과가 엇갈렸다. S9 대사 활성화 여부에 관계없이 매우 높은 세포독성 농도(예, 약5~30mM)인 경우 햄스터 세포주에서 음성 및 일부 약한 양성 결과가 보고되었다(참고 1, 12, 13, 14, 15).

생체 내(*in vivo*)에서 염색체 변이는 일 2회 복강 내(i.p) 380 mg/kg 투여 후 수컷 CBA 마우스의 척수에서 증가하지 않았다(참고 16). 그러나 수컷 PVR 랫드에 500 mg/kg의 경구 투여 18시간 후 염색체 변이가 약간 상승했다고 보고되었다(참고 17)

대부분의 소핵 유발 연구에서 마우스(참고 18, 19, 20, 21)와 랫드(참고 17, 22)의 구강 또는 복강 내 투여 후 흔히 300 mg/kg 이상의 고용량에서 척수에 약한 양성이었다. 90일간 500, 1000, 2000 ppm의 식이 노출은 수컷 및 암컷 B6C3F1 마우스의 말초 혈액의 소핵 증가와 관련이 있었다(참고 23).

아닐린을 복강 내 61~420 mg/kg 투여 24시간 후 수컷 스위스 마우스의 척수에서 생체 내(*in vivo*)에서 자매 염색분체 교환(SCE)이 약간 증가하여 배경을 넘어 최대 2배 증가에 도달했다(참고 24, 25). 이 연구에서 알칼리 용리 시험법을 수행하여 마우스의 척수에서 DNA 가닥 분절이 검출되지 않았다.

발암성

아닐린은 IARC Group 3로 인체에 발암성을 띠는 물질로 분류되어 있지 않다(참고 4).

초기에는 아닐린 노출이 염색업계에 종사하는 사람의 방광암 발병과 연관되어 있다고 생각하였지만, 나중에는 아닐린 염료 생산시 발생하는 중간체인 β -나프틸라민, 벤지딘, 기타 아민류 등 노출이 원인인 것으로 여겨졌다.

미국 산업화학독성연구소(참고 26)는 아닐린염산염이 0, 200, 600, 2000 ppm 수준에서 CD-F 랫드(성별/그룹 별 랫드 130마리)에 2년 간 식이로 투여되는 시험을 수행했다. 주요 비장 육종 발생률 증가가 고용량군의 수컷 랫드에서만 관찰되었다. 이 연구는 3개 용량군이 있고 대규모 그룹의 견고한 시험 설계를 기반으로 아닐린에 대한 PDE 산출을 위해 선정하였다(랫드 130/성별/그룹).

CIIT 연구 결과는 아닐린염산염 미국 국립암연구소(참고 27)의 식이 시험 결과와 일관성이 있다. 이 시험에서 수컷 랫드는 비장을 비롯 여러 장기에서 혈관육종 증가를 보였고 악성 크롬 친화 세포종 발생률에 증대한 용량 관련 경향 증가가 있었다. 마우스에서(참고 27) 어떤 유형의 종양도 통계적으로 유의미한 증가가 초고용량에서 관찰되지 않았다.

아닐린 그 자체로는 덜 견고한 시험 설계의 경우 수컷 랫드에서 종양이 발견되지 않았다(참고 28).

아닐린과 아닐린 HCl - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|---------------------------|----------------------------|---------------------------------------|-----|--|-----------------------------|---------------------------------|
| 참고 26* Aniline HCl | CD-F 랫드, 성별/그룹 당 130 | 2년 (식이) | 130 | 3: 식이 중 200, 600, 2000 ppm (M;7.2;22;7 2 mg/kg/d) | 비장(고용량) 저용량에서 NOEL | 보고 없음 |
| 참고 27** Aniline HCl | F344 랫드, 성별/그룹 당 50 | 103주 투여 (식이), 107~110주 연구 | 50 | 2: 식이 중 3000, 6000 ppm (F: 144;268 | 비장 포함 다기관 혈관육종 /수컷 | 160(수컷) |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|-----|---|---------------------------|---------------------------------|
| | | | | M: 115;229 mg/kg/d | | |
| 참고 27** Aniline HCl | B6C3F1 마우스 성별/그룹 당 50 | 103주 투여 (식이), 107~110주 연구 | 50 | 2: 식이 중 6000, 12000 ppm (F: 741;1500 M: 693;1390 mg/kg/d) | 음성 | NA |
| 참고 28** Aniline | 위스타 랫드 그룹 당 10~18 (M) | 80주 투여 (식이) | 예 | 3: 식이 중 0.03, 0.06, 0.12% (15;30;60 mg/kg/d) | 음성 | NA |

* PDE 계산을 위해 선정된 발암성연구. CPDB에 없음

** CPDB(참고 29)에서 차용. TD₅₀ 수치는 가장 민감한 종양 부위의 TD₅₀을 대표한다.

NA = 적용대상 아님

발암성 작용기전

동물시험에서 아닐린은 고용량에서 메트헤모글로빈혈증과 용혈을 유발했다. 용혈은 적혈구 생성을 유도하여 간접적으로 소핵을 증가시킬 수 있다(참고 19, 30, 31). 소핵은 랫드와 마우스에서 모두 유발되지만 아닐린 유발 종양은 마우스가 아닌 랫드에서 발견되므로 유전독성이 아닐린 유발 종양 작용 기전의 핵심이 아니라는 추가 증거가 된다.

비장에서 아닐린 유발 독성은 유리기 생성을 통한 발암성과 조직 손상의 기여 요인으로 여겨진다(참고 32). 고용량(10 mg/kg 초과)의 아닐린은 아닐린이 적혈구와 장에 축적되는 손상 세포에 잘 결합하므로 비장 내 철 축적을 야기한다. 비장에서 철 매개 산화 스트레스는 지질 과산화, 말론디알데히드 단백질 부가물, 단백질 산화, 형질전환 성장인자 $\beta 1$ 의 상향조절을 유발하는 것으로 보인다. 이 모든 것은 아닐린 노출 후 랫드의 비장에서 검출되었다(참고 33). 산화 스트레스가 아닐린에 만성 노출 되면 지속적으로 발생할 것이고 이는 랫드에서 관찰된 세포증식증, 섬유증, 종양형성에 영향을 미칠 수 있다(참고 32, 34). 마우스에서 종양형성이 적은 것은 랫드에 비해 비장에서

관찰된 독성이 적기 때문일 것이다(참고 17, 35).

발암성에 대한 독성 유발 작용기전을 근거로 하여 랫드의 아닐린 유발 종양형성에 대한 용량 반응은 비선형이다(참고 36). 동일한 랫드 종에 사용된 NCI와 CIIT 연구를 고려할 때 식이로 0.02% 농도로 아닐린염산염을 투여(수컷에서 약 7.2 mg/kg/day 아닐린 투여와 동일)받은 경우 종양이 관찰되지 않았다. 비장에서 아닐린 유래 결합 방사선동위원소의 축적 유형을 평가하는 시험과 더불어(참고 37) 이는 아닐린 발암성에 대한 역치가 존재한다는 결론을 뒷받침한다(참고 36). 이러한 종양이 주요 변이원성 작용기전의 결과가 아니라는 결과를 위 증거가 충분히 뒷받침한다(참고 38).

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA(참고 39)는 CIIT 연구(참고 26)와 선형의 단계적 절차 사용을 기반으로 정량적 암 위험 평가에 대한 개요를 제시한다. 결과적인 발암력 경사곡선은 0.0057 mg/kg/day와 10만 분의 1의 평생 암 위험과 관련된 용량은 120 μ g/day로 계산된다. 그러나 평가에서는 이 절차가 비장에서 아닐린 축적이 비선형이기 때문에 경사 인자 산출을 위한 최적의 방법이 아닐 수 있다고 명시한다(참고 39). 아닐린의 최소 축적과 10 mg/kg 미만 용량에서는 혈청증이 발견되지 않고, 이미 명시된 바와 같이 혈청증이 랫드에서 관찰된 비장 종양 유발에 중요할 수 있다.

1일 노출 허용량(PDE)

AI를 아닐린을 랫드에서 관찰된 비장 종양에 대한 선형 외삽에 대해 기준으로 삼는 것은 부적절한 것으로 여겨진다. 왜냐하면 이는 비선형 용량 반응이 있고 변이원성/유전독성이 아닐린 유발 발암성의 작용기전의 핵심이 아니기 때문이다. ICH Q3C(참고 40)에 명시된 과정을 통해 PDE를 산출하였다.

PDE 계산을 위한 시험 선정 근거

CIIT의 2년 간의 랫드 발암성 시험 데이터를(참고 26) 위해기반 용량 수준 산출에 사용하였다. 식이에서 아닐린염산염에 대한 용량 수준은 200, 600, 2000 ppm으로 이는 각각 7.2, 22, 72 mg/kg/day 용량 수준과 동일하다. 고용량 투여 수컷에서 종양이 관찰되었고 비장의 기질 육종이 22 mg/kg/day에서 확인되었다. 이 데이터를 기반으로 최대무작용량(NOEL)을 정하는 데 최저 용량인 7.2 mg/kg/day를 사용하였다.

PDE 계산은 (NOEL x 체중 보정(kg)) / F1 x F2 x F3 x F4 x F5

ICH Q3C에 설명된 다음 안전성 계수가 아닐린 PDE 결정에 적용하였다.

F1 = 5 (랫드에서 사람으로 외삽)

F2 = 10 (사람간의 개체차)

F3 = 1 (최소 반평생의 시험 기간)

F4 = 10 (중대한 독성 - 비유전독성 발암성)

F5 = 1 (NOEL 사용)

평생 PDE = $7.2 \text{ mg/kg/day} \times 50 \text{ kg} / (5 \times 10 \times 1 \times 10 \times 1)$

평생 PDE = $720 \mu\text{g/day}$

참고

1. Chung KT, Murdock CA, Zhou Y, Stevens SE, Li YS, Wei CI, et al. Effects of the nitrogroup on the mutagenicity and toxicity of some benzamines. Environ Mol Mutagen 1996;27:67-74.
2. IARC. Some aromatic amines, anthraquinones and nitroso compounds, and inorganic fluorides used in drinking water and dental preparations. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1982; 27:39.
3. IARC. Genetic and related effects: An update of selected IARC Monographs from volumes 1 to 42. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon.1987. Addendum 6: 68.
4. IARC. Overall evaluation of carcinogenicity: An update of IARC monographs volumes 1 to 42. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1987. Addendum 7: pp 99 and 362.
5. Jackson MA, Stack HF, Waters MD. The genetic toxicology of putative nongenotoxic carcinogens. Mutat Res 1993;296:241-77.
6. Brams A, Buchet JP, Crutzen-Fayt MC, De Meester C, Lauwerys R, Leonard A. A Comparative Study, With 40 Chemicals, of The Efficiency of ohe Salmonella Assay and the SOS Chromotest (Kit Procedure). Toxicol Lett 1987;38:123-33.
7. Rashid KA, Arjmand M, Sandermann H, Mumma RO. Mutagenicity of chloroaniline / lignin metabolites in the Salmonella/microsome assay. J Environ Sci Health 1987;Part B

B22(6):721-9.

8. Gentile JM, Gentile GJ and Plewa M. Mutagenicity of selected aniline derivatives to Salmonella following plant activation and mammalian hepatic activation. *Mutat Res* 1987;188:185-96.
9. Wangenheim J, Bolcsfoldi G. Mouse lymphoma L5178Y thymidine kinase locus assay of 50 compounds; *Mutagenesis* 1988;3(3):193-205.
10. Amacher DE, Paillet SC, Turner GN, Ray VA, Salsburg DS. Point mutations at the thymidine kinase locus in L5178Y mouse lymphoma cells. *Mutat Res* 1980;72:447-74.
11. McGregor DB, Brown AG, Howgate S, McBride D, Riach C, Caspary WJ. Responses of the L5178y mouse lymphoma cell forward mutation assay. V: 27 Coded Chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1991;17:196-219.
12. Abe S, Sasaki M. Chromosome aberrations and sister chromatic exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J Natl Cancer Inst* 1977;58:1635-41.
13. Ishidate M, Jr, Odashima S. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro - A screening for chemical carcinogens. *Mutat Res* 1977;48:337-54.
14. Ishidate M Jr. The data book of chromosomal aberration tests in vitro on 587 chemical substances using Chinese hamster fibroblast cell line (CHL cells). Tokyo . The Realize Inc. 1983;p26.
15. Galloway SM, Armstrong MJ, Reuben C, Colman S, Brown B, Cannon C, et al. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese Hamster Ovary cells: Evaluations Of 108 Chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1987;10 Suppl 10:1-175.
16. Jones E, Fox V. Lack of clastogenicity activity of aniline in the mouse bone marrow. *Mutagenesis* 2003;18:283-6.
17. Bomhard EM. High-dose clastogenic activity of aniline in the rat bone marrow and its relationship to the carcinogenicity in the spleen of rats. *Arch Toxicol* 2003;77:291-7.
18. Westmoreland C, Gatehouse DG. Effects of aniline hydrochloride in the mouse bone marrow micronucleus test after oral administration. *Carcinogenesis* 1991;12:1057-9.
19. Ashby J, Vlachos DA, Tinwell H. Activity of aniline in the mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutat Res* 1991;263:115-7.
20. Sicardi SM, Martiarena JL, Iglesias MT. Mutagenic and analgesic activities of aniline derivatives. *J Pharm Sci* 1991;80:761-4.
21. Ress NB, Witt KL, Xu J, Haseman JK, Bucher JR. Micronucleus induction in mice exposed to diazoaminobenzene or its metabolites, benzene and aniline: implications

- for diazoaminobenzene carcinogenicity. *Mutat Res* 2002;521:201-8.
22. George E, Andrews M, and Westmoreland C. Effects of azobenzene and aniline in the rodent bone marrow micronucleus test. *Carcinogenesis* 1990;11:1551-5.
 23. Witt KL, Knapton A, Wehr CM, Hook GJ, Mirsalis J, Shelby MD et al. Micronucleated erythrocyte frequency in peripheral blood of B6C3F1 mice from short-term, prechronic and chronic studies of the NTP carcinogenesis bioassay program. *Environ Mol Mutagen* 2000;36:163-94.
 24. Parodi S, Pala M, Russo P, Zunino A, Balbi C, Albini A, et al. DNA damage in liver, kidney, bone marrow, and spleen of rats and mice treated with commercial and purified aniline as determined by alkaline elution assay and sister chromatid exchange induction. *Cancer Res* 1982;42:2277-83.
 25. Parodi S, Zunino A, Ottaggio L, De Ferrari M, Santi L. Lack of correlation between the capability of inducing sister chromatid exchanges in vivo and carcinogenic potency for 16 aromatic amines and azo derivatives. *Mutat Res* 1983;108:225-38.
 26. CIIT. 1982. 104-week chronic toxicity study in rats with aniline hydrochloride. Final report. Report prepared for CIIT by Hazleton Laboratories America, Inc. CIIT Docket No. 11642. CIIT, Research Triangle Park, NC.
 27. NCI (National Cancer Institute) National Toxicology Program. Technical report on the bio-assay for Aniline hydrochloride for possible carcinogenicity. (CAS No., 142-04-1). NCI-CG-TR-130. 1978. Available from: URL: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr130.pdf
 28. Hagiwara A, Arai M, Hirose M, Nakanowatari J-I, Tsuda H and Ito N. Chronic effects of norharman in rats treated with aniline. *Toxicol Lett* 1980;6:71-5.
 29. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
 30. Steinheider G, Neth R, Marguardt H. Evaluation of nongenotoxic and genotoxic factors modulating the frequency of micronucleated erythrocytes in the peripheral blood of mice. *Cell Biol Toxicol* 1985;1:197-211.
 31. Tweats D, Blakey D, Heflich RH, Jacobs A, Jacobsen SD, Nohmi TT, et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory in vivo tests. I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not indicate genotoxic hazards. *Mutat Res* 2007;627:78-91.
 32. Khan MF, Wu X, Boor PJ, Ansari GAS. Oxidative modification of lipids and proteins in aniline induced splenic toxicity. *Toxicol Sci* 1999;48:134-40.
 33. Khan MF, Wu X, Wang JL. Upregulation of transforming growth factor-beta 1 in

- the spleen of aniline-induced rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;187:22-8.
34. Weinberger MA, Albert RH, Montgomery SB. Splenotoxicity associated with splenic sarcomas in rats fed high doses of D & C Red No. 9 or aniline hydrochloride. *J Natl Cancer Inst* 1985; 5:681-7.
 35. Smith RP, Alkaitis AA, Shafer PR. Chemically induced methemoglobinemias in the mouse. *Biochem. Pharmacol* 1967;16:317-28.
 36. Bus JS, Popp JA. Perspectives on the mechanism of action of the splenic toxicity of aniline and structurally-related compounds. *Food Chem Toxicol* 1987;25:619-26.
 37. Robertson O, Cox MG, Bus JS. Response of the erythrocyte and spleen to aniline insult in Fischer 344 rats. *Toxicologist* 1983;3:128.
 38. Bomhard EM, Herbold BA. Genotoxic activities of aniline and its metabolites and their relationship to the carcinogenicity of aniline in the spleen of rats. *Crit Rev Toxicol* 2005;35:783-835.
 39. US Environmental Protection Agency. Aniline (CAS No 62-53-3). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1988. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0350_summary.pdf
 40. International Conference on Harmonisation (2011). Q3C(R5): Impurities: Guideline for Residual Solvents.

염화벤질(α -클로로톨루엔, CAS# 100-44-7)

인체 노출 가능성

인체 노출은 주로 흡입을 통한 직업적 노출이며 오염된 지하수 섭취로 인한 노출은 빈도가 낮다.

변이원성/유전독성

염화벤질은 시험관 내(*in vitro*)에서 변이원성과 독성이 있으나 포유류 생체 내(*in vivo*) 체계에는 없다.

국제암연구소(IARC)는 염화벤질에 대한 변이원성/유전독성에 대한 철저한 검토를 수행한 모노그래프를 공개했다(참고 1). 일부 주요 결론을 아래 요약했다.

염화벤질은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

Salmonella typhimurim 중 TA100 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames). 표준 시험법 결과는 실험실 간, 실험실 내에서 일관성이 없었으나 가스 단계에서 시험했을 때 뚜렷한 증가를 보였다(참고 2),

중국 햄스터 세포(참고 1).

염화벤질은 경구, 복강 또는 피하 투여 후 마우스 골수에서 생체 내(*in vivo*) 소핵을 유발하지 않았지만 정맥투여 후 마우스에서 DNA 첨가물을 형성했다(참고 1).

발암성

IARC에서는 염화벤질을 Group 2A로 분류하였으며 인체에 발암성이 있을 수 있다(참고 3).

F-344 랫드와 B6C3F1 마우스에 104주 동안 주 3회 위관영양에 의해 옥수수 오일 중 염화벤질을 투여하였다(참고 4) 랫드는 0, 15, 30 mg/kg(일일용량 추정치 기준 약 0, 6.4, 12.85 mg/kg)을 투여하고 마우스는 0, 50, 100 mg(일일용량 추정치 기준 약 0, 21.4, 42.85 mg/kg)을 투여하였다. 랫드에서 종양 유발의 통계적으로 유의미한 증가는 암컷 고용량군의 갑상선 C-세포 선종/암종에서만 나타났다(27%로 대조군의 8%와 비교됨). 이러한 갑상선 암의 투여 관련성 여부는 아래 논의하였다. 일부 독성 시험이 이루어졌지만 C-세포 세포증식증은 이 평생 연구와 암컷 랫드에서만 나타났다.

마우스의 경우(참고 4) 수컷과 암컷 모두 고용량에서 전위 유두종과 암종(대부분 유두종) 발생률의 통계적으로 유의미한 증가가 있었다(대조군 0% 대비 각각 62%, 37%). 종양이

없는 동물의 위에서 상피조직 과다생성이 발견되었다. 수컷 마우스에서만 고용량인 경우 혈관종 또는 혈관육종(대조군 0% 대비 10%), 저용량인 경우에만 간에서 암종 또는 선종(대조군 33% 대비 54%)의 통계적으로 유의미한 증가가 있었다. 암컷 마우스에서만 고용량의 경우 폐포-세기관지 선종 또는 암종 발생률의 유의미한 증가가 있었다(대조군 1.9% 대비 12%).

발암 가능성 평가를 위한 추가 연구를 수행하였지만 AI 계산을 위한 시험 설계 측면에서는 적합하지 않은 것으로 간주하였다. 3개 국소적 연구 중 1개에서(참고 5) 통계적으로 유의미하지는 않았으나 피부 암종이 증가했다(벤젠 대조군 0% 대비 15%). 크로톤 오일과 포블 에스테르 TPA(12-O-테트라데카노일-포블-13-아세테이트)를 촉진제로 사용(Ref 6, 7, 8)하여 염화벤질이 피부암 개시를 촉발할 가능성을 확인하는 개시-촉진 시험은 기간이 제한적이었으며 발간된 보고서는 예비 결과를 제시하였으나 문헌에서 최종 결과를 확인할 수 없다. 피하 투여 후 투여 부위에서 육종이 발견되었다(참고 9).

염화벤질 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|------------------------------|--------------------------------------|------------------|---|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 4* | F344 랫드 성별, 그룹 당 52 | 주 3회, 2년. 위관영양 | 52 | 2: 15, 30 mg/kg (6, 12 mg/kg/d) | 갑상선 C-세포 종양 암컷 | 40.6 |
| 참고 4 | B6C3F1 마우스 성별, 그룹 당 52 | 주 3회, 2년. 위관영양 | 52 | 2: 50, 100 mg/kg (21, 42 mg/kg/d) | 전위 유두종, 암종 수컷 | 49.6 |
| 참고 5 | 암컷 ICR 마우스 그룹 당 11 | 주 3회 4주 간, 주 2회 9.8개월 경피 | 있음 (벤젠 투여) | 1: 10 μ L | 피부 종양 없음 | NC [^] |
| 참고 5 | ICR 마우스 그룹 당 20 (F) | 주 2회 50주 간, 경피 | 20 (벤젠 투여) | 1: 2.3 μ L | 피부 편평세포 암종 | NC [^] |
| 참고 6 | ICI 마우스 그룹 당 20 | 주 2회, 7개월 | 20 | 1: 100 | 피부 종양 없음 | NC [^] |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|--|--|-----|------------------------------|--|---------------------------------|
| | (M) | 미만, 경피, 톨루엔으 로 | | μg/마우스 | | |
| 참고 9 | BD 랫드 14 (40 mg/kg), 8 (8 mg/kg) | 주 1회, 51주 간, 피하 | 예 | 2: 40, 80 mg/kg/wk | 투여 부위 육종 | NC [^] |
| 참고 7 | Theiler' s Original 마우스 성별,그룹 당 40 | 1회 투여(톨루 엔), 1주 대기 촉진제(크 로톤오일) 주 2회 10개월 간 | 40 | 1: 1 mg/마우스 | 피부 종양 없음 | NC [^] |
| 참고 8 | Sencar 마우스 | 1회 투여; 촉진제(TPA) 주 2회 6개월 | 예 | 3:10; 100, 1000 μg/마우스 | 20% 피부 종양[TPA 대조군은 5%] (DMBA 대조군은 11주에 피부종양이 나타남) | NC [^] |

별도로 표시하지 않은 경우 CPDB(참고 10)에 이 목록의 연구가 있다.

* AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구

NC[^] = 계산되지 않음. 소규모 그룹, 제한된 기간. 조직 노출 가능성이 높은 경로와 더 관련 있는 것으로 여겨져 CPDB에 포함되지 않음.

발암성 작용기전

염화벤질에 대한 CPDB(참고 10)의 계산된 최저 TD₅₀이 있는 종양 유형(최고 활성)은 마우스에서 전위 종양, 암컷 랫드에서 갑상선 C-세포 종양이다. 잠재적 불순물과 관련된 비자극 저용량에 대한 전위 종양의 인체 위험 관련성 평가는 매우 의심스럽다.

설치류에서 전위 종양은 인체 위험성 평가에서 논의 주제로 많이 다뤄졌다. 비변이원성 화학물질과 더불어 경구 위관영양 투여 후 전위와 접촉하는 고농도 시험물질과 관련된 염증과 자극은 세포 과다형성과 결국 종양으로 이어질 수 있다. 사람의 식도를 통해

빠르게 통과하는 것과 달리 선위로 배출되기 전 위관영양으로 삽입된 물질이 한동안 설치류 전위에서 잔류할 수 있다. 이러한 종양 유발은 비자극용량에서 인체와 관련이 없다. 동일한 염증성, 과형성 영향 역시 변이원성 화학물질에서 발견되고 이 경우 돌연변이 직접 유발에 비해 비변이원성 고용량 영향의 작용 기전에 미치는 관련 영향을 판단하기가 더욱 복잡하다. 그러나 자극/염증을 일으키고 잠재적으로 2차 손상 메커니즘이 있는 농도와만 관련이 있는 접촉 부위 종양형성에 대해서는 어느 정도 강력한 근거가 있다. 세포 증식은 종양 발달에서 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다. 그래서 비선형 용량 반응과 전위(또는 기타 접촉 부위) 종양은 저용량 인체 노출과 관련이 없다.

Protor *et al.*(참고 11)은 암 위험 평가에서 전위 종양 관련성에 있어 알려진 유전독성이 잠재적으로 인체 조직(생체 내(*in vivo*))에서 화합물이 유전독성이 있는지 여부 포함)과 관련이 있는지 여부, 종류에 관계없이 경구 투여 후 종양이 전위 특이적인지 여부, 종양이 전위에 자극을 주거나 최대내약용량(MTD)를 초과하는 용량인 경우만 관찰되는지 여부를 고려하는 체계적인 접근법을 제시한다.

위와 표에서 명시한 대로 염화벤질은 대개 위관영양(전위 종양), 주사투여(주사 부위 육종), 예민한 센카 마우스의 피부 종양 개시-촉진 모델에서 국소 적용으로 고용량에 노출 후 랫드와 마우스의 접촉 부위에서 종양을 유발한다. 대량생산 화학물질 위해평가사업(SIDS)의 OECD 보고에 따르면 염화벤질은 급성 및 반복 투여 연구에서 피부, 눈, 점막에 매우 자극적인 것으로 나타났다(참고 12). 암컷 및 수컷 Fischer 344 랫드 10마리 그룹은 수컷의 경우 250 mg/kg 이하, 암컷은 125 mg/kg 이하 용량으로 주 3회 경구 투여 한 후 대개는 궤양이 생겨 심각한 급성 및 만성 전위 위염으로 2주 내에 사망했다(참고 4). 저용량인 경우 암컷 랫드에서 관찰된 증식성 변화는 전위의 세포증식증(62 mg/kg)과 전위의 과다각화증(30 mg/kg)이다. 발암성 연구에서 전위 종양 유발은 마우스에서 높았고 Lijinsky *et al.*(참고 4)은 아만성 범위 결정 시험 중 랫드 발암성 시험법에서 발달한 전위 종양은 거의 발견하지 못했고 랫드의 전위에서 비종양 병변을 관찰했다. 용량-반응 곡선의 경사가 심하고 랫드에 대해 MTD 수립이 어렵기 때문에 Lijinsky *et al.*은 랫드 시험에 사용된 용량이 랫드에서 중대한 발암성 영향을 유발하기에 너무 낮은 정도로 미미했을 가능성이 있다고 추측한다.

염화벤질의 경우, 접촉 부위 종양 이외 투여 관련 다른 종양 유형의 가능성을 논의하였다. 마우스 경구 시험에서 Lijinsky는 전위 종양의 “미미함” 이외, 수컷에서 내피의 종양 증가, 암컷 마우스에서만 폐의 폐포-세기관지 종양(둘 중 어느 것도 통계적으로 유의미하지 않음), 저용량 투여 수컷 마우스에서만 간세포 종양(이 종양

유형은 용량 관련이 없으므로 가치가 없음)을 포함하는 발암성 영향에 대한 특성 확인을 했다. OECD SIDS(참고 12) 보고 관찰에서 26주 마우스 경구 독성 시험에서 용량 관련 간세포 과다형성을 중재하기에는 심각하다는 사실을 주지한다.

수컷 마우스 순환계의 혈관중/혈관육중(TD₅₀ 454 mg/kg/day), 암컷 랫드에서 갑상선 C-세포 선종 또는 암종(TD₅₀ 40.6 mg/kg/day)의 통계적으로 유의미한 증가가 보고되었다. 암컷 동시 대조군은 갑상선 C-세포 종양 수준이 더 높은 반면(14/52 대 대조군 4/52)에 고용량군 암컷 랫드의 수준은 수컷 동시 대조군 수준과 유사했다(12/52). 수컷에서 갑상선 C-세포 종양 수준은 대조군 랫드보다 치료군에서 더 낮았다. NTP 시험(참고 13, 14)에서 Fischer 344 랫드의 모든 과거 대조군 데이터에서 이 랫드 종의 수컷 및 암컷에서 C-세포 선종과 암종이 수컷에서 범위가 더 넓긴 하지만 유사한 수준임을 보여준다. 따라서 수컷, 암컷 모두 도이 대조군이 있는 염화벤질을 투여받은 암컷 랫드의 갑상선 종양 수준을 비교하는 것과 당시 인용된 과거 대조군 범위(10%) 보다 더 높긴 했어도 암컷 갑상선 종양이 투여 관련인지 여부를 질문하는 것이 타당할 수 있다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA는 (mg/kg)/day 당 1.7×10^{-1} 경구 경사도 인자를 산출했고 이는 US EPA의 추정을 사용하면 약 $4 \mu\text{g/day}$ 의 10만분의 1 위험 수준과 상응한다.

섭취허용량(AI)

AI 계산을 위한 시험 선정 근거

염화벤질 발암 가능성의 가장 견고한 평가는 경구 (위관영양) 투여를 사용한 Lijinsky *et al.* 연구(1986)이다. 이 연구에서 동물들은 전형적인 NCI/NTP 연구의 주 5회가 아닌 주 3회 투여 받았다. 그러나 전체적으로 랫드 연구는 AI 계산에 적합한 것으로 여겨진다. 왜냐하면 최대 용량이 최대내약용량에 가깝다는 증거가 있기 때문이다. 동일 보고서의 26주 범위 결정 시험에서(참고 4), 125 mg/kg 또는 250 mg/kg(주 3회)를 투여 받은 각 성별의 총 10마리의 랫드는 2~3주 안에 사망했다. 사인은 심각한 위염과 전위의 궤양이었다. 많은 경우 심근 괴사가 있었다. 62 mg/kg에서 26마리 암컷 중 4마리만 26주간 살아남았고 심근 괴사와 전위세포 과다형성이 나타났다. 전위의 과다각화증은 30 mg/kg에서 일부 암컷의 경우 발견되었다. 염화벤질 투여의 경우 62 mg/kg에서 두 성별 모두에서 체중 감소가 나타났고 이는 수컷에게 있어 통계적으로 유의미하다. 따라서 발암성 연구를 위해 선정된 고용량은 30 mg/kg(주 3회)이었다. 이 용량에서 2년 발암성 연구에서 살아남은 대조군과 큰 차이가 없었지만, 수컷 랫드 3마리는 전위의 편평세포 암종과 유두종이 있었고 평생 연구가 더 높은 용량으로 시행될 수 있을 가능성이 없다.

2.2장에 기술하였듯이 TD₅₀에서 선형외삽을 통해 AI를 산출하였다. 위에 명시된 대로 염화벤질이 의약품의 불순물로 자극/염증을 발생시키기에 매우 낮은 저농도로 노출된 인체에서 접촉 부위 종양 위험 가능성은 매우 희박하다. 그러므로 관찰된 수컷 마우스의 전위 종양은 AI 계산과 연관성이 없는 것으로 여겨진다. 암컷 랫드에서 갑상선 C-세포 종양의 유의미성 역시 이러한 종양이 대조군 랫드에서 흔히 발생한다는 점으로 미루어 의구심이 든다. 그러나 이러한 종양의 불확실한 특성을 감안하면 갑상선 C-세포 종양이 최저 TD₅₀와(40.6 mg/kg/day) 관련되어 있기 때문에 AI 산출에 사용된 것이다.

AI 계산

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 40.6 \text{ (mg/kg/day)}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 40.6 \mu\text{g/day} \text{ (41 } \mu\text{g/day)}$$

참고

1. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. [Online] 1972-PRESENT. (Multivolume work). 1999. Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol71/mono71-19.pdf>
2. Fall M, Haddouk H, Morin JP, Forster R. Mutagenicity of benzyl chloride in the Salmonella/microsome mutagenesis assay depends on exposure conditions. *Mutat Res* 2007;633:13-20.
3. IARC. An update of selected IARC Monographs from volumes 1 to 42. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon.1987. Suppl. 7: 126-7; 148-9.
4. Lijinsky W. Chronic Bioassay of Benzyl Chloride in F344 Rats and (C57BL/6J X BALB/c) F1 Mice. *J Natl Cancer Inst* 1986;76:1231-6.
5. Fukuda K, Matsushita H, Sakabe H, Takemoto K. Carcinogenicity of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride and benzoyl chloride in mice by skin application. *Gann* 1981;72(5):655-64.
6. Ashby J, Gaunt C, Robinson M. Carcinogenicity bioassay of 4-chloromethylbiphenyl

- (4CMB), 4-hydroxymethylbiphenyl (4HMB) and benzyl chloride (BC) on mouse skin: Interim (7 month) report. *Mutat Res* 1982;100:399-401.
7. Coombs MM. Attempts to initiate skin tumors in mice in the 2-stage system using 4-chloromethylbiphenyl (4CMB), -hydroxymethylbiphenyl (4HMB) and benzyl chloride (BC), Report of the experiment at 10 months. *Mutat Res* 1982;100:403-5.
 8. Coombs MM. The UKEMS Genotoxicity Trial: A summary of the assays for skin tumour induction in mice, the subcutaneous implant test and the sebaceous gland suppression test. *Mutat Res* 1982;100:407-9.
 9. Druckrey H, Kruse H, Preussmann R, Ivankovic S, Landschuetz C. Cancerogenic alkylating substances. III. Alkyl-halogenides, - sulfates, - sulfonates and strained heterocyclic compounds. 1970;74(3):241-73.
 10. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
 11. Proctor DM, Gatto NM, Hong SJ, Allamneni KP. Mode-of-action framework for evaluation of the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment. *Toxicol Sci* 2007;98:313-26.
 12. OECD Chemicals Screening Information Dataset (SIDS) for high volume chemicals benzyl chloride report published by the United Nations Environmental Programme (UNEP). [Online]. Available from: URL:<http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSEIDS/100447.pdf>
 13. Haseman JK, Huff J, Boorman GA. Use of historical control data in carcinogenicity studies in rodents., *Toxicol Pathol* 1984;12:126-35.
 14. Haseman JK, Hailey JR, Morris RW. Spontaneous neoplasm incidence in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: A National Toxicology Program update, *Toxicol Pathol* 1998;26:428-41.
 15. US Environmental Protection Agency. Benzyl chloride (CAS 100-44-7). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online] 1989. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0393_summary.pdf

비스(클로로에틸)에테르 (BCME, CAS# 542-88-1)

인체 노출 가능성

환경 내 빠르게 분해되기 때문에 환경을 통한 노출은 적으며 주로 산업현장에서 흡입을 통해 노출되며, 이는 대기 또는 물의 BCME의 부재로 뒷받침 된다(참고 1).

변이원성/유전독성

BCME는 시험관 내(*in vitro*)와 생체 내(*in vivo*)에서 변이원성과 유전독성이 있다.

BCME는 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames), *Salmonella typhimurium*(참고 2).

생체 내(*in vivo*)에서 BCME는 6개월 간 흡입 노출된 랫드의 골수세포의 염색체 변이를 일으키지 않았다(참고 3). 염색체 변이 발생의 미미한 증가가 BCME에 노출된 근로자의 말초 림프구에서 관찰되었다(참고 4).

발암성

BCME는 Group A로 분류되어 알려진 인체 발암성이 있고(참고 5), Group 1 화합물로 인체 발암성이 있다(참고 6).

위에서 기술된 대로 수많은 역학 연구를 통해 BCME(흡입 경로)에 노출된 근로자에서 폐암 위험이 증가했다는 사실이 증명되었다. 흡입에 의한 노출 이후 BCME는 이하 연구에서 명시된 대로 랫드와 마우스의 호흡관에 발암성을 보인다.

Leong *et al.* 연구(참고 3)는 가장 견고한 연구 설계와 최저 TD₅₀ 수치를 기반으로 한 AI 산출 시 사용하였다. 수컷 Sprague-Dawley 랫드와 Ha/ICR 마우스 그룹에 대해 일 6시간 1, 10, 100 ppb의 BCME를 6개월 간 주 5회 흡입 경로로 노출시키고 이후 자연 수명 기간 동안(약 2년) 관찰했다. 6개월 노출 후 부검된 랫드 그룹 평가에서 혈액학, 폐 세척의 박탈세포학, 또는 골수 세포의 세포유전학 파라미터 측면에서 비정상 소견이 없었다. 그러나 100 ppb (7780 mg/kg/day 또는 ~8 μg/kg/day)에 노출되었던 생존 랫드의 86.5%는 추후 비강종양에 걸렸고(희귀한 인체 신경아세포종과 유사한 감각신경상피종) 랫드의 약 4%는 폐선종에 걸렸다. 10 또는 1 ppb BCME에 노출된 랫드에서는 종양이 발견되지 않았다. 100 ppb BCME에 노출된 마우스는 비강종양에 걸리지 않았지만 대조군에 비해 폐선종 발생 가능성이 유의미한 수준이었다. 10 또는 1 ppb BCME에 노출된 마우스에서 폐선종 발생의 유의미한 증가가 없었다.

10, 20, 40, 60, 80, 100일 중 한 기간 동안 주 5일, 일 6시간 0.1 ppm (100 ppb) 단회 투여로 BCME에 수컷 Sprague-Dawley 랫드의 흡입 노출 시험을 하고 시험 후 랫드의 여생동안 관찰하였다(참고 7). 대조군에 비해 투여군의 일부 호흡관 종양 유형의 발생이 눈에 띄게 증가했다.

BCME는 마우스에서 투여 부위 육종(참고 8)과 피부 종양(참고 9)을 일으키는 접촉 발암물질 부위이며 피부 적용 후 새로 태어난 마우스에서 폐선종도 유발시킨다(참고 10).

비스(클로로메틸)에테르 (BCME) - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|---|--|-----|---|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 3* | Sprague Dawley 랫드 그룹 당 ~104 (M) | 일 6시간, 주 5일 28주. 흡입 | 104 | 3: 1; 10; 100 ppb (53;528; 7780 ng/kg/d) | 비강통로-감각 신경상피종 | 0.00357 |
| 참고 3 | ICR/Ha 마우스 그룹 당 138~144 (M) | 일 6시간, 주 5일, 25주. 흡입 | 157 | 3: 1; 10; 100 ppb (0.295; 2.95;33.6 ng/kg/d) | 폐선종 | 유의미한 증가 없음 |
| 참고 7 | 동일 농도로 각기 다른 기간 투여 Sprague Dawley 랫드 30~50 (M) | 일 6시간, 주 5일, 10, 20, 40, 60, 100 노출. 흡입 | 240 | 1: 0.1 ppm | 폐암, 비강암 | NC [^] |
| 참고 7 | 골든 시리아 햄스터 그룹 당 100 (M) | 일 6시간, 주 5일, 평생. 흡입 | NA | 1: 1 ppm | 폐 미분화암 | NC [^] |
| 참고 9 | ICH/Ha 스위스 마우스 그룹 당 50 (F) | 복강 내 투여. 주 1회 424~456 일 | 50 | 1: 0.114 mg/kg/d | 육종 (투여 부위) | 0.182 |

CPDB(참고 11)에 이 목록의 연구가 있다.

* AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구

[^]NC = 비표준 발암성 설계로 인해 계산되지 않음. CPDB에 없음.

NA = 연구에서 대조군에 대한 보고가 없으므로 불가능.

발암성 작용기전

BCME는 변이원성 발암물질이다. 섭취허용량은 TD₅₀에서 선형 외삽으로 산출된다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA (참고 5)에서 Kuschner *et al.* (참고 7)의 흡입 연구 데이터의 단계별 선형 모델링을 기반으로 mg/kg/day 기준 220의 경구 암 경사도 인자를 계산했다. 10만 분의 1의 평생 암 위험과 관련된 흡입 (및 경구) 용량은 3.2 ng/day (흡입 노출 1.6 x 10⁻⁸ mg/m³, 경구 노출 1.6 x 10⁻⁶ mg/L)

섭취허용량(AI)

AI 계산을 위한 시험 선정 근거

BCME는 시험관 내(*in vitro*) 변이원성으로 동물과 인체에서 암을 발생하는 인체 발암물질로 분류되어 있다. 따라서 경구 발암성 연구는 이루어지지 않았고 복강 내 투여와 흡입 연구가 AI 계산의 기본으로 여겨진다. 가장 민감한 최종변수는 3.57 μg/kg/day의 TD₅₀의 흡입 발암성 연구(참고 3)에서 수컷 랫드에서 나타난 비강 종양의 증가였다(감각신경상피종, 후각상피세포의 종양). ~4 ng/day의 TD₅₀에서 선형 외삽으로 산출된 AI는 US EPA의 3.2 ng/day 권고와 마찬가지로 중요하다. 이 연구(참고 3)는 다회 투여, 용량 군 별 50마리 미만 동물로 구성된 신뢰할만한 연구이다.

흡입 노출 부위 이외 다른 부위의 종양에 대한 증거는 부족하다. 위에 언급된 피부 적용 후 새로 태어난 마우스에서 폐종양에 대해 기술된 연구(참고 10)는 흡입이 피부 적용 결과 발생했는지 여부가 불확실할 수 있다. 그러나 흡입 데이터를 통해 여기에서 산출된 AI가 다른 경로에 적용할 수 있는 것으로 여겨진다. 왜냐하면 매우 보수적인 수치이기 때문이다(1.5 μg/day의 초기 TTC 미만 수준). AI는 또한 BCME(4 ng/day 대 3.2 ng/day)의 흡입과 섭취(식수) 모두에 권고되는 US EPA(흡입 데이터 기반)에서 산출된 한계와 유사하다.

AI 계산

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 3.57 \mu\text{g/kg/day}/50,000 \times 50$$

$$\text{평생 AI} = 0.004 \mu\text{g/day} \text{ 또는 } 4 \text{ ng/day}$$

참고

1. NIH ROC. National Institutes of Health. Report on Carcinogens, Twelfth Edition [Online]. 2011. Available from: URL: [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/bis\(chloromethyl\)ether.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/bis(chloromethyl)ether.pdf)
2. Nelson N. The chloroethers - occupational carcinogens: A summary of laboratory and epidemiology studies. *Ann. NY Acad Sci* 1976;271:81-90.
3. Leong BKJ, Kociba RI, Jersey GC. A lifetime study of rats and mice exposed to vapors of bis(chloromethyl) ether. *Toxicol Appl Pharmacol* 1981;58:269-81.
4. IARC. Bis(chloromethyl)ether and chloromethyl methyl ether (technical-grade). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Lyon. 1987;Addendum 7: 131-3.
5. US Environmental Protection Agency. Bis(chloromethyl)ether (CAS# 542-88-1). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1999. Available from: URL: <http://www.epa.gov/iris/subst/0375.htm>
6. IARC. Chemicals, industrial processes and industries associated with cancer in humans. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1982;Volumes 1 to 29, Addendum 4.
7. Kuschner M, Laskin S, Drew RT, Cappiello V, Nelson N. Inhalation carcinogenicity of alpha halo ethers. III. Lifetime and limited period inhalation studies with bis(chloromethyl)ether at 0.1 ppm. *Arch Environ Health* 1975;30:73-7.
8. Van Duuren BL, Sivak A, Goldschmidt BM, Katz C, Melchionne S. Carcinogenicity of halo-ethers. *J Nat Cancer Inst* 1969; 43: 481-6.
9. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Seidman I. Carcinogenic activity of di- and trifunctional α -chloro ethers and of 1,4-dichlorobutene-2 in ICR/HA swiss mice. *Cancer Res* 1975;35 "2553-7
10. Gargus JL, Reese WH Jr., Rutter, HA. 1969. Induction of lung adenomas in newborn mice by bis(chloromethyl)ether. *Toxicol Appl Pharmacol* 1969;15:92-96.
11. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>

p-클로로아닐린 (CAS# 106-47-8),
p-클로로아닐린 HCl (CAS# 20265-96-7)

인체 노출 가능성

p-클로로아닐린에 대한 산업 노출은 주로 염료, 직물, 고무 및 기타 산업에서 기인한다(참고 1). *p*-클로로아닐린이 자연환경으로 배출되면 호기성 조건 하에서 물에서 본질적으로 생분해가 가능하다(참고 2).

변이원성/유전독성

p-클로로아닐린은 시험관 내(*in vitro*)에서 변이원성이 있고 생체 내(*in vivo*) 유전독성에 대한 제한된 증거가 있다.

WHO(참고 3)은 조직 전체 유전독성 시험의 상세한 검토내용을 참조문헌과 제공하며 주요 결론이 아래 요약되어 있다.

p-클로로아닐린은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames), 전체가 아닌 일부 실험실에서 귀선유전이 2~3배 증가하였다.

몇몇 마우스 림프종 L6178Y 세포 tk 돌연변이 시험법(참고 3)에서 보고된 양성 결과는 상승정도가 매우 적었지만 상당한 세포독성과 관련이 있었다. 그러나 국제적인 평가 인자(global evaluation factor)” 를 사용한 양성 시험법의 최신 기준에 부합하지 않는다(참고 4).

중국 햄스터 난소 세포에서 염색체 변이가 조금 증가했지만 두 실험실 간 일관성이 없었다.

생체 내(*in vivo*)에서 단회 구강 투여로 180 mg/kg의 마우스에서 소핵을 유발하지 않았지만 마우스에서 일 3회 투여 후 300 mg/kg/day 기준 유의미한 증가가 보고되었다.

발암성

p-클로로아닐린은 IARC에서 Group B로 분류하여 동물에서 충분한 발암성 증거와 인체에서 불충분한 증거가 있는 인체 발암 가능성이 있는 물질이다(참고 5).

동물 발암성 연구는 *p*-클로로아닐린 또는 그 염산염인 *p*-클로로아닐린 HCl에 대해

수행하였다.

AI 계산에는 비장 종양 발생 증가를 기반으로 한 NTP(참고 6) 경구 위관영양 시험을 활용했고 *p*-클로로아닐린 HCl은 수컷 랫드에서 발암성이 있었다: (전체 육종 발생률: 용매 대조군, 0/49; 저용량 1/50, 중간용량 3/50, 고용량, 38/50). 육종으로 진행되기 전 종양발현 전 병변인 비장의 섬유증은 성별에 관계없이 나타났다(참고 6, 7). 암컷 랫드에서 비장 종양은 중간용량 투여 랫드 한 마리와 고용량 투여 랫드 한 마리에서만 나타났다. 수컷 랫드와 암컷 랫드의 부신의 크롬 친화 세포종 발생 증가가 *p*-클로로아닐린 투여와 관련이 있었을 가능성이 있지만 악성 크롬 친화 세포종 발생은 증가하지 않았다. 고용량군 내 수컷 마우스의 간 또는 비장의 혈관육종 발생은 용매 대조군 보다 더 높았다(0 mg/kg/day에서 4/50; 2.1 mg/kg/day에서 4/49; 7.1 mg/kg/day에서 1/50; 21.4 mg/kg/day에서 10/50). 간세포 선종 또는 암종 (복합) 발병이 투여 받은 수컷 마우스에서 증가했고 그 중 간세포 암종 수치는 (0 mg/kg/day에서 3/50; 2.1 mg/kg/day에서 7/49; 7.1 mg/kg/day에서 11/50; 21.4 mg/kg/day에서 17/50) 이었다. 암컷 마우스 연구에서는 음성이었다. NTP(1989)은 수컷 랫드에서 명확한 발암성 증거, 암컷 랫드에서 불확실한 증거, 수컷 마우스에서 일부 발암성 증거가 있고 암컷 마우스에서 발암성 증거가 없다고 결론 내렸다.

이전 시험에서는 랫드와 마우스에 식이로 투여한 *p*-클로로아닐린을 사용했다(참고 8). 비장 종양이 투여 받은 수컷 랫드에서, 혈관육종이 마우스에서 발견되었다. 이러한 종양의 발생이 발암성을 강력히 뒷받침하지만 NCI는 이러한 연구 조건 하에서 랫드 또는 마우스에서 *p*-클로로아닐린의 발암성이 확실하다고 할 만큼 충분한 근거가 없다고 결론 내렸다. *p*-클로로아닐린이 식이로 투여될 시 불안정하기 때문에 이 동물들이 표적 농도 보다 더 낮은 수준의 화학물질을 투여받았을 수도 있다(참고 3). 그러므로 이 연구는 부적합한 것으로 여겨진다.

***p*-클로로아닐린 및 *p*-클로로아닐린 HCl - 발암성 연구 상세사항**

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|-----|---|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 6* <i>p</i> -클로로아닐린 HCl | B6C3F1 마우스 그룹 당 50 (M) | 주 5회 위관영양, 103주 | 50 | 3: 3;10;30 mg/kg (2.1;7;21.1 mg/kg/d) | 간세포 선종 또는 암종 | 33.8 |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 중양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------|-----|--|---|---------------------------------|
| 참고 6 <i>p</i> -클로로아닐 린 HCl | B6C3F1 마우스 그룹 당 50 (F) | 주 5회 위관영양, 103주 | 50 | 3: 3;10;30 mg/kg (2.1;7;21.1 mg/kg/d) | 음성 | NA |
| 참고 6 <i>p</i> -클로로아닐 린 HCl | Fischer 344 랫드 그룹 당 50 (M) | 주 5회 위관영양, 103주 | 50 | 3: 2;6;18 mg/kg (1.4;4.2;12.6 mg/kg/d) | 비장 섬유육종, 혈관육종, 골육종 | 7.62 |
| 참고 6 <i>p</i> -클로로아닐 린 HCl | Fischer 344 랫드 그룹 당 50 (F) | 주 5회 위관영양, 103주 | 50 | 3: 2;6;18 mg/kg (1.4;1.2;12.6 mg/kg/d) | 유의미한 증가 없음; 불확실 | NA |
| 참고 8 | Fischer 344 랫드 그룹 당 50 (F) | 78주(연구 기간: 102주) 식이 | 20 | 2: 250;500ppm (7.7;15.2 mg/kg/d) | 비장 또는 비장 피막의 간엽 종양(섬유종, 섬유육종, 혈관육종, 골육종, 기타 명시되지 않은 육종) | 72 |
| 참고 8 | Fischer 344 랫드 그룹 당 50마리 (F) | 78주(연구 기간: 102주) 식이 | 20 | 2: 250;500ppm (9.6,19 mg/kg/d) | 음성 | NA |
| 참고 8 | B6C3F1 마우스 그룹 당 50 (M) | 78주(연구 기간: 91주) 식이 | 20 | 2: 2500; 5000 ppm (257;275 mg/kg/d) | 혈관육종(피하 조직, 비장, 간, 신장) 모든 혈관 종양 발생 증가 | 유의미하 지 않음(CPD B) |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|------------------------------|------------------------------|-----|--|--------------------------------------|---------------------------------|
| 참고 8 | B6C3F1 마우스 그룹 당 50 (F) | 78주(연구 기간: 102주) 식이 | 20 | 2: 2500; 5000 ppm (278, 558 mg/kg/d) | 혈관육종(간, 비장), 복합 혈관 종양 발생 증가 | 1480 |

CPDB(참고 9)에 이 목록의 연구가 있다

* AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구

NA = 해당되지 않음

발암성 작용기전

p-클로로아닐린으로 인해 아닐린과 관련 화학물질로 발생하는 전형적인 비장 섬유육종, 골육종 등이 수컷 랫드에서 유발되었다. *p*-클로로아닐린에 반복적으로 노출되면 청색증과 메트헤모글로빈 혈증이 발생하고 이후 비장, 간, 신장에서 중간에서 중증의 혈철증, 비장비대증, 혈액 변수 변화로 발현되고 부분적으로 골수 외 조혈이 수반되며 혈액, 간, 비장, 신장에 영향을 미치고 (참고 6, 8). 이러한 영향은 과한 화학물 유발 용혈 이후에 발생하고 재생성빈혈과 일치한다(참고 3). 이러한 증거는 *p*-클로로아닐린 또는 DNA가 있는 그 대사물질의 직접 상호작용과 관련 있는 종양 유발이 아닌 메트헤모글로빈 혈증, 비장 섬유증, 세포증식증에 부차적인 종양형성의 간접 메커니즘을 뒷받침한다(참고 10).

최저 TD₅₀의 종양 유형은 수컷 랫드에서 비장 종양이었다. 그러나 비장 종양이 비선형 용량 관계와 연관되어 있기 때문에 비장 종양이 섭취허용량 계산에 사용되지 않았다. 비종양(혈액독성) 영향을 기반으로 WHO(참고 3)는 2 μ g/kg/day 수준(즉, 50kg인 사람의 경우 100 μ g/day)을 권고한다.

p-클로로아닐린에 대한 시험관 내(*in vitro*) 변이원성 데이터에서 실험실 간 재성이 불가능한 돌연변이의 상승이 약간 나타났어도 간 종양 작용기전에 대한 변이원성 요소를 배제할 수 없다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

p-클로로아닐린 또는 *p*-클로로아닐린 염산염에 대한 규제 한계가 알려진 바 없다.

섭취허용량(AI) 계산

수컷 마우스 간중양 작용기전의 변이원성 요소가 배제될 수 없으므로 AI는 선종과 암종 수를 합하여 33.8 mg/kg/day의 TD₅₀에서 선형 외삽으로 산출하였다.

AI 계산

수컷 마우스의 간중양 기반 *p*-클로로아닐린 HCl

평생 AI = TD₅₀/50,000 x 50kg

평생 AI = 33.8mg/kg/day/50,000 x 50kg

평생 AI = 34 μ g/day

참고

1. Beard RR, Noe JT. Aromatic nitro and amino compounds, Clayton GD, Clayton FE, editors. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. New York. John Wiley 1981; 2A:2413-89.
2. BUA. *p*-Chloroaniline. Beratergremium für Umweltrelevante Altstoffe (BUA) der Gesellschaft Deutscher Chemiker. Weinheim, VCH, 1995;171. (BUA Report 153).
3. World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2003. Concise International Chemical Assessment Document 48. 4-chloroaniline. [Online]. Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad48.htm>
4. Moore, MM, Honma, M, Clements J, Bolcsfoldi G, Burlinson B, Cifone M, et al. Mouse Lymphoma Thymidine Kinase Gene Mutation Assay: Follow-up Meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing_Aberdeen, Scotland, 2003_Assay Acceptance Criteria, Positive Controls, and Data Evaluation. Environ Mol Mutagen 2006;47:1-5.
5. IARC. Para-chloroaniline. In: Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1993;57: 305-21.

6. NTP. Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of para-chloroaniline hydrochloride (CAS No. 20265-96-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1989. NTP TR 351...
7. Goodman DG, Ward JM, Reichardt WD. Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline hydrochloride, p-Chloroaniline, azobenzene, o-toluidine hydrochloride, 4,4'-sulfonyldianiline, or D & C Red No. 9. J Natl Cancer Inst 1984;3:265-73.
8. NCI. Bioassay of p-Chloroaniline for possible carcinogenicity, CAS No. 106-47-8. US National Cancer Institute, Bethesda, MD. 1979;NCI-CG-TR-189.
9. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
10. Bus JS, Popp JA. Perspectives on the mechanism of action of the splenic toxicity of aniline and structurally-related compounds. Food Chem Toxicol 1987;25:619-26.
11. Ashby J, Vlachos DA, Tinwell H. Activity of aniline in the mouse bone marrow micronucleus assay. Mutat Res 1991;263:115-7.
12. Tweats D, Blakey D, Heflich RH, Jasobs A, Jacobsen SD, Nohmi TT, et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory in vivo tests. I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not indicate genotoxic hazards. Mutat Res 2007;627:78-91.

1-클로로-4-니트로벤젠(para-클로로니트로벤젠, CAS# 100-00-5)

인체 노출 가능성

산업 사용 시 노출 가능성이 있다. 일반 대중 노출에 대한 데이터는 없다.

변이원성/유전독성

1-클로로-4-니트로벤젠은 시험관 내(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*)에서 변이원성과 유전독성이 있다.

1-클로로-4-니트로벤젠은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

S9 대사 활성이 있는 TA100, TA1535종의 *Salmonella typhimurium*의 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames)에서 변이원성이 있었고 TA1537, TA1538, TA98, *E.coli* WP2uvrA (참고 1, 2, 3, 4)에서는 음성이었다. 4개 중 2개 시험에서 TA1535는 대사활성이 없고 약한 양성 반응이 있었다(참고 4).

또한 복강 내 투여 시 수컷 스위스 마우스의 간, 신장, 뇌에서 단일 가닥 DNA 분절을 유발된다(참고 6, 7).

발암성

1-클로로-4-니트로벤젠은 IARC에서 Group 2 발암물질로 분류하여 인체 발암성이 있다고 분류되지 않았고(참고 7) US EPA는 Group B2 발암물질 또는 인체 발암 가능성이 있는 것으로 여긴다(참고 8).

1-클로로-4-니트로벤젠에 대한 동물 발암성 연구가 랫드와 마우스에게 식이 투여를 통해(참고 9, 10) 또는 수컷 랫드에 위관영양을 통해(참고 12) 이루어졌다.

2년 간의 연구에서(참고 9), 수컷 및 암컷 랫드에서 비장 종양(섬유종, 섬유육종, 골육종, 육종)의 유의미한 증가가 있었고 수컷과 암컷 모두에서 비장 혈관육종 증가가 있었고 중간 및 고용량 투여(7.7, 41.2 mg/kg/day) 수컷에서 통계적으로 유의미한 증가가 있었다. 섬유종 등 비장의 비종양성 변화와 피막 세포증식증이 발견되었다. 부신수질 크롬 친화 세포종이 고용량 투여(53.8 mg/kg/day) 암컷에서 통계적으로 유의미한 결과가 나타났다. 마우스에서 종양의 유의미한 증가는 고용량 투여(275.2 mg/kg/day) 암컷에서 발생한 간 혈관육종이 유일했다. 적혈구 수와 헤마토크리트 감소, 골수의 조혈 등 혈액 장애가 랫드와 마우스에서 모두 발견되었다.

또 다른 식이 연구에서(참고 10) 1-클로로-4-니트로벤젠은 18개월 식이로 투여한 수컷

CD-1 랫드에서 종양을 유발하지 않았다. 식이 농도는 독성으로 인해 18개월 동안 다음과 같이 보정하였다: 저용량 그룹은 첫 3개월 2000 ppm, 이후 2개월은 250 ppm, 6개월~18개월에는 500 ppm을 투여 받았고 고용량 그룹은 첫 3개월 4000 ppm, 이후 2개월 500 ppm, 6개월~18개월에는 1000ppm을 투여 받았다. 평균 일일 노출은 저용량 약 17 mg/kg, 고용량 약 33 mg/kg 이었다. 랫드는 최종 투여 6개월 후 종양 검사를 위해 부검을 실시했다. 검사한 11개 조직(폐, 간, 비장, 신장, 부신, 방광, 위, 장, 고환, 뇌하수체)에서 투여로 인한 종양 증가는 관찰되지 않았다.

동일시험에서(참고 10) 또한 18개월 간 식이 투여한 수컷 및 암컷 CD-1 마우스에서 1-클로로-4-니트로벤젠 발암 가능성을 조사했다. 최종 노출 3개월 후 마우스를 부검하였다. 12개 조직(폐, 간, 비장, 신장, 부신, 심장, 방광, 위, 장, 생식기)에 대해 종양 검사를 실시했다. 간, 폐, 비장의 혈관 종양(혈관종, 혈관육종)의 용량 의존적 증가가 수컷 및 암컷 마우스에서 관찰되었다.

경구 투여 연구에서(참고 11) 수컷 및 암컷 Sprague-Dawley 랫드(n=60)는 24주 간 주 5회 위관영양으로 1-클로로-4-니트로벤젠을 투여 받았다. 수컷 및 암컷 랫드 모두에서 독성이 관찰되었다. 중간 및 고용량군에서 메트헤모글로빈 혈종이 고용량군에서 혈철소와 빈혈이 발견되었다.

1-클로로-4-니트로벤젠 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|--------------------|-----------------------------------|------------|-----|--|---------------------------------|---------------------------------|
| 참고9 ^{*,*} | F344 랫드(SPF) 그룹 당 50 (M) | 2년 (식이) | 50 | 3: 40; 200; 1000ppm. (1.5;7.7;41.2 mg/kg/d) | 비장 혈관육종 7.7 mg/kg/d | 173.5 |
| | F344 랫드(SPF) 그룹 당 50 (F) | 2년 (식이) | 50 | 3: 40; 200; 1000ppm. (1.9;9.8;53.8 mg/kg/d) | 암컷 크롬 친화 세포종 53.8 mg/kg/d | 116.9** |
| | Crj:BDF 1 (SPF) 그룹 당 50 (M) | 2년 (식이) | 50 | 3: 125;500; 2000ppm. (15.3;60.1;24 0.1 mg/kg/d) | NA | |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|---------------------------------|--|---|------------|---|---------------------------|---------------------------------|
| | Crj:BDF 1 (SPF) 그룹 당 50 (F) | 2년 (식이) | 50 | 3: 125;500; 2000ppm. (17.6;72.6;27 5.2 mg/kg/d) | 간 혈관육종 275.2 mg/kg/d | 1919.9 |
| 참고 10 | CD-1 랫드 그룹 당 14~15 (M) | 18 개월 식이; 최종 투여 6개월 후 부검 | 16 | 2: 평균 17, 33 mg/kg; (내용 참조) (22.6, 45.2 mg/kg/d) | NA | 음성 [^] |
| | CD-1 랫드 성별, 그룹 당 14~15 | 18 개월 식이; 최종 투여 6개월 후 부검 | 성별 당 15 | 2: M: 341;720. F: 351;780 mg/kg/d | 혈관(혈관종/ 혈관육종)/수 컷 | 430 [^] |
| Schroeder and Daly, 1984+ | Sprague Dawley 랫드 성별, 그룹 당 60 | 24개월 주 5일, 위관영양 | 예 | 3: 0.1; 0.7;5 mg/kg/d | NA | 음성 |

CPDB(참고 12)에 이 목록의 연구가 있다.

* AI/PDE 계산을 위해 선정된 발암성 연구

** 발암성 데이터 기반으로 계산된 TD₅₀ (주 1 참조)

+ CPDB에 없음.

[^] 11~12 조직으로 제한된 조직병리학

NA = 적용대상 아님

발암성 작용기전

1-클로로-4-니트로벤젠은 랫드(참고 13), 토끼(참고 14), 인체(참고 15)에서 유의미하게 대사된다. *p*-클로로아닐린은 1-클로로-4-니트로벤젠과 마찬가지로 랫드와 마우스에서 혈관육종과 비장종양을 생성하는 것으로 나타났다(참고 16). 아닐린과 마찬가지로 간과 비장의 혈관 종양형성에 대한 간접 기전을 가리키고 이는 4-클로로아닐린(참고 16)과 1-클로로-4-니트로벤젠(참고 17)에 대해 산화 적혈구 손상 및 비장 섬유증에 부차적으로 발생한 것이다. 메트헤모글로빈 혈증과 관련 독성은 1-클로로-4-니트로벤젠의 눈에 띄는

영향이다. 종양 유발의 비선형 기전은 식이 연구들(참고 9, 10)보다 낮은 용량에서 수행한 경구 위관영양 연구(참고 11)에서 메트헤모글로빈 혈증과 혈철소가 발견되었지만 종양의 증가는 없다는 사실로 뒷받침된다.

최저 TD₅₀의 종양 유형은 암컷 랫드에서 부신 수질 크롬 친화 세포종이었다(참고 9). 이 종양유형은 F344 랫드 중 특히 수컷에서 기본 종양으로 흔하고 대다수가 변이원성이 있는 많은 화학물질로 투여 한 후에 나타난다(참고 18). 이 종양들은 여러 생화학 장애와 관련된 것으로 제시되었고 적혈구에 독성이 있는 아닐린과 *p*-클로로아닐린 등의 화학물질에 의해 크롬 친화 세포종 유발 작용기전은 산화적 인산화 분리(참고 18) 또는 아마도 저산소증으로 인해 발생할 수 있다.

전체적으로 비변이원성 작용기전에 대한 상당한 증거가 있으며 다음과 같다:

유발되는 종양 중 가장 눈에 띄는 유형은 메트헤모글로빈 혈증과 관련된 것이었다(비장, 혈관종양). 부신 수질 크롬 친화 세포종은 동일한 섭동(perturbations)과 연관이 될 수 있다. 비선형 용량과 관계가 명백히 있다(무효 용량 및 저용량 연구 음성 결과 기반, 참고 11).

그러나 *Salmonella* 변이원성 시험에서 1-클로로-4-니트로벤젠은 *Salmonella* TA100과 TA1535에서(TA98과 다른 계통은 불포함) 변이원성이 나타났다. 이는 1-클로로-4-니트로벤젠에 의한 종양유발의 작용 기전의 변이원성적 요소를 의미할 수 있지만 변이원성 유형은 대사물질 *p*-클로로아닐린과 다르다. 이는 변이원성 대사물질 또는 작용기전의 차이점을 보여주는 랫드 간 S9(참고 19)가 있는 *Salmonella* TA98에서만 재생가능한 변이원성이었다. 생체 내(*in vivo*) 유전독성 데이터는 변이원성 작용기전 가능성을 평가하기에 부족하다.

1-클로로-4-니트로벤젠은 변이원성이며 변이원성 작용기전이 배제될 수 없으므로 AI를 계산하였다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA, WHO 또는 독성물질질병등록국(ATSDR) 등에 의해 알려진 규제 한계가 없다.

섭취허용량(AI) 계산

가장 민감한 TD₅₀은 암컷 랫드에서 부신 수질 크롬 친화 세포종에 대한 것이다(참고 9).

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 117 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 117 \mu\text{g/day}$$

참고

1. Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E. Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ Mutagen* 1983;5 Suppl 1:1-142
2. Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & information Center (JETOC). Japan: Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation system of the Industrial Safety and Health law. 2005 Addendum 3.
3. Kawai A, Goto S, Matsumoto Y, Matsushita H. Mutagenicity of aliphatic and aromatic nitro compounds. *Sangyoigaku* 1987; 29: 34-55.
4. NTP. Technical Report on Toxicity Studies on 2-Chloronitrobenzene and 4-Chloronitrobenzene (CAS Nos. 88-73-3 and 100-00-5) Administered by Inhalation to F344/N Rats and B6C4F1 Mice. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1993;NTP TR 33.
5. Cesarone CF, Bolognesi C, Santi L. DNA damage induced in vivo in various tissues by nitrobenzene derivatives. *Mutat Res* 1983;116:239-46.
6. Cesarone CF, Fugassa E, Gallo G, Voci A, Orunesu M. Influence of the culture time on DNA damage and repair in isolated rat hepatocytes exposed to nitrochlorobenzene derivatives. *Mutat Res* 1984;131:215-22.
7. IARC. Printing processes and printing inks, carbon black and some nitro compounds. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. World Health Organization, Lyon. 1996.Vol. 65.
8. US Environmental Protection Agency (US EPA). Health Effects Assessment Summary Tables. Office of Solid Waste and Emergency Response, US Environmental Protection Agency, Washington DC. 1995; No. PB95-921199.
9. Matsumoto M., Aiso S, Senoh H, Yamazaki K, Arito H, Nagano K, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity of para-chloronitrobenzene in rats and mice by two-year feeding. *J. Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006;25:571-84.
10. Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F, Weisburger JH, Boger E, Van Dongen, et al. Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol* 1978;2:325-56.
11. Schroeder RE, Daly JW. A chronic oral gavage study in rats with p-nitrochlorobenzene. Biodynamics Inc. 1984. Project No. 80-2487. NTIS/OTS 0536382.
12. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
13. Yoshida T, Andoh K, Tabuchi T. Identification of urinary metabolites in rats treated with p-chloronitrobenzene. *Arch Toxicol* 1991;65: 52-8.

14. Bray HG, James SP, Thorpe WV. The metabolism of the monochloronitrobenzenes in the rabbit. *Biochem J* 1956;64:38-44.
15. Yoshida T, Tabuchi T, Andoh K. Pharmacokinetic study of p-chloronitrobenzene in humans suffering from acute poisoning. *Drug Metab Dispos* 1993;21:1142-6.
16. IARC. Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1993;57.
17. Travlos GS, Mahler J, Ragan HA, Chou BJ, Bucher JR. Thirteen-week inhalation toxicity of 2- and 4-chloronitrobenzene in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol* 1996;30:75-92.
18. Greim H, Hartwig A, Reuter U, Richter-Reichel HB, Thielman HW. Chemically induced pheochromocytomas in rats: mechanisms and relevance for human risk assessment. *Crit Rev Toxicol* 2009;39:695-718.
19. WHO. CICAD 48: Concise International Chemical Assessment Document 48 p-Chloroaniline. Geneva. [Online]. 2003; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad48.htm>

p-크레시딘(2-메틸-5-메틸아닐린, CAS# 120-71-8)

인체 노출 가능성

산업 사용 시 노출 가능성이 있다. 일반 대중 노출에 대한 데이터는 없다.

변이원성/유전독성

p-크레시딘은 생체 내(*in vivo*) 변이원성/유전독성에 대한 불확실한 증거가 있고 시험관 내(*in vitro*) 변이원성/유전독성이 있다.

p-크레시딘은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

대사 활성이 있는 일부 *Salmonella* 종(참고 1, 2, 3).

람다 cII 유전자가 있는 Big Blue 형질전환 마우스 모델; 식이로 0.25, 0.5% *p*-크레시딘 투여, 발암성 연구의 용량과 비교 가능, 180일(참고 4).

생체 내(*in vivo*) *p*-크레시딘은 마우스의 골수(참고 5, 6, 7) 또는 p53 이형접합 또는 nullizygous 마우스(참고 8)에서 소핵을 유발시키지 않았다. p53 이형접합 마우스를 사용한 다른 연구에서 소핵 증가는 아닐린 및 관련 화합물과 관련된 메트헤모글로빈 혈증 및 재생성 빈혈에 따라 나타날 수 있다(참고 9)

방광 등 일부 조직에서 알칼리 용리 시험법을 사용하여 DNA 단일 가닥 분절이 관찰되지 않았지만(참고 6, 7) Comet 시험법으로 평가된 DNA 가닥 분절이 *p*-크레시딘을 경구로 투여받은 마우스에서 다른 조직을 제외한 방광 점막에서 관찰되었다(참고 10).

발암성

IARC에서 *p*-크레시딘을 인체 발암 가능성이 있는 Group 2B 발암물질로 분류하였다(참고 11).

표준 설치류 모델에서 단 한 세트의 발암성 연구만 있다. NTP 연구(참고 5)에서 Fischer 344 랫드와 B6C3F1 마우스를 대상으로 식이로 *p*-크레시딘을 투여하는 평생 연구에서 *p*-크레시딘은 종양을 유발했다. 다른 노출 경로에 대해서 발암성 데이터는 없다.

p-크레시딘을 각 종의 수컷 50마리, 암컷 50마리에 식이 투여하였다. 성별마다 50마리의 대조군이 있었다. *p*-크레시딘 농도는 식이의 0.5% 또는 1%였다. 그러나 마우스에서 21주 후 투여된 농도가 감소되어 0.15%와 0.3%였다. CPDB의 mg/kg/day로 전환시킨 용량 수준은 수컷 랫드의 경우 198과 368 mg/kg/day였고 암컷 랫드는 245와 491 mg/kg/day였다. 수컷 마우스는 260과 552 mg/kg/day였고 암컷 마우스는 281과 563 mg/kg/day였다.

고용량 투여 수컷 마우스를 제외한 투여 받은 모든 동물들은 104주 간 식이로 *p*-크레시딘을 투여 받았고 최대 2주의 추가기간 동안 관찰되었다. 고용량 투여 수컷 마우스는 92주에 모두 사망하였다. 사망률은 두 종의 두 성별 모두에서 용량 관련성이 있었다. 특정 종양 발생률은 고용량 보다 저용량에서 더 높았고 이는 고용량군에서 사망률 급속 증가가 원인일 것이다.

투여 받은 수컷 및 암컷 랫드에서 방광암(유두암, 편평상피세포암, 이행세포 유두암, 이행상피세포암, 미분화 암의 복합 발생)과 후각 신경아세포종의 발생이 통계적으로 유의미한 수준으로 관찰되었다. 간의 종양적 결절, 간세포암 또는 혼합 간/담관암의 복합 발생 역시 저용량 수컷 랫드에서 유의미한 발생이 있었다. 수컷 및 암컷 마우스에서 방광암(암종, 편평상피세포암, 이행세포암 복합 발생) 발생이 유의미한 수준이었다. 간세포암 발생은 암컷 마우스에서 유의미한 수준이었다.

요약하자면 *p*-크레시딘은 두 성별 모두 암종 발생과 방광 유두종, 후각 신경아세포종과 수컷에서 간암 발생 증가로 Fischer 344 랫드에 발암성이 있었다. *p*-크레시딘은 또한 B6C3F1 마우스에서 두 성별 모두 방광암과 암컷에서 간세포 암종을 유발하여 발암성이 있었다.

방광종양 유발은 p53+/- 반접합성 마우스의 단기간 발암성 모델에서도 발견되었다. *p*-크레시딘은 마우스 모델의 대규모 실험실 간 평가에서 양성 대조군으로 사용하였다(참고 13). *p*-크레시딘을 26주 간 400 mg/kg/day로 위관영양 투여한 1개 연구와 화합물이 식이로 투여한 19개의 연구 중 18개에서 방광 종양이 증가하였다.

***p*-크레시딘 - 발암성 연구 상세사항**

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|------------------------------|-----------|-----|--|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 5* | B6C3F1 마우스 성별, 그룹 당 50 | 식이 2년 | 50 | 2: 0.5, 1% 21주 후 0.15, 0.3%로 감소 M: 260:552. F: 281; 563 mg/kg/d | 방광암/수컷 | 44.7 |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|---------------------------------|-----------|-----|---|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 5 | Fisher 344 랫드 성별, 그룹 당 50 | 식이 2년 | 50 | 0.5, 1% M: 198;396. F: 245;491 mg/kg/d | 방광암/수컷 | 88.4 |

* AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구
CPDB(참고 12)에 이 목록의 연구가 있다.

발암성 작용기전

p-크레시딘은 변이원성 발암물질이지만 TD₅₀에서 선형 외삽하여 섭취허용량을 산출하였다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

규제 한계는 알려진 바 없다.

섭취허용량(AI)

AI 계산을 위한 시험 선정 근거:

유일하게 적합한 p-크레시딘의 발암성 연구는 CPDB에 보고된 NTP/NCI에서 수행한 연구이다(참고 5). 수컷 마우스에서 방광 종양을 나타낸 가장 민감한 TD₅₀으로 AI를 산출하였다.

AI 계산:

NTP/NCI 연구의 TD₅₀값은 랫드와 마우스의 두 성별의 방광에 대해 가장 민감한 값이다. 랫드의 경우 암컷의 TD₅₀는 110 mg/kg/day, 수컷은 88.7 mg/kg/day였다. 마우스의 경우 암컷의 TD₅₀는 69 mg/kg/day, 수컷은 44.7 mg/kg/day였다. 수컷 마우스의 TD₅₀값이 가장 보수적인 수치이다.

평생 AI가 다음과 같이 계산되었다:

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

평생 AI = 44.7 mg/kg/day/50,000 x 50 kg

평생 AI = 45 μ g/day

참고

1. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. Environ Mol Mutagen 1988;11 Suppl 12:1-158.
2. Dunkel VC, Zeiger E, Brusick D, McCoy E, McGregor D, Mortelmans K, et al. Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in Salmonella typhimurium and Escherichia coli. Environ Mutagen 1985;7 Suppl 5:1-248.
3. Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology and Information Center (JETOC); Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation of the Industrial Safety and Health law; 1997; Suppl.
4. Jakubczak JL, Merlino G, French JE, Muller WJ, Paul B, Adhya S et al. Analysis of genetic instability during mammary tumor progression using a novel selection-based assay for in vivo mutations in a bacteriophage transgene target. Proc Natl Acad Sci (USA) 1996; 93(17):9073-8.
5. NCI. Technical report on the Bioassay of p-cresidine for possible carcinogenicity. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1979; TR 142.
6. Ashby J, Lefevre PA, Tinwell H, Brunborg G, Schmezer P, Pool-Zobel B, et al. The nongenotoxicity to rodents of the potent rodent bladder carcinogens o-anisidine and p-cresidine. Mutat Res 1991;250:115-133.
7. Morita T, Norihide A, Awogi T, Sasaki Yu F, Sato-S-I, Shimada H, et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (Groups 1, 2A and 2B). The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS.MMS. Mutat Res 1997;389:3-122.
8. Delker DA, Yano BL, Gollapudi BB. Evaluation of cytotoxicity, cell proliferation, and genotoxicity induced by p-cresidine in hetero- and nullizygous transgenic p53 mice. Toxicol Sci 2000;55:361-9.
9. Stoll RE, Blanchard KT, Stoltz JH, Majeski JB, Furst S, Lilly PD et al. Phenolphthalein and nisacodyl: Assessment of genotoxic and carcinogenic responses in heterozygous p53 (+/-) mice and Syrian Hamster Embryo (SHE) assay. Toxicol Sci 2006;90:440-50.

10. Sasaki YF, Nishidate E, Su YQ, Matsusaka N, Tsuda S, Susa N, et al. Organ-specific genotoxicity of the potent rodent bladder carcinogens o-anisidine and p-cresidine. *Mutat Res* 1998;412:155-60.
11. IARC. para-Cresidine. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. World Health Organization, Lyon. 1982;27:92. reviewed in Suppl 7 1987.
12. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
13. Storer RD, French JE, Haseman J, Hajian G, LeGran EK, Long GD, et al. p53^{+/-} hemizygous knockout mouse: Overview of available data. *Toxicologic Pathol* 2001; 29 Suppl:30-50.

1,2-디브로모에탄(CAS# 106-93-4)

인체 노출 가능성

1,2-디브로모에탄은 과거 곤충 훈증제와 토양 살선충제로 사용되었지만, 독성 문제로 인해 미국 EPA와 EC에서 이를 금지했다(참고 1, 2). 1,2-디브로모에탄은 원료의약품 합성에 사용된다.

변이원성/유전독성

1,2-디브로모에탄은 *in vitro*와 *in vivo*에서 변이원성/유전독성이 있다. 1,2-디브로모에탄은 추가된 대사 활성의 유무에 관계없이 미생물 복귀 돌연변이 시험에서 변이원성을 나타냈다(참고 3-7). 대사 활성 유무에 관계없이 1,2-디브로모에탄의 마우스 림프종 분석 결과는 양성이었다(참고 8). *in vitro* 정모세포와 간세포 모두에서 용량 의존적으로 DNA 복구를 증가시켰고(참고 9) 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에서 돌연변이를 유발했다. 1,2-디브로모에탄은 CHO 세포에서 용량 의존적으로 염색체 이상 빈도를 증가시켰다. *in vivo* 랫드 Comet 분석에서 1,2-디브로모에탄 100 mg/kg 투여 후 간과 위선에서 양성 결과가 확인되었다. 최대 100 mg/kg까지 시험했을 때 랫드의 1,2-디브로모에탄 골수 적혈구 소핵 시험 결과는 음성이었다(참고 12).

발암성

IARC는 1,2-디브로모에탄을 인체에서 암을 유발할 가능성이 있는 것으로 분류했다(그룹 2A)(참고 13). 흡입 및 경구 발암성 연구는 CPDB에서 확인할 수 있다(참고 14). 1,2-디브로모에탄이 두 가지 투여 경로의 수컷 및 암컷 랫드와 마우스 모두에서 발암성을 나타냈다(참고 16-21). 가장 민감한 종양 부위는 경구 투여(위관 영양 또는 식수) 후에는 전위였고 흡입 후에는 비강이었다. 다른 종양 부위로는 혈관, 폐, 간, 유선이 있었다. 두 가지 종 모두에서 하나 이상의 양성 결과가 확인되었다.

1,2-디브로모에탄 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 ^a | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) ^b |
|-------|--------------------------------|-------------------------|-----|--|---------------------------|--|
| 참고 16 | 30/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | M: 65주 F: 73주, 식수 | 50 | 1: 4mmol/L M: 116 F: 103 mg/kg/day | 전위/편평 암종/수컷 | 11.8 |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 ^a | 가장 민감한 중양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) ^b |
|--------------------|------------------------------------|--|-----|--|---------------------------|--|
| 참고 17 | 50/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | 78주, 식수 | 100 | 1: M: 46.7 F: 48 mg/kg/day | 전위/편평 암종/수컷 | 9.44 |
| 참고 18 | 50/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | 53주, 위관 | 20 | 2: M: 30, 53 F: 26,52 mg/kg/day | 전위/편평 세포 암종/수컷 | 2.38 |
| 참고 18 | 50/성별/ Osborne-Mendel 랫드 시험군 | M: 40주 F: 50주, 위관 | 20 | 2: M: 27.4, 29.2 F: 26.7, 28.1 mg/kg/day | 위/편평세포암 /암컷 | 1.26 |
| 참고 19 | 50/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | M: 78주 F: 96주, 흡입 | 50 | 2: M: 19.9, 79.5 F: 23.9, 95.6 mg/kg/day | 폐/다발종양/ 수컷 | 18.2 |
| 참고 19 ^c | 50/성별/ F344 랫드 시험군 | M: 95주 F: 97주, 흡입 | 50 | 2: M: 4.0, 15.9 F: 5.71, 22.8 mg/kg/day | 비강/암종 및 선암종/암컷 | 2.33 |
| 참고 20 | 48/성별/ SD 랫드 시험군 | 78주, 흡입 | 48 | 1: M: 9.39 F: 13.4 mg/kg/day | 비강/다발종양 /수컷 | 1.19 |
| 참고 21 ^d | 50/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | 103주 (10ppm)/ 90주(40pp m), 흡입 | 50 | 2: M and F: 3.55,14.18 mg/kg/day | 비강/다발종양 /암컷 | NC |

NC = 계산되지 않음

^a CPDB에 명시된 mg/kg/day 값(참고 14)

^b 개별 TD₅₀ 값은 Lhasa 발암성 데이터베이스에 보고된 CPDB TD₅₀ 값임(참고 15). TD₅₀ 값은 가장 민감한 중양 부위의 TD₅₀을 나타냄.

^c AI 도출을 위해 선택된 발암성 시험

^d 이 시험은 특히 흡입 노출 후 마우스의 비강에 형성된 중양 유형을 평가하기 위해 수행됨. 발암성에 대해 다른 조직은 평가하지 않음.

가장 강력한 발암성 시험은 F344 랫드 NTP(참고 19) 흡입 시험이다. 이 시험(수컷의 경우 95주, 암컷의 경우 97주)에는 적절한 용량 간격(M: 4.0, 15.9 mg/kg/day, F: 5.71, 22.8 mg/kg/day, 랫드 50/성별/그룹)의 두 가지 시험 물질 투여군과 대조군(50/성별)이 포함되었다. 가장 민감한 성별 및 부위의 TD₅₀은 2.33 mg/kg/day이다. 또 다른 SD 랫드 대상 흡입 노출 시험(참고 20)에서는 TD₅₀이 더 낮았다. 그러나 이 시험은 78주간 노출된 48마리 동물/용량으로 구성된 단 하나의 용량군으로 구성되었다. 따라서 이 시험은 TD₅₀ 추정과 관련하여 NTP 시험보다 열등한 것으로 간주한다.

53주 동안 위관 영양법으로 1,2-디브로모에탄을 투여한 B6C3F1 마우스 시험(참고 18)은 경구 노출 경로를 사용한 가장 강력한 시험이다. 이 시험은 대조군(20/성별) 외에 두 가지 시험 물질 용량군(50/성별/그룹)을 사용했다. 가장 민감한 성별 및 부위의 TD₅₀은 2.38 mg/kg/day이다. 또 다른 경구 시험은 Osborne-Mendel 랫드에서 두 가지 용량군을 대상으로 수행했다. 그러나 용량 간격이 불충분하고(참고 18) 노출이 1년 미만이기 때문에 이 시험은 용량-반응 관계의 특성화 및 TD₅₀ 추정에 한계가 있어 유용하지 않은 것으로 간주한다(참고 18).

발암성 작용기전

1,2-디브로모에탄은 변이원성 발암물질로 알킬화 작용기전에 따라 돌연변이를 일으킬 것으로 예상된다. 그러므로 AI를 TD₅₀의 선형 외삽법으로 계산할 수 있다. 경구 노출 후 1,2-디브로모에탄의 가장 낮은 산출 TD₅₀(최고 활성) 종양 유형은 마우스와 랫드의 전위 종양이다(참고 18). 흡입 노출 후 가장 낮은 산출 TD₅₀ 값은 각각 마우스 및 랫드의 폐와 비강과 관련이 있다. 경구 투여된 고농도의 비 변이원성 화학물질이 전위와 접촉 후 염증과 자극을 유발하여 증식으로 이어지고 결국 종양을 유발하는 것으로 나타났다. 위관 영양으로 투여된 물질은 인간의 경우 식도를 통해 신속하게 통과되는 것과 달리 선위로 배출되기 전에 설치류 전위에 일정 시간 동안 남아 있을 수 있다. 그래서 이러한 종양 유도는 비 자극 용량에서는 인체와 관련이 없는 것으로 간주한다(참고 22, 23). 변이원성 화학물질에서 동일한 염증 및 과증식 효과가 나타날 수 있다. 그러나 직접 DNA 반응성을 나타내는 알킬화제이며 다부위, 다중 발암물질로 보고된 1,2-디브로모에탄의 경우 직접 돌연변이 유도에 비해 이러한 비 돌연변이성 고용량 효과의 작용 방식으로 인한 기여를 구분하기는 어렵다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

현재까지 발표된 규제 한계는 없다.

섭취허용량(AI) 계산

AI 산출을 위한 시험 선정 근거

1,2-디브로모에탄은 흡입 및 경구 노출 경로를 통해 돌연변이를 일으키는 발암물질이다. 1,2-디브로모에탄은 마우스와 랫드 모두에서 발암물질로 간주한다. 가용한 독성학적 자료에 따르면 여러 동물 중에서 흡입을 통해 1,2-디브로모에탄 흡수가 발생한다. 랫드의 경우 경구 흡수가 30분 이내에 거의 완료되는 것으로 확인되었다(참고 1). 그렇기 때문에 1,2-디브로모에탄의 완전 전신 노출이 경구 및 흡입 노출 후에 발생한다고 합리적으로 가정할 수 있다. 두 가지 노출 경로로 1,2-디브로모에탄에 노출된 동물의 말단 종양의 관찰 역시 이를 뒷받침한다. TD₅₀ 값이 종과 투여경로에 걸쳐 유사한 경향을 나타냈다.

마우스와 랫드 모두에서 NTP로 생성된 발암성 데이터를 고려해 보면 가장 적절한 시험에서 가장 민감한 성별/부위에 대한 TD₅₀은 2.33 mg/kg/day이다. 이는 비강 종양 발생률을 기준으로 F344 암컷 랫드에서 얻은 TD₅₀ 값이다.

흡입 AI와 경구 AI 도출에 권장되는 TD₅₀ 값이 매우 유사하다는 점을 고려하면(각각 2.33 및 2.38 mg/kg/day), TD₅₀ 값 2.3 mg/kg/day를 사용하여 두 가지 투여경로의 단일 AI를 아래에서 계산했다.

AI 산출:

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 2.3 \text{ mg/kg/day}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 2 \mu\text{g/day}$$

참고

1. ATSDR. U.S. Department of Human Health and Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for 1,2-Dibromoethane, September 2018.
2. EU Council Directive 87/ 1 81 /EEC, amending the Annex to Directive 79/117/EEC prohibiting the placing on market and use of plant protection products containing certain active substances. Official Journal of the European Communities 1987; L 71/33.
3. Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K, Shirasu, Y. Further

- mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat Res* 1983;116:185-216.
4. McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames B. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:5135-5139.
 5. Rannug U, Sundvall A and Ramel C. The mutagenic effect of 1,2-dichloroethane on *Salmonella typhimurium* 1. Activation through conjugation with glutathione in vitro. *Chem Biol Interact* 1978;20:1-16.
 6. Strobel K, Grummt T. Aliphatic and Aromatic Halocarbons as Potential Mutagens in Drinking Water. iii. Halogenated Ethanes and Ethenes. *Toxicol Environ Chem* 1987;15:101-128.
 7. Dunkel VC, Zeiger E, Brusick D, McCoy E, McGregor D, Mortelmans K, Rosenkranz HS, Simmon, VF. Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Environ Mutagen* 1985;7(Suppl. 5):1-248.
 8. Clive D, McCuen R, Spector JFS, Piper C, Mavournin KH. Specific gene mutations in L5178Y cells in culture: A Report of The U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res* 1983;115:225-251.
 9. Smith-Oliver T, Working PK, White RD, Butterworth BE. Induction of DNA repair in rat spermatocytes and hepatocytes by 1,2-dibromoethane: the role of glutathione conjugation. *Carcinogenesis* 1986;7:467-472.
 10. Tan EL, Hsie AW. Mutagenicity and cytotoxicity of haloethanes as studied in the CHO/HGPRT system. *Mutat Res* 1981;90:183-191.
 11. Asita A. A comparative study of the clastogenic activity of ethylating agents. *Mutagenesis* 1989;4:432-436.
 12. Takasawa H, Takashima R, Narumia K, Kawasaki K, Hattoria A, Kawabata M, Shuichi Hamada S. Results of the International Validation of the in vivo rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens: Individual data for 1,2-dibromoethane, p-anisidine, and o-anthranilic acid in the 2nd step of the 4th phase Validation Study under the JaCVAM initiative. *Mutat Res* 2015;786-788:144-150.
 13. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, World Health Organization (WHO). Re-Evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. 1999;71:641.
 14. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

15. Lhasa Carcinogenicity Database. [Online]. Available from: URL: <https://carcdb.lhasalimited.org/carcdb-frontend/>
16. van Duuren BL, Melchionne S, Kline SA, Seidman I. Carcinogenicity bioassays of bromoacetaldehyde and bromoethanol- Potential metabolites of dibromoethane. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis* 1985;5:393-403.
17. van Duuren BL, Melchionne S, Seidman I, Pereira MA. Chronic bioassays of chlorinated humic acids in B6C3F1 mice. *Environmental Health Perspectives* 1986;69:109-117.
18. National Toxicology Program. Bioassay of 1,2-dibromoethane for possible carcinogenicity (CAS No. 106-93-4). National Toxicology Program Technical Report 1978: TR-86.
19. National Toxicology Program. Carcinogenesis bioassay of 1,2-dibromoethane (CAS No. 106-93-4) in F344 rats and B6C3F1 mice (inhalation study). National Toxicology Program Technical Report 1982: TR-210.
20. Wong LCK, Winston JM, Hong CB, Plotnick H. Carcinogenicity and toxicity of 1,2-dibromoethane in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1982;63:155-165.
21. Stinson SF, Reznik G, Ward JM. Characteristics of proliferative lesions in the nasal cavities of mice following chronic inhalation of 1,2-dibromoethane. *Cancer Letters* 1981;12:121-129.
22. Proctor DM, Suh M, Chappell G, Borghoff SJ, Thompson CM, Wiench K, Finch L, Ellis-Hutchings R. An Adverse Outcome Pathway (AOP) for forestomach tumors induced by non-genotoxic initiating events. *Regul Toxicol Pharmacol* 2018;96:30-40.
23. Proctor DM, Gatto NM, Hong SJ, Allamneni KP. Mode-of-action framework for evaluating the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment. *Toxicol Sci* 2007;98:313-326.

염화디메틸카르바밀(CAS# 79-44-7)

인체 노출 가능성

산업에서 사용할 때 노출 가능성이 있다. 일반 대중의 노출에 대한 데이터는 없다.

변이원성/유전독성

염화디메틸카르바밀(DMCC)은 시험관 내(*in vitro*)와 생체 내(*in vivo*)에서 변이원성과 유전독성이 있는 것으로 알려져있다.

DMCC는 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

대사 활성 여부와 관계없이 *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA1537, TA98, TA1538 (참고 1, 2);

생체 내(*in vivo*) 소핵 시험법에서 양성이었다(참고 3).

발암성

IARC에서는 DMCC를 인체 발암 가능성이 있는 Group 2A 화합물로 분류하였다(참고 4).

6개월에서 12년 간 노출된 근로자 대상 소규모 시험에서 암으로 인한 사망은 보고되지 않았다. 이는 DMCC의 인체 발암성 증거로 부적합하다. 설치류에서 DMCC가 종양을 유발했다는 증거가 있다.

경구 시험이 부족하기 때문에 연구에서는 흡입 및 복강 내 투여에 대한 자료로 AI를 산출하였다.

시리아 골든 햄스터를 사망 또는 빈사 상태로 부검되기 전까지 일 6시간, 주 5일 1 ppm DMCC에 흡입을 통해 노출시켰다(참고 5). 비강의 편평상피세포암이 동물의 55%에서 발견되었으나 대조군 또는 과거 대조군에서 자연 비강종양은 발견되지 않았다. 조기 사망률을 고려할 때 종양이 있는 동물 비율은 75%이다(참고 5).

암컷 ICR/Ha 스위스 마우스에 피부 적용, 피하 주사, 복강 내(i.p.) 주사로 DMCC의 발암 활성을 시험했다(참고 6; 이 시험을 통해 AI를 계산하였다). DMCC 2 mg을 492일 간 주 3회 피부에 노출시켰고 이는 마우스 50마리 중 40마리에서 유두종을, 30마리에서 암종을 유발하였다. 주 1회 427일 간 매 주 5 mg 피하 주사 한 결과, 육종과 편평세포암종이 마우스 50마리 중 36마리, 3마리로 각각 발견되었다. 450일 간 DMCC 1 mg을 매주 복강

내 투여한 결과, 30마리 중 14마리에서 폐 유두종이, 30마리 중 9마리(30마리 중 8마리는 육종)에서 국소 악성 종양이 유발되었다. 피부 노출의 경우 대조군에서는 종양이 발견되지 않았으며 피하 주사 결과 50마리 중 1마리에서 육종, 복강 내 투여로는 30마리 중 1마리에서 육종, 30마리 중 10마리에서 폐의 유두종이 발견되었다. 전체적으로 국소(주사 부위) 종양만 유의미한 증가를 보였다. 투여 부위와 먼 부위의 종양은 대조군과 비교했을 때 통계적으로 유의미한 증가는 없었다.

염화디메틸카르바밀 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 종양 관찰 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|--------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| 참고 6* | ICR/Ha 스위스 마우스 30 (F) | 복강 내 64주 주 1회 | 30 | 1: 1 mg 5.71 mg/kg/d | 투여 부위: 악성종양/암컷 | 4.59 ^{^^} |
| 참고 5** | 시리아 골든 햄스터 99 (M) | 흡입 평생 일 6시간 주 5일 | 50 위약투여 200 비투여 | 1: 1 ppm 0.553 mg/kg/d | 비강 편평세포암 | 0.625 |
| 참고 6 | ICR/Ha 스위스 마우스 50 (F) | 피부 70주 주 3회 | 50 | 1: 2 mg | 피부: 유두종, 암종/암컷 | NA [^] |
| 참고 6 | ICR/Ha 스위스 마우스 50 (F) (F) | 피하 61주 주 1회 | 50 | 1: 5 mg | 투여 부위: 섬유육종, 편평세포암/암컷 | NA [^] |
| 참고 7 | Sprague-Dawl ey 랫드 (M) | 흡입 6주 일 6시간 주 5일 평생 검사 | 예 | 1: 1 ppm | 비강종양/수컷 | NA ^{^^^} |
| 참고 8 | ICR/Ha 스위스 마우스 30~50 (F) | 피부 18~22개 월 주 3회 | 예 | 2: 2, 4.3 mg | 피부 주로 피부 편평세포암/암컷 | NA [^] |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 종양 관찰 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|--------------------------|--------------------------------|-----|-------------------|--|---------------------------------|
| 참고 8 | ICR/Ha 스위스 마우스 (F) | 피하 주 1회 18~22개 월 | 예 | 1: 4.3 mg | 투여부위, 주로 육종, 혈관종, 편평세포암종, 유두종/암컷 | NA ^{^^} |
| 참고 8 | ICR/Ha 스위스 마우스 (F) | 피하 12개월 주 1회 평생 검사 | 예 | 2: 0.43, 4.3mg | | NA ^{^^} |

CPDB(참고 9)에 이 목록의 연구가 있다.

* 비흡입 AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구.

** 흡입 AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구.

NA = 적용대상 아님

^ 조직적으로 모든 조직을 검사하지 않음. 피하 및 피부 적용 연구는 노출 가능성이 더 큰 경로가 더 가치 있다고 여겨져 CPDB에 전체 포함되지 않음.

^^ 피하 및 피부 적용 연구는 노출 가능성이 더 큰 경로가 더 가치 있다고 여겨져 CPDB에 전체 포함되지 않음.

^^^ 부검에서 비정상적으로 나타난 조직에 대해서만 조직병리학

^^^^ 비강암에 대해서만 검사. 최소 평균 수명의 1/4 기간 동안 노출로 CPDB의 기준에 부합하지 않음.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

규제 한계는 알려진 바 없다.

섭취허용량(AD)

위 데이터를 기반으로 DMCC는 변이원성 발암물질로 여겨진다. 그 결과 선형 외삽을 통한 위험 용량 허용치 산출을 위해 발암성 연구에서 나타난 가장 민감한 TD₅₀값을 사용 것이 타당하다. DMCC가 접촉 부위에 발암을 나타내는 것으로 여겨지기 때문에 다른 경로와 흡입 노출 섭취허용량을 분리해서 산출하는 것이 타당하다.

경구 투여에 대한 정보는 없다. 따라서 흡입 외 노출 경로의 경우 복강 내 투여를 한 Van Duuren *et al.*(참고 6) 연구를 사용하였다. 복합 종양 발생 기반인 경우 TD₅₀은 4.59 mg/kg/day였다(CPDB).

평생 AI = $TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI = $4.59 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI = $5 \mu\text{g/day}$

흡입 AI

DMCC 흡입 후 가장 민감한 종말점은 햄스터에서 비강암이며 TD_{50} 는 0.625 mg/kg/day 였다.

평생 AI = $TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI = $0.625 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI = $0.6 \mu\text{g/day}$

참고

1. Dunkel V, Zeiger E, Brusick D, McCoy E, McGregor D, Mortelmans K, et al. Reproducibility of microbial mutagenicity assays. I. Tests with Salmonella typhimurium and Escherichia coli using a standardized protocol. Environ Mutagen 1984;6 Suppl 2:1-251.
2. Kier LD, Brusick DJ, Auletta AE, Von Halle ES, Brown MM, Simmon VF, et al. The Salmonella typhimurium/mammalian microsomal assay. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res 1986;168:69-240.
3. Heddle JA, Hite M, Kirkhart B, Mavournin K, MacGregor JT, Newell GW, et al. The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res 1983;123:61-118.
4. IARC. Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. [Online] 1972-PRESENT. (Multivolume work). 1999;71:539. Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/index.php>
5. Sellakumar AR, Laskin S, Kuschner M, Rush G, Katz GV, Snyder CA, et al. Inhalation carcinogenesis by dimethylcarbamoyl chloride in Syrian golden hamsters. J Environ

Pathol Toxicol 1980;4:107-15.

6. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Katz C, Seidman I, Paul JS. Carcinogenic activity of alkylating agents. J Natl Cancer Inst 1974;53:695-700.
7. Snyder CA, Garte SJ, Sellakumar AR, Albert RE. Relationships between the levels of binding to DNA and the carcinogenic potencies in rat nasal mucosa for three alkylating agents, Cancer Lett 1986;33:175-81.
8. Van Duuren BL, Melchionne S, Seidman I. Carcinogenicity of acylating agents: chronic bioassays in mice and Structure-Activity Relationships (SARC). J Am Col Toxicol 1987;6:479-487.
9. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>

디메틸황산(CAS # 77-78-1)

인체 노출 가능성

1983년에 US EPA는 한 지역에서 대기 중 데이터를 추적했고 디메틸황산(DMS)의 평균 대기 중 농도는 1 평방미터 당 7.4 μg 또는 1.4 ppb로 측정되었다(참고 1).

변이원성/유전독성

DMS는 시험관 내(*in vitro*) 및 생체 내(*in vivo*)에서 변이원성/유전독성이 있다(참고 2).

DMS는 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

활성 관계없이 *Salmonella typhimurium* 중 TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames) (참고 3).

생체 내(*in vivo*)에서 DMS는 알킬화된 염기를 형성하고 유전독성 시험법에서 지속적으로 양성반응을 나타낸다(참고 4). DMS에 노출된 근로자의 순환하는 림프구에서 DMS 증가가 관찰되었다(참고 4).

발암성

DMS는 IARC에 의해 인체 발암 가능성이 있는 Group 2A 발암물질로 분류된다(참고 4).

인체 노출 및 기관지암에 대한 몇몇 사례가 보고되었으나 DMS에 대한 역학 연구는 없다. DMS는 만성 및 준만성 흡입과 단회 및 다회 피하 주사로 실시한 동물 발암성 연구에서 양성 반응을 보였다. 그러나 DMS는 경구 노출에 대해서 시험되지 않았다. DMS는 랫드, 마우스, 햄스터에서 발암성이 있다(참고 4). DMS 발암성 연구는 여러 이유로 한계가 있고 그래서 DMS는 발암성 활성 데이터베이스(CPDB) 목록에 없다. DMS 발암성 평가 연구는 아래 기술되어 있다(US EPA 발책, 참고 5):

디메틸황산 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 종양 관찰 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|--|---|-----|----------------------|-----------------|---------------------------------|
| 참고 6 | 골든햄스터, 위스타 랫드, NMRI 마우스 암컷, 수컷 (개체 수 불명확) | 흡입, 일 6시간, 15개월 주 2일, 15개월 관찰 | 예 | 2: 0.5; 2.0ppm | 폐, 흉곽, 비강 종양 | NA [^] |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 중양 관찰 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|----------|-------------------------------|--|----------------|--|--|---------------------------------|
| 참고 7 | BD 랫드 20~27 성별 명시 안됨 | 흡입 일 1시간 주 5일 130일 643일간 추적 | 아니오 | 2: 3; 10 ppm | 3 ppm에서 비강 상피편평세포암종 10 ppm에서 비강 상피편평세포암종 , 폐 전이가 된 흉곽 림프 육종 | NA ^{^^} |
| 참고 8 | BD 랫드 8-17 성별 명시 안됨 | 394일간 피하. 연구 기간 보고되지 않았으나 평균 종양유발 기간은 500일 | 아니오 | 2: 8; 16 mg/kg/wk | 저용량에서 7/11, 고용량에서 4/6이 주사부위 육종; 폐로 간헐적 전이. 간암 한 건. | NA ^{^^^} |
| 참고 7 | BD 랫드 15 성별 명시 안됨 | 단회 피하 주사 최대 740일 평가 | 아니오 | 1: 50 mg/kg | 7/15 랫드에서 결합조직의 국소 육종; 세 경우에 폐로 다발성 전이 | NA ^{^^^} |
| 참고 7 | BD 랫드 12 성별 명시 안됨 | 정맥투여 주 1회 800일 | 아니오 | 2: 2; 4mg/kg | 중양 보고 없음 | NA ^{^^^} |
| 참고 7 | BD 랫드 (임신, 암컷) 8 | 단회 복강 내 투여, 임신 15일, 1년간 자손 관찰 | 아니오 | 1: 20 mg/kg | 4/59 자손에서 신경계 악성 종양. 2/59 악성 간종양 | NA ^{^^^} |
| 참고 9 | CBAX57 B1/6 마우스 90 (F) | 흡입 기간 보고되지 않음 일 4시간, 주 5일 | 명시되 지 않음 | 3: 0.4; 1; 20 mg/m ³ | 고용량에서 폐선종 증가 | NA* |
| 참고 10 | ICR/Ha 스위스 마우스 20 ♀ | 경피, 주 3회 최대 475일 | 명시되 지 않음 | 1: 0.1 mg | 결과 없음 | NA ^{**} |

CPDB에 이 목록의 연구가 있다.

NA = 적용 대상 아님

[^] 대조군 데이터 보고되지 않음. 암 발생률은 종 또는 용량별로 표로 작성되지 않음.

^{^^} 소규모 그룹. 동시 대조군 없음. 고용량군 랫드 한 마리가 소뇌 종양이 있었고, 저용량군에서 두 마리에 매우 희귀하고 노출 부위에서 먼 신경계 종양이 있었음.

^{^^^} 소규모 그룹. 동시 대조군 없음.

^{^^^^} 동시 대조군 없음.

* 기간 보고 없음.

** 제한된 수의 동물. 단일 용량으로만 시험. DMS가 종양 유발물질과 결합하였을 때에도 발견된 종양 없음.

[‡] 성별 명시되지 않음.

발암성 작용기전

디메틸황산은 변이원성 발암물질이고 섭취허용량은 TD₅₀에서 선형 외삽으로 산출된다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

유럽연합 보건소비자연연구소(ECHA, 참고 11)는 DMS에 대한 흡입 발암성 데이터를 기반으로 발암성 그래프를 개발했다. ECHA는 계산에 의한 더 조직적 노출을 평가하기 위한 랫드 흡입 연구를 사용하여 T₂₅(종양의 25% 증가를 유발한 용량)를 산출했다(참고 7). 전신 영향(신경계)과 국소 비강 종양이 이 제한된 발암성 연구에서 관찰되었다. 그러나 목록에 제시된 다른 연구와 마찬가지로 이 연구는 높은 사망률, 대조군 부재, 용량군 부족, 최소 병리학적 평가로 매우 제한적이었기 때문에 선형 외삽으로 적합하지 않다.

섭취허용량(AI) 계산

DMS는 경구 발암물질과 인체 발암물질일 가능성이 높은 것으로 여겨지지만 TD₅₀ 수치를 산출하기 위한 경구 발암성 연구는 이루어지지 않았다. 그리고 이용할 수 있는 흡입 시험은 여러 이유로 제한적이고 TD₅₀ 외삽에 적합하지 않다. 이러한 점을 감안할 때 DMS를 독성학적 역치(TTC)인 1.5 μg/day로 제한하는 것이 적합하다.

평생 AI = 1.5 μg/day

참고

1. US EPA. Health and Environmental effects profile for dimethyl sulfate. Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH for the Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC. 1985.

2. Hoffmann GR. Genetic effects of dimethyl sulfate, diethyl sulfate, and related compounds. *Mutat Res* 1980;75:63-129.
3. Skopek TR, Liber HL, Kaden DA, Thilly WG. Relative sensitivities of forward and reverse mutation assays in *Salmonella typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:4465-9.
4. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999;71:575
5. US Environmental Protection Agency. Dimethyl sulfate (CASRN 77-78-1). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1988. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0365_summary.pdf#nameddest=woe
6. Schlogel FA, Bannasch P. Carcinogenicity and Chronic Toxicity of Inhaled Dimethyl Sulfate. (In German) (Inaugural Dissertation) Julius-Maximilians University, Würzburg 1972. (data in 참고 11).
7. Druckrey H. Carcinogenic alkylating compounds: III. Alkyl halogenids, sulfates, sulfonates, and heterocyclics. (Article in German) *Z. Krebsforsch* 1970;74:241-273.
8. Druckrey H. Carcinogenic alkylating compounds: I. Dimethyl sulfate, carcinogenic effect in rats and probable cause of occupational cancer. (Article in German) *Z. Krebsforsch* 1966; 68:103-111.
9. Fomenko VN, Katasova LD, Domshlak MG (1983); USSR Minist Health All-Union Sci Soc Med Genet 1:348-49 as cited in WHO; Environ Health Criteria 1985; Dimethyl Sulfate p.36
10. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Katz C, Seidman I, Paul JS. Carcinogenic activity of alkylating agents. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:695-700.
11. ECHA (European Chemical Agency). European Union Risk Assessment Report: Institute for Health and Consumer Protection. Dimethyl Sulphate. [Online]. 2002 Vol. 12. Available from: URL: <http://echa.europa.eu/documents/10162/3d2e4243-8264-4d09-a4ab-92dde5abfadd>

에피클로로히드린(CAS# 106-89-8)

인체 노출 가능성

에피클로로히드린은 원료의약품 합성에 사용된다.

변이원성/유전독성

에피클로로히드린은 *in vitro*에서 변이원성과 유전독성이 있으며 *in vivo*에서는 유전독성 시험 결과가 혼합되어 있다. *in vitro* 유전독성이 간 S9 대사 활성화 유무에 관계없이 관찰되었지만 S9이 활성을 억제하는 경향이 있다(참고 1~3). 에피클로로히드린은 표준 플레이트(plate incorporation) 및 전배양(preincubation protocol) 시험에서 대사 활성화 유무에 관계 없이 *Salmonella typhimurium*의 여러 균주와 *Escherichia coli* WP2 uvrA의 미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames)에서 변이원성이 있다(참고 4). *in vitro*에서 에피클로로히드린은 포유류 세포에서 변이원성, 염색체, DNA 손상과 관련해 양성을 나타낸다.

발암성

IRCA는 에피클로로히드린을 인체 발암 가능성이 있는 Group 2B로 분류한다(참고 1). 에피클로로히드린은 경구, 피하 및 흡입 경로를 통한 접촉 부위 발암물질이다.

경구 시험에서 Wester et al.(참고 5)은 평생 동안 랫드에게 에피클로로히드린 2 mg/kg 및 10 mg/kg을 일주일에 5회 경구 위관 영양법으로 투여했다. 일주일에 7일 동안 평균 1일 용량으로 환산하면 CPDB에 명시된 용량(참고 6)은 각각 1.43 및 7.14 mg/kg/day이다. 시험 종료 시 생존한 랫드에서 편평 세포 암종이 고용량에서는 전체 암컷 24마리와 수컷 43마리 중 35마리의 전위에서 저용량에서는 암컷 27마리 중 2마리와 수컷 43마리 중 6마리에서 확인되었다. 종양 등급은 낮은 것으로 간주 되고 전이의 증거는 없었다. 다른 부위에서 종양의 증가는 발견되지 않았다. 두 용량 수준 모두의 고용량에서 일부 관찰된 궤양 및 괴사와 함께 전위 점막에 증식성 변화가 있었다. CPDB에 TD₅₀이 2.55 mg/kg/day로 보고되어 있다. 이 결과는 최대 81주 동안 식수로 에피클로로히드린을 투여한 수컷 위스타 랫드의 전위에서 발견된 편평 세포 암종과 일치한다(참고 7). 기술적 결함과 동물의 열악한 상태로 인해 Konishi et al.의 시험은 CPDB에 포함되지 않았으며 이 모노그래프에서 고려되지 않는다.

흡입 시험에서 Laskin et al.(참고 8)은 평생 관찰(시험군 당 랫드 140마리)의 단기 요법(100 ppm에서 30회 노출) 또는 평생 저용량인 10 및 30 ppm(시험군 당 랫드 100마리)으로 에피클로로히드린을 수컷 SD 랫드에게 6 hours/day, 5 days/week 흡입 투여했다. 단기 및 고용량 노출 후, 랫드 15/140 마리에서 비강의 편평 세포 암종이 랫드 3/140 마리에서

호흡기 유두종이 관찰되었으며 이는 비갑개, 후두 및 기관의 심각한 염증과 관련이 있었다. 평생 노출 후 종양은 용량 30 ppm에 노출된 동물 2/100 마리의 비강에서만 나타났다 (비강 암종 1개 및 비유두종 1개). 낮은 종양 발생률에도 불구하고 TD₅₀은 CPDB에 421 mg/kg/day로 보고되었다.

피하 시험에서, Van Duuren et al.(참고 9)은 에피클로로히드린을 마우스에 피하 주사한 후 주사 부위에서 육종을 발견했으나 피부 도포 및 64주 이상 매주 i.p. 주사 후 종양 발생률의 증가는 없었다.

에피클로로히드린 - 발암성 시험 세부사항

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------------------|-------------------------------------|-------------|-----|---|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 5 ^a | 50/성별/ 위스타 랫드 시험군 | 104주, 위관 | 50 | 2: 1.43, 7.14 mg/kg/day | 전위/편평 세포 암종/암컷 | 2.55 ^{b,c} |
| 참고 7 | 18/위스타 랫드 수컷 시험군 | 81주, 식수 | 18 | 3: 375, 750, 1500ppm. 375, 750, 1500 mg/kg/day | 전위/편평 세포 암종 | NC ^d |
| 참고 8 | 140 SD 랫드 수컷 시험군 | 30일, 흡입 | 140 | 1: 100ppm. 10.2 mg/kg/day | 비강/편평 세포 암종/수컷 | NC ^e |
| 참고 8 | 100 SD 수컷 시험군 | 136주, 흡입 | 150 | 2: 10, 30ppm. 0.729, 2.88 mg/kg/day | 비강/편평상피 암/수컷 | 421 ^b |
| 참고 9 | 50 ICR/Ha Swiss 암컷 마우스 시험군 | 61주, SC | 150 | 1: 1mg/ 주 1회 | 주사 부위 육종 | NC ^f |

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|-------------------------------------|------------|-----|-------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 9 | 50 ICR/Ha Swiss 암컷 마우스 시험군 | 70주, 피부 | 150 | 1: 2mg/ 주 3회 | 피부 유두종이나 암종 없음 | NC ^f |
| 참고 9 | 50 ICR/Ha Swiss 암컷 마우스 시험군 | 64주, i.p. | 30 | 1: 5.71 mg/kg/day | 종양없음 (주사 부위 육종 포함) | NC ^g |

NC - 계산되지 않음, SC - 피하, i.p. - 복강

^a AI 도출을 위해 선택된 발암성 시험

^b TD₅₀ 값은 CPDB에서 차용(참고 6)

^c TD₅₀ 값은 가장 민감한 종양 부위의 TD₅₀을 나타냄

^d 단기 노출로 인해 계산되지 않음

^e 시험 설계의 한계로 인해 계산되지 않음(주사, 단일 용량 수준, 모든 조직을 조직학적으로 검사하지 않음). skin painting 시험에서는 피부 유두종이나 암종의 증가가 나타나지 않음

^f TD₅₀이 CPDB에 등재되어 있지만 종양의 증가는 없었음

^g 시험군의 크기가 작고 랫드의 상태가 좋지 않고 투여를 간헐적으로 중단해야 했으며 모든 용량 시험군에서 체중 감소가 나타났기 때문에 계산되지 않음

발암성 작용기전

에피클로로히드린은 접촉 부위(경구 노출 후 전위 및 구강 종양, 흡입 후 비강 종양 및 피하 주사 후 주사 부위 육종)에서만 종양을 일으켰다.

에피클로로히드린은 박테리아 및 포유류 세포에서 *in vitro* 변이원성이 있다(참고 4). 노출된 조직에 매우 자극적이다. 예를 들어, 10일 동안 3, 7, 19, 46 mg/kg/day 또는 90일 동안 1, 5, 25 mg/kg/day로 에피클로로히드린을 위관 투여한 랫드에서 전위의 용량 관련 병변이 관찰되었다(참고 11). 염증 및 상피 범위에 변화가 있었다. 가장 두드러진 것은 점막 증식 및 각화증의 용량 관련 증가였다. 데이터에 따르면 에피클로로히드린이 흡수되고 그 대사물이 전신 순환계로 들어간다. 그러나 종양은 직접 접촉 부위에서만 확인된다. 전위 종양과 관련된 자세한 내용은 아크릴로니트릴 및 벤질 클로라이드 모노그래프를 참조한다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

세계보건기구(참고 12)는 이 접촉 부위 발암물질에 대한 비선형 용량-반응 가정에 기초하여 잠정 총 일일 섭취량을 0.14 μ g/kg/day 또는 8.4 μ g/day(성인 60kg의 경우)로 발표했다.

미국 EPA는 Konishi et al.의 데이터를 사용하여 30 $\mu\text{g/L}$ 또는 약 60 $\mu\text{g/day}$ (참고 13)의 식수 수준($1/10^5$ 에서 초과 발암 위험성)을 도출하기 위해 선형 외삽법을 사용했다(참고 7). 미국 EPA는 또한 인체 일일 호흡량에 대한 ICH Q3C의 가정을 활용하여 $1/10^5$ 에서 초과 발암 위험성 8 $\mu\text{g/m}^3$ 또는 230 $\mu\text{g/day}$ 의 흡입 농도를 계산했다(참고 13).

FDA/CFSAN은 위 표(참고 14)에 인용된 Konishi et al.의 데이터를 사용하여 $2.7 \times 10^{-3}(\text{mg/kg/day})^{-1}$ 의 발암 위험 단위를 계산했다. 0.37 $\mu\text{g/kg}$ 또는 22 $\mu\text{g/day}$ 를 초과하는 노출에서 식품으로 이동하는 식품 첨가물 오염 물질은 1:1,000,000을 초과하는 추정 암 위험을 초래한다.

섭취허용량(AI)

AI 산출을 위한 시험 선정 근거

Wester et al.의 경구 위관영양 시험(참고 5)은 AI 계산을 위한 가장 강력한 시험이며 위 관영양 발암성 연구에서 가장 민감한 종과 조직은 랫드 전위이다. 이 시험에는 종양 발병률을 측정하기 위한 적절한 용량 범위가 포함되었고 명확한 용량 반응이 입증되었으며 화합물별 AI 계산을 위한 충분한 데이터가 제공되었다.

AI 산출:

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 2.55 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 3 \mu\text{g/day}$$

참고

1. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 1987;71:603-628. Available from: URL: <https://publications.iarc.fr/89>
2. Srám RJ, Landa L, et al. Effects of occupational exposure to epichlorohydrin on the frequency of chromosome aberrations in peripheral lymphocytes. Mutat Res 1983;122:59-64.
3. Giri AK. Genetic toxicology of epichlorohydrin: A review. Mutat Res 1977;386:25-38.
4. Canter DA, Zeiger E, et al. Comparative mutagenicity of aliphatic epoxides in

- Salmonella. *Mutat Res* 1986;172:105-38.
5. Wester PW, van der Heijden CA, et al. Carcinogenicity study with epichlorohydrin (CEP) by gavage in rats. *Toxicology* 1985;36:325-39.
 6. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
 7. Konishi Y, Kawabata A, et al. Forestomach tumors induced by orally administered epichlorohydrin in male Wistar rats. *Gann* 1980;71:922-3.
 8. Laskin S, Sellakumar AR, et al. Inhalation carcinogenicity study of epichlorohydrin in noninbred Sprague-Dawley rats. *J Natl Cancer Inst* 1980;65:751-7.
 9. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, et al. Carcinogenic activity of alkylating agents. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:695-700.
 10. Stoner GD, Conran PB, Greisiger EA, Stober J, Morgan M, Pereira MA. Comparison of two routes of chemical administration on the lung adenoma response in strain A/J mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;82:19-31.
 11. Daniel FB, Robinson M, et al. Toxicity studies of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats. *Drug Chem Toxicol* 1996;19:41-58.
 12. World Health Organization (WHO). Epichlorohydrin in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. 2004; WHO/SDE/WSH/03.04/94.
 13. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Epichlorohydrin (CASRN 106-89-8) Cancer Assessment.1988; Available from: URL: https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=50
 14. United States Food and Drug Administration (USFDA). Indirect food additives: Paper and paperboard components. Available from URL: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapterI/subchapter-B/part-176>

브롬화에틸(CAS# 74-96-4)

인체 노출 가능성

브롬화에틸은 무색의 휘발성 및 인화성 액체이다. 주로 의약품 합성 시 시약으로 사용되는 알킬화제이다. 이와 유사체인 염화에틸은 ICH M7의 모노그래프에 수재되어 있으며 변이원성 발암물질이다.

변이원성/유전독성

브롬화에틸

은 대사 활성이 있는 Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA104의 미생물 복귀 돌연변이 시험에서 변이원성이 있었고 플레이트 시험에서 대사 활성화 유무에 관계없이 TA97에서 변이원성이 있었다(참고 1). 브롬화에틸은 휘발성 및 소수성 화합물이기 때문에 폐쇄 데시케이터에서 증기로 수정된 미생물 복귀 돌연변이 시험법을 사용하여 시험했다. 이 시스템에서 브롬화에틸은 TA100 및 TA1535에서 변이원성이 있었지만, TA98에서는 대사 활성화 유무에 관계없이 변이원성이 없었다(참고 2, 3, 4). 전배양 시험법을 사용한 랫드와 햄스터 S9에 대한 다른 미생물 복귀 돌연변이 시험 결과가 음성이었으며 이는 브롬화에틸의 휘발성 특성 때문일 가능성이 가장 높다(참고 4, 5, 6).

배양된 CHO 세포에서 브롬화에틸이 자매 염색분체 교환(SCE)을 유도했지만 외인성 대사 활성화 유무에 관계없이 모두에서 염색체 이상을 유발하지 않았다(참고 7).

발암성

IARC는 브롬화에틸이 인체 발암성이 있는 것으로 분류할 수 없다고 결정했다(참고 8). 발암성과 관련된 역학적 데이터가 없으며 실험동물에서 브롬화에틸의 발암성에 대한 증거가 제한적이다.

랫드와 마우스에서 흡입으로 투여하여 브롬화에틸을 평가한 국립독성프로그램(NTP)의 2년간 생물학적 분석에서 동물의 발암성 증거가 확인되었다. 다양한 영향(종 및 성별에 따라 다름)이 100, 200 또는 400ppm의 노출(6 hours/day, 5 days/week)에서 나타났다(참고 9).

부신 수질의 크롬친화세포종 및 악성 크롬친화세포종의 발병률 증가로 알 수 있듯이(대조군, 8/40; 100ppm, 23/45; 200ppm, 18/46; 400ppm, 21/46) 수컷 F344/N 랫드의 브롬화에틸 발암 활성화에 대한 일부 증거가 있었다. 암컷 랫드에서는 뇌의 신경교종과 폐의 선종 발병률이 증가했다. 그러나 전자의 발생률은 과거 통제 범위 내에 있었고 후자의 발생률은 추세 검정이나 쌍별 비교에서 통계적으로 유의하지 않았다. 수컷 B6C3F1 마우스의 경

우, 폐신생종(폐포/세기관지 선종 또는 암종) 발생률이 모호했지만 통계적으로 유의미하게 증가했다. 염화에틸에 대해 제안된 것과 동일한 기전의 가능성으로 인해 자궁신생종(선종 또는 선암종)에서 알 수 있듯이 암컷 B6C3F1 마우스에 대한 발암 활성의 명확한 증거가 있었다.

브롬화에틸 - 발암성 시험 세부사항

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 ^a | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) ^b |
|------|--------------------------------|-------------|-----|---|---------------------------|--|
| 참고 9 | 50/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | 105주, 흡입 | 50 | 3: M: 115, 229, 458 F: 137, 275, 550 mg/kg/day | 자궁/암컷 | 535 |
| 참고 9 | 50/성별/ F344/N 랫드 시험군 | 106주, 흡입 | 50 | 3: M: 22.9, 45.8, 91.7 F: 32.7, 65.5,131 mg/kg/day | 부신/수컷 | 149 ^c |
| 참고 9 | 50/성별/ F344/N 랫드 시험군 | 106주, 흡입 | 50 | 3: M: 22.9, 45.8, 91.7 F: 32.7, 65.5,131 mg/kg/day | 간 | 670 |

^a CPDB(참고 10)에 명시되고 다양한 투여 경로, 투여 일정, 중, 계통, 성별에서 평균 일일 투여량 수준을 표준화하는 데 사용되는 방법으로 계산된 mg/kg/day 값. CPDB에 명시된 값은 주당 7일 동안 하루 24시간의 노출 기간을 설명함(투여율 = (투여용량 × 섭취량/일 × 투여횟수/주) / (동물 체중 × 7일/주))

^b CPDB에서 계산한 TD₅₀

^c AI 도출을 위해 선택된 발암성 시험

발암성 작용기전

브롬화에틸은 알킬화제이다. 변이원성 발암물질이며 AI는 TD₅₀에서 선형 외삽으로 계산한다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

브롬화에틸의 경우 브롬화에틸의 ACGIH 최대허용농도-시간-가중평균(TLV-TWA)이 5 ppm (22 mg/m³)이었지만 OSHA 및 NIOSH에서 TWA가 200 ppm(890 mg/m³)으로 나타났다(참고 11). ACGIH는 피부 흡수에 대한 표기법으로 이 값을 추정했지만 OSHA 및 NIOSH 추정치는 흡입 시험을 기반으로 하고 있다.

섭취허용량(AI)

AI 산출을 위한 시험 선정 근거

브롬화에틸은 흡입 경로로 노출되는 변이원성 발암물질이다. 브롬화에틸의 흡입 생체이용률에 대한 정보가 확인되지는 않았지만 유기 용매는 흡입 생체이용률 값이 높고(참고 12) 흡입 경로를 통한 전신 노출은 임상 관찰을 통해 여러 시험에서 입증되었다(참고 13). 접촉 부위 조직(예: 폐) 외에도 전신 노출이 나타나는 마우스 및 랫드의 여러 기관에서 종양성 병변이 관찰되었다. 따라서 다른 투여 경로에 대한 흡입 시험에서 도출된 AI를 적용하는 것이 타당하다.

랫드와 마우스의 흡입 시험에서 얻은 이용 가능한 모든 데이터를 고려했을 때 가장 민감한 종양 평가변수는 수컷 F344/N 랫드 부신의 복합 갈색세포종과 악성 갈색세포종이었다. 이 평가변수에 대해 CPDB에서 계산한 TD₅₀은 경향 분석에서 통계적으로 유의하지 않은 종양 발생률을 기반으로 했다. 그러나 각 투여량의 종양 발생률은 대조군의 종양 발생률과 통계적으로 차이를 나타냈다. 따라서 효과가 관련이 있는 것으로 간주된다. 각 용량에 대해 계산된 TD₅₀ 값은 저용량의 경우 32.2 mg/kg/day, 중간 용량의 경우 115 mg/kg/day, 고용량의 경우 162 mg/kg/day이었다(노트 2). AI를 계산하기 위해 가장 민감한 활성 추정치를 보수적으로 산출하는 것으로 간주되는 가장 낮은 TD₅₀ 값인 32.2 mg/kg/day를 사용했다.

AI 산출:

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 32.2 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 32 \mu\text{g/day}$$

참고

1. Strubel K, Grummt T. Aliphatic and aromatic halocarbons as potential mutagens in drinking water. III. Halogenated ethanes and ethenes. *Toxicology and Environmental Chemistry* 1987;15:101-128.
2. Barber ED, Donish, WH, Mueller KR, A procedure for the quantitative measurement of the mutagenicity of volatile liquids in the Ames Salmonella/microsome assay, *Mutation Research*, 1981; 90:31-48
3. Simmon VF. Applications of the Salmonella/Microsome Assay. In: Stich HF, San RHC (eds) *Short-Term Tests for Chemical Carcinogens. Topics in Environmental Physiology and Medicine*, 1981;120-126
4. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella Mutagenicity tests:V. Results from the Testing of 311 Chemicals, *Environ Molec Mutagen* 1992;19:Suppl 21:2-141
5. Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E. Salmonella Mutagenicity Test Results for 250 Chemicals. *Environ Mut* 1983; Suppl 1:3-142
6. WHO, Bromoethane, Concise International Chemical Assessment Document 42, 2002
7. Loveday KS, Lugo MH, Resnick MA, Anderson BE, Zeiger E. Chromosome aberration and sister chromatid exchange tests in vitro in Chinese hamster ovary cells in vitro: II. Results with 20 chemicals. *Environ. Molec Mutagen* 1989; 13: 60-94
8. NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Bromoethane (EthylBromide) (CAS NO. 74- 96-4) in F344/N Rats and B6C3F Mice (Inhalation Studies). National Toxicology Program, US Dept Health and Human Services. 1989; NTP-TR 363.
9. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 1999;71:1305- 1307.
10. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
11. NIOSH. The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) Publications & Products. Available from: URL: <https://www.cdc.gov/niosh/idlh/74964.html>
12. Fiserova-Bergerova, V. Toxicokinetics of organic solvents. *Scand J Work Environ Health* 1985;11:suppl 1, 7-21.
13. Sayers RR, Yant WP, Thomas BGH, Berger LB. Physiological response attending exposure to vapors of methyl bromide, methyl chloride, ethyl bromide and ethyl chloride. *Public Health Bull* 1929;185:1-5

염화에틸(클로로에탄, CAS# 75-00-3)

인체 노출 가능성

오염된 대기를 통한 흡입과 오염된 식수 섭취로 저농도(ppm)의 염화에틸에 노출될 가능성이 있다. 국소 마취 시 경피 접촉이 발생할 수 있다.

변이원성/유전독성

염화에틸은 시험관 내(*in vitro*)에서는 변이원성과 유전독성이 있으나 생체 내(*in vivo*)에서는 그렇지 않다. IARC(참고 1)는 염화에틸 변이원성 데이터를 검토했고 주요 내용 요약이 아래 제시되어 있다.

염화에틸은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames), *Salmonella typhimurium* 종 TA100, TA1535와 가스에 노출 가능성이 있는 조건에서 시험할 때 대사활성 여부와 관계 없이 *Escherichia coli* WP2 uvrA에서 나타남(참고 2, 3, 4).

대사활성 관계 없이 CHO 세포 *hprt* 시험법에서 나타남.

흡입으로 25,000 ppm을 3일간 투여하는 마우스 골수 소핵 시험과 암컷 마우스 간에 대한 무게획 DNA 합성(UDS) 시험법에서 염화에틸은 생체 내(*in vivo*)에서 음성이었다(참고 5).

발암성

IARC는 염화에틸을 Class 3 화합물로 고려하여 발암물질로 분류하지 않는다(참고 1).

염화에틸에 대한 발암성 연구는 단 한 건이 있으며 이는 100주 간 주 5일, 일 6시간 흡입 경로로 수컷 및 암컷 랫드와 마우스를 대상으로 실시한 NTP 연구이다(참고 6). 이 연구에서는 단일 노출 농도(15,000 ppm) 조건에서 실험하였는데 안전성 우려(폭발 위험)와 19,000 ppm까지 3개월 동안 수행한 연구에서 명백하게 영향이 없었기 때문에 사용이 제한되었다. 이러한 데이터는 추후 염화에틸과 브로민화에틸을 비교하여 US EPA(참고 7)에서 평가하였다. 염화에틸은 브로민화에틸과 구조적으로 유사하고 랫드가 아닌 마우스에서 매우 높은 정도로 흔치 않은 자궁 내 종양(자궁내막 암종)을 유발하기 때문에 눈에 띄었다. 염화에틸은 암컷 마우스(자궁)에서 명확한 발암성 증거가 있고 수컷 및 암컷 랫드에서 불분명한 발암성 증거가 있다. 수컷 마우스 연구는 폐 종양 발생 증가하였으나 생존률이 매우 낮아 적절하지 않은 것으로 여겨진다.

염화에틸 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|----------|------------------------------------|-------------------------------|-----|------------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| 참고 6, 7* | B6C3F1 마우스 성별/그룹 당 50 | 100주 간 주 5일 일 6시간 흡입 | 50 | 1: M: 10.4 F: 12.4 g/kg/d | 자궁/암컷 | 1810 |
| 참고 6, 7 | Fischer 344 랫드 성별/그룹 당 50 | 100주 간 주 5일 일 6시간 흡입 | 50 | 1: M: 2.01 F: 2.88 g/kg/d | 음성 | NA |

* AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구. CPDB(참고 8)에 이 목록의 연구가 있다.

NA = 적용대상 아님

발암성 작용기전

Holder(참고 8)은 활성 대사물질이 발암성에 영향을 미칠 수 있다고 주장하지만 암컷 마우스는 발암성 연구에 사용된 고농도의 염화에틸에 노출 시 뚜렷한 스트레스 반응을 나타냈다. 이러한 스트레스는 부신을 자극하여 코르티코스테로이드를 생성하여 마우스의 자궁 내막의 암 발생을 촉진시키는 것으로 예상된다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA는 호흡량을 하루 28,800 L로 추정하여 10 mg/m³ 또는 288 mg/day의 비발암성 영향에 대한 독성참고치(RfC)를 설정했다(참고 9).

섭취허용량(AI) 계산

AI 계산을 위한 시험 선정 근거:

연구가 단일 용량 그룹으로 설계적으로 견고하지 않지만 마우스의 자궁 내막의 자궁 암종의 특이한 희귀 유형이 높은 수준으로 나타난다는 것은 강력한 발암 반응을 의미한다(43/50으로 0/49 대조군과 비교됨). 3개 용량 및 대조군으로 시험한 더욱 견고한 발암성 연구에서 동일한 유형의 종양(마우스 자궁 종양)이 대조군 물질인 브로민화에틸을 사용 시 나타났다는 사실로 이 관찰 결과를 뒷받침한다(참고 10).

염화에틸은 변이원성 발암물질로 고려하였다. NTP 흡입 연구를 기반으로 가장 민감한 종/부위는 암컷 마우스 자궁이었다. 종양의 수가 많으므로 1개 용량만 시험하였어도 TD₅₀을 계산할 수 있다. CPDB는 0과 15,000 ppm을 용량 0과 12.4g/kg으로 변환하고 마우스 자궁에 대한 TD₅₀은 1810 mg/kg/day로 계산했다.

평생 AI = $TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

평생 AI = $1810 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50\text{kg}$

평생 AI = 1,810 $\mu\text{g/day}$

참고

1. IARC. Chloroethane. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999;71:1345.
2. Goto S, Shiraishi F, Tanabe K, Endo O, Machii K, Tezuka Y, et al. Mutagenicity Detection Method for Vinyl Chloride and Vinylidene Chloride Gases. Kankyo Kagaku 1995; 5(2):235-40.
3. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests. V. Results from the testing of 311 chemicals. Environ Mol Mutagen 1992; 19 Suppl 21:2-141.
4. Araki A, Noguchi T, Kato F, Matsushima T. Improved method for mutagenicity testing of gaseous compounds by using a gas sampling bag. Mutat Res 1994; 307(1):335-44.
5. Ebert R, Fedtke N, Certa H, Wiegand HJ, Regnier JF, Marshall R, et al. SW. Genotoxicity Studies With Chloroethane. Mutat Res 1994; 322(1):33-43.
6. NCI/NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of chloroethane. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. NTP TR 346 1989. [Online]. 1989; Available from: URL:
https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr346.pdf
7. Holder JW. Analysis of Chloroethane Toxicity and Carcinogenicity Including a Comparison With Bromoethane. Toxicology and Industrial Health 2008; 24(10):655-675.
8. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL:
<http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
9. US Environmental Protection Agency. Ethyl Chloride (CAS# 75-00-3). Integrated Risk Information System (IRIS).. [Online] 1991. Available from: URL:
https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=523
10. NTP. Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of Ethyl Bromide. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. NTP TR 363. [Online]. 1989; Available from: URL:
http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr363.pdf

포름알데히드(CAS# 50-00-0)

인체 노출 가능성

포름알데히드는 공기, 물, 식품으로 노출되고 일반적인 생물물질의 내인성 성분이며 육류, 유제품, 과일, 채소 등 많은 식품에서 자연적으로 발생하는 성분이다. 포름알데히드의 식이를 통한 1일 노출 수준은 1.5~119 mg/day 범위로 추정된다(참고 1~2). 포름알데히드는 일반적인 인체 대사의 산물이기도 하고 특정 아미노산 생합성에 필수이다. 인체는 하루에 약 53~92 g의 포름알데히드를 생성하고 사용하며(체중이 60~70 kg인 사람의 경우 878~1210 mg/kg b.w./day) 이는 빠르게 대사되고 혈장에서 제거된다(참고 2). 포름알데히드는 의약품 합성과 조성에 사용한다. 포름알데히드가 의약품에서 주성분으로 기능하는 경우도 있다(참고 3). 포름알데히드는 일부 소비재의 성분이기도 하고 조리나 흡연 중 발생할 수 있다(참고 1).

변이원성/유전독성

포름알데히드는 변이원성 화합물이다(참고 4, 5). 포름알데히드는 S9 활성화에 관계없이 미생물 복귀 돌연변이 시험에서 변이를 유발했다. 포유동물 세포에서 삭제(deletions), 점 돌연변이(point mutations), 삽입(insertions), 세포 변형을 유발했다(참고 4~5). 포름알데히드는 설치류와 인체 1차 배양세포에서 염색체 이상, 미소핵, 자매 염색분체 교환(SCE)을 발생시키는 염색체 이상 유발성이 있다. *in vivo* 시험에서는 주로 접촉 부위에 유전독성 영향이 있다는 것이 확인되었다(참고 4).

발암성

IARC는 포름알데히드를 비인두암과 백혈병 기준 인체 발암성이 있는 Group 1 발암성 물질로 간주한다(참고 6). 유럽 위해성 평가 위원회(European Committee for Risk Assessment)는 동물 시험에서 얻은 충분한 근거를 기반으로 포름알데히드를 Category 1B (암을 유발할 수 있음)로 지정했지만, 인체 발암성 증거는 제한적이다(참고 7). 포름알데히드에 대한 여러 경구 및 흡입 동물 시험이 있다(표 1에 요약). 포름알데히드의 발암성은 흡입에 따라 다르지만 경구 경로는 발암성이 없다는 근거가 많다(참고 6, 8~10). 포름알데히드는 설치류의 경구 발암성 시험에서는 음성이었다. 흡입 경로 발암성 시험에서는 설치류에서 비강 종양이 관찰되었다.

포름알데히드 흡입 후 관찰된 비강 종양은 직접적인 유전독성 영향이 아닌 세포 변성과 재생(세포자연사/재생성 세포 증식, CRCP)이 지속적인 주기가 원인이었다(참고 11). DNA-단백질 교차결합(DPX) 형성이 세포치사(cytolethality)와 관련이 있을 것이다. 포름알데히드를 80년 연속 환경 노출했을 때 예상되는 추가 발암 위험을 Conolly et al.(참고 11)가

포름알데히드에 대한 실제 노출을 상당히 과대평가할 것으로 예상한 위해성 예측을 통해 모델링했다.

IARC(Ref. 6)와 마찬가지로 미국 EPA(참고 12) 및 NTP 15차 발암물질 보고서는 포름알데히드 노출로 인해 인체의 비인두암 및 골수성 백혈병(ML)이 발생할 수 있다고 결론 내렸다(참고 13). 미국국립과학원은 피어 리뷰를 통해 포름알데히드가 암을 유발한다는 결론을 내렸다(참고 14). 이 리뷰에서 포름알데히드의 위해 요소 확인이 특히 백혈병 유발과 관련하여 부분적으로 내인성 생성과 높은 반응성으로 인해 명확하지 않은 것으로 인정했다. 골수성 백혈병을 유발하는 포름알데히드의 위험성에 대한 가장 유용한 연구는 화학업종 근로자와 방부처리자를 대상으로 한 대규모 코호트 시험으로(참고 15, 16) 이 시험은 포름알데히드 노출과 골수성 백혈병으로 인한 사망률 간 인과관계가 있다는 결론을 내렸다(참고 15, 16). 이에 반해 유럽 위해성 평가 위원회는 포름알데히드가 인체 전신 발암물질이 아니라고 결론 내렸다(참고 7). Albertini 및 Kaden(참고 17)은 전반적으로 포름알데히드 노출 후 유전적 변화에 대해 발표된 문헌은 외인성 노출, 특히 흡입 노출이 침입한 조직에서 먼 부위에 직접적인 DNA 반응성 영향을 미치는 변이를 발생시킨다는 설득력 있는 증거가 없다고 결론 내렸다. 골수로 다시 순환하는 침입구(portal of entry)에 줄기세포의 영향을 포함하는 제안된 작용기전이 여기에 포함될 수도 있다. 골수 또는 접촉 지점과 먼 다른 조직에서 변이를 발생시키지 않는 것으로 관찰되었다.

2010년 이후 NTP가 유전적 소인이 있는 마우스 종(수컷 C3B6 · 129F1-Trp53tm1Brdp53 반수부족 마우스, 수컷 B6.129- Trp53tm1Brd) 대상으로 한 두 개의 단기 발암성 시험을 실시하고 결과를 발표했다(참고 18). 이러한 단기 발암성 시험은 포름알데히드 흡입이 비강 및 림프조혈계 종양의 발생 증가 및/또는 잠복기 단축의 원인이 된다는 가설을 검증하고 포름알데히드가 DNA 부가물 형성이 없는 기전으로 인해 백혈병을 유발한다는 가설을 조사하기 위해 실시되었다. 제안된 이 작용기전은 포름알데히드 흡입이 비강 상피 또는 국소 혈관을 순환하는 줄기세포에 중대한 유전적 손상을 일으킬 수 있다는 것을 가정한다. 이렇게 손상된 줄기세포는 전신 순환에 도달하여 침적되고, 백혈병 줄기세포가 된다. 총 8주 동안, 동물들을 주 5일, 하루 6시간 동안 7.5 ppm 또는 15 ppm 포름알데히드에 노출시켰고 마우스를 약 32주 동안 모니터링을 했다. 최고 농도에서 비강 상피에 유의미한 세포 증식과 편평상피화생이 관찰되었지만 비강 종양은 관찰되지 않았다. 어느 종에서도 백혈병이 확인되지 않았고 노출된 마우스에서 림프종이 낮은 빈도로 발생했지만 이는 노출과 관련은 없는 것으로 간주되었다. 또한 혈액학적 지표에서 유의미한 변화는 발견되지 않았다. 연구자는 이러한 시험 조건에서 포름알데히드 흡입이 유전적 소인이 있는 마우스 종의 경우 백혈병을 유발하지 않았다고 결론 내렸다(참고 18).

내인성 대비 외인성 포름알데히드 DNA 또는 단백질 부가물을 측정할 수 있는 민감도 분석법을 사용한 랫드(참고 19~21)와 원숭이(참고 21, 22)를 대상으로 한 여러 시험에서 흡입된 외인성 포름알데히드는 전신으로 흡수되지 않거나 최초 접촉 부분과 거리가 먼 부위에 도달하지 않는 것이 증명되었다. 이러한 시험 외에도 포름알데히드 독성동태에 대한 확인 가능한 자료에 따르면 많은 양의 “유리(free)” 포름알데히드가 침입구 이상으로 전달되지 않는 것으로 확인되었다.

포름알데히드 - 발암성 시험 세부사항

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 중양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|--------------------------------|---------------------|-------|--|--------------------------|---------------------------------|
| 참고 23 | 42-60/ C3H 마우스 시험군 | 35주 또는 64주, 흡입 | 59 | 3: 50, 100, 200mg/m ³ | 중양 없음 | NC |
| 참고 24 | 40-54/성별/ B6C3F1 마우스 시험군 | 2년, 흡입 | 50-62 | 3: 2, 5.6, 14.3 ppm M: 0.644, 1.93, 4.83 F: 0.686, 2.06, 5.15 mg/kg/day ^a | 비갑개/ 편평세포암종/ 수컷 | 43.9 ^b |
| 참고 24 | 73-80/성별/ F344 랫드 시험군 | 2년, 흡입 | 79 | 3: 2, 5.6, 14.3 ppm M: 0.129, 0.386, 0.965 F: 0.184, 0.552, 1.38 mg/kg/day ^a | 비갑개/ 편평세포암종/ 수컷 | 0.798 ^b |
| 참고 25 | 100/수컷 SD 랫드 시험군 | 평생, 흡입 | 99 | 1: 14.8 ppm 0.952 mg/kg/day ^a | 코점막/ 편평세포암종/ 수컷 | 1.82 ^b |
| 참고 26 | 45/수컷 Wistar 랫드 시험군 | 4, 8주 또는 13주, 흡입 | 134 | 2: 10, 20ppm | 비강 / 수컷 | NC ^c |

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 중양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|------------------------------|-----------------|-----|--|--------------------------------|---------------------------------|
| 참고 27 | 30/(손상이 없는) 수컷 Wistar 랫드 시험군 | 3개월 또는 28개월, 흡입 | 30 | 3: 0.1, 1.0; 10ppm | 손상이 없는 동물에서 중양 없음 ^d | NC |
| 참고 28 | 15-16/암컷 SD 랫드 시험군 | 24개월, 흡입 | 16 | 1: 12.4ppm | 비강/ 편평세포암종 한 건 | NC |
| 참고 29 | 47-97/수컷 F344 랫드 시험군 | 24개월, 흡입 | 46 | 5: 0.7, 2, 6, 10, 15ppm 0.045, 0.129, 0.386, 0.643, 0.965 mg/kg/day ^a | 비강/ 편평세포암종/ 수컷 | 0.48 ^b |
| 참고 30 | 20-22/수컷 F344 랫드 시험군 | 28개월, 흡입 | 22 | 3: 0.3, 2, 15ppm 0.0193, 0.129, 0.965 mg/kg/day ^a | 비강/ 복합 중양 유형/ 수컷 | 0.98 ^b |
| 참고 31 | 88/수컷 시리아 골든 햄스터 시험군 | 평생, 흡입 | 132 | 1: 10ppm | 중양 없음 | NC |
| 참고 32 | 70/성별 /Wistar 랫드 시험군 | 2년, 식수 | 70 | 3: M: 1.2, 15, 82 F: 1.8, 21, 109mg/kg/day | 중양 없음 | NC |
| 참고 33 | 50/성별/SD 랫드 시험군 | 평생, 식수 | 50 | 7: 10, 50, 100, 500, 1000, 1500, 2,500ppm M: 0.359, 1.79, 3.59, 17.9, 35.9, 53.8 F: 0.410, 2.05, 4.10, 20.5, 41.0, 61.5 mg/kg/day ^a | 림프모구 백혈병-림프육종/수컷 ^e | 424 ^b |

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 중양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|----------------------------|-------------|-----|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| 참고 34 | 20/성별/ Wistar 랫드 시험군 | 24개월, 식수 | 20 | 3: 10, 50, 300mg/kg/day | 중양 없음 | NC |

NC - 계산되지 않음

^a CPDB에 명시된 mg/kg/day 용량

^b TD₅₀은 CPDB (참고 35)에서 차용

^c 제한된 투여 기간을 감안하여 계산하지 않음

^d 28개월 노출 후 전기응집으로 손상을 입은 동물들은 비강 중양 발생률이 늘어남

^e 시험 설계에 대한 우려가 있었음(림프종 및 백혈병 진단 폴딩, 비중양 병변과 과거 대조 자료 보고 부족, 이 시험과 Sofritti(참고 36) 간 자료 불일치[이 시험의 두 번째 보고], 통계 분석 부족)(참고 4, 6, 10)

발암성 작용기전

포름알데히드는 설치류를 대상으로 한 흡입 경로 시험에서만 뚜렷한 발암성을 보였다. 비강에서 중양이 관찰되었으므로 설치류에서는 접촉 부위가 중양이 되는 것으로 보인다. 포름알데히드 흡입 후 관찰된 비강 중양은 유전독성의 직접적인 영향이라기 보다는 지속적으로 반복되는 조직 변성과 재생(세포 자연사/재생성 세포증식)이 원인이었다(참고 11). DNA-단백질 교차결합(DPX) 형성이 포름알데히드의 세포 자연사와 관련이 있어 보이지만 발암성 촉진 기전으로 간주하지는 않는다. 포름알데히드 작용기전 및 랫드 비강 중양과 사람 간의 관련성을 최근 검토한 결과 세포 독성과 재생성 세포증식의 역할을 재확인했다. 검토에서 알 수 있듯이, DNA-단백질 교차결합은 노출의 좋은 생체표지자(Biomarker)이지만 내인성 농도를 훨씬 초과하는 농도로 조직에 축적되는 경우를 제외하면 유전독성 영향으로 인한 암 발생은 유의미하지 않을 수 있다(참고 37, 38).

규제 한계 및/또는 알려진 한계

일반 대중에 경구 노출 시 독성물질 질병등록국(ATSDR), 캐나다 보건부(Health Canada), 화학물질 안전에 관한 국제 프로그램(IPCS), 미국 EPA에서는 0.2 mg/kg/day 또는 50 kg인 사람에게 10 mg/day로 포름알데히드 노출을 제한하며 이는 비중양 평가변수를 기반으로 한 결과이다(체중 증가 감소, 위장관 및 신장에 생긴 변화 이력)(참고 10, 12, 39, 40). 발암성이 흡입 노출 경로에 특이적이기 때문에 포름알데히드에 대한 경구 발암성 위험 추정치는 존재하지 않는다.

작업장 노출 한계는 NIOSH(REL TWA 0.016 ppm), ACGIH(TWA 0.1 ppm), DFG MAKs(TWA 0.3 ppm), EU(BOEL 0.3 ppm), OSHA(PEL TWA 0.75 ppm)에서 작업장의 공기

를 기준으로 설정했다.

일반 대중에 대한 흡입 노출의 경우 미국 EPA, IPCS, 캐나다 보건부가 흡입 암 위험성 값을 설정했다(참고 12, 10, 40). 미국 EPA가 설정한 한계는 선형 암 모델 기반이고 캐나다 보건부/IPCS가 정한 한계는 비선형, 선형 암 모델 기반이다. 이 세 기관의 선형 방식을 사용한 결과 일일 흡입 용량 16~32 $\mu\text{g}/\text{day}$ 는 초과 발암 위해성(excess risk of cancer)인 $1/10^5$ 로 나타났다. 그러나 더 최근 과학 분석에서는 확정관계(mechanistic) 자료를 포함하는 캐나다 보건부/IPCS 비선형 모델 사용을 선호한다(참고 11, 41~43). Conolly et al.(참고 11, 41)은 포름알데히드 종양원성의 두 가지 작용기전, 즉 CRCP와 DPX를 파악하기 위해 설치류 및 인체에 대한 경험적 자료를 사용한 비선형/선형 확정관계(mechanistic) 기반 모델을 개발했다.

흡입 노출 섭취허용량(AD)

섭취허용량(AD) 산출을 위한 시험 선정 근거

흡입 AI는 Conolly et al.이 개발한 발암성 모델을 기반으로 한다(참고 11). 그림 1은 Conolly et al.(참고 12)이 흡연자와 비흡연자의 혼합 집단을 대상으로 개발한 용량-반응 하키 스틱 모양의 모델을 보여준다. CRCP/DPX에 대한 랫드 용량-반응은 Conolly가 대체 모델 없이 인체 모델에 대하여 사용했다. 클론성 성장 모델로 예측한 노출 관련 종양 위험이 세포 동태에 극도로 민감했기 때문에 Conolly는 랫드 자료의 J 모양 용량-반응 미가공 자료와 하키 스틱 모양 전환 자료를 활용하여 포름알데히드 노출과 관련된 인체 발암 위험을 평가하기로 했다. 이 모델은 고용량 부분(CRCP)의 비선형 기반 메커니즘과 저용량 부분(DPX)의 선형 메커니즘을 통합한다. 위에서 언급했듯이, DPX가 변이로 변환되고 그런 변이에서 나타나는 선형 용량-반응 추정은 실험으로 입증되지 않는다. 더군다나 실험 결과에 따르면 DPX는 선형 방식으로 변이를 일으키지 않는다. 따라서 저용량에서 선형 용량-반응 모델은 보수적이고 실용적인 방식이며 실험 자료에 좌우되지 않는다.

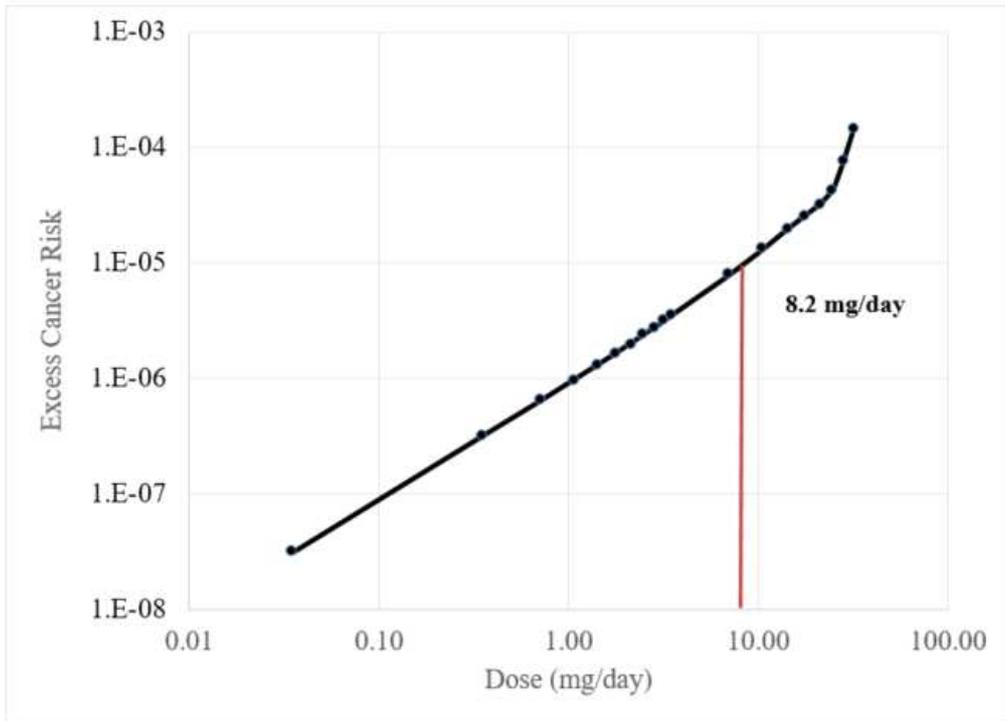


그림 1. 용량-반응 모델 하키 스틱 모양 모델(참고 11)로 흡연자와 비흡연자가 혼합된 결과임. 용량(mg/day)은 인체 호흡량에 대하여 ICH Q3C 추정치(28,800 L/day)를 사용하여 대기 중 농도(ppm)를 일일 용량으로 전환한 값을 근거로 한다.

흡입 AI 산출

그림 1의 선형 저용량 구간은 초과 발암 위해성 1/100,000에서 용량을 결정하기 위해 사용했다. 저용량 구간에서 ≤ 24.74 mg/day(0.7 ppm에서 전환)인 선형 회귀는 $y=1.62E-06x - 3.27E-06$ 이라는 등식이 된다. 24.74 mg/day 용량은 예상되는 추가 위험의 상향 굴절이 있는 지점이었다. 회귀선(y)의 초과 발암 위해성 1/100,000를 구하면 AI는 8.2 mg/day가 된다(1/100,000 위해도에 대한 등가 용량은 그림 1 참조).

$$\text{위해도 (y)} = 1.62E-06x(\text{용량}) - 3.27E-06$$

$$0.00001 = 1.62E-06x - 3.27E-06$$

$$x = (0.00001 + 3.27E-06) / 1.62E-06$$

$$\text{용량 (x)} = 8.2 \text{ mg/day}$$

평생 AI (흡입) = 8 mg/day 또는 215 ppb 이하

농도 한계의 근거

포름알데히드는 흡입 노출 경로에 의한 변이원성 발암물질로 간주한다. 섭취허용량 8 mg/day는 초과 발암 위해성을 1/100,000로 제한하면서 허용 가능하다고 여겨지는 24시간 동안의 상한선이다. 이 가이드라인 부록 3의 개요에 기술되어 있듯이 “다른 고려사항”이 최종 제품 규격에 영향을 미칠 수도 있다. 포름알데히드는 국소 자극 및 감각 효과를 유발하는 것으로 알려져 있다. 따라서 WHO는 30분 평균 81.4 ppb의 한계를 권장하고(참고 44) 캐나다 보건부는 1시간 평균 100 ppb를 단기 노출 한계로 권장한다(참고 45). 이러한 권장값은 증상이 관찰된 시점에 최저 수준에 대하여 적어도 10배의 노출 한계(MOE)를 제시한다. 흡입 노출 경로에 의한 포름알데히드의 국소 자극 및 감각으로부터 환자를 보호하려면 농도 기반 한계 215 ppb가 권장된다[24시간 노출하는 동안 8mg/day는 농도 한계인 215ppb와 같다.] 즉, 다음이 성립한다.

$$(0.008 \text{ g/day}/28.8\text{m}^3/\text{day}) * 1 / 1293 \text{ g/m}^3 = 215 \text{ ppb}$$

- 인체 호흡량/day = 28.8 m³ /day
- 표준 조건에서 공기 질량/m³ = 1293 g

215 ppb라는 한계는 노출 한계의 기본인 공기 중 포름알데히드의 농도 또는 약물의 주성분에 비례하는 포름알데히드의 농도로 해석될 수 있다. 공기 중 215 ppb 한계가 API 또는 DP에서의 한계와 어떤 관련이 있는지 설명하는 예는 노트 3을 참조한다.

모든 기타 경로의 1일 노출 허용량 (PDE)

환경에서의 포름알데히드 노출을 다루는 이 부록의 개요 Section 4 참조.

$$\text{PDE (모든 기타 경로)} = 10 \text{ mg/day}$$

참고

1. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). SIDS Initial Assessment Report. Formaldehyde. 2002.
2. EFSA 2014. Scientific Report. Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources. EFSA Journal 2014;12(2):3550. Available online, <https://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/3550>
3. Bingham E, Cohn B, Powell CH. Patty's Toxicology Volumes 1-9 5th ed. John Wiley & Sons. New York, N.Y. (2001) p. 5:981.
4. IARC (2006). Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tertbutoxypropan-2-ol. IARC

- Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 88:1-478. PMID:17366697.
5. Ma TH, Harris MM. Review of the genotoxicity of formaldehyde. *Mutat Res* 1988;196:37- 59.
 6. IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chemical agents and related occupations. Volume 100 F. 2012.
 7. Committee for Risk Assessment. RAC Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Formaldehyde.
<https://echa.europa.eu/documents/10162/b8dfa022-9544-72e8-dcaa-7491dff3c0>
 8. World Health Organization (WHO). Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. 2005; WHO/SDE/WSH/05.08/48.
 9. Scheuplein, RJ. Formaldehyde: The Food and Drug Administration's perspective. Chapter in: Turoski, V (Ed.), *Formaldehyde: Analytical Chemistry and Toxicology*. American Chemical Society, Washington DC. 1985;210:237-45.
 10. International Programme on Chemical Safety (IPCS) Concise International Chemical Assessment Document 40. Formaldehyde. 2002.
 11. Conolly RB, Kimbell JS, et al. Human respiratory tract cancer risks of inhaled formaldehyde: dose-response predictions derived from biologically-motivated computational modeling of a combined rodent and human dataset. *Toxicol Sci* 2004;82:279-96.
 12. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Formaldehyde (CASRN 50-00-0) 1990.
 13. National Toxicology Program. 2021. Formaldehyde CAS No. 50-00-0. Report on Carcinogens, Fifteenth Edition.; Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
 14. National Research Council. 2011. Review of the Environmental Protection Agency's Draft IRIS Assessment of Formaldehyde. Washington, DC: The National Academies Press, ISBN 978-0-309-21193-2.
 15. Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, Hayes RB, Blair A. Mortality from lymphohematopoietic malignancies among workers in formaldehyde industries. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1615-1623.
 16. Hauptmann M, Stewart PA, Lubin JH, Freeman LEB, Hornung RW, Herrick RF, Hoover RN, Fraumeni JF, Blair A, Hayes, RB. Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1696-1708.

17. Albertini RJ, Kaden DA. Do chromosome changes in blood cells implicate formaldehyde as a leukemogen? *Crit Rev Toxicol* 2017;47:145-184.
18. Morgan DL, Dixon D, King DH, Travlos GS, Herbert RA, French JE, Tokar EJ, Waalkes MP, Jokinen MP. NTP Research Report on Absence of Formaldehyde-Induced Neoplasia in Trp53 Haploinsufficient Mice Exposed by Inhalation: Research Report 3. Durham (NC): National Toxicology Program; 2017. PMID: 30016014
19. Lu K, Collins LB, Ru H, Bermudez E, Swenberg JA. Distribution of DNA adducts caused by inhaled formaldehyde is consistent with induction of nasal carcinoma but not leukemia. *Toxicol Sci* 2010;116:441-451.
20. Edrissi B, Taghizadeh K, Moeller BC, Kracko D, Doyle-Eisele M, Swenberg JA, Dedon PC. Dosimetry of N⁶-formyllysine adducts following [¹³C²H₂]-formaldehyde exposures in rats.
21. Yu R, Lai Y, Hartwell HJ, Moeller BC, Doyle-Eisele M, Kracko D, Bodnar WM, Starr TB, Swenberg JA. Formation, accumulation, and hydrolysis of endogenous and exogenous formaldehyde-induced DNA damage. *Toxicol Sci* 2015;146:170-182.
22. Moeller BC, Lu K, Doyle-Eisele M, McDonald J, Gigliotti A, Swenberg JA. Determination of N²-hydroxymethyl-dG adducts in the nasal epithelium and bone marrow of non-human primates following ¹³CD₂-formaldehyde inhalation exposure. *Chem Res Toxicol* 2011;24:162-164.
23. Horton AW, Tye R, Stemmer KL. Experimental carcinogenesis of the lung. Inhalation of gaseous formaldehyde or an aerosol of coal tar by C3H mice. *J Natl Cancer Inst* 1963;30:31- 43.
24. Kerns WD, Pavkov KL, Donofrio DJ, Gralla EJ, Swenberg JA. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. *Cancer Res* 1983;43:4382-4392.
25. Sellakumar AR, Snyder CA, Solomon JJ, Albert RE. Carcinogenicity of formaldehyde and hydrogen chloride in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;81:401-406.
26. Feron VJ, Bruyntjes JP, Woutersen RA, Immel HR, Appelman LM. Nasal tumours in rats after short-term exposure to a cytotoxic concentration of formaldehyde. *Cancer Lett* 1988;39:101-11.
27. Woutersen RA, van Garderen-Hoetmer A, Bruijntjes JP, Zwart A, Feron V J. Nasal tumours in rats after severe injury to the nasal mucosa and prolonged exposure to 10 ppm formaldehyde. *J Appl Toxicol* 1989;9:39-46.
28. Holmstrom M, Wilhelmsson B, Hellquist H. Histological changes in the nasal mucosa

- in rats after long-term exposure to formaldehyde and wood dust. *Acta Oto-Laryngologica* 1989;108:274-283.
29. Monticello TM, Swenberg JA, Gross EA; Leininger JR, Kimbell JS, Seilkop S, Starr TB, Gibson JE, Morgan KT. Correlation of regional and nonlinear formaldehyde-induced nasal cancer with proliferating populations of cells. *Cancer Res* 1996;56:1012-1022.
 30. Kamata E, Nakadate M, Uchida O, Ogawa Y, Suzuki S, Kaneko T, Saito M, Kurokawa Y. Results of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fisher-344 rats. *J Toxicol Sci* 1997;22:239-254.
 31. Dalbey WE. Formaldehyde and tumors in hamster respiratory tract. *Toxicology* 1982;24:9- 14.
 32. Til HP, Woutersen R, Feron VJ, Hollanders VHM, Falke HE. Two-year drinking-water study of formaldehyde in rats. *Fd Chem Toxic* 1989;27:77-87.
 33. Soffritti M, Maltoni C, Maffei F, Biagi R. Formaldehyde: an experimental multipotential carcinogen. *Toxicol Ind Health* 1989;5:699-730.
 34. Tobe M, Naito K, Kurokawa Y. Chronic toxicity study on formaldehyde administered orally to rats. *Toxicology* 1985;56:79-86.
 35. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
 36. Soffritti M, Belpoggi F, et al. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of formaldehyde and acetaldehyde in rats. *Ann N Y Acad Sci* 2002;982:87- 105.
 37. Thompson CM, Gentry R, Fitch S, Lu K, Clewell HJ. An updated mode of action and human relevance framework evaluation for Formaldehyde-Related nasal tumors, *Critical Reviews in Toxicology* 2020;50:919-952.
 38. SCOEL/REC/125 Formaldehyde Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits, 2016. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/7a7ae0c9-c03d-11e6-a6db-01aa75ed71a1/language-en>
 39. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Formaldehyde. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 1999; Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=220&tid=39>
 40. Health Canada. Priority substances list assessment report: Formaldehyde. Ottawa. Ministry of Public Works and Government Services. 2001; Available from: URL: http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index_e.html

41. Conolly RB, Kimbell JS, Janszen D, Schlosser, PM, Kalisak D, Preston J, Miller FJ. Biologically motivated computational modeling of formaldehyde carcinogenicity in the F344 rat. *Toxicol Sci* 2003;75:432-447.
42. Starr TB, Swenberg JA. A novel bottom-up approach to bounding low-dose human cancer risks from chemical exposures. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013;65:311-315.
43. Swenberg JA, Moeller BC, Lu K, Rager JE, Fry RC, Starr TB. Formaldehyde carcinogenicity research: 30 years and counting for mode of action, epidemiology, and cancer risk assessment. *Toxicol Pathol* 2013;41:181-189.
44. World Health Organization (WHO). WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants. 3 Formaldehyde. 2010. Available from: URL:
https://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0009/128169/e94535.pdf
45. Formaldehyde in your home. Available from: URL:
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/reports-publications/air-quality/formaldehyde-indoor-air-environment-workplace-health.html>.

글리시돌(CAS# 556-52-5)

인체 노출 가능성

글리세롤과 설탕에 열을 가하면 글리시돌이 형성된다. 글리시돌은 간장, 가수분해된 식물단백질 등 많은 식품과 식품 재료의 3-모노클로로프로판-1,2-디올, 클로로프로판올의 대사물질이다. 식품 내 글리시돌의 독성 평가를 기반으로 일일 글리시돌 노출량은 20~80 $\mu\text{g/day}$ 로 계산하였다(참고 1).

변이원성/유전독성

글리시돌은 시험관 내(*in vitro*)와 생체 내(*in vivo*)에서 변이원성/유전독성이 있다.

IARC(참고 2)와 CCRIS(참고 3)에는 글리시돌에 대한 변이원성/유전독성 데이터 검토 내용이 있으며 주요 결론이 여기 요약되어 있다.

글리시돌은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

미생물 복귀 돌연변이 시험 (Ames), 랫드 간에 S9 활성화에 관계없이, 표준 플레이트 및 전배양 시험법에서 *Salmonella* 종 TA100, TA1535, TA98, TA97, TA1537.

랫드 간 S9 여부에 관계없이 전배양 시험법에서 *Escherichia coli* 종 WP2uvrA/pKM101.

글리시돌은 수컷 및 암컷 P16Ink4a/p19Arf 단배수결손 마우스에서 구강 위관영양에 의한 생체 내(*in vivo*) 마우스 소핵 시험법에서 양성이었다.

발암성

글리시돌은 IARC에서 Group 2A로 인체 발암가능성이 있는 것으로 분류된다(참고 2).

NTP 연구(참고 4, 5)에서 글리시돌은 수컷 및 암컷 F344/N 랫드와 B6C3F1 마우스에 물을 통해 위관영양으로 투여하였다. 랫드는 0, 37.5, 또는 75 mg/kg, 마우스는 0, 25, 또는 50 mg/kg을 2년 간 주 5일 투여받았다. 평균 일일용량은 주 5일 투여 스케줄을 고려하여 투여된 용량에 5/7을 곱하고 평생 보다 적은 투여 기간을 고려하여 103/104를 곱하여 계산하였다. 그 결과 평균 일일 용량은 수컷 및 암컷 랫드의 경우 0, 26.5, 53.1 mg/kg/day였고 수컷 및 암컷 마우스의 경우 0, 17.7, 35.4 mg/kg/day이다.

글리시돌 노출은 랫드(암컷의 유선 종양)와 마우스(하더리안선)의 여러 조직에서 종양 발생의 용량 관련 증가와 관련있었다. 투여받은 랫드와 마우스의 생존률이 조기에 종양적 질병 유발로 인해 대조군에 비해 현저히 감소했다.

햄스터의 경구 위관영양 시험은 소규모, 단일 용량, 짧은 기간으로 덜 견고했다. 다른 글리시돌 경구 위관영양 만성시험을 2개의 종양 억제제 유전자가 부족한 유전자재조합 마우스를 대상으로 NTP에서 실시했다(즉, 단배수결손 P16Ink4a/p19Arf 마우스)(참고 6). 수컷 마우스에서 발암성 활성의 명확한 증거(조직구 육종 및 폐포/세기관지 선종 발생 기반)와 암컷 마우스에서 일부 발암성 활성 증거(폐포/세기관지 선종 발생 기반)가 있음에도 불구하고 이 연구들은 짧은 기간, 투여군 당 적은 수의 동물, 유전자재조합 동물에서 관찰된 용량-반응 관계가 표준 기관 간 발암성 생물학적 분석(참고 7)에서 관찰된 것에 어떻게 상응하는지 이해의 부족 등의 이유로 2년간 생물학적 분석보다(참고 5) 용량-반응 평가에 덜 적합한 것으로 여겨진다.

글리시돌 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------------------------|-----------------------------------|------------------------------|-----|-------------------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| 참고 5* | F344/N 랫드 성별/그룹 당 50 | 경구 위관영양 2년 간 주 5일 | 50 | 2: 26.5; 53.8 mg/kg/d | 유선/암컷 | 4.15 |
| 참고 5 | B6C3F1 마우스 성별/그룹 당 50 | 경구 위관영양, 2년 간 주 5일 | 50 | 2: 17.7; 35.4 mg/kg/d | 하더리안선/암 컷 | 32.9 |
| 참고 8 | 시리아 골든 햄스터 성별/그룹 당 12~20 | 위관영양, 60주 간 주 2회 | 예 | 1: M: 15.8 F: 17.9 mg/kg/d | 비장/암컷 | 56.1 [^] |
| 참고 9**(참고 2에서 인용) | ICR/Ha 스위스 마우스 20 | 피부 페인팅, 520일 간 주 3회 | 예 | 1: 5% | 종양 없음 | NA [^] |

CPDB(참고 10)에 이 목록의 연구가 있다.

* AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구

** CPDB에 없음

NA = 적용 대상 아님

[^] 표준 발암성 연구 설계 아님. 단일 용량, 간헐 투여, 소규모 검체 규모의 설계만 가리킴(참고 7).

발암성 작용기전

글리시돌은 변이원성 발암물질이고 섭취허용량은 TD₅₀에서 선형 외삽으로 산출된다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA, WHO 또는 독성물질질병등록국(ATSDR) 등에 의해 알려진 규제 한계가 없다.

섭취허용량(AI) 계산

AI 계산을 위한 시험 선정 근거:

인체 암 활성 평가에 대한 가장 적합한 발암성 데이터는 NTP(참고 5)의 F344/N 랫드와 B6C3F1 마우스를 대상으로 실시한 2년 경구 시험의 데이터이다. 가장 민감한 장기는 암컷 유선으로 TD₅₀은 4.15 mg/kg/day이다.

AI 계산

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 4.15 \text{ (mg/kg/day)}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 4 \mu\text{g/day}$$

참고

1. Bakhiya N, Abraham K, Gürtler R, Appel KE, Lampen A. Toxicological assessment of 3-chloropropane-1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. Mol Nutr Food Res 2011;55:509-21.
2. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. [Online]. 1972-PRESENT. (Multivolume work). 2000; 77:469; Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/index.php>.
3. CCRIS. Chemical Carcinogenesis Research Information System. National Library of Medicine. [Online]. 2013. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?CCRIS> and search on CAS number.
4. Irwin RD, Eustis SL, Stefanski S, Haseman JK. Carcinogenicity of Glycidol in F344 rats and B6C3F1 mice. J Appl Toxicol 1996;16 (3):201-9.

5. NTP. Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1990. NTP TR 374.
6. NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Glycidol (CAS No. 556-52-5) in genetically modified haploinsufficient p16 (Ink4a)/p19 (Arf) mice (gavage study). Natl Toxicol Program Genet Modif Model Rep 2007;13:1-81.
7. California Environmental Protection Agency (CalEPA). No Significant Risk Level (NSRL) for the Proposition 65 carcinogen Glycidol. [Online]. 2010. Available from: URL:
http://www.oehha.ca.gov/prop65/CRNR_notices/pdf_zip/GlycidolNSRL073010.pdf
8. Lijinsky W, Kovatch RM. A study of the carcinogenicity of glycidol in Syrian hamsters. Toxicol Ind Health 1992;8(5):267-71.
9. Van Duuren BL, Langseth L, Goldschmidt BM, Orris L. Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. VI. Structure and carcinogenic activity. J Natl Cancer Inst 1967;39:1217-28.
10. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL:
<http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>

히드라진(CAS # 302-01-2)

인체 노출 가능성

히드라진은 의약품, 살충제, 스테로이드 합성에 사용된다(참고 1). 황산히드라진은 결핵, 겸상적혈구 빈혈, 기타 만성 질병 치료에 사용된다(참고 2). 히드라진과 유도체의 자연 발생에 대한 정보는 충분하지 않다(참고 3). 인체는 물, 대기 토양의 환경오염으로 히드라진에 노출될 수 있다(참고 1). 그러나 인체 노출의 주 원인은 근로 환경이다(참고 4). 담배제품과 담배연기에서 소량의 히드라진이 보고된 바 있다(참고 1, 5).

변이원성/유전독성

히드라진은 시험관 내(*in vitro*)와 생체 내(*in vivo*)에서 변이원성/유전독성이 있다.

IARC(참고 6)는 히드라진 변이원성을 검토했다. 주요 관찰내용을 아래와 같이 요약했다.

히드라진은 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

미생물 복귀 돌연변이 시험(Ames), 활성 여부 관계없이 *Salmonella typhimurium* 종 TA 1535, TA 102, TA 98, TA100, *Escherichia coli* 종 WP2 uvrA 생체 내(*in vivo*) 마우스 림프종 L5178Y 세포, *tk*와 *hprt* 유전자 내.

생체 내(*in vivo*)에서(참고 6) 히드라진은 소핵을 유발하지만 마우스 골수 내에서 염색체 변이는 일으키지 않는다. DNA 첨가물이 생체 내(*in vivo*) 일부 조직에서 보고되었다.

발암성

히드라진은 IRCA에서 Group 2B로 분류하고 인체 발암 가능성이 있다(참고 6). US EPA는 Group B2 또는 인체 발암가능성이 있는 물질로 분류한다(참고 7).

발암성 활성 데이터베이스(CPDB)에 인용된 히드라진 발암성 연구가 7개 있다(참고 8). 3건의 흡입 연구는 투여 기간이 1년이고 다른 3개 연구는 식수로 시험했으며 나머지 1개는 경구 위관영양으로 시험했다. 7개 중 5개 히드라진 발암성 연구는 원래 보고서 저자에 따르면 양성 반응인 것으로 보였다.

설치류에서 히드라진 경구 발암성에 대한 주 표적 장기는 간과 폐이다. 그룹 규모와 용량 수준을 기준으로 가장 견고한 경구 시험은 참고 9와 참고 10 연구이다. 최저 TD₅₀의 가장 견고한 흡입 시험은 참고 11의 연구이다. 설치류에서 히드라진의 흡입 발암성에 대한 가장 민감한 표적은 비강과 폐와 같이 최초 접촉 부위이다.

CPDB(참고 8)의 황산히드라진에 대한 연구에서는 이 연구에 그룹 당 50 마리 미만 동물이 포함되어있기 때문에(그리고 한 케이스에서 단일 용량 사용) 여기에 없으며 계산된 TD₅₀은 AI 계산을 위해 가장 견고한 것으로 선정된 히드라진 식수 시험(참고 9)에 대한 TD₅₀보다 더 높다(활성이 더 낮음). 2 건의 견고한 식수 연구 결과 간 유사성을 감안하여(참고 9, 10) 히드라진 비흡입 AI 산출에 더 높은 시험 용량의 최근 연구(참고 10)를 선정하였다.

히드라진 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|--------|--|----------------------|----------|--|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 9 | 위스타 랫드 성별/그룹 당 50 | 평생, 식수 | 50 | 3: M: 0.1, 1.5, 2.5. F: 0.11, 0.57, 2.86 mg/kg/d | 간/암컷 | 41.6 |
| 참고 11* | F344 랫드 성별/그룹 당 100 | 1년 흡입, 18개월 관찰 | 150 | 4: M:1.37,6.87, 27.5,137 F: 1.96,9.81, 39.3,196 μg/kg/d | 비강 선종성용종/수 컷 | 0.194 |
| 참고 12 | Bor:NMRI, SPF-bred NMRI 마우스 성별/그룹 당 50 | 2년, 식수 | 50 | 3: M: 0.33, 1.67, 8.33. F: 0.4, 2.0, 10.0 mg/kg/d | 음성 | NA, 음성 시험 |
| 참고 11 | Golden Syrian 햄스터 200 (M) | 1년 흡입, 12개월 관찰 | 예 | 3: 0.02, 0.08, 0.41 mg/kg/d | 비강 선종성 용종/수컷 | 4.16 |
| 참고 11 | C57BL/6 마우스 400 (F) | 1년 흡입, 15개월 관찰 | 예 | 1: 0.18 mg/kg/d | 음성 | NA |
| 참고 13 | 스위스 마우스 성별/그룹 당 50 | 평생, 식수 | 동시 없음 | 1: ~1.7-2 mg/kg/d | 폐/수컷 | 2.20 [¥] |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/ 유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|----------------------|-----------------------------|------------------------|-----------|--|---------------------------|---------------------------------|
| 참고 14 | 스위스 마우스 25 (F) | 위관영양, 40주 간 주 5회 | 비투여 85 | 1: ~5 mg/kg/d | 폐/암컷 | 5.67 ^{¥¥} |
| 참고 10 ^{**^} | F334/DuCrj 랫드 성별 당 50 | 평생, 식수 | 예 | 3: M: 0.97, 1.84, 3.86 F: 1.28, 2.50, 5.35 mg/kg/d | 간/암컷 | 38.7 |
| 참고 10 [^] | Crj:BDF1 마우스 성별 당 50 | 평생, 식수 | | 3: M: 1.44, 2.65, 4.93 F: 3.54, 6.80, 11.45 mg/kg/d | 간/암컷 | 52.4 |

CPDB(참고 8)에 이 목록의 연구가 있다.

* 비흡입 AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구

** 비흡입 TD₅₀과 AI 산출을 위해 선정된 발암성 연구 (주 2 참조)

NA = 적용대상 아님.

¥ US EPA(참고 7)에서 제외; 동시 대조군 없음. 간 음성.

¥¥ 동물 생존에 영향. 간 음성.

^ CPDB에 없음

발암성 작용기전

규정된 바 없음. DNA 첨가물이 생체 내(*in vivo*)에서 발견되었다(참고 15, 16, 17, 18, 19, 20). 하지만 종양을 발생시키지 않는 조직에 대하여 보고된 것이기 때문에 종양발생에 미친 영향은 없다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

US EPA(참고 7)은 3.0 per mg/kg/day의 경구 경사도 인자와 $\mu\text{g/L}$ 기준 8.5×10^{-5} 의 식수 단위 위험을 발표했다. 10만 분의 1의 위험 수준에서 이는 물의 0.1 μg 히드라진/L 농도 또는 50kg의 사람에게 대하여 최대 0.2 $\mu\text{g/day}$ 농도와 동일하다. 이러한 한계는 황산히드라진이 마우스에 25주간 투여되고 평생 동안 관찰된 다회 용량 위관영양 시험(참고 7)에서 간종양 관찰을 기반으로 한 복수 단계의 선형 외삽이다(참고 21). 히드라진과 황산히드라진 문헌 검토에서 경구 경사도 인자가 계산된 이후 발표된 추가

시험이 확인되었다(참고 9, 10, 17, 22). 이러한 시험들은 경구 경사도 인자에서 변화를 일으킬 가능성이 있으나 US EPA에서 재평가 된 적은 없다.

US EPA(참고 7)에서 mg/kg/day 기준 17의 흡입 경사도 인자와 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 기준 4.9×10^{-3} 의 흡입 단위 위험에 대해서도 발표했다. 10만 분의 1 위험 수준에서 이는 한 사람이 20 m^3/day 로 숨을 쉰다고 가정할 때 히드라진 농도는 $2 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{m}^3$ 또는 $0.04 \mu\text{g}/\text{day}$ 의 대기 농도와 일치한다. 이 한계는 히드라진을 1년 간 주 5일 일 6시간 투여하고 이후 18개월 간 관찰한 다회 용량 흡입 시험에서 수컷 랫드에 비강 선종 또는 선암 관찰을 기반으로 한 복수 단계 선형 외삽이다(참고 7에 인용). 이 데이터에 대한 US EPA 검토만 현재 이용할 수 있지만 그 결과는 Vernot *et al.*(참고 11)와 동일하지는 않지만 매우 유사한 것으로 보인다.

섭취허용량(AI) 계산

AI 계산을 위한 시험 선정 근거

히드라진의 경구 및 흡입 발암성 연구는 흡입 발암성 특이적인 별도의 한계가 요구되는지 여부를 결정하기 위해 검토하였다. 흡입 연구에서 관찰된 첫 번째 접촉 부위 특이적인 더 높은 발암성 활성을 감안하여 흡입 노출에 대한 별도의 AI가 필요하다고 판단하였다.

경구 투여 히드라진의 경우 마우스 시험 4건과 랫드 시험 2건에서 발암성이 보고되었다. 경구 시험에서 가장 민감한 영향은 간세포샘종이 기반이었고 암컷 랫드에서 간암종이었다(참고 10).

히드라진의 흡입 발암성 한계 산출을 위해 필요한 AI 산출을 위해 가장 견고한 발암성 연구 선정 시 US EPA에서 사용한 모든 흡입 발암성 연구를 고려하였다. US EPA에서 사용한 MacEwen *et al.*의 연구가(참고 7) 중요한 연구로 정해져 있으나 Vernot *et al.*(참고 11)의 데이터와 거의 동일하다. TTC가 수백 개의 발암물질에 대한 TD₅₀ 수치에서 선형 외삽을 통해 산출된 것을 감안하여 동일한 방식이 히드라진에 대한 화합물 특이적 AI 산출에 사용하였다. US EPA에서 사용된 방법과 여기에서 사용된 방법은 모두 기본적으로 매우 보수적이다. 그러나 방법론 자체는 다르기 때문에 약간의 차이점이 발생할 것으로 보는 것이 타당하다. 수컷과 암컷 랫드에 1년 간 흡입 경로로 투여하고 18개월 간 관찰한 시험에서 산출한 TD₅₀을 기반으로 AI를 계산하였다(참고 11). 1년 간 수행한 시험은 발암성 표준 시험이 아니지만 발암성 발생 기회가 누락되지 않았음을 증명하는 양성반응이 관찰되었다. 가장 민감한 표적 조직은 수컷 비강 부분으로 TD₅₀은

0.194 mg/kg/day이었다. 이는 1년 대비 2년 노출을 고려하기 위해 표준 관행에 따라 보정하였다.

AI 계산

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 38.7 \text{ (mg/kg/day)}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 39 \mu\text{g/day}$$

흡입 AI 계산

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 0.194 \text{ (mg/kg/day)}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 0.2 \mu\text{g/day}$$

참고

1. Choudary G, Hansen H. Human health perspective on environmental exposure to hydrazines: A review. *Chemosphere* 1998;37:801-43.
2. Von Burg R, Stout T. Hydrazine. *J Appl Toxicol* 1991;11:447-50.
3. Toth B. A review of the natural occurrence, synthetic production and use of carcinogenic hydrazines and related chemicals. *In vivo*. 2000;14(2):299-319.
4. Hazardous Substance Database (HSDB): Hydrazine (302-01-2); [Online]. 2005 June 24 [cited 2013 February 27]; Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/>
5. Liu YY, Schmeltz I, Hoffman D. Chemical studies on tobacco smoke. Quantitative analysis of hydrazine in tobacco and cigarette smoke. *Anal Chem* 1974;46: 885-9.
6. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, [Online] 1972-PRESENT. (Multivolume work). 1999; Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/index.php> p. V71 1006.

7. US Environmental Protection Agency. Hydrazine/Hydrazine sulfate (302-01-2). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1991. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0352_summary.pdf
8. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>
9. Steinhoff D, Mohr U. The question of carcinogenic effects of hydrazine. *Exp Pathol* 1988;33:133-40.
10. Matsumoto M, Kano H, Suzuki M, Katagiri T, Umeda Y, Fukushima S. Carcinogenicity and chronic toxicity of hydrazine monohydrate in rats and mice by two-year drinking water treatment. *Regul Toxicol Pharmacol* 2016;76:63-73.
11. Vernot EH, MacEwen JD, Bruner RH, Haun CC, Kinkead ER, Prentice DE, et al. Longterm inhalation toxicity of hydrazine. *Fundam Appl Toxicol* 1985;5:1050-64.
12. Steinhoff D, Mohr U, Schmidt WM. On the question of the carcinogenic action of hydrazine - evaluation on the basis of new experimental results. *Exp Pathol* 1990;39:1-9.
13. Toth B. Hydrazine, methylhydrazine and methylhydrazine sulfate carcinogenesis in Swiss mice. Failure of ammonium hydroxide to interfere in the development of tumors. *Int J Cancer* 1972;9:109-18.
14. Roe FJC, Grant GA, Millican DM. Carcinogenicity of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine for mouse lung. *Nature* 1967;16:375-6.
15. Becker RA, Barrows LR, Shank RC. Methylation of liver DNA guanine in hydrazine hepatotoxicity: dose-response and kinetic characteristics of 7-methylguanine and O6-methylguanine formation and persistence in rats. *Carcinogenesis* 1981;2:1181-8.
16. Bosan WS, Shank RC. Methylation of liver DNA guanine in hamsters given hydrazine. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983;70:324-34.
17. Bosan WS, Shank RC, MacEwen JD, Gaworski CL, Newberne PM. Methylation of DNA guanine during the course of induction of liver cancer in hamsters by hydrazine or dimethylnitrosamine. *Carcinogenesis* 1987;8:439-44.
18. Saffhill R, Fida S, Bromley M, O'Connor PJ. Promutagenic alkyl lesions are induced in the tissue DNA of animals treated with isoniazid. *Human Toxicol* 1988;7:311-7.
19. Leakakos T, Shank RC. Hydrazine genotoxicity in the neonatal rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;126:295-300.
20. Mathison B, Murphy SE, Shank RC. Hydralazine and other hydrazine derivatives and the formation of DNA adducts. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;127:91-8.
21. Biancifiori, C. Hepatomas in CBA/Cb/Se mice and liver lesions in golden hamsters

induced by hydrazine sulfate. J Natl Cancer Inst 1970;44:943.

22. FitzGerald BE, Shank RC. Methylation status of DNA cytosine during the course of induction of liver cancer in hamsters by hydrazine sulphate. Carcinogenesis 1996;17:2703-9.

과산화수소(CAS# 7722-84-1)

인체 노출 가능성

과산화수소는 녹차와 인스턴트 커피, 신선한 과일, 채소에 존재할 수 있고 인체에서 자연적으로 발생할 수 있다(참고 1). 하루에 최대 6.8 g이 내인적으로 발생할 것으로 추정된다(참고 2). 다른 흔한 노출원은 살균제, 일부 국소 여드름 크림 제품, 구강 케어 제품이 있으며 이는 최대 4% 과산화수소를 포함할 수 있다(참고 2).

변이원성/유전독성

과산화수소는 시험관 내(*in vitro*)에서 변이원성/유전독성이 있으나 생체 내(*in vivo*)에는 없다.

IARC(참고 3)와 유럽연합공동연구센터(European Commission Joint Research Centre, 참고 4)는 과산화수소의 변이원성 데이터를 검토했고 주요 관찰사항이 아래 요약되어 있다.

과산화수소는 다음과 같은 경우 변이원성이 있다:

외인성 대사 활성이 없는 상태에서 *Salmonella typhimurium* 종 TA96, TA97, SB1106p, SB1106, SB1111과 *Escherichia coli* WP2, *hprt* 유전자좌에서 L5178Y 마우스 림프종 세포 계열, *hprt* 유전자좌에서 중국 햄스터 V79 세포, 6개 시험 중 1개에서만.

생체 내(*in vivo*)에서 최대 1000 mg/kg로 마우스 복강 내에서 과산화수소 투여 또는 카탈라아제가 결핍된 C57BL/6NCr1BR 마우스에 식수로 2주 간 200, 1000, 3000, 6000 ppm의 과산화수소 투여 후에 소핵이 유발되지 않았다.

발암성

과산화수소는 IARC에 의해 Group 3로 분류되지만 인체 발암물질로 분류되지 않았다(참고 3)

CPDB에 인용된 발암성 보고는 한 건이고(참고 5) 이 연구에서는 마우스에게 약 2년 간 식수로 과산화수소를 투여했다. 연구에는 2개 투여군이 있었고 용량 별로 약 50 개체가 포함되었다. 과산화수소는 C57BL 암컷 마우스에서 소장 종양을 유발했다. 통계적으로 유의미한 종양의 증가($p < 0.005$)가 마우스 발암성 연구의 두 용량 그룹에서 모두 관찰되었다(참고 5). 하지만 암컷 고용량군에서 십이지장 종양만 CPDB에서 유의미한 것으로 나타났다(참고 6). 따라서 식수로 투여된 0.1% 과산화수소는 LOAEL(최소유해용량)로 정의되었고 이는 체중에 따른 평균 일일 용량으로 환산하면 167 mg/kg/day이다.

6개월 또는 그 이상 기간 진행된 연구들은 아래 표에 정리되어 있다(참고 2에서 적용). 이 연구들은 동물 수에 제한이 있고 단일 용량을 사용했다. 대부분의 연구는 CPDB의 TD₅₀ 산출로 포함 기준을 충족시키지 못했다. DeSesso *et al.*(참고 2)은 14건의 발암성 연구 중(2 건의 마우스 피하 시험, 2 건의 마우스 경피 시험, 6 건의 식수 시험[랫드 2, 마우스 4], 1 건의 햄스터 삼관 시험, 3건의 험낭 시험), 단 3 건의 마우스 식수 시험(참고 5, 8, 9)에서만 과산화수소로 인한 종양 증가(근위 십이지장)가 나타났다. 이러한 마우스 시험은 US FDA의 암평가위원회(CAC)에서 철저하게 평가하였다(참고 10). 결론적으로 과산화수소가 발암물질이라는 충분한 증거를 이 연구들에서 제시하지 못했다(참고 10).

유럽에서 소비자제품과학위원회(SCCP)는 과산화수소에 대한 이용가능한 발암성 데이터를 검토했고 과산화수소가 변이원성 정의에 부합하지 않았다고 결론 내렸다(참고 11). 그리고 작용기전에 대한 국소적 발암성 영향의 약한 가능성은 불분명하다고 명시했으나 유전독성 기전이 제외될 수는 없었다(참고 11). 반면 DeSesso *et al.*(참고 2)은 희석한 과산화수소가 표적 부위에 도달하기 전 분해되고 과형성 병변이 종종 식수의 과산화수소 노출 시 발생하는 식수 섭취 감소가 수반되는 식품 알갱이의 자극 때문이라고 주장했다. 식수를 통해 직접 노출된 조직의 종양 발생 부족으로 직접 영향 부족이 설명된다(구강, 식도, 위). 과산화수소가 위 삼관으로 투여되는 6개월 햄스터 연구(참고 14)에서(물 섭취 영향 없음), 위와 십이지장 상피가 정상으로 보였던 사실도 근거가 된다. 이는 상기 US FDA의 결론의 기반이 되었다(참고 10).

과산화수소 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 참고 |
|-------|--|------------|-----|--|---|
| 참고 5* | C57BL/6J 마우스 성별/그룹 당 48~51 | 식수 100주 | 예 | 2: 0.1; 0.4% M: 167; 667 F: 200; 800 mg/kg/d | 암컷 십이지장 암종에 대한 TD ₅₀ 7.54 g/kg/d |
| 참고 7 | C57BL/6J 마우스(수컷 및 암컷) 29 (추가 검체군; 7~630 투여일 간격 또는 140일에 투여 중단 후 10~30일) | 식수 700일 | 아니오 | 1: 0.4% | 보고된 종양 없음. 시간에 따라 위의 짓무름 및 결절과 십이지장의 플라크와 결절 유발. H ₂ O ₂ 투여 140일 후 회복 기간이 지나고 투여 중단 중 10~30일 간 변병이 있는 마우스가 거의 없었음. |

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 참고 |
|-------|---|---------------------------------------|-----|--------------------|--|
| 참고 8 | C3H/HeN 마우스 18 (수컷 및 암컷) | 식수 6개월 | 아니오 | 1: 0.4% | 십이지장 종양 2건 (11.1%) |
| 참고 8 | B6C3F1 마우스 22 (수컷 및 암컷) | 식수 6개월 | 아니오 | 1: 0.4% | 십이지장 종양 7건 (31.8%) |
| 참고 8 | C57BL/6N마 우스 21 ^c (수컷 및 암컷) | 식수 7개월 | 아니오 | 1: 0.4% | 십이지장 종양 21건 (100%) |
| 참고 8 | C3H/Cb/s마우 스 24 ^c (수컷 및 암컷) | 식수 6개월 | 아니오 | 0.4% | 십이지장 종양 22건 (91.7%) |
| 참고 9 | 암컷 C3H/HeN 마우스 21 | 식수 6개월 | 11 | 1: 0.4% | 대조군에서 십이지장 종양 없음, 치료군에서 2건(9.5%) |
| 참고 9 | 암컷 B6C3F1 마우스 22 | 식수 6개월 | 12 | 1: 0.4% | 대조군에서 십이지장 종양 없음, 치료군에서 7건(31.8%) |
| 참고 9 | 암컷 C3H/Cb/s 마우스 24 ^c | 식수 6개월 | 28 | 1: 0.4% | 대조군에서 십이지장 종양 없음, 치료군에서 22건(91.7%) |
| 참고 12 | 수컷 랫드 3 | 식수 21주 | 3 | 1: 1.5% | 발암성 영향 관찰되지 않음 |
| 참고 13 | 수컷 및 암컷 랫드 (50/성별/군) | 식수 2년 | 예 | 2: 0.3% 0.6% | 발암성 영향 관찰되지 않음 |
| 참고 14 | 햄스터(20/군) (성별 보고되지 않음) | 경구 위관영양, 15주 및 6개월 (주 5일) | 예 | 1: 70 mg/kg/d | 발암성 영향 관찰되지 않음 |

* PDE 계산을 위해 선정된 발암성 연구; CPDB에 있음 (참고 6).

다른 연구는 CPDB에 없으나 참고 2에 요약되어 있음.

^c카탈라아제 결핍

발암성 작용기전

과산화수소는 정상적인 세포 대사활동으로 생성되는 활성산소종(ROS)이다(참고 4). 과산화수소의 독성은 ROS 생성과 이후 세포독성, DNA 가닥 분절, 유전독성을 일으키는

산화적 손상으로 인해 기인한다(참고 15). 불가피한 ROS의 내인적 생성으로 인해 신체는 카탈라아제, 초과산소 디스뮤타아제, 글루타티온 과산화효소 등의 수준을 제한하는 방어 기제를 발달시켰다.

산화 스트레스는 신체의 천연 항산화 방어 기제가 초과될 때 발생하여 DNA, 단백질, 지질 등 고분자에 손상을 가한다. ROS는 또한 항산화 효소를 비활성화시켜 손상 영향을 가중시킨다(참고 16). 미토콘드리아의 호흡 동안 산소는 단일 전자 전송을 하고 초과산화 음이온 라디칼을 생성한다. 이 분자는 제한된 활성을 보이거나 효소 초과산소 디스뮤타아제를 통해 과산화수소로 전환될 수 있다. 과산화수소는 이후 카탈라아제와 글루타티온 과산화효소에 의해 물과 산소로 탈산소된다(참고 17). 그러나 철, 구리 등 전이 금속이 존재할 때 과산화수소는 추가적으로 극도로 활성화된 히드록시 라디칼로 탈산소될 수 있다. 매우 활성화되어서 세포적 요소와 반응하기 전까지 1개 또는 2개 분자 지름 이상 확산하지 않는다(참고 16). 따라서 산화하기 위해 반드시 이들은 DNA와 매우 인접하여 생성되어야 한다. 항산화물질은 히드록시 라디칼을 물로 탈산소시키는 전자의 원인을 제공하고 이들의 활성이 줄어든다. 확실히 항산화물질과 산화적 손상에서 보호하는 세포적 방어물질은 시험관 내(*in vitro*) 시험 시스템 내에서 제한적이다. 결과적으로 과산화수소 투여에 이어 이러한 방어 기제는 즉각적으로 박테리아와 포유류 세포주에서 세포독성과 유전독성을 유발하며 압도된다. 시험관 내(*in vitro*) 반응의 축소는 신체에서 작동하는 방어 기제 요소를 도입하여 증명하였다. 예를 들어 카탈라아제 등 효소를 분해하는 과산화수소 유입이나 전이 금속 수준을 조정하여 가능하다(참고 11). 세포 방어 기제가 손상되지 않은 생체 내(*in vivo*)에서 과산화수소가 단기 노출 이후 유전독성이 없는 것이 당연하다. 이는 세포 방어 기제가 항상성을 유지하는 ROS를 통제할 수 있는 수준 이하로 역치가 있다는 것을 의미한다.

포괄적인 유럽위원회(EC, 참고 4) 위험 평가는 과산화수소가 방어기제가 제압될 때 시험관 내(*in vitro*)에서 변이원성이 있다는 증거를 뒷받침한다. 그러나 생체 내(*in vivo*) 표준시험법에서 유전독성은 없다. 과산화수소 작용기전은 비선형, 역치 영향이 있다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

유럽화장품규정의 부록 III(참고 18)에 치아미백제 관련 과산화수소 허용치가 제시되어 있다. 구강세정제, 치약, 치아미백제 또는 표백제 등 일반의약품으로 판매되는 구강제품의 경우, 과산화수소 최대 허용농도(함유 또는 방출)는 0.1%이다. 최대 6%까지 고농도가 18세 이상의 사람들에게 치과 의사가 처방한 제품의 경우 허용된다. EC SCCP(참고 11)는 구강세정제 3 g 또는 치약 0.48 g이 하루 기준 섭취량으로 추정했다. 제품에 과산화수소가 0.1% 함유된 경우 잠재적으로 섭취하는 과산화수소량은

구강세정제의 경우 3 mg, 치약은 0.48 mg이다. 구강 케어 제품 사용 중 대부분의 과산화수소가 분해되고 이를 삼키지 않으므로 과장된 추산치일 수 있다(참고 4)

US FDA - 과산화수소는 항치은염/항플라크제로 장기간 일반의약품으로 사용할 때 최대 3%까지 일반적으로 안전하다고 인정된다(Generally Recognized As Safety, GRAS) (참고 19).

1일 노출 허용량(PDE)

과산화수소는 역치가 있는 작용기전(즉, 산화 스트레스)을 통해 유전독성이 나타나고 구강 케어 및 기타 신체용 케어제품에서 정도를 초과하는 높은 수준에서 신체에서 내적으로 생성된다. 따라서 발암성 데이터 기반 PDE 산출이 부적합한 것으로 여겨졌다. 내적 생성 추산량인 6.8 g/day의 1% 섭취라면 68 mg/day(또는 68,000 μ g/day)로 기본 노출 기준 심각한 수준의 증가는 아니지만 일반적으로 의약품에서 정성적 기반으로 한계를 초과할 것이다. ICH M7 가이드라인에서 화합물 특이적 위해 평가의 섭취허용량 계산 시, 예를 들어 일일 최대 용량이 100 mg인 의약품에서 500 μ g, 즉 0.5% 정성적 상한선에 따라 결정될 것이다.

참고

1. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. FEBS Lett 2000;486:10-13. 105
2. DeSesso JM, Lavin AL, Hsia SM, Mavis RD. Assessment of the carcinogenicity associated with oral exposures to hydrogen peroxide. Food and Chem Toxicol 2000;38:1021-41.
3. IARC. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999 Vol. 71.
4. European Commission Joint Research Center. EU Risk Assessment report. Hydrogen Peroxide. CASRN 7722-84-1). 38. [Online]2003. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/documents/10162/a6f76a0e-fe32-4121-9d9d-b06d9d5f6852>
5. Ito A, Watanabe H, Naito M, Naito Y. Induction of duodenal tumors in mice by oral administration of hydrogen peroxide. Gann the Japanese Journal of Cancer Research 1981;72: 174-5.
6. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cpdb/>

7. Ito A, Naito M, Naito Y, Watanabe H. Induction and characterization of gastro-duodenal lesions in mice given continuous oral administration of hydrogen peroxide. *Gann the Japanese Journal of Cancer Research* 1982;73: 315-322.
8. Ito A, Watanabe H, Naito M, Naito Y, Kawashima K. Correlation between induction of duodenal tumor by hydrogen peroxide and catalase activity in mice. *Gann the Japanese Journal of Cancer Research* 1984;75: 17-21.
9. Ito A, Watanabe H, Aoyama H, Nakagawa Y, Mori M. Effect of 1,2-dimethylhydrazine and hydrogen peroxide for the duodenal tumorigenesis in relation to blood catalase activity in mice. *Hiroshima Journal of Medical Science* 1986;35:197-200.
10. US FDA. Irradiation in the production, processing, and handling of food. Food and Drug Administration. Federal Register 1988; Vol. 53, No. 251:53198-9.
11. SCCP. European Commission. Scientific Committee on Consumer Products. Opinion on Hydrogen peroxide, in its free form or when released, in oral hygiene products and tooth whitening products. SCCP/1129/07 [Online] 2007. Available from: URL: https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_122.pdf
12. Hiroto N. and Yokoyama T. Enhancing effect of hydrogen peroxide upon duodenal and upper jejunal carcinogenesis in rats. *Gann* 1981; 72: 811-812. Cited in 참고 2).
13. Ishikawa T. and Takayama S. (1984) Hydrogen peroxide. In Information Bulletin on the Survey of Chemicals being Tested for Carcinogenicity. International Agency for Research on Cancer, Lyon. 1984; 11:86. (Cited in 참고 2).
14. Li Y, Noblitt T, Zhang A, Origel A, Kafrawy A, Stookey G. Effect of long-term exposure to a tooth whitener [Abstract]. *Journal of Dental Research* 1993;72:1162. (Cited in 참고 2).
15. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: Review of adverse effects and safety issues. *British Dental Journal* 2006;200:371-6.
16. De Bont R, Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis* 2004;19:169-85.
17. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000;408:239-47.
18. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products.
19. US FDA. Oral health care drug products for over-the-counter human use; antigingivitis/antiplaque drug products; establishment of a monograph. Federal Register 2003; 68:32232-86.

염화메틸(클로로메탄, 2681 CAS# 74-87-3)

인체 노출 가능성

인체 활동으로 인한 발생 보다 훨씬 많은 양이 환경 내에서 자연적으로(예, 해양 식물플랑크톤, 미생물 발효, 바이오매스 연소(목초지 불, 산불), 화산 등) 발생하기 때문에 낮은 수준 염화메틸은 자연에서 쉽게 발견된다.

WHO(참고 1)는 농촌 지역 대기의 염화메틸 농도는 일반적으로 $2.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (1.0 ppb) 미만이지만 도시지역에서는 $0.27\sim 35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.13-17 ppb) 수준으로 이는 20~700 μg 을 매일 흡입하는 것과 같다고 보고했다(1일 인체 호흡량 20 m^3). 식수에서 확인된 최대 농도는 $44 \mu\text{g}/\text{L}$ 이며 강, 해수, 지하수, 식수에서 다양한 농도의 염화메틸이 보고되었다.

변이원성/유전독성

염화메틸은 체외에서는 변이원성과 유전독성을 나타내지만 체내에서는 확실하지 않다. WHO(참고 1)와 US FDA(참고 2)가 염화메틸 변이원성 데이터를 검토하였으며 주요 내용이 여기에 요약되어 있다.

염화메틸은 다음의 경우 변이원성을 보인다:

대사 활성 여부에 관계없이 *Escherichia coli* WP2 uvrA, *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535 미생물 복귀 돌연변위 시험(Ames), TK6 인체 림프아세포.

WHO(참고 1)는 생체 내(*in vivo*)에서 “표준 생체 내(*in vivo*) 유전독성 시험 데이터를 통해서 는 불가능하다. 염화메틸은 고용량의 일부 DNA-단백질 교차결합 증거를 기반으로 따르면 생체 내(*in vivo*)에서 매우 약한 수준의 돌연변이원으로 생각해 볼 수 있다.” 결론 내렸다.

발암성

IARC에서는 염화메틸을 “인체 발암성 증거가 부적절한” Group 3로 분류했다(참고 3). USA EPA에서는 인체 발암성이 있는 것으로 분류되지 않는 Category D 화합물로 분류하였다(참고 2).

동물의 경우 유일한 발암성 증거는 흡입 경로 투여를 활용한 단일 2년 생물학적 분석에서 확인된다(참고 4). 수컷 마우스 B6C3F1의 고농도 노출에서만(1,000 ppm) 통계적으로 유의미한 신장 양성 및 악성 종양의 발병 증가가 관찰되었다. 통계적으로 유의미하지는 않지만 피질 소피낭체(cortical adenoma) 역시 $464 \text{ mg}/\text{m}^3$ (225 ppm)에서

확인되었으며 마우스의 신장 피질 소피낭체 발병이 103 mg/m³ (50 ppm) 용량 그룹에서 확인되었고 464 mg/m³ (225 ppm) 그룹에서도 어느 정도 나타났다(참고 4). 그렇지만 농도-반응 관계를 구축할 수 없었다.

신장 피질 관상 상피 세포 증식증과 핵비대가 1,000ppm 수컷 마우스 그룹에서만 나타났다. 종양형성은 수컷 마우스에서 낮은 농도 또는 어떤 부위에서도 발견되지 않거나 암컷 마우스에서는 모든 부위 또는 어떤 농도에서도 나타나지 않았거나 암컷, 수컷 모두 F-344 랫드에서 발견되지 않았다. 신장 선암은 인간이 노출되지 않을 정도의 수준에서 수컷 마우스에서만 발생하는 것으로 나타났다. 수컷 마우스의 신장 종양은 인간과 관련이 없는 것으로 여겨진다. 수컷 마우스의 신장 종양은 염화메틸 대사작용 중 포름알데히드의 생산과 관련이 있는 것으로 보인다. CYP2E1와 관련이 있는 것으로 여겨지는 시토크롬 P-450 (CYP) 동질효소가 수컷 마우스 신장에 존재하며 안드로겐 의존적이다. 암컷 마우스는 수컷 마우스의 20%~25% 수준의 CYP2E1 만 가지고 있다. 포름알데히드 발생이 랫드의 신장 마이크로솜이 포름알데히드를 생성하지 않는 안드로겐을 처리하지 않은 암컷 마우스를 초과하는 수컷 CD-1 마우스의 신장 마이크로솜에서 증명되었다. 또한 신장의 염화메틸 처리 방법에 있어 종별 대사 차이는 염화메틸이 잠재적으로 발암성이 있는 독성 중간체로 전환되는 것으로 알려진 주요 효소(CYP2E1)가 인간의 신장에는 부족하기 때문에 P-450 산화를 통한 마우스 신장 종양생성은 인간과 생물학적으로 관련이 없다는 것을 확실하게 나타낸다. 랫드에서 CYP2E1의 신장 활성은 매우 낮다. 인체 신장 마이크로솜 검체에서는 CYP2E1 활성이 확인되지 않았으며(참고 2) 인체 신장에서 막 분리한 근위 세뇨관에서도 검출되지 않았다. CYP4A11는 인체 신장에서 검출되었지만 염화메틸 대사작용 능력은 확인되지 않았다. CYP4A11 외에 인체 신장 마이크로솜에서 높은 수준으로 확인된 다른 P-450 효소는 CYP4F2와 CYP3A이다. 또한 일반적으로 알려진 환경적 화학물질은 CYP4A과로 대사되는 것으로 보인다. 인체 신장에서 검출 가능한 CYP2E1의 부족은 (높은 수준의 마우스와 대비) 수컷 마우스 신장 종양을 유발시키는 P450를 (포름알데히드 농도 증가로 이어지는 것으로 여겨짐) 통한 염화메틸 대사작용을 나타낸다.

그렇지만 US EPA(참고 2)와 WHO(참고 1)에서 강조한 것과 같이 주요 글루타티온 (GSH) 의존 경로(간에서 포름산염으로 대사작용은 포름알데히드를 포름산염으로 산화하는 포름알데히드 탈수소효소 필요 GSH를 통한 GSH2758 의존적이다.) 또는 CYP2E1 외 P450 동질효소를 통한 간(및/또는 신장) 대사작용의 역할(유전독성 대사물질이 될 가능성)은 경시할 수 없다. 그렇지만 낮은 염화메틸 용량을 통한 포름알데히드 생산은 체내 포름알데히드 기저 형성과 비교해 볼 때 크게 중요하지 않다. (즉, 878~1310 mg/kg/day, 참고 5) 또한 인체 관련 제한에 따라 US EPA은 염화메틸을 “인체 발암성이 있는

것으로 분류되지 않는” group D 화합물로 분류했다.

염화메틸 - 발암성 연구 상세사항

| 연구 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|--------------------------------|------------------------------------|------------------------------|-----|---|------------------------------------|---------------------------------|
| 참고 4 (참고 1, 2에 요약)* | B6C3F1 마우스 성별, 그룹 당 120 | 흡입 일 6시간, 주 5일 24개월 | 예 | 3: 103;464;2064 mg/m ³ (50; 225; 1000 ppm) | 수컷만 신장에 종양. 암컷에서는 발견되지 않음 | 1,360.7** |
| 참고 4 (참고 1, 참고 2에 요약) | Fisher 344 랫드 성별, 그룹당 120 | 흡입 일 6시간, 주 5일 24개월 | 예 | 3: 103;464;2064 mg/m ³ (50; 225; 1000 ppm) | 수컷과 암컷에서 발견되지 않음 | NA |

참고: 표의 연구는 CPDB에 포함되지 않음.

*AI 계산을 위해 선정된 발암성 연구

**발암성 데이터를 기반으로 산출된 TD₅₀ (주 3 참조).

NA= 적용대상 아님

규제 한계 및/또는 알려진 한계

WHO(참고 1)는 일반 대중을 위한 가이드라인 값을 0.018 mg/m³로 US EPA(참고 2)은 표준 농도를 0.09 mg/m³로 설정하였다. 두 가지 모두 염화메틸 흡입에 따른 잠재적 중추신경계 이상 반응을 기반으로 하였다.

섭취허용량(AI) 계산

데이터에 따르면 수컷 마우스에서 관찰된 종양이 인간과 관련이 없는 것으로 보이지만 데이터의 불확실성으로 인해 AI를 설정하였다.

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 1,360.7 \text{ mg/kg/day} / 50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 1,361 \mu\text{g/day}$$

참고

1. World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 28. Methyl chloride. [Online]. 2000; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad28.htm>
2. US EPA. Methyl chloride. (CAS No. 74-87-3). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 2001; Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/1003tr.pdf
3. IARC. Methyl Chloride. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999 Vol. 71.
4. CIIT. Final report on a chronic inhalation toxicology study in rats and mice exposed to methyl chloride. Report prepared by Battelle Columbus Laboratories for the CIIT. 1981 EPA/OTS Doc #878212061, NTIS/OTS0205952.
5. EFSA. European Food Safety Authority. Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources. EFSA Journal 2014; 12 Suppl 2:3550.

스타이렌(CAS# 100-42-5)

인체 노출 가능성

일반 대중에 대한 스타이렌 노출은 환경 오염과 식이 노출을 통해 발생한다(참고 1). 일반 대중의 경우 실내 및 실외 공기가 가장 큰 노출을 차지한다. 하지만 담배 한 갑을 피우면 스타이렌 몇 밀리그램을 흡입한 것과 같은 결과로 이어질 수 있다(참고 2). 스타이렌은 여러 가지 식품과 음료에 천연 성분으로 검출되며 시나몬에서 가장 높은 수준으로 검출된다. 폴리스타이렌과 폴리스타이렌의 공중합체는 식품 포장재로 널리 사용되며 스타이렌과 같은 단량체는 낮은 수준으로 식품으로 옮겨갈 수 있다. 매일 식이원으로부터 섭취하는 스타이렌의 일일 섭취량은 영국에서 1~4 μg , 독일에서 2~12 μg , 미국에서 9 μg 으로 추산되었다(참고 3, 4). 스타이렌은 의약품 주성분 합성에 쓰인다.

변이원성/유전독성

스타이렌은 *in vitro* Ames 시험(복귀 돌연변이 시험)에서 상충되는 결과를 보였고 OECD 가이드라인에 따라 수행한 *in vivo* 염색체 이상, 미소핵, UDS 시험에서는 주로 불활성을 나타냈다. Ames 시험에서 결과가 일관적이지 않은 이유는 스타이렌 변동성, 낮은 용해성, 다양한 대사 시스템이었다(참고 5). 스타이렌은 대사 활성화일 때에만 Ames 시험에서 변이원성에 양성반응을 보였고(참고 5), 이때 DNA와 공유 부가물을 형성할 수 있도록 친전자성 중간체(예: 스타이렌-7,8-옥사이드)로 전환된다. 스타이렌 노출과 관련된 유전적 손상은 대부분 스타이렌의 주 대사체인 스타이렌-7,8-옥사이드 때문으로 보이며, 이는 이후 스타이렌 글라이콜로 해독된다. 스타이렌 노출은 동물 모델과 인체 모두에서 DNA 부가물(N^7 -구아닌, O^6 -구아닌, N^1 -아데닌)과 자매염색분체 교환(SCE)을 증가시켰으며 DNA 가닥은 인체에서 쪼개진다(참고 5, 6). 현행 OECD 가이드라인에서 설명한 요건을 기반으로 스타이렌 유전독성을 정밀하게 검토한 Moore et al.(참고 7)은 대사되지 않은 스타이렌이 Ames 시험에서 변이원성을 보이는지는 불분명하지만 스타이렌-7,8-옥사이드는 확실히 변이원성이 있다고 결론 내렸다. 연구자들은 스타이렌-7,8-옥사이드 Ames 양성 자료가 대부분 외인성 대사 활성을 사용하지 않고 수집됐다는 점에도 주목했다. 이는 스타이렌-7,8-옥사이드가 스타이렌 글라이콜로 더 대사되지 않았다는 뜻이다.

스타이렌은 $\geq 85 \text{ mg/m}^3$ 스타이렌에 흡입 노출된 근로자 28명의 적혈구에서 글리코포린 A(GPA) 변이 빈도로 변이원성을 보였다(참고 8). 스타이렌에 노출된 근로자의 림프구는 하이포잔틴-구아닌 포스포리보실 전달효소(HPRT) 유전자좌에서 변이 빈도(MF)가 증가했다(참고 9).

두 건의 *in vitro* 포유류 유전자 변이 시험이 확인되었다. HPRT 시험에서 스타이렌은

V79 세포에서 HPRT MF의 약한 상승만 유발했다(참고 10). 이와 유사하게 V79 세포에서 스타이렌은 외인성 대사활성화계를 가진 HPRT 유전자좌에서 변이 증가를 유발시켰다(참고 11). 스타이렌 또는 스타이렌-7,8-옥사이드를 평가한 설치류 *in vivo* 변이 시험은 확인된 바 없다.

표준 규정 시험을 기반으로 볼 때, 실험동물의 이용 가능한 자료에서 스타이렌이 *in vivo* 중대 유전독성일 가능성이 있다는 확실한 증거는 없다. 그러나 스타이렌 노출과 관련된 유전독성(스타이렌-7,8-옥사이드 형성 관련)이 실험동물과 인체에서 스타이렌 유발 발암성의 작용기전일 가능성이 제기되었다(참고 1).

발암성

IARC는 스타이렌과 그 대사 산물 스타이렌-7,8-옥사이드를 Group 2A에서 “인체에서 제한된 증거 및 실험동물에서 충분한 증거를 근거로 인체에 발암 가능성이 있는” 것으로 분류했다(참고 5). 미국 국립보건원(NIH)에서도 스타이렌을 인체 발암물질로 합리적으로 추정하고 있다(참고 1). 스타이렌이 유발하는 발암성의 작용기전이라고 할 수 있는 것에는 면역억제와 더불어 유전독성 및 세포독성 영향이 포함된다(참고 1). NTP는 제12차, 제14차 발암물질 보고서에 스타이렌을 “인체 발암물질로 합리적으로 추정되는” 것으로 분류했다(참고 12, 13). 미국 국립연구위원회(NRC)는 인체에서 제한된 발암성 증거, 동물실험에서 충분한 증거, 발암성을 뒷받침하는 기타 확정관계(mechanistic) 자료를 바탕으로 스타이렌을 “인체 발암물질로 합리적으로 추정된다” 라고 분류하는 것이 적절하다고 결론 내렸다(참고 6).

최근 스타이렌 노출에 관한 역학 시험을 체계적으로 검토한 결과 스타이렌에 대한 정량적 추정치가 부족하여 활용할 수 있는 연구에 한계가 있다는 점을 제외하면, 특정 암에 대한 위험성 측면에서 스타이렌과 비호지킨 림프종과 그 아형, 모든 백혈병, 백혈병 아형 또는 식도암, 췌장암, 폐암, 신장암 또는 기타 부위 암 간 인과관계에 대한 강력하고 일관된 증거는 없었다(참고 14).

스타이렌은 마우스에 경구 및 흡입 경로를 통한 발암성이 있고 랫드의 경우 흡입 경로를 통한 발암성이 있다고 CPDB에 보고되었다(참고 15). NIH 발암물질 보고서(참고 1)는 (1) B6C3F1 마우스에서 경구 노출과 (2) CD-1 마우스에서 흡입 노출을 통한 2년 시험을 가장 확실한 시험으로 본다. 수컷 B6C3F1 마우스의 경우 스타이렌에 경구 노출되면 파리샘 종 및 기관지선종과 암종의 혼합 발생이 증가했다(참고 16). 흡입 시험에서 수컷 및 암컷 CD-1 마우스의 경우 폐 선종 발생이 증가했고 고용량군의 암컷에서 폐암종이 증가했다(참고 17).

IARC는 스타이렌을 마우스와 랫드에서 (다양한 적용 경로로) 각각 시험한 9개 시험과 스타이렌-7,8-옥사이드를 마우스와 랫드에서 각각 실시한 3개 시험을 평가했다. 스타이렌의 경우 O20 마우스를 경태반 노출 후 위관영양 시험에서 새끼의 폐 암종과 선종이 증가한 반면 C57BL 마우스를 시험한 두 번째 시험에서는 음성 결과가 도출되었다(참고 18). CD-1 마우스를 흡입 노출로 시험한 5개 시험 중 두 건에서는 폐 기관지폐포 종양이 증가한 반면(참고 16, 19), 나머지 세 건의 시험(C57BL/6 마우스)에서는 음성 결과가 도출되었다(참고 19). 경구 노출을 적용한 마우스 시험 한 건에서는 폐종양 발생이 증가했고 간세포 암종 양성 경향을 보였다(참고 16). 복강 내 적용을 한 또 다른 시험에서는 음성 결과가 도출되었다(참고 20). CD(SD 유래) 또는 SD 랫드를 전신 흡입 노출로 시험한 두 건의 시험을 보면, 하나의 시험에서 스타이렌 음성 결과가 도출되었으나(참고 21) 나머지 하나에서는 유선 종양이 증가했다(참고 22). 반면, 경구 노출 시험 네 건, 즉 위관영양 시험 세 건(참고 17, 22)과 식수 노출 시험 한 건(참고 23)에서는 음성이었다. 유선 종양에서 관찰된 증가는 용량에 좌우된 것이 아니었으므로 NIH 발암물질보고서(ROC)는 이를 신뢰할 만한 발암성 증거로 간주하지 않았다(참고 1). IARC(참고 5)도 짧은 치료 기간과 불완전한 시험 보고에 주목했다. 경태반 노출 후 위관영양(참고 17), 복강 내 적용, 또는 s.c 적용(참고 22)을 랫드에 실시한 다른 시험에서도 음성이었다. 스타이렌-7-8-옥사이드는 마우스를 대상으로 세 건의 시험에서 테스트했으며 한 건은 위관영양(참고 24), 두 건은 피부 적용(참고 25, 26)으로 진행되었다. 위관영양을 통한 경구 노출 시험에서 스타이렌-7-8-옥사이드는 암컷과 수컷의 전위부에서 편평세포 종양을 증가시켰고 수컷의 간세포 종양을 증가시켰다. 피부 적용 시험은 시험 세부사항에 관한 제한된 보고와 대조군 부족 때문에 평가하기에 적절하지 않았다. 랫드에서 스타이렌-7-8-옥사이드는 위관영양에 의한 경구 노출 시험 두 건에서 테스트했고(참고 22, 24), 경태반 노출 후 위관영양 시험 한 건(참고 27)에서 테스트했다. 위관영양 시험 두 건 모두에서 전위부의 편평세포 종양이 증가했고 시험 중 한 건에서는 수컷에서 유선 종양도 증가했다. 경태반 노출 후 위관영양 시험에서 전위부 종양이 증가했다. IARC는 실험동물에서 스타이렌과 스타이렌-7,8-옥사이드의 발암성 증거가 충분하다고 결론 내렸다(참고 5).

NTP는 랫드 시험에서 나온 증거가 스타이렌 발암성과 관련하여 단정하기엔 불충분하다고 결론 내렸다(참고 1). Cruzan et al.이 실시한 여덟 건의 종양원성 시험에서 얻을 수 있는 자료를 평가(참고 21)한 결과, 스타이렌이 랫드에서 암을 유발하지 않았다는 명확한 증거가 있다는 결론에 이르렀다. 랫드가 아닌 마우스에서 폐종양이 발생한 이유는 두 종간 스타이렌 대사가 다르기 때문일 수 있다(참고 1).

스타이렌 - 발암성 연구 세부사항

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) ^a |
|-------|---------------------------------|-----------------------------------|-----|--|--------------------------|--|
| 참고 16 | 50/성별/ M&F B6C3F1 마우스 시험군 | 78주, 경구 위관영양 | 20 | 2: 150, 300mg/kg/day | 폐/ 수컷 ^b | 360 |
| 참고 17 | 70/성별/ CD1 마우스 시험군 | 98-104주, 흡입 | 70 | 4: 20, 40, 80, 160ppm, 22.3, 44.6, 89.3,179 mg/kg/day | 폐/ 수컷 | 154 ^c |
| 참고 16 | 70/성별/ Fischer 344 랫드 시험군 | 78-107주, 경구 위관영양 | 40 | 3: 500, 1000, 2000 mg/kg/day | 종양 없음 | NC |
| 참고 21 | 70/성별/ CD 랫드 시험군 | 104주, 흡입 | 70 | 4: 50, 200, 500, 1000ppm | 종양 없음 | NC |
| 참고 22 | 30/성별/ SD 랫드 시험군 | 52주, 흡입 | 60 | 5: 25, 50, 100, 200, 300ppm | 유방조직/ 암컷 ^d | 23.3 |
| 참고 22 | 40/성별/ SD 랫드 시험군 | 52주, 위관영양 | 40 | 2: 50,250 mg/kg/day | 종양 없음 | NC |
| 참고 22 | 40/성별/ SD 랫드 시험군 | SC 1회 후 2개월 간격으로 i.p. 4회 | 40 | 1: 50mg (s.c.), 50mg (i.p.) | 종양 없음 ^e | NC |

NC - 계산되지 않음, s.c. - 피하주사, i.p. - 복강 주사, SD - 스프라그 돌리(Sprague Dawley) 종

^a TD₅₀ 값은 CPDB에서 차용(참고 15)

^b CPDB 당 통계적으로 유의미한 용량-경향이 있음에도 불구하고 연구자는 마우스에서 확실한 발암성 증거가 없었다고 결론 내림

^c 발암성 시험은 AI 산출을 위해 선정했고 mg/kg/day 용량 전환은 CPDB에서 차용

^d 연구자 견해 : 스타이렌이 전체적으로 (양성 및 악성) 그리고 악성 유방 종양의 증가를 유발하는 것으로 밝혀졌다. Cruzan et al.(참고 21)은 자료에서 명백한 용량-반응이 없었다고 명시했다. 계

다가 NIH ROC(참고 1)에서는 이 시험 결과를 신뢰할만한 발암성 증거로 간주하지 않았으며 IARC(참고 5)는 짧은 치료 기간과 불완전한 시험 보고를 지적했다.

° 급성 노출 및 비표준 시험 설계에 국한된 시험

발암성 작용기전

스타이렌 발암성의 원인이 되는 메커니즘을 포괄적으로 검토한 내용이 IARC 모노그래프에 나와 있다(참고 5). 활용가능한 *in vitro* 및 *in vivo* 유전독성 자료를 고려하여 IARC가 내린 결론은 스타이렌에 유전독성이 있고 해당 메커니즘이 인체와 유관하다는 확고한 증거가 있다는 것이다. 스타이렌은 동물과 인체에서 단백질 및 DNA와 같은 친핵성 거대분자와 상호작용하는 친전자, 스타이렌-7,8-옥사이드에 대하여 대사적으로 활성화된다. DNA 부가물은 N⁷-구아닌의 알킬화에 의해 주로 형성된다. 스타이렌-7,8-옥사이드 DNA 부가물은 스타이렌에 노출된 설치류와 인체의 *in vitro*에서 관찰되었다. 또한 IARC는 스타이렌과 스타이렌-7,8-옥사이드 모두 세포증식을 변화시키고 스타이렌이 직업적으로 스타이렌에 노출된 인체에서 증가한 혈청 프로락틴을 기반으로 수용체 중재 효과를 조절한다는 확고한 증거가 있다고 지적했다.

관찰된 마우스 종양의 유전독성 가능성 및 인체 관련성에 의문이 제기되었다(참고 28, 29, 30, 31). 스타이렌의 발암성 활성화에 영향을 미치는 다른 가능한 메커니즘으로는 산화 스트레스, 면역억제, 만성 염증이 있다. Cruzan et al.(참고 28)이 마우스 폐종양의 주원인으로 제시한 메커니즘에는 스타이렌 대사체가 있다. 이 대사체는 마우스 폐 세포에서 지질, 지단백질, 세포 주기, 유사분열 M-M/G1 단계, 경미한 세포독성, 강한 유사분열 등의 대사에 대한 유전자 발현을 유발하여 과도한 세포증식과 과다형성으로 이어진다. 반면에 연구자들은 (CYP2F2에 의한) 제한된 폐 대사로 인해 이것이 인체에 관련성이 없을 것이라고 가정한다. IARC는 이러한 작용 메커니즘을 보여주는 증거가 보통 수준에서 약한 정도라고 결론 내렸다. 스타이렌 투여와 관련 있는 종양의 유전독성 가능성 및 인체 관련성에 관한 전반적인 결정을 내리기 위해 다양한 관점을 평가했다. 궁극적으로 스타이렌의 AI 도출을 뒷받침하는 데 IARC의 결론을 활용했다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

WHO는 식수 가이드라인 수치를 20 $\mu\text{g/L}$ 로 정의하였고(즉 1일 2L 섭취 기준 40 $\mu\text{g/day}$) 스타이렌의 1일 총섭취량을 경구 투여로 7.7 $\mu\text{g/kg/day}$ (즉, 체중 50 kg 기준 0.385 mg/day)로 정의했다(참고 32). WHO가 정한 이 한도는 2년 동안 진행한 랫드 식수 시험 결과 나타난 체중 증가 감소를 근거로 했다. 미국 EPA의 스타이렌 경구 참고용량(RfD)(참고 33)은 비종양 평가변수 기반으로 200 $\mu\text{g/kg/day}$ 이다(즉, 체중 50 kg 기준 10 mg/day). 관련된 미국 EPA 식수 한도는 100 $\mu\text{g/L}$ 이다(즉, 1일 2L 섭취 기준 200 $\mu\text{g/day}$). JECFA는 식품 포장재에서

유래하는 스타이렌의 최대 TDI(참고 34)를 0.04 mg/kg/day로 정하고 있다(즉, 체중 50 kg 기준 최대 2 mg/day). EU는 식품에 유입되는 폴리스타이렌 포장재의 스타이렌이 식품으로의 최대이행량(Special Migration Limit)이 60 ppm일 때 허용 가능하다고 본다(즉, 성인이 1일 1 kg의 식품을 섭취한다고 가정하면 1일 60 mg에 해당)(참고 4).

섭취허용량 (AI)

AI 산출을 위한 시험 선정 근거

스타이렌은 랫드에 발암성이 없는 것으로 간주하므로 AI를 산출하기 위해 마우스의 폐종양 자료를 사용했다. 가장 민감한 TD₅₀은 Cruzan et al.의 흡입 시험에 있었다(참고 17). 위관영양으로 마우스에 투여한 발암성 시험에서도 폐종양이 증가했기 때문에 이 흡입 시험에서 산출한 AI는 모든 투여 경로에 적합한 것으로 간주하였다(참고 16). 마우스에는 종양형성에 핵심인 CYP2F 효소가 인체에 비해 더 높은 수준으로 있기 때문에 해당 AI는 보수적인 수치라고 볼 수 있다(참고 28).

AI 산출

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 154 \text{ mg/kg/day}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 154 \text{ } \mu\text{g/day}$$

참고

1. National Institutes of Health. Report on Carcinogens (NIH ROC). 14th edition. 2016; Available from: URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/styrene.pdf>
2. Capella KM, Roland K, et al. Ethylbenzene and styrene exposure in the United States based on urinary mandelic acid and phenylglyoxylic acid: NHANES 2005–2006 and 2011–2012. Environ Res 2019;171:101–110.
3. World Health Organization (WHO). Chapter 5.12 Styrene. Air Quality Guidelines – 2nd Edition. 2000; Available from: URL: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0018/123066/AQG2ndEd_5_12Styrene.pdf
4. Gelbke HP, Banton M, et al. Derivation of safe health-based exposure limits for potential consumer exposure to styrene migrating into food from food containers.

Food Chem Toxicol 2014;64:258–69.

5. IARC (International Agency on Research of Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Styrene, styrene-4,8-oxide and quinoline. Volume 121. Lyon, 2019.
6. NRC. Review of the Styrene Assessment in the National Toxicology Program 12th Report on Carcinogens. Washington, DC: The National Academies Press. 2014; Available from: URL: <https://doi.org/10.17226/18725>
7. Moore MM, Pottenger LH, House-Knight T. Critical review of styrene genotoxicity focused on the mutagenicity/clastogenicity literature and using current organization of economic cooperation and development guidance. Environ Mol Mutagen 2019;60:624–663.
8. Compton-Quintana PJ, Jensen RH, Bigbee WL, Grant SG, Langlois RG, Smith MT, Rappaport SM. Use of the glycophorin A human mutation assay to study workers exposed to styrene. Environ Health Perspect 1993;99:297–301.
9. Vodicka P, Soucek P, Tates AD, Dusinska M, Sarmanova J, Zamecnikova M, Vodickova L, Koskinen M, de Zwart FA, Natarajan AT, Hemminki K. Association between genetic polymorphisms and biomarkers in styrene-exposed workers. Mutat Res 2001;482:89–103.
10. Loprieno N, Abbondandolo A, Barale R, Baroncelli S, Bonatti S, Bronzetti G, Cammellini A, Corsi C, Corti G, Frezza D, Leporini C, Mazzaccaro A, Nieri R, Rosellini D, Rossi AM. Mutagenicity of industrial compounds: styrene and its possible metabolite styrene oxide. Mutat Res 1976;40:317–24.
11. Beije B, Jenssen D. Investigation of styrene in the liver perfusion/cell culture system. No indication of styrene-7,8-oxide as the principal mutagenic metabolite produced by the intact rat liver. Chem Biol Interact 1982;39:57–76.
12. NTP (National Toxicology Program). 12th Report on Carcinogens. Rep Carcinog 2011; 12: iii-499.
13. NTP (National Toxicology Program). Report on Carcinogens, Fourteenth Edition.; Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2016; Available from: URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/go/roc14>
14. Collins JJ, Delzell E. A systematic review of epidemiologic studies of styrene and cancer. Critical Reviews in Toxicology 2018;48:443–470.
15. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). National Institutes of Health. Carcinogenic Potency Database. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
16. National Cancer Institute (NCI). Technical Report Series No. 185. Bioassay of styrene

for possible carcinogenicity. NCI-CG-TR-185. 1979; Available from: URL:
http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr185.pdf

17. Cruzan G, Cushman JR, et al. Chronic Toxicity/Oncogenicity Study of Styrene in CD-1 Mice by Inhalation Exposure for 104 Weeks. *J Appl Toxicol* 2001;21:185-98.
18. Ponomarev V, Tomatis L. Effects of long-term oral administration of styrene to mice and rats. *Scand J Work Environ Health* 1978;4:127-35.
19. Cruzan G, Bus JS, Banton MI, Sarang SS, Waites R, Layko DB, et al. Complete attenuation of mouse lung cell proliferation and tumorigenicity in CYP2F2 knockout and CYP2F1 humanized mice exposed to inhaled styrene for up to 2 years supports a lack of human relevance. *Toxicol Sci* 2017;159:413-21.
19. Brunnemann KD, Rivenson A, Cheng SC, Saa V, Hoffmann D. A study of tobacco carcinogenesis. XLVII. Bioassays of vinylpyridines for genotoxicity and for tumorigenicity in A/J mice. *Cancer Lett* 1992;65:107-13.
20. Cruzan G, Cushman JR, et al. Chronic Toxicity/Oncogenicity Study of Styrene in CD rats by Inhalation Exposure for 104 Weeks. *Toxicol Sci* 1998;46:266-81.
21. Conti B, Maltoni C, et al. Long-term carcinogenicity bioassays on styrene administered by inhalation, ingestion and injection and styrene oxide administered by ingestion in Sprague-Dawley rats, and para-methylstyrene administered by ingestion in Sprague-Dawley rats and Swiss mice. *Ann N Y Acad Sci* 1988;534:203-34.
22. Beliles RP, Butala JH, Stack CR, Makris S. Chronic toxicity and three-generation reproduction study of styrene monomer in the drinking water of rats. *Fundam Appl Toxicol* 1985;5:855-68.
23. Lijinsky W. Rat and mouse forestomach tumors induced by chronic oral administration of styrene oxide. *J Natl Cancer Inst* 1986;77:471-6.
24. Weil CS, Condra N, Haun C, Striegel JA. Experimental carcinogenicity and acute toxicity of representative epoxides. *Am Ind Hyg Assoc J* 1963;24:305-25.
25. Van Duuren BL, Nelson N, Orris L, Palmes ED, Schmitt FL. Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. *J Natl Cancer Inst* 1963;31:41-55.
26. Ponomarev V, Cabral JRP, Wahrendorf J, Galendo D. A carcinogenicity study of styrene-7,8-oxide in rats. *Cancer Lett* 1984;24:95-101.
27. Cruzan G, Bus JS, et al. Based on an analysis of mode of action, styrene-induced mouse lung tumors are not a human cancer concern. *Reg Tox Pharm* 2018;95:17-28.
28. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (CEP) Assessment of the Impact of the IARC

- Monograph Vol. 121 on the Safety of the Substance Styrene (FCM No 193) for its Use in Plastic Food Contact Materials. EFSA Journal 2020;18(10):6247.
29. European Chemicals Authority (ECHA). CLH report for styrene, Proposal for Harmonised Classification and Labelling, Based on Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP Regulation), Annex VI, Part 2, Substance Name: Styrene, September 2011. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/documents/10162/fd574447-2888-e637-ae30-77df1b043a2f>
 30. European Chemicals Authority (ECHA). Registry of CLH intentions until outcome, Styrene. 2021. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/de/registry-of-clh-intentions-until-outcome/-/dislist/details/0b0236e180a0fa4f>
 31. World Health Organization (WHO). Styrene in Drinking Water; Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WHS/03.04/27. 2003; Available from: URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/styrene.pdf
 32. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Styrene (CASRN 100-42-5). 1990; Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0104_summary.pdf
 33. Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA). Styrene. WHO Food Additives Series 19. 1984; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v19je15.htm>

아세트산비닐(CAS# 108-05-4)

인체 노출 가능성

아세트산비닐의 인체 노출은 주로 직업적 환경에서 발생하며 일반 대중에 대한 노출은 거의 없다(참고 1). 아세트산비닐은 의약품 합성에 사용된다.

변이원성/유전독성

아세트산비닐의 변이원성과 유전독성은 Albertini가 검토했다(참고 2). 아세트산비닐은 다수의 살모넬라균(*Salmonella*) 또는 대장균(*Escherichia coli*)의 Ames 시험에서 변이원성을 보이지 않았고 포유동물 세포(tk 부위 인체 TK6 세포)에서 아세트산비닐의 변이원성은 주로 염색체 수준 또는 대규모 변이를 반영하는 것으로 보이지만, 더 작은 유전자 변이를 반영하는 것으로 보이는 ‘정상 성장’ 유전자 변이도 보고되었다. 아세트산비닐은 *in vitro* 시험에서 소핵 및 염색체 이상을, *in vivo* 시험에서 염색체 이상을 유발하기도 했으며 다섯 건의 *in vivo* 소핵 시험 중 한 건에서 양성반응이 있었다. 복강 내 투여 후 마우스 골수에서 소핵이 약간 증가했지만 유전독성은 독성 및 사망률 증가와 관련이 있었다(참고 3). 아세트산비닐 유전독성은 그 대사체인 아세트알데히드가 매개한다는 다양한 증거가 있다. 아세트알데하이드는 내인적으로 생성되며 알데히드 탈수소효소로 해독하기 위해서 세포 내 항상성을 유지할 필요가 있다(참고 2). 포유동물 세포에서 보이는 반응과 아세트알데하이드로 신속하게 전환된다는 점을 감안할 때, 아세트산비닐은 변이원성으로 간주한다. 더 자세한 정보는 작용기전을 참조한다.

발암성

아세트산비닐은 인체에 발암 가능성이 있는 Group 2B로 분류된다(참고 4). CPDB에 인용된 경구 발암성 보고가 두 건 있다(참고 5).

마우스 시험 한 건과 랫드 시험 한 건에서 아세트산비닐을 식수로 투여했다. 투여군이 2개뿐이고 그룹 당 개체 수가 50마리 미만이므로 두 시험은 제한적이다. 자궁, 식도, 전위부 종양이 스위스(Swiss) 마우스에서 관찰되었고 간, 목밀샘, 자궁 종양이 피셔(Fisher) 344 랫드에서 관찰되었다. Maltoni et al.(참고 6)과 Lijinsky et al.(참고 7)이 실시한 경구 발암성 시험에서 수많은 비접촉 부위 종양(예: 짐발선(Zymbal gland), 폐, 간, 자궁, 유선)이 관찰되었다. Maltoni et al.(참고 6)의 시험에서 이러한 종양은 모두 높은 배경 발생률로 나타났다. 따라서 연령 조정 없이 이러한 종양 자료는 확실하게 평가할 수 없다. 구강, 혀, 식도, 전위부의 편평상피 세포 암종에 대한 모든 투여는 5000 ppm에서 연관성이 있었다. 1000 ppm을 투여한 마우스에서는 종양이 없었다(참고 8). 가장 오래전에 발표된 경구 발암성 시험인 Lijinsky et al.의 시험(참고 7)은 시험 설계에 많은 결함이 있다. 가장

눈에 띄는 결합은 식수 용액을 주 1회만 준비한 것이다. 연구자들은 분해율이 약 8.5%/day인 것을 알아냈다. 그러므로 예를 들어, 2500 ppm 시험군의 동물들은 한 주가 끝날 무렵 약 1300 ppm의 아세트산비닐과 상당한 양의 분해 생성물(아세트알데히드 및 아세트산 등)에 노출되었다. 연구자들은 또한 식수 용액을 준비하기 전에 아세트산비닐을 정화하지 않았다. 따라서 랫드가 불특정 불순물에 노출되기도 했다. 게다가 각 시험군에는 20마리의 랫드만 있었기 때문에 진양성 반응을 탐지하고 위양성 및 위음성 결과를 구별할 수 있는 통계 검정력이 떨어진다(참고 8).

CPDB 이외에도 이용할 수 있는 다른 발암성 연구 문헌이 있다. 3개 투여군 및 그룹당 50마리를 포함하여 OECD 가이드라인 453에 따라 일본바이오진단센터(Japan Bioassay Research Centre)에서 실시한 경구 식수 시험이 있다(참고 9, 10). 아세트산비닐의 식수 투여 후 Crj:BDF1 마우스에서 구강, 식도, 전위부 종양 증가, 모든 용량군 F344:DuCrj 랫드 암컷에서 통계적으로 유의미한 구강 종양 증가가 보고되었다. 또 다른 평생 기간 시험에서 Minardi et al.(참고 11)은 식수로 아세트산비닐을 투여한 생후 17주 및 12일 SD 랫드의 구강과 입술에서도 종양이 증가했다고 보고했다. 2개 투여군에는 생후 12일인 랫드(자손, offspring)가 그룹당 50마리 이상, 생후 17주 랫드(생산자, breeders)가 그룹당 50마리 미만이 있었다. 12일 된 랫드가 구강 및 입술 종양에 더 민감했고 17주 된 랫드에서는 종양 증가 반응이 분명하지 않았다.

마지막으로 Bogdanffy et al.(참고 12)은 교배한 수컷과 암컷 랫드에 아세트산비닐을 10주 동안 식수로 투여했다. 이후에 그 자손은 주 연구용으로 60마리, 위성 그룹으로 30마리 두 개 그룹으로 구분하여 104주 동안 식수 노출을 했다. 연구자들은 화합물과 관련된 비종양 또는 종양 병변이 자손에서 관찰되지 않았다고 결론 내렸다. 2개의 편평상피 암종이 투여군 수컷의 구강에서 관찰되었지만 이 종양의 발생률은 과거 대조군 범위 내에 있었다. 그러므로 이 종양들은 아세트산비닐 투여와 관련이 없다고 간주한다.

CPDB에 인용된 두 건의 흡입 발암성 보고가 있다(참고 5). 아세트산비닐은 CD-1 마우스에 발암성이 없으나 SD 랫드에서 비강 종양을 유발한다(참고 13). 랫드에서 600 ppm 고용량일 때 최종부검에서 11마리 중 한 마리를 제외한 10마리에서 (양성 내향성 및 외향성 유두종과 편평상피 세포 암종) 비강 종양이 관찰되었고 이는 종양 형성이 생애 후반에 발생한다는 것을 보여준다. 노출과의 관계가 불분명한 양성 종양 1개가 200 ppm 농도에서 관찰되었다(참고 13). 아세트산비닐은 두 종과 양쪽 성별에서 모두 200 ppm 및 600 ppm 시험군에서 비강 내 형태학적 비종양 병변을 유발했고, 600 ppm 시험군에서 기도(마우스만) 및 폐에서 형태학적 비종양 병변을 유발했다.

아세트산비닐 - 발암성 시험 세부사항

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|------|---|-----------|---------------|---|--------------------------|---------------------------------|
| 참고 6 | 37 F 와 13M/ 스위스 마우스 시험군 | 2년, 식수 | 37 F, 14 M | 2: 1000ppm (103mg/kg/day F 와 96.3 mg/kg/day M), 5000ppm (578mg/kg/day F 와 546 mg/kg/day M) | 자궁, 암컷 | 3920 ^b |
| 참고 7 | 20/성별/ F344 랫드 시험군 | 2년, 식수 | 20 | 2: 1000mg/L (0.1mg/kg/day F 와 0.062 mg/kg/day M), 2500mg/L (0.04 mg/kg/day F 와 0.025 mg/kg/day M) | 간, 수컷 | 132 ^b |
| 참고 9 | 50/성별/ Crj:BDF ₁ 마우스 시험군 | 2년, 식수 | 50 | 3: 400ppm (63mg/kg F 와 42mg/kg/day M), 2000ppm (301mg/kg/day F 와 202 mg/kg/day M), 10000ppm (1418mg/kg/day F 와 989 mg/kg/day M) | 구강, 수컷 | 1854 ^c |
| 참고 9 | 50/성별/ F344/DuCrj 랫드 시험군 | 2년, 식수 | 50 | 3: 400 ppm (31mg/kg/day F 와 21 mg/kg/day M), | 구강, 수컷 | 3057 ^c |

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 종양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|---|-----------|--|--|--------------------------|---------------------------------|
| | | | | 2000ppm (146mg/kg/day F 와 98 mg/kg/day M), 10000ppm (575mg/kg/day F 와 442 mg/kg/day M) | | |
| 참고 11 | 37F, 14M/ 생산자(17주); 53 또는 83M, 57 또는 87F Sprague -Dawley 랫드 자손 (12일) 시험군 | 2년, 식수 | 생산자 14M 와 37F; 자손 107M 와 99 F | 2: 1000ppm (70.6 mg/kg/day), 5000ppm (353 mg/kg/day) ^a | 구강, 입술, 수컷 | 983 ^c |
| 참고 12 | 60/성별/ CrI:CD(SD)BR 랫드 시험군 | 2년, 식수 | 60 | 3: 200ppm (16mg/kg/day F 와 10 mg/kg/day M), 1000ppm (76mg/kg/day F 와 47 mg/kg/day M), 5000ppm (302mg/kg/day F 와 202 mg/kg/day M) | 종양 없음 | NC |
| 참고 13 | 60/성별/ Charles River CD1 마우스 시험군 | 2년, 흡입 | 60 | 3: 50ppm (55.3 mg/kg/day F 와 46.1 | 종양 없음 | NC |

| 시험 | 동물/ 용량군 | 기간/ 노출 | 대조군 | 용량 | 가장 민감한 중양 부위/유형/성별 | TD ₅₀ (mg/kg/day) |
|-------|--|-----------|-----|--|--------------------------|---------------------------------|
| | | | | mg/kg/day M), 200ppm (221mg/kg/day F 와 184 mg/kg/day M), 600ppm (664mg/kg/day F 와 554 mg/kg/day M) | | |
| 참고 13 | 60/성별/ Charles River CD (Sprague- Dawley) 랫드 시험군 | 2년, 흡입 | 20 | 3: 50ppm (13.3 mg/kg/day F 와 9.32 mg/kg/day M), 200ppm (52.7 mg/kg/day F 와 36.9 mg/kg/day M), 600ppm (158mg/kg/day F 와 111 mg/kg/day M) | 비강, 수컷 | 758 ^b |

NC - 계산되지 않음

^a ICH Q3C 추정치 기반으로 계산

^b CPDB에서 발췌(참고 14). AI 산출을 위해 선택된 발암성 시험

^c CPDB에 보고되지 않은 시험이므로 발암성 자료를 기반으로 산출한 TD₅₀

발암성 작용기전

2008년 위해평가보고서를 발간한 유럽의 보건·환경위험과학위원회(SCHER)가 아세트산비닐을 검토했다(참고 1). 전체적으로 SCHER은 아세트산비닐의 발암 가능성에 관하여 아세트알데히드에 조직 노출이 높고 세포증식이 동시에 증가할 때만 발현된다는 결론을 지지한다. 이 작용기전에 따르면 아세트알데히드의 세포 간 농도를 증가시키지 않는 노출 수준은 유해한 세포 반응을 유발하지 않는다는 것을 알 수 있다. 생리적 완충 시스템이 작동하는 한, NOAEL에서 호흡기 설치류 조직의 조직학적 변화에 대한 아세트산비닐의 국소

발암 효과가 예상되지 않아야 한다. 그러나 SCHER은 NOAEL 이하의 국소 수치가 무시할 정도로 낮긴 하지만 발암성 위험에서 자유롭지는 않다고 지적했다. Hengstler et al.(참고 8)은 아세트산비닐가 역치 용량-반응이 있는 DNA 반응성 발암물질인 경우를 제시했고 이는 Albertini(참고 2)도 기술한 바 있다. 아세트알데히드와 마찬가지로 아세트산비닐은 표준 박테리아 복귀 돌연변이 시험에서 비변이원성이다. 아세트산비닐의 DNA 반응성 및 접촉부위 발암성에 대한 증거는 그것이 아세트알데히드로 대사 전환되기 때문에 발생한다는 것이다.

아세트알데히드와 아세트산비닐의 유전독성 프로파일은 거의 동일하고 아세트산비닐은 카르복실에스테라제를 첨가하지 않으면 염색체 이상 유발물질로 활성화되지 않는다(참고 8). 그러므로 아세트산비닐의 염색체 이상 유발은 아세트알데히드의 대사체 형성이 원인이다. 고농도에서 효소 활동은 생성된 모든 아세트알데히드를 산화시킬 수 없고 낮은 pH 미세환경으로 귀결된다(참고 12). 조직은 지속적으로 내인성 아세트산에 노출된 뒤 이상 반응(즉, 세포독성 및 유전독성) 없이 아세트산비닐 투여 후 pH 0.15 유닛 감소를 유지할 수 있다(참고 15). 그러나 이러한 실질적 역치를 초과하면 DNA 손상, 세포독성, 재생성 세포증식이 발생하여 접촉 부위에 종양이 형성된다.

두 동물 종과 각 성별에서 흡입 및 경구 투여를 통한 아세트산비닐의 발암성을 보여주는 명확한 증거가 있다. 경구 및 흡입 투여 후, 아세트산비닐은 카르복실에스테라제 접촉부위에서 아세트산과 아세트알데히드로 빠르게 가수분해된다(참고 3, 16). 아세트산비닐 노출은 노출 경로를 따라 최초 접촉부위에서 종양을 유발한다. 용량-반응은 활성 및 해독을 위한 표적 조직 특이적 효소 활성을 반영하는 관찰된 종양 반응이 있는 비선형으로 간주한다(참고 2). 그러나 아세트알데히드 모노그래프에 명시된 바와 같이 입자암(ion cancer) 발생에 자극을 일으키는 영향과 잠재적 변이원성 영향을 구별할 수 있게 하는 공개된 측정방식은 없다.

규제 한계 및/또는 알려진 한계

아세트산비닐의 경우 미국 EPA IRIS 데이터베이스는 호흡량을 28.8 m^3 로 가정하여 0.2 mg/m^3 또는 5.8 mg/day 의 비발암성 영향에 대한 흡입 참고농도(RfC)를 계산했다. RfC는 만성 2년 시험에서 랫드와 마우스의 비후각 상피의 조직병리학적 영향에 대하여 NOAEL과 LOAEL을 확인한 Owen et al.(1988)에서 발췌한 5 mg/m^3 라는 인체 동등 농도를 기반으로 했다. 총 조정 인자 30이 적용되었다(참고 17). 미국 EPA 보고에는 아세트산비닐의 평생 노출 발암성 평가가 포함되지 않았다. 보고서는 발암성 물질의 비발암성 영향을 산출하고 발암 가능성 관련 기타 정보 출처를 참고하기 위해 RfC를 인용할 수 있다고 명시했다.

경구 노출 1일 허용량(PDE)

PDE 산출을 위한 시험 선정 근거

경구 투여 후 아세트산비닐은 카르복실에스테라제에 의해 접촉부위에서 아세트산과 아세트알데히드로 빠르게 가수분해된다. 경구 투여 후 아세트산비닐과 아세트알데히드의 발암성 비선형 용량-반응 증거력(weight of evidence)을 감안하고 매우 다양한 식품에서 아세트알데히드에 대한 높은 노출의 배경 고려해 볼 때, 경구 PDE 권고량은 2 mg/day 아세트알데히드를 기반으로 산출한다.

$$\text{PDE (경구)} = 2 \text{ mg/day}$$

모든 기타 경로 섭취허용량(AI)

AI 산출을 위한 시험 선정 근거

경구 이외 투여 경로의 경우 랫드에서 흡입 발암성 시험(참고 13)을 AI 산출에 사용했다. 이 시험에는 3개의 치료군이 있었으며 투여군마다 성별 당 동물 60 마리를 시험했다. 해당 시험은 2년 동안 매주 5일에 걸쳐 하루 6시간씩 동물들을 아세트산비닐에 노출시켰다. 랫드의 비강에서 발암성이 관찰되었고 수컷이 더 민감한 것으로 나타났다. 수컷 랫드의 비강 TD₅₀은 CPDB에 보고된 바와 같이 758 mg/kg/day이다. 활용 가능한 유일한 또다른 발암성 시험은 마우스에 흡입 경로로 아세트산비닐을 투여한 것이며 결과는 음성이다(참고 13). 그러므로 랫드 흡입 시험을 AI 산출에 사용했다.

명시한 바와 같이 발암성에 대한 용량-반응 관계는 비선형적인 것으로 간주하지만 실제 역치와 비선형 변곡점을 구분하는 측정방식은 발표된 적이 없다. 따라서 선형 외삽을 활용하여 AI를 산출했다.

AI 산출

$$\text{평생 AI} = \text{TD}_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI} = 758 \text{ mg/kg/day} \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{평생 AI (모든 기타 경로)} = 758 \text{ } \mu\text{g/day}$$

참고

1. Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER). Risk Assessment Report on Vinyl acetate. 2008. Available from: URL:
https://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_108.pdf
2. Albertini RJ. Vinyl Acetate Monomer (VAM) Genotoxicity Profile: Relevance for Carcinogenicity. *Crit Rev Toxicol* 2013;43:671-706.
3. European Chemicals Agency (ECHA). Summary Risk Assessment Report. Vinyl Acetate CASRN 108-05-4. 2008. Available from: URL:
<https://echa.europa.eu/documents/10162/a3c24f78-4c8d-44e9-a424-24ac30c9c8aa>
4. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation 403 of carcinogenic risks to humans. Vinyl Acetate. 1995;63:443. Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol63/vinyl-acetate.html>
5. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL:
<https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
6. Maltoni C, Ciliberti A, Lefemine G, Soffritti M. Results of a long-term experimental study on the carcinogenicity of vinyl acetate monomer in mice. *Ann N Y Acad Sci* 1997;837:209-38.
7. Lijinsky W, Reuber MD. Chronic toxicity studies of vinyl acetate in Fischer rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983;68:43-53.
8. Hengstler JG, Bogdanffy MS, et al. Challenging Dogma: Thresholds for genotoxic carcinogens? The case of vinyl acetate. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:485-520.
9. Umeda Y, Matsumoto M, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity in mice and rats administered vinyl acetate monomer in drinking water. *J Occup Health* 2004;46:87-99.
10. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD 453 Guideline for the Testing of Chemicals: Combined Chronic Toxicity\Carcinogenicity Studies. 2009.
11. Minardi F, Belpoggi B, et al. Results of long-term carcinogenicity bioassay on vinyl acetate monomer in Sprague- Dawley rats. *Ann N Y Acad Sci* 2002;982:106-22.
12. Bogdanffy MS, Tyler TR, et al. Chronic toxicity and oncogenicity study with vinyl acetate in the rat: in utero exposure in drinking water. *Fundam Appl Toxicol* 1994;23:206-14.
13. Bogdanffy MS, Dreef-van der Meulen HC, Beems RB, Feron VJ, Cascieri TC, Tyler TR, Vinegar MB, Rickard RW. Chronic toxicity and oncogenicity inhalation study with vinyl acetate in the rat and mouse. *Fundam Appl Toxicol*. 1994;23:215-29.
14. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL:

<https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

15. Nedergaard M, Goldman SA, et al. Acid-induced death in neurons and glia. *J Neurosci* 1991;11:2489-97.
16. Robinson DA, Bogdanffy MS, et al. Histochemical localisation of carboxylesterase activity in rat and mouse oral cavity mucosa. *Toxicology* 2002;180:209-20.
17. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Vinyl acetate (CASRN 108-05-4). 1990. Available from: URL: http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0512_summary.pdf

노트 1

1-클로로-4-니트로벤젠의 산출된 TD₅₀은 CPDB에 없으므로 아래 제시되어 있다. 1-클로로-4-니트로벤젠에 대한 계산은 가장 민감한 종양 유형인 암컷 랫드 크롬친화세포종(참고 1)을 기반으로 이루어졌다. 용량과 발생률은 아래 제시되어 있다.

| ppm | 용량(mg/kg/day) | 양성 동물 수 | 전체 동물 수 |
|------|---------------|---------|---------|
| 0 | 0 | 3 | 50 |
| 50 | 1.9 | 6 | 50 |
| 225 | 9.8 | 4 | 50 |
| 1000 | 53.8 | 16 | 50 |

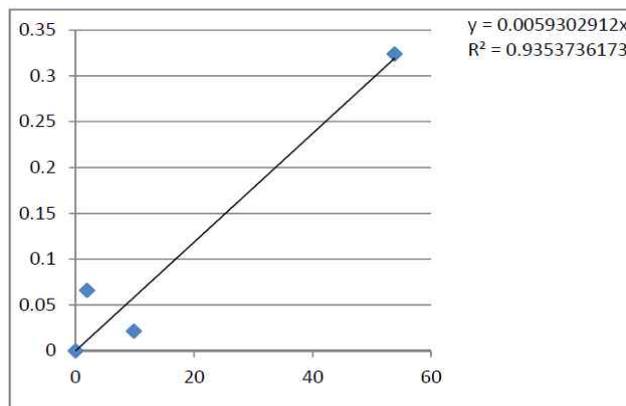
TD₅₀은 다음 식에 따라 기본에 대한 종양 발생률 비가공 요약 데이터를 통해 산출하였다 (참고 2, 3):

$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

P는 특정 용량에서(식의 D) 관찰된 특정 종양 유형이 있는 동물 비율, P₀은 대조군에 대한 관찰된 종양 유형이 있는 동물 비율이다. β와 D를 단순한 선형 식으로 전환하면 다음과 같다:

$$\ln\left(-\left[\frac{P - P_0}{1 - P_0} - 1\right]\right) = \beta \cdot D$$

기울기 β를 사용하여 구성한 용량-반응 그래프는 다음과 같다. β = 0.0059302912



TD₅₀은 다음과 같이 산출될 수 있다.

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD₅₀은 도출은 다음 식과 같다.

$$TD_{50} = \frac{0.693}{\beta}$$

따라서 TD₅₀ = 0.693 / 0.0059302912 또는 116.9 mg/kg/day.

참고

1. Matsumoto M., Aiso S, Senoh H, Yamazaki K, Arito H, Nagano K, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity of para-chloronitrobenzene in rats and mice by two-year feeding. J. Environ Pathol Toxicol Oncol 2006; 25:571-84.
2. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. Regul Toxicol Pharmacol.1995; 22:57-63
3. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from longterm animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984; 40: 27-40.

노트 2

양성 용량 반응이 통계적으로 유의미하지 않아서 CPDB에서 산출한 TD₅₀이 아닌 동일한 시험 자료를 사용하기로 했기 때문에 브롬화에틸의 TD₅₀ 산출 값은 아래 설명과 같다(브롬화에틸 모노그래프 참조).

| ppm | 용량(mg/kg/day) ¹ | 양성 동물 수 | 총 동물 수 |
|-----|----------------------------|---------|--------|
| 0 | 0 | 8 | 40 |
| 100 | 22.9 | 23 | 45 |
| 200 | 45.8 | 18 | 46 |
| 400 | 91.7 | 21 | 46 |

용량마다 다음 등식으로 TD₅₀을 산출했다(참고 1, 2).

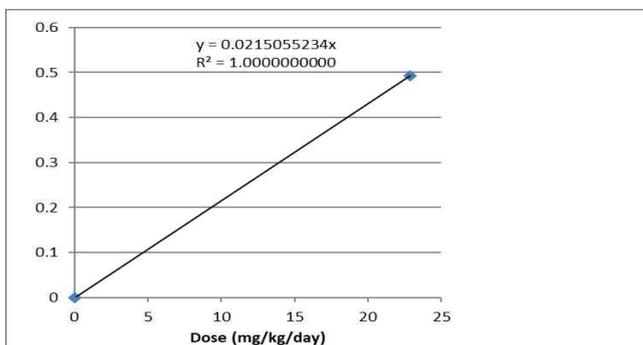
$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

여기서 P는 특정 용량(등식의 D에 해당)에서 관찰된 특정 종양 유형이 있는 동물의 비율이고 P₀는 대조군의 특정 종양 유형이 발생한 동물의 비율이다. β와 D를 단순 선형 등식 결과로 변환하면 다음과 같은 결과가 나온다.

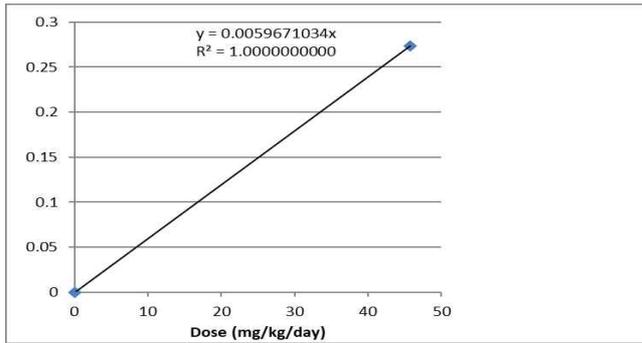
$$-\ln\left(\frac{p - p_0}{1 - p_0} - 1\right) = \beta \cdot D$$

다음의 용량-반응 그래프에 β 결과를 보여주기 위해 산출값을 표시하고 기울기를 사용한다. 저용량의 경우 β=0.0215055234, 중간 용량일 때 β는 0.0059671034, 고용량일 때 β는 0.0042161616이다.

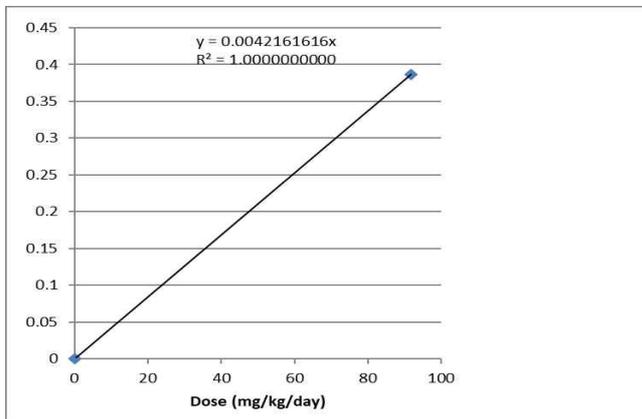
저용량



중간 용량



고용량



TD₅₀은 다음과 같이 계산할 수 있다.

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD₅₀ 산출 결과는 다음과 같다.

$$TD_{50 \text{ low dose}} = \frac{0.693}{0.0215055234}$$

$$TD_{50 \text{ mid dose}} = \frac{0.693}{0.0059671034}$$

$$TD_{50 \text{ high dose}} = \frac{0.693}{0.0042161616}$$

따라서 최저 TD₅₀ = 0.693 / 0.0215055234 또는 32.2 mg/kg/day.

참고

1. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. Regul Toxicol Pharmacol 1995;22:57-63.
2. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from long- term animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984;40:27-40.

노트 3

포름알데히드의 한계는 215 ppb 또는 8 mg/day 중 더 낮은 값이다. 기술한 바와 같이 이 한계는 오해를 불러올 수 있다. 즉, 215 ppb라는 한도는 (노출 한도의 근거인) 공기 중 포름알데히드의 농도 또는 원료의약품 관련 포름알데히드의 농도로 해석될 수 있다. 다음 예를 보면 API 또는 DP 한계가 어떻게 산출되는지 명확히 알 수 있다.

예: API에서 불순물로서 포름알데히드가 있는 알부테롤 황산염 흡입기

- 알부테롤의 각 흡입기는 90 μg 의 API를 전달한다.
- API 및 모든 불순물은 각 흡입기로 흡입되는 공기에 희석될 것이다. 일회 호흡량은 성인 남성의 경우 500 mL, 성인 여성의 경우 400 mL이다('Physiology, Tidal Volume' , <StatPearls>, NCBI Bookshelf (nih.gov)). 공기 중으로 포름알데히드를 보다 보수적으로 희석하는 경우는 일회 호흡량이 더 적은 성인 여성에 해당한다.
- 공기 중 포름알데히드의 농도 한계(215 ppb)를 여성의 일회 호흡량을 기준으로 포름알데히드의 절대량으로 변환: $215\text{ppb 포름알데히드} = 0.215 \times 30 \text{ g/mol(포름알데히드의 MW)}/24.45 = 0.263 \text{ mg/m}^3$. $0.263 \text{ mg/m}^3 \times 1 \text{ m}^3/1000 \text{ L} \times 0.4 \text{ L(일회 호흡량 여성)} = 0.105 \text{ } \mu\text{g 포름알데히드}$.
- 해당 API 한도 계산: $0.105 \text{ } \mu\text{g 포름알데히드} / 90 \text{ } \mu\text{g API} = 0.12\%$

예: 완제의약품 불순물로서 포름알데히드가 있는 알부테롤 황산염 흡입기

- 알부테롤의 각 흡입기는 35 mg의 완제의약품을 전달한다.
- 공기 중 한계 215 ppb와 관련된 포름알데히드의 절대량은 0.105 μg 포름알데히드로 동일하다.
- 해당 완제의약품 한도를 산출한다: $0.105 \text{ } \mu\text{g 포름알데히드}/35 \text{ mg 완제의약품} = 3 \text{ ppm}$.

노트 4

히드라진의 산출된 TD₅₀은 CPDB에 없으므로 아래 제시되어 있다. 히드라진에 대한 계산은 가장 민감한 종양 유형인 암컷 랫드 간세포샘종 및/또는 암종(참고 1)을 기반으로 이루어졌다. 용량과 발생률은 아래 제시되어 있다.

| ppm | 용량(mg/kg/day) | 양성 동물 수 | 전체 동물 수 |
|-----|---------------|---------|---------|
| 0 | 0 | 1 | 50 |
| 20 | 1.28 | 0 | 50 |
| 40 | 2.50 | 3 | 50 |
| 80 | 5.35 | 6 | 50 |

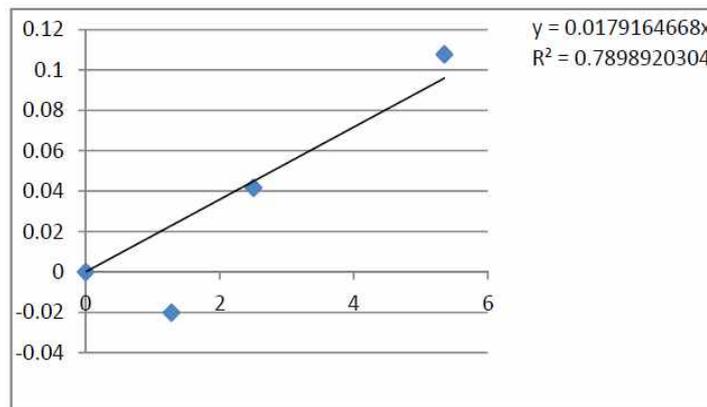
TD₅₀은 다음 식에 따라 기본에 대한 종양 발생률 비가공 요약 데이터를 통해 산출하였다 (참고 2, 3):

$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

P는 특정 용량에서(식의 D) 관찰된 특정 종양 유형이 있는 동물 비율, P₀은 대조군에 대한 관찰된 종양 유형이 있는 동물 비율이다. β와 D를 단순한 선형 식으로 전환하면 다음과 같다:

$$\ln\left(-\left[\frac{P - P_0}{1 - P_0} - 1\right]\right) = \beta \cdot D$$

기울기 β를 사용하여 구성된 용량-반응 그래프는 다음과 같다. β = 0.0179164668



TD₅₀은 다음과 같이 산출될 수 있다.

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD₅₀은 도출은 다음 식과 같다.

$$TD_{50} = \frac{0.693}{\beta}$$

따라서 TD₅₀ = 0.693 / 0.0179164668 또는 38.7 mg/kg/day.

참고

1. Matsumoto M, Kano H, Suzuki M, Katagiri T, Umeda Y, Fukushima S. Carcinogenicity and chronic toxicity of hydrazine monohydrate in rats and mice by two-year drinking water treatment. Regul Toxicol Pharmacol 2016;76:63-73.
2. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. Regul Toxicol Pharmacol.1995; 22:57-63.
3. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from longterm animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984; 40: 27-40.

노트 5

염화메틸의 산출된 TD₅₀은 CPDB에 없으므로 아래 제시되어 있다. 염화메틸 연구(참고 1, 2)가 흡입을 기반으로 하므로 흡입 ppm 농도가 용량으로 전화될 필요가 있다.

| ppm | 용량(mg/kg/day) ¹ | 양성 동물 수 | 전체 동물 수 |
|------|----------------------------|---------|---------|
| 0 | 0 | 0 | 67 |
| 50 | 28 | 0 | 61 |
| 225 | 127 | 2 | 57 |
| 1000 | 566 | 22 | 86 |

1. ppm을 mg/kg/day로 전환 - X ppm x 50.5 g/mol (mol 질량)/24.45 x 0.043 (흡입량) x 6/24 hours x 5/7 days / 0.028 kg (마우스 체중) = 용량 mg/kg/day

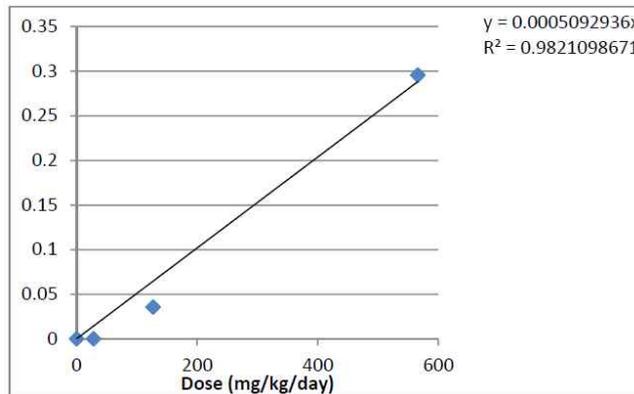
TD₅₀은 다음 식에 따라 기본에 대한 종양 발생률 비가공 요약 데이터에서 산출하였다(참고 3, 4):

$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

P는 특정 용량에서(식의 D) 관찰된 특정 종양 유형이 있는 동물 비율, P₀은 대조군에 대한 관찰된 종양 유형이 있는 동물 비율이다. β와 D를 단순한 선형 식으로 전환하면 다음과 같다:

$$-\ln \left(1 - \frac{p - p_0}{1 - p_0} \right) = \beta \cdot D$$

기울기 β를 사용하여 구성한 용량-반응 그래프는 다음과 같다. β = 0.0005092936



TD₅₀은 다음과 같이 산출될 수 있다.

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD₅₀은 도출은 다음 등식과 같다.

$$TD_{50} = \frac{0.693}{\beta}$$

따라서 TD₅₀ = 0.693 / 0.0005092936 또는 1360.7 mg/kg/day.

참고

1. CIIT. Final report on a chronic inhalation toxicology study in rats and mice exposed to methyl chloride. Report prepared by Battelle Columbus Laboratories for the CIIT. 1981 EPA/OTS Doc #878212061, NTIS/OTS0205952.
2. US EPA. Toxicological review of methyl chloride. (CAS No. 74-87-3). In Support of Summary Information on the IRIS. EPA/635/R01/003. 2001.
3. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. Regul Toxicol Pharmacol.1995; 22:57-63.
4. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from longterm animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984; 40: 27-40.

본 가이드라인은 의약품 불순물의 유전독성 평가에 대한 일반적인 사항을 제시한 것으로 의약품국제조화회의(ICH) 'Assessment and Control of DNA Reactive(Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk(M7)'을 참조하였고, 원 ICH 자료에서 변경된 사항이 있다는 사실 및 수정된 자료/번역본은 ICH 운영위원회가 승인하거나 지원하지 않았기 때문에 해당 자료는 공식적인 ICH 자료로 간주되지 않습니다.

의약품 불순물 유전독성 평가 가이드라인 [민원인 안내서]

| | |
|-------|---|
| 발행일 | 2023년 9월 27일 |
| 발행인 | 박윤주 |
| 편집위원장 | 김영림 |
| 편집위원 | (의약품심사부 첨단약품품질심사과) 박상애, 강나루, 권오석, 이희진, 최란, 김신영, 홍상미, 박한나, 김재은 |
| 발행처 | 식품의약품안전평가원 의약품심사부 첨단약품품질심사과 |
