

国际人用药品注册技术要求协调会

ICH 协调指导原则

评估和控制药物中 DNA 反应性（致突变）杂质以限制潜在致癌风险 M7（R1）

现行第四阶段版本

2017 年 3 月 31 日

本指导原则由相应的 ICH 专家工作组制订，并根据 ICH 进程已提交给管理当局征询意见，在 ICH 进程的第四阶段，最后的草案被推荐给 ICH 监管机构采纳。

M7（R1）

文件历史

编码	历史	日期
M7	在第二阶段中获得执行委员会批准，并且公开征求意见。	2013 年 2 月 6 日
M7	在第四阶段中获得执行委员会批准，并推荐 ICH 三方监管机构采纳。	2014 年 6 月 5 日
M7	勘误，修正印刷错误并将全文档中的“降解物”替换为“降解产物”	2014 年 6 月 23 日
M7（R1）附录	在第二阶段中获得 ICH 大会成员批准，并且公开征求意见	2015 年 6 月 11 日

当前第四阶段版本

M7（R1）附录	在第四阶段中获得 ICH 大会监管成员批准，并推荐给 ICH 监管机构采纳。	2017 年 5 月 31 日
----------	--	-----------------

法律声明：本文件受版权保护，在始终承认 ICH 版权的前提下，基于公共许可可以使用、复制、在其他作品中引用、改编、修改、翻译或传播。如对本文件进行改编、修改或翻

译，必须采取合理措施来清晰地标明、界定或其他方式标记对本文件做了改变。应避免对本文件的改编、修改或翻译由 ICH 认可或发起的任何误导。

本文件根据现有内容提供，不作任何保证。ICH 或本文作者在任何情况下均不对使用本文件产生的索赔、损失或其他责任负责。

上述许可不适用于由第三方提供的内容。因此，对第三方拥有版权的文件需获得版权所有人的复制许可。

ICH 协调指导原则

评估和控制药物中 DNA 反应性（致突变）杂质 以限制潜在致癌风险

M7（R1）

ICH 协调指导原则

已于 2017 年 5 月 31 日在 ICH 会议上进入 ICH 进程第四阶段，并建议 ICH 的监管机构采纳本指导原则。

目 录

1. 引言	7
2. 指导原则的适用范围	7
3. 总则	9
4. 已上市药品的注意事项	11
4.1 原料药 CMC 部分的上市后变更	11
4.2 制剂 CMC 部分的上市后变更	12
4.3 已上市药品的临床用途变更	12
4.4 已上市药品的其他注意事项	13
5. 原料药和制剂杂质评估	13
5.1 合成杂质	14
5.2 降解产物	15

5.3 临床研发的注意事项	16
6. 危害性评估的因素	16
7. 风险表征	18
7.1 基于 TTC 的可接受摄入量	19
7.2 基于特定化合物的风险评估数据制订可接受摄入量	
19	
7.2.1 具有阳性致癌性数据的致突变杂质（表 1 中的 1	
类）	19
7.2.2 有实际阈值证据的致突变杂质	20
7.3 与 LTL 暴露相关的可接受摄入量	20
7.3.1 临床研发阶段	21
7.3.2 已上市药品	22
7.4 多个致突变杂质的可接受摄入量	22
7.5 特例和方法灵活性	23
8. 控制	24
8.1 工艺相关杂质的控制	25
8.2 控制方法的注意事项	27
8.3 定期检测的注意事项	28
8.4 降解产物的控制	29
8.5 生命周期管理	30
8.6 临床研发的注意事项	31
9. 文件	31

9.1 临床试验申请	31
9.2 通用技术文件（上市申请）	32
注释.....	34
术语.....	42
附录.....	45
附录 1: ICH M7 指导原则应用范围	45
附录 2: 举例说明可以采用潜在的控制方法	48
附录 3: ICH M7 附录.....	51

评估和控制药物中 DNA 反应性（致突变）杂质以限制潜在致癌风险

M7（R1）

1. 引言

原料药的合成涉及反应物、试剂、溶剂、催化剂和其它加工助剂的使用。因化学反应和终产物降解，原料药及制剂中会存在杂质。ICH Q3A（R2）《新原料药中的杂质》和 Q3B（R2）《新药制剂中的杂质》（参考文献 1、2）为大多数杂质的定性和控制提供了指导，但其对 DNA 反应性杂质的指导很有限。本指导原则旨在提供一个用于致突变杂质的鉴别、分类、定性和控制的可行性框架方案，用于控制杂质潜在的致癌风险。本指导原则意在补充 ICH Q3A（R2）、Q3B（R2）（注释 1）和 ICH M3（R2）《支持药物进行临床试验和上市的非临床安全性研究指导原则》（参考文献 3）。

本指导原则强调，为把致癌风险控制在可忽略的程度，制订致突变杂质的限度时，兼顾安全性和质量风险管理两方面。本指导原则对原料药或制剂中残留或可能残留的致突变杂质进行评估和控制，且考虑用药人群的具体情况提出了建议。

2. 指导原则的适用范围

本指导原则预期在新原料药和新制剂临床研究和后续上市申报阶段提供指导。它也适用于部分情形的已上市药品

的上市后申请，以及在已上市制剂中使用的原料药用于新制剂时的上市申请，包括：

- 变更了原料药合成工艺，导致产生了新杂质或提高了已有杂质限度；
- 变更了处方、组分或生产工艺，导致产生了新降解产物或提高了已有降解产物限度；
- 变更了适应症或给药方案，显著影响了可接受的致癌风险水平。

本指导原则所述对杂质潜在致突变性的评估不适用于以下类型的原料药和制剂：生物/生物技术制品、肽类、寡核苷酸、放射性药物、发酵产品、草药、动物或植物来源的粗制品。

本指导原则不适用于 ICH S9（参考文献 4）所定义的拟用于晚期癌症适应症的原料药和制剂。另外，某些情况下拟用于其它适应症的原料药本身在治疗浓度下就存在遗传毒性，且预测可能会增加致癌风险。在这些情况下，暴露于致突变杂质不会显著增加原料药的致癌风险。因此，杂质可以按非致突变性杂质进行控制。

本指导原则所述对杂质潜在致突变性的评估不适用于矫味剂、着色剂和香料，以及已上市药物中使用的辅料。本指导原则不适用于药物包材相关的可浸出物，但如有必要，可使用本指导原则中描述的限制潜在致癌风险的安全风险

评估原则。如有必要，药品中首次使用的化学合成辅料中的杂质可使用本指导原则的安全风险评估原则。

3. 总则

本指导原则关注焦点为较低水平即可直接造成 DNA 损伤，进而导致 DNA 突变，因此可能引发癌症的 DNA 反应性物质。这类致突变性致癌物通常由细菌回复突变（致突变性）试验检测确定。其它类型的非致突变性遗传毒性物质通常有阈值机制，以一般杂质水平存在时通常不会对人造成致癌风险。因此，为限制人暴露于潜在致突变杂质相关的患癌风险，使用细菌致突变试验来评估杂质致突变的可能性及控制的必要性。根据已有知识，基于结构的评估有助于预测细菌致突变试验结果。这种评估有多种方法，包括综述已有文献和/或计算机毒理学评估。

本文采用了毒理学关注阈值（TTC）的概念。TTC 定义了未经研究的化学物质在致癌或其他毒性作用风险可忽略时的可接受摄入量。确定 TTC 的方法总体上可认为是非常保守的，它是将 50%肿瘤发生率（ TD_{50} ）的剂量简单线性外推到百万分之一发生率而得，且采用的 TD_{50} 数据取自最敏感物种和对诱导最敏感的肿瘤发生部位产生的数据。在使用 TTC 评估原料药和制剂中致突变杂质的可接受限度时，宜采用 $1.5\mu\text{g}/\text{天}$ 的杂质限度，它对应理论上额外增加 10^{-5} 的患癌风险。已确定有些结构基团具有较高的致癌性，即使摄入量低

于 TTC 水平，理论上仍会具有高致癌风险。这类高效致突变致癌物，被称为“关注队列”，包括黄曲霉毒素类、N-亚硝基化合物，以及烷基-氧化偶氮基化合物。

早期临床研究阶段由于整体研发经验有限，控制策略和控制方法可能不完善。本指导原则基于已建立的风险评估策略制订致突变杂质的可接受摄入量。在早期研发阶段，将可接受风险设定为理论计算患癌风险增加约为百万分之一。在研发后期及上市后，将可接受风险设定为理论计算患癌风险增加约为十万分之一。与人终生罹患各类癌症的概率（大于三分之一）相比，上述风险控制水平相当于仅造成理论上患癌风险的微小增加。需注意的是，现确立的癌症风险评估是基于终生暴露的情形建立的。在研发和上市期间短于终生（LTL）的暴露时杂质可以有更高的可接受限度，并仍保持相同的风险水平。使用量化的患癌风险值（十万分之一），并将其转化为基于风险的剂量（TTC），是一种高度假设性的方法，不应作为实际风险的真实数值。尽管如此，TTC 的概念为致突变性化合物提供了一个安全暴露量的估值。但是，考虑到推导 TTC 值时采用了保守的假设，超出 TTC 值并不一定会增加患癌风险。实际增加的癌症发生率远低于十万分之一。此外，如果致突变化合物在啮齿动物生物测定中显示为非致癌物，则预计致癌风险不会增加。基于上述这些原因，患者已暴露于某杂质，该杂质后来被鉴定为致突变的杂质时，

患者的患癌风险不一定因此增加。应进行风险评估来决定是否需要采取进一步措施。如果确定某杂质具有潜在风险，则需根据对工艺的理解开发适当的控制策略，和/或根据开发分析控制方法，保证致突变杂质水平在可接受限度下，无致癌风险。

某些情况下，某杂质同时也是原料药的代谢产物。此时对代谢产物的致突变风险评估可作为该杂质限度制订的依据。

4. 已上市药品的注意事项

本指导原则初衷不是用于回顾性分析（即本指导原则采纳前已上市的药品）。但是，一些上市后变更需重新评估致突变杂质相关的安全性。本节内容适用于在本指导原则采纳之前或之后药品的上市后变更。第 8.5 节（生命周期管理）包含了本指导原则采纳后的上市药品的其它建议。

4.1 原料药 CMC 部分的上市后变更

原料药涉及 CMC 的上市后变更，对起始物料之后的部分如合成路线、试剂、溶剂或工艺条件的变更可能对致突变杂质的潜在风险产生影响，申报资料中应对这些影响进行评估。特别应评估变更是否会产生任何新的致突变杂质或提高已知致突变杂质的可接受限度。对不受变更影响的杂质建议不再重新评估。例如，如果只变更部分生产工艺，则致突变杂质的风险评估应局限于该变更是否会产生新的致突变杂

质，在受影响的步骤中致突变杂质是否升高，以及来自上游步骤中的已知致突变杂质的水平是否升高。与这些变更相关的申报参照第 9.2 节内容。变更原料药、中间体或起始物料的生产场地，或变更原材料供应商，不需要重新评估致突变杂质风险。

如拟提交一个新的原料药供应商，如有充分证据证明该供应商生产该原料药采用了与审评区域内已上市药品中所用的原料药相同的合成路线，则可以说明关于致突变杂质的风险/获益是可以接受的，不需要根据本指导原则进行评估。如果不是这种情况，则需要根据本指导原则进行评估。

4.2 制剂 CMC 部分的上市后变更

制剂的上市后变更(例如组分、生产工艺、剂型的变更)，应包括对新致突变降解产物或提高已知致突变降解产物的可接受限度相关的潜在风险进行评估。必要时，申报资料应包括更新后的控制策略。如果制剂所用的原料药没有变化，则不建议也不要求对该原料药重新进行评估。制剂生产场地变更不需要重新评估致突变杂质风险。

4.3 已上市药品的临床用途变更

变更已上市药品的临床用途时，需重新评估致突变杂质限度的情形包括临床使用剂量的显著增加、服药时间的增加（特别是先前适应症将致突变杂质限度设定为高于终生使用时的可接受摄入量，但该摄入量可能已不再适合于更长给

药周期的新适应症)，或者适应症由病情较严重或危及生命的疾病改为不太严重的疾病，之前杂质可接受摄入量（第 7.5 节）较高，可能已不再适合新适应症。与新给药途径或扩大患者人群（包括孕妇和/或儿童）相关的已上市药品临床用途的变更，如日剂量或服药时间没有增加，则不需要重新评估致突变杂质风险。

4.4 已上市药品的其他注意事项

如有特殊担忧，本指导原则也可用于已上市的药品。除非杂质有“关注队列”（第 3 节）中的结构，否则仅凭杂质存在警示结构不足以启动后续措施。但是一种需关注的情形是，在已建立了上市所需总体控制策略和质量标准后，获得了新的相关杂质的危害性数据（分为第 1 类和/或 2 类，第 6 节）。这些新的相关杂质的危害性数据应来自符合相关法规、指导原则的高质量的科学研究，且可提供试验数据或报告。同样地，已上市药品中发现新的 1 类或 2 类致突变杂质，也属于一种需要关注的情形。上述两种情形下，一旦申请人知晓这些新的信息，即需要遵循本指导原则进行评估。

5. 原料药和制剂杂质评估

应对新原料药合成和储藏期间以及新制剂生产和储藏期间实际产生的和潜在的杂质进行评估。

杂质评估包含两个阶段：

- 已鉴定的实际存在的杂质应考虑其潜在致突变性。

- 对可能出现在最终原料药的潜在杂质应该进行分析，以确定是否需要进一步评估其潜在致突变性。

合成杂质和降解产物分别按照第 5.1 节和第 5.2 节描述的步骤遵照执行。

5.1 合成杂质

实际杂质包括原料药中观察到的超出 ICH Q3A 报告限度的杂质。如果实际杂质水平超过了 ICH Q3A 中所述的鉴定阈值，则应进行鉴定。应当注意，有些低于鉴定限度的杂质可能也已经进行了鉴定。

原料药中潜在杂质包括从起始原料到原料药的合成路线中的起始物料、试剂和中间体。

应对杂质残留到原料药的风险进行评估，包括起始原料和中间体中已鉴定的杂质，以及合理预测从起始原料到原料药的合成路线中产生的副产物。由于有些杂质被带入原料药的风险可以忽略（例如，很长的合成路线中较早的合成步骤中的杂质），因此，可以在工艺某一个步骤之后进行潜在致突变性杂质的评估，并应提供确定这一步骤的风险依据。

对于在原料药合成路线后期才引入的起始物料（并且其合成路线已知），应评估起始物料合成的最后几步中的潜在致突变杂质。

结构已知的实际杂质和如上所述的潜在杂质应按第 6 节所述评估其潜在致突变性。

5.2 降解产物

原料药中实际的降解产物包括原料药在拟定的长期储藏条件下以及带内包装和外包装储藏期间观察到的超过 ICH Q3A 报告限度的降解产物。制剂中实际的降解产物包括制剂在拟定的长期储藏条件下以及带内包装和外包装储藏期间观察到的高于 ICH Q3B 报告限度的降解产物，还包括制剂生产过程中产生的杂质。如果实际降解产物水平超过 ICH Q3A/Q3B 所述的鉴定限度，则应进行鉴定。应当注意，有些低于鉴定限度的降解产物可能也已经被鉴定。

原料药和制剂中潜在的降解产物是在长期储藏条件下预期可能会生成的杂质。潜在的降解产物包括加速稳定性研究中（例如，40℃/相对湿度 75% 6 个月）和 ICH Q1B（参考文献 5）所述的验证性光稳定性研究期间所生成且高于 ICH Q3A/Q3B 鉴定限度的杂质，但这些杂质在原料药和制剂带内包装长期储藏条件下尚未产生。

降解途径的相关知识，例如化学降解原理、相关强制降解试验和研发期间的稳定性，可用来指导选择需评估的有致突变性的潜在降解产物。

实际的和潜在的降解产物可能存在于最终的原料药或制剂中，并且在结构已知的情况下，应按照第 6 节所述评估致突变性。

5.3 临床研发的注意事项

第 5.1 和第 5.2 节所述的杂质评估适用于临床研究中的产品。然而，众所周知，这一阶段可获得的信息是有限的。例如，在临床研发期间，可能无法获得长期稳定性和光照稳定性研究信息，因此关于潜在降解产物的信息可能很有限。此外，ICH Q3A/Q3B 中列出的杂质限度并不适用于临床阶段的产品，因此此时鉴定出的杂质较少。

6. 危害性评估的因素

危害性评估首先通过对数据库和文献的检索获得的杂质致癌性和细菌致突变数据对实际和潜在杂质进行初步分析，根据表 1 将其归为 1 类，2 类或 5 类。如果无法获得这样的分类数据，则应进行预测细菌致突变性的构-效关系（SAR）评估。根据评估结果将杂质归为 3 类、4 类或 5 类。

表 1：根据致突变性和致癌性对杂质进行分类及控制

分类	定义	拟定的控制措施 (详见第 7 节和第 8 节)
1	已知致突变致癌物	控制不超过该化合物特定的可接受限度
2	致癌性未知的已知致突变物（细菌致突变阳性*，但无啮齿动物致癌性数据）	控制不超过可接受限度（合适的 TTC）
3	有与原料药结构无关的警示结构，无致突变性数据	控制不超过可接受限度（合适的 TTC）或进行细菌致突变试验； 如无致突变性，归为 5 类 如有致突变性，归为 2 类

4	有警示结构，且与经测试无致突变性的原料药及其相关化合物（例如，工艺中间体）具有相同的警示结构	按非致突变杂质控制
5	无警示结构，或虽有警示结构但有充分的数据证明无致突变性或无致癌性	按非致突变杂质控制

*或其它相关的阳性致突变性数据，这些数据可指示DNA反应活性相关的基因突变。（例如，体内基因突变研究显示阳性）

计算机毒理学应采用（定量）构-效关系（（Q）SAR）方法学进行毒性评估，目的是预测细菌致突变试验（参考文献6）的结果。应采用两种互补的（Q）SAR预测方法。一种方法应基于专家知识规则，另一种方法应基于统计学。（Q）SAR模型采用的这些预测方法学应遵循经济合作与发展组织（OECD）制订的一般的验证原则。

如果经两种互补的（Q）SAR方法（专家知识规则和统计学）预测均没有警示结构，则足以得出该杂质没有致突变性担忧的结论，不建议做进一步的检测（归为表1中的5类）。

对计算机系统得到的任何阳性、阴性、相互矛盾或无法得出结论的预测结果，如有必要，申请人可根据专业知识进行综合评估，提供进一步支持性证据，合理论证并得出最终结论。

对具有警示结构（表 1 中的 3 类）的杂质可采取充分的控制措施，或者对该杂质单独进行细菌致突变试验。如果杂质规范的细菌致突变试验（注释 2）结果为阴性，则可以推翻任何基于结构的担忧，不建议进行进一步遗传毒性评估（注释 1）。这些杂质视为非致突变杂质（表 1 中的 5 类）。如果细菌致突变试验为阳性，则需要进一步的危害评估和/或采取控制措施（表 1 中的 2 类）。例如，如果杂质水平不能控制在一个适当的可接受限度，则建议进行体内基因突变试验，以了解在体内环境下细菌致突变试验结果的相关性。其它体内遗传毒性试验的选择应根据杂质的反应机理和预期靶组织暴露（注释 3）的知识进行科学地论证。体内试验的设计应参考现行 ICH 遗传毒性试验相关指导原则。符合要求的体内测试结果可支持特定杂质限度的设定。

与原料药或相关化合物具有相似的警示结构（例如，在相同位置和相同化学环境下具有相同警示结构）的杂质，如其（明确）细菌致突变试验为阴性，则可视为非致突变杂质（表 1 中的 4 类）。

7. 风险表征

根据第 6 节所述的危害评估方法，每个杂质应按表 1 中的 5 个类别进行分类。本节介绍了推导 1、2、3 类杂质可接受摄入量的风险表征原则。

7.1 基于 TTC 的可接受摄入量

基于 TTC 计算可接受摄入量时，单个致突变杂质每人每天摄入 $1.5\mu\text{g}$ 时其风险认为是可以忽略的（终生暴露情况下理论患癌风险小于十万分之一），这一值可以通用于大部分药物，作为可接受控制限度的默认值。TTC 方法一般用于长期治疗用(>10 年)药物中存在且无致癌性数据(2 类和 3 类)的致突变杂质。

7.2 基于特定化合物的风险评估数据制订可接受摄入量

7.2.1 具有阳性致癌性数据的致突变杂质（表 1 中的 1 类）

如果有足够的致癌性数据，则应采用该特定化合物的风险评估数据来推导可接受摄入量，而非基于 TTC 的可接受摄入量。对于已知的致突变致癌物，其可接受摄入量可以根据致癌性强度计算，通常采用线性外推法计算。或者也可以采用其它已确认的风险评估方法。例如，可使用国际公认机构所采用的方法计算可接受摄入量，或直接使用监管机构已公布的测定数据（注释 4）。

对于与已知的某类致癌化合物在化学结构上相似的杂质，可以具体问题具体分析，对该特定化合物的可接受摄入量按照相似的致癌化合物的可接受摄入量进行计算，但前提是必须提供该杂质与已知化合物化学结构相似的理由以及支持性数据。（注释 5）。

7.2.2 有实际阈值证据的致突变杂质

人们逐渐认识到，存在某些作用机理，化合物剂量与效应之间的关系不完全是线性的，可能需要浓度达到一定阈值，这一现象在不以 DNA 为靶点的化合物和 DNA 反应活性化合物中都存在。这些物质发挥效应可能受到一些影响，例如，在与 DNA 接触前被降解失活，或产生的损伤可被有效地修复。对这些化合物的监管，在可获得相关数据的前提下，可通过未观察到作用水平 (NOEL) 和使用不确定性因子 (参见 ICHQ3C (R5)，参考文献 7) 来计算允许日暴露量 (PDE)。

化合物特定的经风险评估推算的可接受摄入量 (第 7.2 节) 可按后续章节 (7.3.1 和 7.3.2) 所述比例根据更短的使用时间进行调整，或应控制在不超过 0.5%，二者取较低者。例如，如果终生暴露时某化合物可接受摄入量为 15 μ g/天，短于终生暴露时限度 (表 2) 可以增加至 100 μ g (>1-10 年治疗时长)，200 μ g (>1-12 个月) 或 1200 μ g (<1 个月)。但是，对于最大日服用剂量已知的药物-例如最大日服用剂量 100mg，则<1 个月时长的每日可接受摄入量应限制在 0.5%(500 μ g)，而不是 1200 μ g。

7.3 与 LTL 暴露相关的可接受摄入量

已知致癌物的标准风险评估方法假定了癌症风险与累积剂量呈正相关。因此，终生以低剂量持续给药与在较短时间内给予相同累积暴露量的药物在患癌风险上是等同的。

基于 TTC 的可接受摄入量 $1.5\mu\text{g}/\text{天}$ 被认为是安全的终生日暴露量。药品中致突变杂质的 LTL 暴露量可理解为可接受的累积终生摄入量 ($1.5\mu\text{g}/\text{天} \times 25,550 \text{ 天} = 38.3\text{mg}$) 在 LTL 期间均匀分配在总暴露天数中。即允许致突变杂质日摄入量高于终生暴露时的日摄入量，其风险水平与终生每日或非每日服药相当。表 2 是从上述概念推导而得的数据，说明了临床研究阶段和上市阶段 LTL 至终生暴露时的可接受摄入量。间歇给药时，每日可接受摄入量应根据给药总天数计算，而不是服药开始至停药的时间跨度，给药天数需符合表 2 中相关的给药时长分类。例如，2 年期间每周服用一次的药物（即给药 104 天），其可接受摄入量为每日 $20\mu\text{g}$ 。

表 2: 单个杂质的可接受摄入量

治疗期	≤ 1 月	>1-12 月	>1-10 年	>10 年至终生
日摄入量 [$\mu\text{g}/\text{天}$]	120	20	10	1.5

7.3.1 临床研究阶段

上述 LTL 方法为有限的治疗时间段的临床试验，如 1 个月、1-12 个月以及超过 1 年的临床研究直至完成 III 期临床试验，推荐了致突变杂质的可接受摄入量（表 2）。这些调整后的可接受摄入量在收益还未确定的早期临床开发中维持了百万分之一（ 10^{-6} ）的致癌风险水平，在后期研发阶段控制在

十万分之一 (10^{-5}) 的致癌风险水平 (注释 6)。

对于给药周期不超过 14 天的 I 期临床试验, 不必严格采用上述致突变杂质经调整后的可接受摄入量, 可采用以下替代方法。该替代方法仅要求将 1 类和 2 类, 以及被列入关注队列的杂质控制在第 7 节所述的可接受限度内(参见 8 节)。所有其它杂质按非致突变杂质控制, 其中包括 3 类杂质, 因 I 期临床持续时间有限, 无需进行评估。

7.3.2 已上市药品

对于已上市药品, 绝大多数患者可按照表 2 中根据治疗时间确定可接受摄入量。所拟定的摄入量以及应用这些摄入量的各种情形均在注释 7 表 4 中进行了说明。在某些情况下, 患者中一部分人群可能会延长治疗时间至超出该类药品预期使用时间的上限(例如, 可接受摄入量为 $10\mu\text{g}/\text{天}$ 的药品治疗时间超出 10 年, 可能达到 15 年)。与大部分治疗 10 年的患者计算所得的整体风险相比, 可以忽略治疗时间延长所导致的风险增加(如上例, 患癌风险增加至 $1.5/100000$)。

7.4 多个致突变杂质的可接受摄入量

根据 TTC 得出的可接受摄入量适用于每个单杂。如果有两个 2 类或 3 类杂质, 应单独制订各自限度。对于临床研发和已上市的药品, 如果原料药质量标准中有 3 个或更多的 2 类或 3 类杂质, 应按照表 3 所述制订总致突变杂质限度。

对于复方药品, 每种活性成分应单独制订限度。

表 3:多个杂质的可接受总摄入量

治疗期	≤1 月	>1-12 月	>1-10 年	>10 年至终生
日总摄入量 [μg/天]	120	60	30	5

只有订入原料药质量标准中的 2 类和 3 类杂质应计入总限度。已具有可接受摄入限度的特定化合物或特定类别化合物（1 类），不应计入 2 类和 3 类杂质的总限度。另外，制剂中形成的降解产物应单独控制，不应计入总限度。

7.5 特例和方法灵活性

- 如果某杂质通过其它途径在人体中的暴露量更大，如食品或内源性代谢物（例如甲醛），则更高的可接受摄入量可能是合理的。

- 在严重疾病、预期寿命缩短、迟发的慢性疾病或治疗选择有限的特殊情况下，可根据具体情况制订合理的可接受摄入量。

- 致突变物中某些结构的化合物存在高致癌风险（“关注队列”），即黄曲霉毒素类物质、N-亚硝基化合物、以及烷基-氧化偶氮结构化合物。如果药物中存在这些杂质，则这些高致癌风险化合物的可接受摄入量可能会显著低于本指导原则中定义的可接受摄入量。尽管仍可以使用本指导原则的策略，但是，通常应针对各案情况开发研究方法，例如，使用结构紧密关联的化合物的致癌数据（如果有）来证明制剂研

发阶段和上市产品中可接受摄入量的合理性。

第 7 节所述的以上风险控制方法适用于所有的给药途径，通常不需要对可接受摄入量进行修正。对于特殊给药途径（如吸入给药），应根据具体情况进行逐案评估。由于采用的风险评估方法较为保守，上述方法适用于所有患者人群。

8. 控制

控制策略是一套基于对当前产品和对工艺的理解而制订的有计划的控制方法，用以保证工艺性能和产品质量(ICH Q10, 参考文献 8)。控制策略包括但不限于以下内容：

- 物料属性控制（包括原料、起始物料、中间体、试剂、溶剂、内包材）；
- 设施和设备操作条件；
- 生产工艺设计中隐含的控制；
- 过程控制（包括过程检测和工艺参数）；
- 原料药和制剂的控制（如放行检测）。

如果一个杂质已经定性为表 1 中的 1、2 或 3 类杂质，为了保证该杂质在原料药和制剂中的水平低于可接受限度，构建一个专门的控制策略是至关重要的。构建适当的控制策略的基础是要全面理解原料药生产工艺相关的化学信息、制剂生产工艺以及原料药和制剂的整体稳定性。制剂中致突变杂质的控制策略与 ICH Q9（参考文献 9）中描述的风险管理过程应一致。基于对产品和工艺的理解以及风险管理原则，

控制策略将工艺设计和控制与合适的分析测试相结合，可将控制点向上游移动并为尽量减少终产品测试提供可能性。

8.1 工艺相关杂质的控制

开发原料药控制策略有 4 种可能的方法：

方法 1

原料药质量标准中包含杂质检查项，采用合适的分析方法将杂质控制在可接受限度以内。

方法 1 的控制方式可以根据 ICH Q6A（参考文献 10）进行定期确认性检测。如果在至少 6 个连续的中试批次或 3 个连续的生产批次中，原料药中的致突变杂质水平均低于可接受限度的 30%，则可证明定期确认性检测是合理的。如果不满足该条件，则建议作为原料药质量标准中的常规检测项。更多考虑事项请参见第 8.3 节。

方法 2

在原料、起始物或中间体的质量标准中包含杂质检查项，或作为过程控制项，采用合适的分析方法将杂质控制在可接受限度以内。

方法 3

在原料、起始物料或中间体的质量标准中对杂质进行检测，或进行过程控制，制订一个高于原料药中该杂质可接受限度的标准，使用合适的分析方法并结合对杂质去向和清除的认知，及相关的工艺控制，保证原料药中的杂质的水平低

于可接受限度而无需在后续工艺中再行检测。

对实验室规模试验（鼓励采用掺杂实验）的数据进行分析（必要时可以采用中试规模或商业规模批次数据加以佐证），如果原料药中杂质水平低于可接受限度的 30%，则采用该方法是合适的。见案例 1 和 2。也可以用其他方法来证明方法 3 的合理性。

方法 4

明确工艺参数及其对残留杂质水平（包括去向和清除知识）的影响，确信原料药中的杂质水平将会低于可接受限度，则建议无需对该杂质进行分析检测（即不需要将杂质订入任何质量标准中）。

如已充分了解对致突变杂质水平有影响的合成工艺和工艺参数，最终原料药中这些杂质残留量高于可接受限度的风险很小，则可用针对合成工艺的控制策略代替分析检测。很多情况下只需根据科学原理对控制方法进行论述即可。可以使用科学风险评估要素来论证方法 4 的使用。风险评估可基于物理化学性质和影响杂质去向和清除的工艺参数，如化学反应性、溶解性、挥发性、电离度和任何设计用于去除杂质的物理过程。该风险评估的结果可表示为该工艺清除该杂质的预估清除因子（参考文献 11）。

方法 4 特别适用于那些自身不稳定的杂质（例如，与水迅速完全反应的二氯亚砷），或那些在合成路线早期引入并

可被有效清除的杂质。

有些情况下，如果已知杂质成因或合成后期引入的杂质，也可采用方法 4；但此时需要提交针对该工艺的数据来论述采用该方法的合理性。

8.2 控制方法的注意事项

与采用方法 3 时一样，采用方法 4 时，如仅根据科学原理来进行论述是不够充分的，需提交分析数据来支持控制方法。提交的资料可包括：在下游化学反应中导致杂质结构改变的相关信息（去向）、中试批次的分析数据，某些情况下可提供实验室规模下加样研究结果。在这些情况下，证明该杂质的去向/清除的论据的可靠性是至关重要的，它能够自始至终地保证最终原料药中杂质残留量超过可接受限度的可能性可以忽略。如果清除因子是根据研发数据得到的，须注意评估其规模依赖性或非依赖性。如果用于研发阶段的小规模模型被认为不能代表商业规模，则需要确认中试规模和/或初始商业批次中所用的控制是适当的。根据由实验室或中试规模数据计算所得的清除因子大小、杂质引入步骤和对下游工艺清除工艺的理解，决定是否需要中试/商业批次数据。

如果使用方法 3 和 4 不能得到合理论证，则应在原料、起始物料或中间体的质量标准中对杂质进行检测或进行过程控制（方法 2）；或在原料药的质量标准中对杂质进行检测（方法 1），将杂质控制在可接受限度内。对于在最终步骤中

引入的杂质,除另有论述外,一般应采用方法 1 的控制方法。

如果致突变杂质的水平低于可接受限度,则不必应用“合理可行的最低程度”(ALARP)原则。同样地,也不必证明已摸索过可替代的合成路线。

如果通过控制仍不能将致突变杂质的水平降低至可接受限度以内,而杂质是“合理可行的最低程度”水平,则可根据风险/收益分析来论证更高限度的合理性。

8.3 定期检测的注意事项

上述这些方法中包括了建议将检测订入质量标准,但可能不必对每批产品均进行常规放行检测的情形。这种方法在 ICH Q6A 中被称为定期检测或间隔检测,也可以称为“定期确认性检测”。如果能证明杂质形成/引入之后的工艺能清除该杂质,则该方法也是合理的。要注意的是,是否允许使用定期确认性检测取决于是否使用受控状态下的工艺(即,生产出的产品质量能持续满足质量标准,并符合已建立的合适的设施、设备、工艺和操作控制方案)。如果检测结果显示,致突变杂质的水平不符合定期检测所建立的可接受标准,则药品生产商要立即实施全面检测(即对每个批次的特定属性进行检测)直至最终找出失败的原因、实施了纠正措施,并且书面证明该工艺已再次处于受控状态。正如 ICH Q6A 中所述,如果定期确认性检测失败,应通知监管机构评估先前放行未经检测的批次的风险/收益。

8.4降解产物的控制

对于已经定性为具有致突变性的潜在降解杂质，需了解其降解途径与原料药和制剂的生产工艺和/或其拟定的包装和储藏条件的相关性。建议采用一个设计良好的在拟定的包装中的加速稳定性试验(例如, 40℃/75%相对湿度, 6个月), 采用适当的分析方法来确定潜在降解产物相关性。也可以采用一个设计良好的动力学等效的时间更短、温度更高的稳定性试验, 使用拟定的商业包装, 在开始长期稳定性试验前确定降解途径的相关性。对于那些依据潜在降解途径的知识应该存在, 但在产品中尚未观察到的潜在降解产物, 这类研究对明确其相关性尤其适用。

根据这些加速试验的结果, 如预计降解产物将在拟定包装和储藏条件下形成, 且接近可接受限度水平, 则应采取措施控制降解产物的形成。这种情况下, 除另有论述外, 应在拟定储藏条件下(采用拟定的商业包装), 监测用于确定有效期的长期稳定性批次原料药或制剂中的降解产物。该致突变降解产物的质量标准限度是否合理通常取决于这些稳定性研究的结果。

如果预计制剂研发和包装设计的选择不能将致突变降解产物水平控制在可接受限度以下, 而杂质是“合理可行的最低限度”水平, 则可以根据风险/收益分析来论证更高限度的合理性。

8.5 生命周期管理

本部分适用于本指导原则颁布后批准的药品。

ICH Q10 所述的质量体系要素和管理职责意在鼓励在生命周期各阶段使用基于科学和基于风险的方法以促进药品在整个生命周期中持续改进。产品和工艺知识应从研发阶段开始进行管理，贯穿产品的整个商业化生命周期，直至产品退市。

对原料药和制剂的生产工艺的研发和改进一般会在其生命周期中持续进行。生产工艺性能，包括控制策略的有效性，应定期进行评估。从商业化生产中所获得的知识可用于进一步提高对工艺的理解和工艺性能，并对控制策略进行调整。

拟对生产工艺的任何变更均应评估其对原料药和制剂质量产生的影响。该评估应当基于对生产工艺的理解，并应明确是否需要适当的检测来分析拟定变更的影响。另外，对分析方法的改进可能促进对杂质进行结构鉴定。在这种情况下，需要按本指导原则的要求对新结构的杂质致突变性进行评估。

药品整个生命周期中，当工艺发生了计划内或计划外变更时，需重点重新评估是否需进行检测。这适用于对可接受限度没有常规监控的情况（方法 3 或方法 4 的控制方法），或采用定期检测而不是每批检测的情况。该项检测应在生产

工艺中适当的中控点进行。

在某些情况下，应用统计过程控制和工艺参数测量值的变化趋势有益于改善工艺持续适用性和工艺控制能力，从而对杂质控制更加充分。即便不对杂质进行常规监控（例如方法 4），统计过程控制也可以基于对杂质形成或清除有影响的工艺参数进行。

所有的变更应作为质量体系（ICH Q10）的一部分遵循内部变更管理流程。对已批准的申报资料中的内容进行变更应根据当地法规和指导原则的要求向监管机构进行报告。

8.6 临床研发的注意事项

众所周知，对产品和工艺的认知在研发过程中是不断增长的，因此，在临床试验阶段用于支持控制策略的数据会比上市注册阶段少。鼓励根据工艺的化学基础，基于风险，优先分析最可能出现在原料药或制剂中的杂质。出现可能性很低的杂质早期临床阶段可不要求分析数据；但相同情况下，上市申请时宜提供分析数据以支持其控制策略。认可商业化处方是在临床研发后期才确定的，因此在早期阶段与制剂降解产物相关的研究会比较有限。

9. 文件

本指导原则中与申报相关的信息应在以下阶段提供：

9.1 临床试验申请

- 在整个临床研发期间，应逐渐累积致突变性的结构，持

续收集分析数据。

- 对于 14 天或更短的 I 期临床试验，要提供努力降低致突变杂质的风险所采取的措施的描述，重点关注 1 类和 2 类杂质及第 7 节所列的关注队列中杂质。对于多于 14 天的 I 期临床试验和 II a 期临床试验，还应包括需要分析控制措施的 3 类杂质。

- 对于 II b 期和 III 期临床试验，需提供一份经 (Q) SAR 评估的杂质清单，并描述实际存在的和潜在的所有 1 类、2 类和 3 类杂质及其控制计划。应描述评估所用的计算机 (Q) SAR 系统。应报告实际杂质的细菌致突变试验的结果。

- 如第 8.6 节所述，对于存在可能性很低的潜在杂质，可以采用化学论证替代分析数据。

9.2 通用技术文件（上市申请）

- 如根据本指导原则对实际和潜在的工艺相关杂质和降解产物实施了评估，则应提供致突变杂质分类及其理由：

- 应包括所使用的计算机 (Q) SAR 评估体系的结果和描述，并合理提交支持性信息以得出 4 类和 5 类杂质的总体结论。

- 如果对杂质进行了细菌致突变试验，应提交杂质细菌致突变试验的研究报告。

- 应提交拟定的质量标准和控制方法的合理性说明（例如，ICH Q11 例 5b，参考文献 12）。例如，该信息可包括可

接受摄入量，相关常规监测的位置和灵敏度。对于方法 3 和方法 4 的控制方法，需总结清除因子，明确相关控制要素（例如，工艺步骤、洗液中的溶解度等）。

注释

注 1 ICH M7 指导原则中的建议提供了一种目前最先进的方法来评估杂质诱发点突变的可能性，保证这样的杂质被控制在安全水平，从而在低于或高于 ICH Q3A/B 质控限度时无需进一步界定致突变可能性。该方法包括预先使用（Q）SAR 工具来预测细菌致突变性。如果在长期给药时该杂质日摄入量超出 1mg，应按照 ICH Q3A/Q3B 的建议考虑进行潜在遗传毒性评估。如果该杂质日摄入量少于 1mg，无论其它质控限度如何，都无需进行进一步的遗传毒性检测。

注 2 为了评估杂质的潜在致突变性，可根据 ICH S2(R1) 和 OECD471 指导原则（参考文献 13 和 14）制订全面充分的试验计划方案仅开展细菌致突变试验。试验宜符合 GLP 规范；但是，不完全符合 GLP 并不一定意味着所得数据不能用于支持临床试验和上市许可，不符合 GLP 的偏差应在研究报告中进行描述。例如，试验样品的制备和分析可能不符合 GLP 规范要求。在某些情况下，检测用细菌菌株可能会被限制在那些经证明对已鉴别的对警示结构敏感的菌株之中。对于不易分离或合成的杂质，或化合物数量有限的杂质，可能无法达到目前试验指导原则所推荐的符合 ICH 要求的细菌致突变试验的最高试验浓度。这种情况下，细菌致突变试验可以采用小型化的微量的（miniaturized assay format）测试方法，并证实该方法与符合 ICH 的测试高度一致，以确保在较

高的浓度下进行测试也能符合要求。

注 3 研究体外致突变物（细菌致突变为阳性）的体内相关性的试验

体内试验	试验方法选择的考虑因素
转基因突变试验	任意细菌突变性结果为阳性时；需论证选择试验组织/器官的理由时
Pig-a 试验（外周血）	检测直接诱变剂对于直接作用的致突变物（细菌突变试验在非 S9 代谢活化条件下结果为阳性时）*
微核试验（外周血和骨髓）	检测直接诱变剂（细菌突变试验在非 S9 代谢活化条件下结果为阳性时）和已知染色体断裂剂
大鼠肝脏非程序性 DNA 合成（UDS）试验	- 尤其是细菌突变试验仅在 S9 代谢活化条件下结果为阳性时 - 已知可产生下列变化的肝脏代谢物 - 在试验所用物种中产生 - 诱导大的加合物
彗星试验	- 应提供理由（可形成碱基不稳定性点或单链断裂这些可导致突变形成的 DNA 前期损伤的化学结构特异性作用模式） - 论证选择试验组织/器官的理由
其他	具有说服力的论证

*对于间接作用的致突变物（需要代谢活化），要证明有足够的代谢物暴露量。

注 4 从 TD₅₀ 线性外推的示例

可以根据啮齿类动物致癌效价数据,例如 TD_{50} 值(导致 50%肿瘤发生率的给药剂量相当于患癌风险可能性水平为 1:2),来计算特定化合物的可接受摄入量。通过简单地将 TD_{50} 值除以 50000 来线性外推至十万分之一的发生率(即可接受的终生风险水平)。该方法类似于 TTC 使用的推导方法。

计算举例: 环氧乙烷

根据致癌性数据库(CPDB 数据库官方名称),环氧乙烷的 TD_{50} 为 21.3mg/kg 体重/天(大鼠)和 63.7mg/kg 体重/天(小鼠)。在计算可接受摄入量时,采用了剂量较低的大鼠值(即更保守)。

为推导十万分之一致癌率的剂量,将该值除以 50000:

$$21.3\text{mg/kg} \div 50000 = 0.42\mu\text{g/kg}.$$

推导人类每日总摄入量:

$$0.42\mu\text{g/kg/日} \times 50\text{kg 体重} = 21.3\mu\text{g/人/天}.$$

因此,终生每日服用 21.3 μg 环氧乙烷对应十万分之一的理论致癌风险,也是环氧乙烷在原料药中作为杂质存在时的可接受摄入量。

患癌风险评估的替代方法和已公布的监管限度

使用啮齿类动物致癌性研究中最保守的 TD_{50} 值并不考虑其与人类相关性的,作为该方法的替代方案,可以对已有致癌性数据进行深度毒理学专家评估,以便首先确定与人类风险评估相关性最高的发现(例如,物种,器官),作为推

导线性外推参考点的依据。同样的，为了更好地直接考虑剂量-反应曲线的形态，可以使用基准剂量代替 TD_{50} 值作为致癌效价的量化指标，例如基准剂量置信区间下限 10%（ $BMDL_{10}$ ，有 95% 的概率确信预估的最低剂量不会导致啮齿类动物的致癌率超过 10%）。通过简单地将 $BMDL_{10}$ 除以 10000 来线性外推至十万分之一的发生率（即终生风险水平），即得。

特定化合物的可接受摄入量也可以使用国际公认机构公布的推荐值，如世界卫生组织（WHO，化学品安全国际规划署[IPCS]癌症风险评估程序），以及其它合理使用的十万分之一终生风险水平的值来推导。一般来说，应用的监管限度应以最新的科学支持性数据和/或方法为基础。

注 5 对于化学结构与已知致癌物类似的致突变杂质（没有致癌性数据），可以采用化合物特异性的方法来计算致突变杂质的可接受摄入量。例如，单官能团烷基氯化物为药物合成中常见物质，现已明确其致癌强度相关因素（参考文献 15），可用于制定所有单官能团烷基氯化物的安全可接受摄入量。与多官能团烷基氯化物相比，单官能团烷基氯化物的致癌性较低， TD_{50} 值介于 36 至 1810mg/kg/天之间（ $n=15$ ；具有两个明显不同官能团的表氯醇除外）。 TD_{50} 值 36mg/kg/天则可以作为一个非常保守的特定分类的效价参考点，来计算单官能团烷基氯化物的可接受摄入量。该效价水平至少比与

默认的终生 TTC (1.5 μ g/天) 对应的 TD₅₀ (1.25mg/kg/天) 低 10 倍, 因此证明了单官能团烷基氯化物的终生和短于终生的每日摄入量是默认值的 10 倍。

注 6 在建立临床研发阶段性 TTC 限度时, 优先建立药品中致突变杂质短于终生的可接受摄入量 (参考文献 16)。短于终生的可接受摄入量 (AI) 根据 Haber 法则来进行计算, 该法则是毒理学的基本概念, 认为浓度 (C) $\times$ 时长 (T) = 常数 (k)。因此, 致癌性作用同时基于剂量和暴露时长。

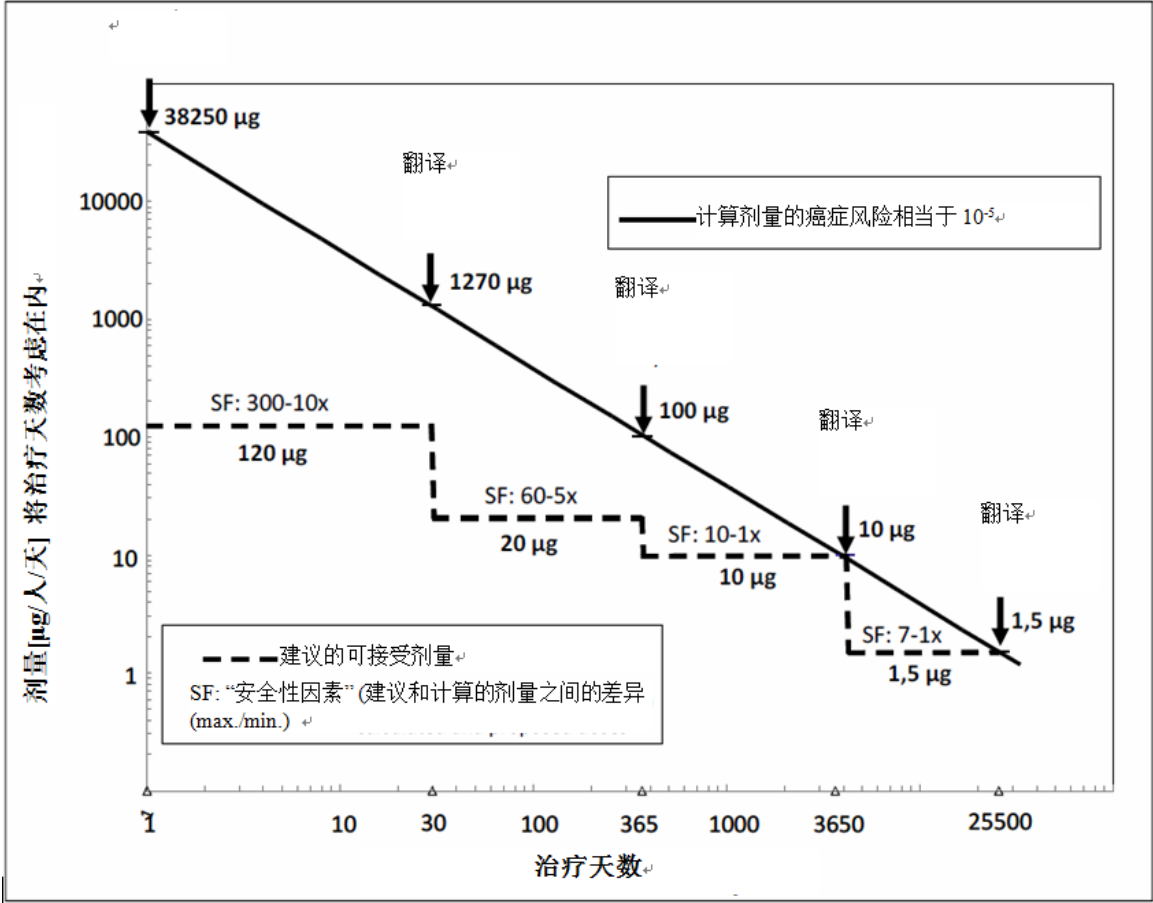


图 1: 图示是致突变杂质的日剂量计算值 (对应理论上十万分之一的患癌风险) 与治疗时长的函数关系, 与第 7.3 节拟定的可接受剂量的比较。

图 1 中的实线代表致突变杂质每日摄入量（对应十万分之一患癌风险）与治疗天数的线性关系。根据本指导原则中终生治疗所用的 TTC 水平（即 $1.5\mu\text{g}/\text{人}/\text{天}$ ）进行计算，公式如下：

短于终生的 $\text{AI}=1.5\mu\text{g}\times(365\text{ 天}\times70\text{ 年寿命}=25550)/\text{治疗总天数}$

治疗时长为 70 年时计算的每日摄入水平为 $1.5\mu\text{g}$ ，10 年为 $10\mu\text{g}$ ，1 年为 $100\mu\text{g}$ ，1 个月为 $1270\mu\text{g}$ ，单次给药约为 38.3mg ，所有这些结果均来自于相同的累积摄入量，因此理论上具有相同的患癌风险（十万分之一）。

台阶式虚线代表的是实际每日摄入水平，它是依据本指导原则第 7 节为临床研发和已上市药品的建议调整为短于终生暴露的可接受摄入量。这些拟定的摄入水平一般显著低于计算值，因而安全因子随着治疗时长的变短而增加。

如果治疗时长不超过 6 个月，所拟定的每日可接受摄入量也符合百万分之一的患癌风险水平，因此适用于获益尚未明确的志愿者/患者的早期临床试验。在此情况下，上图所示的安全因子要降低十倍。

注 7 表 4：临床使用情形举例：在不同治疗时长下应用可接受摄入量

情形 ¹	可接受摄入量 ($\mu\text{g}/\text{天}$)
-----------------	--------------------------------------

疗程≤1 个月：例如，用于急救的药品（解毒、麻醉、急性缺血性脑卒中），日光性角化病、除虱	120
疗程在 1-12 个月之间：例如，最长可达 12 个月的抗感染治疗（丙型肝炎病毒）、肠外营养、预防性的流行性感冒药物（约 5 个月）、消化性溃疡、人类辅助生殖技术（ART）、早产、先兆子痫、术前（子宫切除术）治疗、骨折愈合（短期使用但半衰期长）	20
疗程在 1-10 年之间：例如，疾病预期生存期较短的阶段（严重阿尔茨海默病）、使用非遗传毒性抗癌药治疗的具有较长生存期的患者人群（乳腺癌、慢性髓性白血病），特别标明使用期应短于 10 年的药品，间歇性给药治疗急性复发症状 ² （慢性疱疹、痛风发作、物质依赖如戒烟）、黄斑变性、人类免疫缺陷病毒（HIV） ³	10
疗程>10 年：例如，很可能会跨年龄段终生使用的慢性适应症（高血压、血脂异常、哮喘、阿尔茨海默症（除严重阿尔茨海默病外）、激素治疗（例如，生长激素、甲状腺	1.5

素、甲状旁腺素)、脂肪代谢障碍、精神分裂症、抑郁症、银屑病、特应性皮炎、慢性阻塞性肺病 (COPD)、囊肿性纤维化、季节性和常年性过敏性鼻炎	
--	--

¹ 表格显示的是一般案例；每个案例应逐案审查。例如，在患者预期生命有限时 (如严重的阿尔海默茨病)，即使用药时长可能超过 10 年，10μg/天也可能被接受。

² 间隔用药>10 年，但基于累积剂量在 1-10 年范围内。

³HIV 被认为是一种慢性适应症，但是用药 5-10 年后就会产生耐药性，需改用其他 HIV 药物治疗。

术语

可接受摄入量（Acceptable intake）:

在本指导原则中，可接受摄入量是指一个特定的（杂质）摄入量水平，当不超过这一水平时，由于杂质摄入所导致的致癌性风险可以忽略不计；或者是通过适当的利弊权衡之后对严重/危及生命的适应症确定的摄入水平。

可接受限度（Acceptable limit）:

从可接受摄入量和药物每日剂量推导而来的原料药或制剂中杂质的最大可接受浓度。

可接受标准（Acceptance criterion）:

针对特定分析方法的检测结果设定的可以量化可接受限度、范围或其他要求。

控制策略:

控制策略是基于对当前产品和对工艺的理解而制订的一套用以保证工艺性能和产品质量的有计划的控制方法。控制方法可包括与原料药、制剂物料和各组分相关的参数和属性、设施/设备的操作条件、过程控制、终产品质量标准、监测和控制的相关方法和频率。

累积摄入量:

人体暴露一段时间对某物质的总摄入量。

降解产物：

药物分子受时间和/或受光、温度、pH、水或与辅料的作用和/或直接包装/密闭系统的影响发生化学变化而产生的物质。

DNA 反应性：

通过与 DNA 发生化学反应直接诱导 DNA 损伤的潜在能力。

专家知识：

在本指导原则中，专家知识可定义为综述已存在的数据并使用任何其他相关信息来评估计算机模型预测致突变性的精确度。

遗传毒性：

一个广泛的术语，指的是遗传物质中的任何有害变化，而不考虑诱发该变化的机制。

杂质：

原料药或制剂中任何不是原料药或辅料的成分。

致突变杂质：

已在合适的致突变试验模型（如细菌致突变试验）中确证具有致突变性的杂质。

定期确认性检测:

在 ICH Q6A 也称为定期检测或间隔检测。

(Q)SAR 和 SAR:

在本指导原则中，是指使用（定量）构-效关系的实验数据说明化合物分子（亚）结构与致突变活性之间的关系。

清除因子:

清除反映了一个工艺降低杂质水平的能力。清除因子的定义是指工艺中上游点的杂质水平除以工艺中下游点的杂质水平。清除因子可进行测定或预测。

警示结构:

在本指导原则中，与致突变性相关的化学基团或分子（亚）结构。

附录

附录 1: ICH M7 指导原则应用范围

情形	适用于原料药	适用于制剂	备注
新原料药和相关制剂的注册	是	是	M7 指导原则的基本意图
新原料药和相关制剂的临床试验申请	是	是	M7 指导原则的基本意图
针对 ICH S9 抗癌药物的新原料药的临床试验申请	否	否	超出 M7 指导原则范围
孤儿药的新原料药的临床试验申请	是	是	根据实际情况,可能会有杂质限度较高的例外情况
使用已有原料药且原料药生产工艺没有变更的新制剂的临床试验申请	否	是	M7 不要求对已上市药品进行回顾性应用,除非对合成工艺进行了变更。由于原料药的合成没有进行变更,所以无需对原料药进行重新评估。由于制剂是新创

			的，所以其申请适用于本指导原则。
已批准的原料药的新处方申请上市	否	是	参见 4.2 部分
先前在一个成员地区获得批准的药品首次在另一个不同的成员地区申请上市。药品没有变更。	是	是	由于没有相互认可，因此在某个成员地区已上市的药品首次在另一成员地区申请上市，会被认为是一个新药
已注册原料药变更供应商或生产场地。用于注册申请的生产工艺没有变更。	否	否	只要原料药的合成方法与之前批准的一致，则不必对致突变杂质风险进行重新评估。申请人需要证明与之前批准的工艺/产品相比没有变更。参见 4.1 部分。
已有的用于晚期癌症的药品（在 ICH M7 发布后批准的，基于 ICH S9 有更	是	是	由于患者人群和可接受的患癌风险已变化，需要对之前已批准的杂质控制策

高的限度), 现注册用于治疗非危及生命的适应症。			略和限度进行重新评估。参见 4.3 部分。
含新原料药和已有原料药的新复方制剂的上市申请	是 (新原料药) 否 (已有原料药)	是	M7 适用于新原料药。对于已有原料药, M7 不要求对已有产品进行回溯性应用。对于制剂, 会被归为新制剂, 因此本指导原则将适用于任何新的或更高水平的降解产物。

附录 2: 举例说明可以采用潜在的控制方法

案例 1: 方法 3 控制策略的示例

中间体 X 的形成离原料药有 2 步, 杂质 A 在中间体 X 中常规检出。杂质 A 是一个稳定的化合物, 会被带入原料药。在实验室规模下, 将不同浓度的杂质 A 加至中间体 X 中进行加样研究。如果研究发现即使在中间体 X 中有 1% 的杂质 A, 原料药中杂质 A 也能持续被清除至 TTC 限度的 30% 以下。由于中间体 X 的形成离原料药只有 2 步, 中间体 X 中杂质 A 的水平相对较高, 通过检测多批中试规模批次原料药中的杂质 A 水平来确认了工艺的清除能力, 结果均在 TTC 限度的 30% 以下。因此, 将中间体 X 中杂质 A 控制在 1.0% 的可接受限度是合理的, 无需在原料药标准中对该杂质进行检测。

案例 2: 方法 3 控制策略的示例: 从采用标准分析方法的加样研究来预测清除

在一个 5 步合成工艺中, 起始物料 Y 在第 3 步引入, 采用标准分析方法在起始物料 Y 中常规检测杂质 B 均低于 0.1%。为了确定起始物料中 0.1% 的标准是否可接受, 在实验室规模下进行了清除研究, 将不同浓度 (最高 10%) 的杂质 B 加至起始物料 Y 中, 通过最后 3 步工艺步骤, 确定清除因子 >500 倍。起始物料 Y 中杂质 B 的质量标准为 0.1%, 应用该清除因子, 原料药中杂质 B 的预期水平将低于 2ppm。由

于该值低于原料药中该杂质的 TTC 限度 50ppm, 起始物料 Y 中杂质 B 的质量标准为 0.1%是合理的, 无需提交中试规模或商业规模批次的原料药批次数据。

案例 3: 方法 2 和方法 4 控制策略示例: 结构相似的致突变杂质的控制

在一个 5 步合成工艺中, 第 1 步中间体是一个硝基芳香类化合物, 可能含有低水平的杂质 C, 杂质 C 是第 1 步中间体的位置异构体且也是硝基芳香类化合物。采用常规分析方法, 第 1 步中间体中杂质 C 未检出, 但杂质 C 可能以较低的水平存在。第 1 步中间体的细菌突变试验呈阳性。第 2 步氢化反应中第 1 步中间体 99%转化为相应的芳香胺。这通过过程检测予以确认。对残留的第 1 步硝基芳香类中间体的清除情况进行了评估, 根据后续第 3 步和第 4 步工艺步骤中的清除点, 预计对第 1 步中间体有一个较高的清除因子。预计第 5 步工艺步骤中不会清除第 1 步中间体, 因此在第 4 步中间体中建立基于 TTC 限度的第 1 步中间体质量标准(方法 2 控制策略)。位置异构体杂质 C 是预计通过与第 1 步中间体相同的清除点来清除, 因此会一直远远低于第 1 步中间体的水平; 因此, 无需对杂质 C 进行检测, 且杂质 C 应用方法 4 控制策略时也可由上述理由支持, 无需提交额外的实验室规模或中试规模数据。

案例 4: 方法 4 控制策略示例: 高活性杂质

二氯亚砷是一种致突变性的高活性化合物。该试剂在一个 5 步合成工艺的第 1 步中引入。在合成过程中，多处使用了大量的水。由于二氯亚砷遇水立即发生反应，因此不可能有二氯亚砷残留至原料药中。这时适合选用方法 4 控制方式，而无需提交任何实验室规模或中试规模的数据。

指导原则实施：

鼓励 M7 公布后立即实施；但是，由于本指导原则的复杂性，因此预计 M7 在 ICH 公布 18 个月后予以执行。

以下例外情况不需要受到 18 个月时间的限制：

1. 应根据 ICH 公布的 M7 指导原则进行 AMES 测试，但是，在 M7 公布前所做的 AMES 测试不需要重复。

2. 如果研发项目在 M7 公布之前已启动 II b 和 III 期临床试验，则该项目可以继续完成直到上市申请和获批，下列是 M7 例外情况：

- o 无需要 6 节中所述的 2 个 QSAR 评估
- o 无需符合 5 节所述的产品杂质评估范围
- o 无需遵循 9 节所述的文件建议

3. 鉴于商业生产工艺的发展面临类似的挑战，上述 M7 所列的内容不适用于新上市申请（不包括 II b 和 III 期临床试验），预计直到 ICH 发布后 36 个月才会执行。

附录 3: ICH M7 附录

ICH M7 原则在化合物可接受摄入量计算中的应用

目 录

缩略语表	53
引言	57
方法	60
可接受摄入量 (AIs) 或每日允许暴露量 (PDEs)	
丙烯腈 (CAS# 107-13-1)	73
苯胺 (CAS#62-53-3) 和盐酸苯胺 (CAS#142-04-1)	83
氯化苄 (α-氯甲苯, CAS# 100-44-7)	96
二氯甲基醚 (BCME, CAS# 542-88-1)	107
对氯苯胺 (CAS# 106-47-8) 和盐酸对氯苯胺 (CAS# 20265-96-7)	114
4-硝基氯苯 (对硝基氯苯, CAS# 100-00-5)	122
对-甲酚定 (2-甲氧基-5-甲基苯胺, CAS#120-71-8)	132
二甲基氨基甲酰氯 (CAS# 79-44-7)	139
硫酸二甲酯(CAS# 77-78-1)	146
乙基氯 (氯乙烷, CAS# 75-00-3)	151
环氧丙醇 (CAS# 556-52-5)	157
肼 (CAS# 302-01-2)	163

过氧化氢 (CAS# 7722-84-1)	173
甲基氯 (氯甲烷, CAS# 74-87-3)	183
注释 1	189
注释 2	191
注释 3	193

缩略语表

AI	可接受摄入量 (Acceptable Intakes)
ATSDR	美国有毒物质和疾病登记局 (Agency for Toxic Substances & Disease Registry)
BC	苄基氯/氯化苄 (Benzyl Chloride)
BCME	双氯甲醚 (Bis(chloromethyl)ether)
BUA	在有氧条件下水中可生物降解 (Biodegradable in water Under Aerobic conditions)
CAC	美国癌症评估委员会 (Cancer Assessment Committee)
CCRIS	化学致癌研究信息系统 (Chemical Carcinogenesis Research Information System)
CHL	中国仓鼠肺成纤维细胞系 (Chinese Hamster Lung fibroblast cell line)
CICAD	简明国际化学品评估文件 (Concise International Chemical Assessment Document)
CIIT	化学工业毒理学研究所 (Chemical Industry Institute of Toxicology)
CNS	中枢神经系统 (Central Nervous System)
CPDB	致癌性数据库 (Carcinogenicity Potency Database)
CYP	细胞色素 P450 (Cytochrome P-450)

DMCC	二甲基氨基甲酰氯 (Dimethylcarbamyl Chloride)
DMS	硫酸二甲酯 (Dimethyl Sulfate)
DNA	脱氧核糖核酸 (Deoxyribose Nucleic Acid)
EC	欧盟委员会 (European Commission)
ECHA	欧盟化学品管理署 (European Chemical Agency)
EFSA	欧盟食品安全局 (European Food Safety Authority)
EMA	欧盟药品管理局 (European Medicines Agency)
EPA	环境保护署 (Environmental Protection Agency)
EU	欧盟 (European Union)
FDA	美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration)
GRAS	公认安全级 (Generally Recognized As Safe)
HSDB	有害物质数据库 (Hazardous Substance Database)
IARC	国际癌症研究署 (International Agency for Research on Cancer)
IPCS	国际化学品安全规划小组 (International Programme on Chemical Safety)
IRIS	综合风险信息系统 (Integrated Risk Information System)
JETOC	日本化学工业生态毒理学信息中心 (Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & Information Center)
JRC	联合研究中心 (Joint Research Centre)

LOAEL	最低观察到的有害作用水平（Lowest-Observed Adverse Effect Level）
MTD	最大耐受量（Maximum Tolerated Dose）
NA	不适用（Not applicable）
NC	未作计算；2002 年 WHO 未提供的个体肿瘤类型发生率（Not calculated; individual tumour type incidences not provided in WHO, 2002）
NCI	美国国家癌症研究所（National Cancer Institute）
NOAEL	未观察到有害作用水平（No-Observed Adverse Effect Level）
NOEL	未观察到作用水平（No-Observed Effect Level）
NSRL	无显著风险水平（No Significant Risk Level）
NTP	美国国家毒理计划（National Toxicology Program）
OECD	经济合作与发展组织（Organisation for Economic Cooperation and Development）
PCE	嗜多染红细胞（Polychromatic Erythrocytes）
PDE	每日允许暴露量（Permissible Daily Exposure）
RfC	参考浓度（Reference Concentration）
ROS	活性氧自由基（Reactive Oxygen Species）
SCCP	欧盟消费品科技委员会（Scientific Committee on Consumer Products）
SCCS	欧盟消费者安全科学委员会（Scientific Committee on

Consumer Safety)

SCE	姐妹染色单体交换 (Sister Chromatid Exchanges)
SIDS	筛选信息数据集 (Screening Information Dataset)
TBA	荷瘤动物 (Tumor Bearing Animal)
TD ₅₀	半数致癌剂量,以mg / kg体重/天为单位, 指在考虑对照组动物发生该类型肿瘤的频率基础上得到的会导致半数动物在该物种的标准寿命内产生肿瘤的剂量 (Chronic dose-rate in mg/kg body weight/day which would cause tumors in half of the animals at the end of a standard lifespan for the species taking into account the frequency of that tumor type in control animals)
TTC-based	毒理学关注的阈值 (Threshold of Toxicological Concern-based)
UDS	非程序性的 DNA 合成 (Unscheduled DNA Synthesis)
UNEP	联合国环境规划署 (United Nations Environmental Programme)
US EPA	美国环境保护署 (United States Environmental Protection Agency)
WHO	世界卫生组织 (World Health Organization)

引言

ICH M7 指导原则（第 7.2.1 节）讨论了具有阳性致癌性数据的致突变杂质的可接受摄入量（AIs）的推导，并指出：

“如果有足够的致癌性数据，则应采用该化合物的风险评估数据来推导其可接受摄入量，而非基于 TTC（毒理学关注阈值）推导 AIs。对于已知的致突变致癌物，化合物的可接受摄入量可以根据致癌强度和线性外推法来计算，这是一种常用的方法。或者，可以采用其他既定的风险评估方法，例如国际监管机构所采用的方法，要么计算可接受摄入量要么使用监管机构公布的已有数据。”

在本附录中，对一系列药品生产过程中常见的具有致突变和致癌性的，或者对 ICH M7¹ 中推导化合物特定的摄入量描述的原理有用的化学物质的 AIs 或日允许暴露量（PDEs）进行了推导。这些化学物质包括了一些以使用推导可致突变的致癌物质 AIs 为主要方法的化合物，该方法是 ICH M7 中计算致癌性线性外推的一种常用方法，也就是 TD₅₀。由于一些致突变和致癌的化学物质（ICH M7 归为第一类）可能并不是通过致突变的作用方式诱发肿瘤，因此附录中还包括了一些强调以替代原则去推导化合物特定摄入量（即 PDE，参见下文）的其他化合物。还有一些化合物（如苯胺）也包括在内，尽管现有的数据表明它们不具有致突变性；但是长久以来认为它们是具有遗传毒性的致癌物。

ICH M7 在 7.2.2 节中指出：“人们逐渐认识到，存在某些作用机理，剂量反应关系不完全是线性的，或需要浓度达到一定阈值，这一现象在不以 DNA（脱氧核糖核酸）为靶标的化合物和 DNA 反应性化合物中都存在。这些物质发挥效应可能会受到调节，例如，在与 DNA 接触前快速脱毒，或是诱导损伤的有效修复。在可获得相关数据的前提下，对这些化合物的监管方法可以根据未观察到的作用水平（NOEL）的识别和不确定性因素的使用（参见 ICH Q3C（R5）...）来计算它们的每日允许暴露量（PDE）。”

本附录中的例子说明了对某些归为 1 类的化学物质作用方式的评估，证明了使用 ICH Q3C（R5）（参考文献 1）中描述的使用不确定性因素来对 PDE 计算推导的合理性。这些化学物质包括可引起氧化应激的过氧化氢和诱发肿瘤产生的苯胺（继发于高铁血红蛋白血症后产生的含铁血黄素沉着）。

需要强调的是，本附录中提到的 AI 或 PDE 值是用来描述致癌性风险的。其他（例如出于质控要求方面的考虑）因素，也可能可能会影响最终产品的质量标准。例如，ICH M7 指导原则（第 7.2.2 节）指出，在计算化合物特定风险评估的可接受摄入量时，上限为 0.5%，或者，一个每日最大剂量 100mg 的药物上限为 500 μ g。

1 其中列入了一些化学物质，其性质（包括化学反应性，溶解性，挥发性，电离度）使得其在大多数合成途径中可被有效清除，因此通常针对这些物质，基于可接受摄入量的规定是不需要的。

方法

本附录中用于推导AI的一般方法包括文献综述，致癌性评估的选择[TD₅₀，来源于致癌性数据库（CPDB）（参考文献2），或使用与CPDB相同方法从已发表的研究中计算得出]，及最终在具有足够的阈值作用方式证据的情况下计算出适当的AI或PDE（参见第3节）。文献综述重点是关注与普通人群暴露（即食物，水和空气）相关的致突变性/遗传毒性，以及致癌性数据。基于ICH M7中对DNA反应性致突变物的描述，标准细菌回复突变试验（Ames试验）结果成为确认化学物是否具有致突变性的主要标准。其他遗传毒性数据，特别是体内试验数据，在评估肿瘤诱导的可能作用方式时会予以考虑。任何国家或国际监管的可接受暴露量水平的值（例如EPA、FDA、EMA、ECHA、WHO）均在化合物特定的评估中进行了详细描述。除了评估观察到的可作为致癌前病变（例如，刺激/炎症或高铁血红蛋白血症）的变化之外，未对单次给药毒性、重复给药毒性、生殖毒性和神经毒性等研究信息进行深入评估。

1. 标准方法

1.1 线性作用方式和AI计算

ICH M7 的注释 4 指出：“根据啮齿类动物致癌性数据如TD₅₀值（能够引起50%肿瘤发生率的剂量，相当于1:2的

致癌风险概率)可计算化合物特定的可接受摄入量。线性外推至十万分之一的概率(即使用可接受的终生风险水平)是通过简单地将 TD_{50} 除以 50000 来实现的。这个过程类似于推导 TTC 的过程。”

因此,对未建立“阈值机制”的 1 类杂质(已知致突变致癌物)来说, TD_{50} 值的线性外推适用于推导出 AI。“阈值机制”是对导致非线性剂量-效应曲线作用方式的一种理解。多数情况下,致癌性数据可从 CPDB 获得;结论或是基于报告原作者对致癌性研究的观点(CPDB 中的“作者观点”)或 CPDB 提供的统计分析结论。当所选择的化学物质的 TD_{50} 得到 CPDB 认可后,该值可被用于计算 AI;相关的致癌性数据不需重新分析, TD_{50} 值也不用重新计算。

如果在文献中有可靠的数据,而 CPDB 中没有,则根据 CPDB (参考文献 3)中描述的方法计算 TD_{50} 。采用 ICH Q3C 和 ICH Q3D 中假设的动物体重、呼吸量和摄水量值来计算剂量(参考文献 1, 4)。

1.2 研究的选择

虽然 CPDB 明确规定了例如实验动物暴露期间寿命比例的标准,但是 CPDB 中所列研究的质量仍参差不齐。此附录是为某些质量水平较低的研究设立可用的额外标准。质量水平较低的研究符合以下一种或多种情况:

每种性别每个剂量动物数量 < 50 只;

<3个剂量水平；
缺少同期对照组；
间歇给药（<5天/周）；
短于终生给药。

通常会使用较为完善的研究来推导限度。但是在某些情况下，某些不满足以上所有标准的研究项目，而其他方面是完善的，这样的研究也被认为能够用来推导AI，例如每周只给药3天（如，苜蓿基氯）已有研究显示更高剂量将无法耐受，即达到美国国家毒理计划（NTP）或ICH S1C（R2）（参考文献5）所定义的最大耐受剂量（MTD）。在计算效力时会将间歇或少于终生给药（例如苜蓿基氯）列入考量；举例来说，在CPDB中所显示的剂量水平是已被调整用以反映估计的每日剂量水平，这样每周共给以3次的每日剂量乘以3/7以得出平均日剂量；如果动物接受治疗的时间少于24个月，则需进行相应的调整。考虑到由TD₅₀线性外推出的可接受摄入量风险评估的高度保守性（仅增加了十万分之一的患癌风险），所以在无更完整数据的情况下，使用较不完善的数据有时是可以接受的。在这些情况下，化合物特定的评估中提供了支持建议方法的理由。

1.3 肿瘤和部位的选择

对动物种类、性别特定器官部位的最低TD₅₀是从最完善的实验研究中筛选获得的。当存在多个研究时，CPDB提供了

一个计算得到的调和平均TD₅₀值，但在本附录中，最低TD₅₀被认为是一个更为保守的估计值。汇编为“全荷瘤动物”(TBA)的数据，没有考虑从CPDB中选择合适的TD₅₀；在适当的情况下，会采用一个组织（例如肝脏）中的混合肿瘤类型（例如，腺瘤和癌），因为这提供了更灵敏的效能评估。

1.4 给药途径

ICH M7在第7.5节中指出“第7节所述的以上风险控制方法适用于所有的给药途径，通常不需要对可接受摄入量进行修正。对于特殊给药途径（如吸入给药），应根据具体情况进行逐案评估。”

此附录中，当从多种给药途径的致癌性研究中获得可靠数据，并且肿瘤的发生部位似乎与给药途径无关时，选择具有最低值的给药途径TD₅₀用于AI计算，且因此通常认为也适合所有给药途径。例外情况需要单独讨论；例如，对于强效的接触位点致癌物，可能需要特定给药途径的AI或PDE。其他毒性，如刺激性也可能限制某种途径的AI，但本附录类似于M7仅考虑致癌性。如果肿瘤被认为是部位特异性的（例如吸入暴露导致呼吸道肿瘤，而在远端部位没有肿瘤形成）并且TD₅₀低于其他途径，那么应针对该途径建立一个单独的AI（例如二甲氨基甲酰氯、胂）。

1.5 由TD₅₀计算AI

按如下方法由TD₅₀计算AI值（参见ICH M7注释4举

例)：

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

体重校准是假定任一性别的成年人体重为50kg。这种相对较低的体重较60kg或70kg的标准计算体重提供了一个额外的安全系数。体重低于50kg的成年患者，可考虑采用固有保守性（即，最敏感的器官部位的线性外推）来确定AI。

2. 关于AI计算的其他方法

2.1 人类肿瘤相关性

ICH M7的注释4指出：“作为使用啮齿类动物致癌性研究中最保守的TD50值的一种替代方法，无论其与人类的相关性如何，都可以对已有的致癌性数据进行深入的毒理学专家评估，以初步确定与人类风险评估相关性最高的结果（物种、器官等），作为推导线性外推参考点的依据。”

推导AI时需考虑已有的致癌性数据与人类的相关性。在药物杂质浓度低且无毒情况下，认为啮齿动物可见的非线性剂量反应相关的毒性作用与人类不相关。例如，对氯苯胺，诱导肿瘤最敏感的部位是脾脏，但这些肿瘤的发生与含铁血黄素沉着有关，是一种非线性剂量反应的作用方式，因此认为与人不相关，因为低剂量不引起含铁血黄素沉着。对氯苯胺引起的肝脏肿瘤具有较高的TD50，可被用于线性外推以计算AI，因为对于肝肿瘤不能排除诱变作用方式的存在。第二

种情况，认为肿瘤的发生与人不相关是因为该肿瘤与啮齿类动物特有的作用方式相关，例如甲基氯，与种属代谢差异有关。

2.2 已公布的法规限度

ICH M7的注释4还指出：“化合物特定的可接受摄入量也可以从世界卫生组织（WHO），国际化学品致癌风险评估安全规划小组（IPCS）等国际上认可的机构公布的推荐数据以及其他适当的 10^{-5} 终生风险水平推导得出。一般来说，选用的规定限度应以最新且具有科学支持的数据和/或方法作为基础。”

在本附录中，尽管描述了可用的法规限度（这里省略了职业健康限度，因为这些通常是区域性的，并且可能使用不同的风险级别），但是，为了化合物间的一致性，通常使用TD₅₀的保守线性外推法作为推导AI的主要方法，是ICH M7中的常用方法。致癌风险评估方法的细微差别会导致不同的推荐限度（例如计算中体表面积的调整），但以线性外推法作为计算的基础时，差异通常很小。

3. 非线性（阈值）的作用方式以及PDE的计算

ICH M7在7.2.2节中指出：“人们逐渐认识到，存在某些作用机理，剂量反应关系不完全是线性的，或需要浓度达到一定阈值，这一现象在不以DNA（脱氧核糖核酸）为靶标的化合物和DNA反应性化合物中都存在。这些物质发挥效应可

能会受到调节，例如，在与DNA接触前快速脱毒，或是诱导损伤的有效修复。

在可获得相关数据的前提下，对这些化合物的监管方法可以根据未观察到的作用水平(NOEL)的识别和不确定性因素的使用（参见ICH Q3C（R5）...）来计算它们的每日允许暴露量（PDE）。

以与DNA反应的化合物甲磺酸乙酯为例(参考文献6,7)，其阈值已通过体外和体内的致突变性建立。在阈值已确定的情况下，可以使用不确定因子计算PDE，代替线性外推。

基于与肿瘤诱导的非线性剂量反应的关联，这种阈值方法被认为适用于化合物特定的致癌性作用方式的评估（第2.1节），因其在低剂量下缺乏人类相关性：

引起高铁血红蛋白血症，含铁血黄素在脾脏等组织中沉积，以及继发的炎症和肿瘤的化学物质（如苯胺类化合物）；支持信息包括致突变性不是作用方式的核心，（如致突变性的证据不足，例如苯胺）；和/或缺乏位点或物种观察到体内遗传毒性（如DNA加合物）和肿瘤诱导之间相关性。

引起与局部刺激/炎症相关肿瘤（如啮齿类动物前胃肿瘤）以及接触位点致癌物的化学物质，因其低浓度无刺激性可能被认为与人暴露无关，如制药过程中可能产生的杂质（如氯化苄）；

由于存在丰富的内源性保护机制（例如过氧化氢），所

以通过氧化损伤发挥作用的化学物质在较低剂量下不会产生有害作用。

通过计算PDEs来确定具有阈值作用方式的致癌物的可接受暴露量。关于PDE的计算方法在ICHQ3C (R5) (参考文献1) 和ICHQ3D (参考文献4) 中有进一步的解释说明。

4. 基于环境中暴露的可接受限度，例如，在饮食中

ICH M7在7.5节中提到“当人类从其他来源接触更多的杂质时，如食物或内源性代谢物（例如甲醛），则更高的可接受摄入量可能是合理的。”

举例来说，甲醛口服不产生致癌性，因此监管限度是基于非癌症终点的。加拿大卫生部（Health Canada）（参考文献8），世界卫生组织国际化学品安全规划小组（WHO IPCS）（参考文献9）以及美国环境保护署（EPA）（参考文献10）推荐口服限度为 0.2mg/kg/天，或 50kg 的成年人 10mg/天。

参考文献

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:

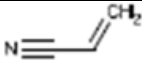
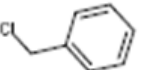
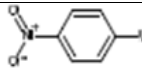
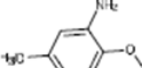
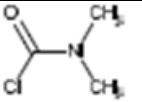
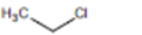
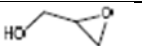
http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index_e.html

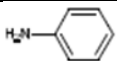
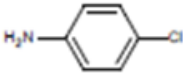
9. World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2002. Concise International Chemical Assessment Document 40. Formaldehyde. [Online].

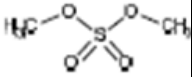
Available from: URL:
<http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad40.pdf>

10. US Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1990; Available from: URL:
<http://www.epa.gov/iris/>

可接受摄入量（AIs）或日允许暴露量（PDEs）

化合物	CAS#	化学结构式	AI 或 PDE ($\mu\text{g}/\text{天}$)	备注
从 TD ₅₀ 线性外推				
丙烯腈	107-13-1		6	TD ₅₀ 线性外推
氯化苄	100-44-7		41	TD ₅₀ 线性外推
二氯甲基醚	542-88-1		0.004	TD ₅₀ 线性外推
1-氯-4-硝基苯	100-00-5		117	TD ₅₀ 线性外推
对甲酚定	120-71-8		45	TD ₅₀ 线性外推
二甲氨基甲酰氯	79-44-7		5 0.6 (吸入)*	TD ₅₀ 线性外推
乙基氯	75-00-3		1810	TD ₅₀ 线性外推
环氧丙醇	556-52-5		4	TD ₅₀ 线性外推

肼	302-01-2	$\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$	39 0.2 (吸入)*	TD ₅₀ 线性 外推
甲基氯	74-87-3	$\text{Cl}-\text{CH}_3$	1361	TD ₅₀ 线性 外推
基于阈值的 PDE				
苯胺 盐酸苯胺	62-53-3 142-04-1		720	基于阈值 作用方式 的 PDE (含铁血 黄素沉 着)
内源性和/或环境暴露				
过氧化氢	7722-84-1	$\text{HO}-\text{OH}$	68000 或 0.5%以更低 者为准	68mg/天 为预估内 源性生成 的 1%
其他情况				
对氯苯胺 盐酸对氯 苯胺	106-47-8 20265-96-7		34	基于肝脏 肿瘤计算 的 AI, 因 其致突变

				作用方式 不能被排除
硫酸二甲酯	77-78-1		1.5	有致癌性数据，但不足以推导 AI。常用 TTC

*途径特殊限制

丙烯腈（CAS# 107-13-1）

人类接触的可能性

目前尚无丙烯腈人群暴露的可用数据。

致突变性/遗传毒性

丙烯腈在体外具有致突变性和遗传毒性，在体内可能呈阳性。

世界卫生组织（WHO）简明国际化学品评估文件（CICAD，参考文献 1）提供了丙烯腈的全面风险评估。在该文件中，氧化代谢被认为是丙烯腈产生遗传毒性作用的关键步骤，提示丙烯腈氧化物是与 DNA 反应的代谢产物。该文件还提供了一系列测试系统中遗传毒性的详细回顾（参考文献 1）并附上参考文献，这里仅总结了一些主要的结论。

丙烯腈在以下情况中具有致突变性：

细菌回复突变试验（Ames）：在使用大鼠或仓鼠肝S9条件下鼠伤寒沙门氏菌TA1535和TA100以及未经过代谢活化的几种大肠杆菌菌株的；

人淋巴母细胞和小鼠淋巴瘤细胞（有或无代谢活化条件下）中的可重复性；

通过饮水摄入而暴露的大鼠脾脏T细胞。

在体内研究中，丙烯腈的遗传毒性呈阴性或尚未定论，但已有报道显示其对肝脏DNA结合始终呈阳性，而其对脑部

的遗传毒性结论是与前者相反的。

致癌性

丙烯腈被国际癌症研究署（IARC）列为2B类，对人类可能致癌（参考文献2）。

丙烯腈是小鼠和大鼠的多器官致癌物。在大鼠中，脑是丙烯腈致癌的主要靶器官。在CPDB中引用了四项口服丙烯腈致癌性的研究结果（参考文献3），另外三项口服丙烯腈致癌的研究结果则在参考文献1中进行了总结。在这七项研究中，只有一项的结果是呈阴性的，但是这项研究仅测试了丙烯腈单一剂量的短时间暴露（参考文献4）。

基于严密的研究设计和最保守的TD₅₀值，CPDB选用NCI/NTP（国家癌症研究所）在小鼠进行的丙烯腈研究（参考文献5）用作丙烯腈口服AI的推导。在这项为期2年的研究中，雄性和雌性小鼠口服给予丙烯腈3个剂量。结果哈德氏腺肿瘤和前胃肿瘤未见有统计学意义的增加。

CPDB引用了一份出自陶氏化学公司（Dow Chemical）的报告，这是一份1980年Quast等人的研究（参考文献6），看起来最敏感的TD₅₀是雌性大鼠星形细胞瘤（5.31 mg/kg/天）。然而，这一研究在后续进行了详细的描述（参考文献7）并且在该篇报告中计算出的剂量高于CPDB中列出的剂量。Quast（参考文献7）描述了从35，100和300ppm的饮用水浓度推导

mg/kg/天的剂量，在实验中根据体重和饮水量的减少进行调整。星形细胞瘤TD₅₀是由雄性20.2mg/kg/天和雌性20.8mg/kg/天剂量得出，与CPDB中6.36和5.31mg/kg/天的计算值存在矛盾。（根据Quast的剂量估计（参考文献7）计算的前胃肿瘤的TD₅₀也高于基于同一研究的CPDB中的TD₅₀，如下表所示）。报告描述了中枢神经系统（CNS）肿瘤（参考文献7），但最敏感的TD₅₀是胃部肿瘤，如下表所示。

被认为设计相对不够严密的研究包括三项大鼠饮水研究。规模最大的研究（参考文献8）包括5个丙烯腈处理组，每个剂量组100只动物，对照组200只动物，但是每个处理组先后有20只动物死亡，分别于6、12、18和24个月发生。WHO（参考文献1）和美国EPA（参考文献9）的数据汇总显示，目前的肿瘤发生率是基于所有时间点合并的数据。因此，如果所有的动物都研究到2年，那么现在报道的肿瘤发生率可能低于将会被观察到的肿瘤总量。另外两项研究中（参考文献10-11）每项仅有两个剂量水平，并且个体的肿瘤类型未见报道（参考文献1），尽管观察到了胃部、外耳道腺以及脑部的肿瘤。

对丙烯腈通过吸入途径的致癌作用也进行了研究。每个性别每个剂量组 50 只大鼠，暴露于丙烯腈 2 年，可观察到脑部肿瘤情况（参考文献 12）。但是这项研究只测试了 2 个

剂量水平。其他丙烯腈吸入研究尽管观察到了脑部肿瘤，但在每组动物的数量、暴露持续时间或单剂量给药的实验设计方面有所欠缺。

丙烯腈—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感的肿瘤发生部位/类型/性别	TD ₅₀ (mg/kg/d)
参考文献 5*	50 只 B6C3F1 小鼠 (雌性)	2 年灌胃	50 只	3 个: 1.79; 7.14; 14.3mg/kg/d	前胃	6.77 ⁺
	50 只 B6C3F1 小鼠 (雄性)	2 年灌胃	50 只	3 个: 1.79; 7.14; 14.3mg/kg/d	前胃	5.92 ⁺
参考文献 6	~50 只 SD Spartan 大鼠 (雌性)	2 年饮水	~80 只	3 个: 2.00; 5.69; 15.4mg/kg/d	星型细胞瘤	5.31 ⁺⁺ (20.8)
	~50 只 SD Spartan 大鼠 (雄性)	2 年饮水	~80 只	3 个: 1.75; 4.98; 14.9mg/kg/d	胃部、非腺体状	6.36 ⁺⁺ (9.0)
参考文献 7(参考文献 6 的报道)	~50 雌性 SD Spartan 大鼠	2 年饮水	~80 只	3 个: 4.4; 10.8; 25mg/kg/d	胃部、非腺体状	19.4
	~50 雄性 SD Spartan 大鼠	2 年饮水	~80 只	3 个: 3.4; 8.5; 21.3mg/kg/d	胃部、非腺体状	9.0
参考文献 8 [¥]	100 只雄性大鼠	~2 年饮水	~200 只	5 个: 0.1-8.4 mg/kg/d	脑部星型细胞瘤	(22.9) ⁺
	100 只雌性大鼠	~2 年饮水	~200 只	5 个: 0.1-10.9 mg/kg/d	脑部星型细胞瘤	(23.5) ⁺

参考文献 11 [¥]	100/性别 大鼠	19-22 个 月饮水	~98 只	2 个: ~0.09; 7.98 mg/kg/d	胃部、外耳 道腺、脑 部、脊髓	NC
参考文献 10 [¥]	50 只/性别 大鼠	18 个月饮 水	无	2 个: 14; 70mg/kg/d	脑部、外耳 道腺、前胃	NC
参考 文献 13	20 只雄性 CD 大鼠	两年饮水	无	3 个: 1; 5; 25 mg/kg/d	外耳道腺	30.1
参考 文献 4	40 只/性别 SD 大鼠	一年 3 天/周 灌胃	75 只/ 性别	1 个: 1.07 mg/kg/d	各性别均 阴性	不适用
参考 文献 12	100 只/性别 SD Spartan 大 鼠	两年 6 小时/天 5 天/周 吸入	~100 只	2 个: M: 2.27; 9.1 F: 3.24; 13.0 mg/kg/d	脑部 星型细胞 瘤 雄性	32.4
参考 文献 4	30 只/性别 SD 大鼠	1 年 5 天/周 吸入	30 只	4 个: 雄 性 : 0.19 ; 0.38; 0.76; 1.52 雌 性 : 0.27; 0.54; 1.0; 2.17mg/kg/d	大脑胶质 瘤/雄性	19.1
参考 文献 4	54 只雌性 SD 大鼠	两年 5 天/周 吸入	60 只	1 个: 11.1mg/kg/d	大脑胶质 瘤	(132) ^Ψ

除另有说明，以上所列的研究均在CPDB中（参考文献3）。

TD₅₀值代表最敏感的肿瘤部位的TD₅₀。

括号中的TD₅₀值被认为是相对不太可靠的，见脚注中的注释。

*选择用于允许摄入量（AI）计算的致癌性研究；在CPDB中。

[^]NC =未计算，因为WHO未提供单个肿瘤类型的发生率（参考文件1）。

⁺TD₅₀值是根据星形细胞瘤发生率计算的（参考文献1），星形细胞瘤是世界卫生组织（WHO）认为最重要的发生部位。连续取样减少了暴露2年的动物的数

量，因此肿瘤发生率存在被低估的可能。

⁺⁺摘自CPDB。需要注意的根据作者的剂量计算（参考文献7）Spartan大鼠星形细胞瘤和胃部肿瘤的TD₅₀值（20.8和9.0）高于CPDB中的值。

NA=不适用。

[¥]未出现在CPDB中。在参考文献1和9总结。

[¥]单剂量水平的研究。

致癌作用方式

虽然丙烯腈致癌的作用机制仍未定论，但不能排除DNA相互作用带来的影响（参考文献1）。在大鼠的多种致癌性研究中，除了前胃肿瘤外，还观察到CNS肿瘤；前胃肿瘤也是小鼠中最敏感的肿瘤类型。

前胃肿瘤与局部刺激和炎症有关，Quast（参考文献7）指出，这些大鼠中发生的肿瘤与增生和/或角化不良与其他炎症和退行性改变之间存在典型的关联。在啮齿类动物口服给予高浓度丙烯腈所导致的前胃肿瘤，是一种接触部位效应，可能与人体暴露不相关，因为低浓度下未见刺激性（参考文献14）。丙烯腈不仅仅是一种接触部位型致癌物质。除了可能直接暴露的组织（如胃肠道和舌头）之外，在中枢神经系统中亦可见肿瘤的形成。大鼠以饮水的形式摄入丙烯腈，以及小鼠通过灌胃后，均可形成前胃肿瘤。丙烯腈的AI推导是基于小鼠前胃肿瘤。

法规和/或已发布的限度

基于大鼠饮水研究中多器官肿瘤的发生情况，EPA（参

考文献 9) 计算了 1/100,000 风险水平下, 口服斜率因子为 0.54/mg/kg/天, 饮用水限度为 0.6µg/L。这种饮用水限度等同于体重 50kg 的人 1µg/day 的每日剂量。

可接受摄入量 (AI)

选作计算 AI 研究的理由

吸入和口服研究 (灌胃和饮水) 都是可适用的。两种给药途径都可见中枢神经系统肿瘤, 且丙烯腈能经过所有暴露途径迅速地被吸收, 并遍布整个被研究的组织中 (参考文献 1), 因此认为明确丙烯腈吸入途径的 AI 不是必要的。EPA (参考文献 9) 对丙烯腈饮用水限度推导使用的所有致癌性研究都进行了审评 (参考文献 9), 选择了最严谨的致癌性研究来推导 AI。NCI/NTP 的研究 (参考文献 5) 是基于口服给予雄性和雌性小鼠丙烯腈得到的 TD₅₀ 来计算可接受摄入量的, 因为具有最低 TD₅₀ 的肿瘤类型是雄性小鼠的前胃肿瘤, 其 TD₅₀ 值为 5.92mg/kg/天。正如方法部分第 2.2 节所言, TD₅₀ 的线性外推法在这里被用来推导 AI, 预计其方法学上的细微差异会导致不同的计算限度。因此下面计算出的潜在药物杂质的 AI 略高于 EPA (参考文献 9) 中关于饮用水的结果。

可接受摄入量计算

$$\text{终生可接受摄入量} = \text{TD}_{50} / 50,000 \times 50\text{kg}$$

$$\text{终生可接受摄入量} = 5.92 \text{ (mg/kg/day)} / 50,000 \times 50\text{kg}$$

终生可接受摄入量= 5.9 µg/day (6 µg/day)

参考文献

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.
8. 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.
9. 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
10. 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.
11. Bio/Dynamics Inc. Monsanto Company, Division of Biology

and Safety evaluation. 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.

12. 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.

13. Gallagher GT, Maull EA, Kovacs K, Szab S. Neoplasms in rats ingesting acrylonitrile for two years. J Am Col Toxicol 1988;7:603-15.

14. 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.

苯胺（CAS#62-53-3）和盐酸苯胺（CAS#142-04-1）

人类接触的可能性

苯胺天然存在于某些食物中（如：玉米、谷物、豆类、茶），但更多来源于工业环境。

致突变性/遗传毒性

苯胺在沙门氏菌回复突变试验（Ames）中不具有致突变性。

将苯胺列入此附录是因为历来认为苯胺是一种具有遗传毒性的致癌物，苯胺的一些体外和体内遗传毒性试验结果呈阳性。

在沙门氏菌5株标准株或是大肠杆菌WP2 *uvrA*中，无论是否加入S9，苯胺均不存在致突变性（参考文献1-8）。

在小鼠淋巴瘤 L5178Y细胞 *Tk*基因突变试验中，苯胺在非常高的浓度下（如0.5-21mM）不论是否加入S9，均呈阳性（参考文献9-11）。

染色体畸变试验得出的是未定论的结果，既有呈阴性的报道，也有报道表明在非常高的细胞毒性浓度下（例如，5-30mM）不论是否加入S9进行代谢活化，均会在仓鼠细胞系中产生阳性（参考文献1, 12- 15）。

在体内试验中，雄性CBA小鼠每天两次腹腔内注射(i.p.)剂量380mg/kg苯胺后（参考文献16），骨髓中的染色体畸变没有增加；但是有报告称雄性PVR大鼠口服500mg/kg剂量18

小时后染色体畸变有少量增加（参考文献17）。

大多数关于苯胺的微核诱导研究表明，小鼠（参考文献18-21）、大鼠（参考文献17、22）口服或腹腔注射苯胺后骨髓中结果呈阳性，并且大于300mg/kg的高剂量中最为常见。在膳食中持续90天接触500,1000和2000ppm的苯胺与雌性、雄性B6C3F1小鼠外周血微核的增加有关（参考文献23）。

体内试验中，单次腹腔注射苯胺61-420mg/kg（参考文献24-25）24小时后，雄性Swiss小鼠的骨髓中可观察到姐妹染色单体交换（SCE）有轻微的增加，最大可超出背景数据的2倍。此项研究中采用碱性洗脱法测定小鼠骨髓未见DNA链断裂。

致癌性

苯胺被IARC列为3类，对人类的致癌性尚未归类。

染料工业从业人员的膀胱癌最初被认为与苯胺接触相关，随后被认为与生产苯胺染料的中间体接触相关，例如β-萘胺、联苯胺以及其他胺。化学工业毒理学研究所（CIIT，参考文献26）进行了一项研究，盐酸苯胺采用喂饲法分别在0、200、600和2000ppm的水平给予CD-F大鼠（130只/性别/组）2年，结果仅在高剂量组的雄性大鼠中观察到原发性脾脏肉瘤的发生率增加。基于此研究3个剂量组和大规模组（130只/性别/组）的可靠研究设计，这一研究被选择用于计算苯胺的PDE。

CIIT的研究结果与美国国立癌症研究所（NCI）盐酸苯胺

喂饲法研究结果一致，其中雄性大鼠包括脾脏在内的多个器官中的血管肉瘤有所增加，并且恶性嗜铬细胞瘤的发生率与剂量呈现重要的相关性趋势。在小鼠中（参考文献27），高剂量下未见任何类型的肿瘤发生有统计学意义的增加。

一项较不全面的研究设计试验结果显示苯胺本身不会诱导大鼠的肿瘤形成（参考文献28）。

苯胺及盐酸苯胺—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感的肿瘤发生部位/类型/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献26*盐酸苯胺	130 只/性别/组，CD-F 大鼠	2 年，喂饲	130	3 个：200,600, 和 2000ppm 食物中（雄性；7.2;22;72 mg/kg/d）	脾脏肉瘤（高剂量）。低剂量时无明显作用水平	未报道
参考文献27**盐酸苯胺	50 只/性别/组，F344 大鼠	103 周（实验107-110 周），喂饲	50 只	2 个：3000 和 6000ppm 食物中（雌：144;268；雄：115;229mg/kg/d）	脾血管肉瘤/雄性	160（雄性）
参考文献27**盐酸苯胺	50 只/性别/组 B6C3F1 小鼠	103 周（实验107-110 周），喂饲	50 只	2 个：6000 和 12000ppm 食物中（雌：741;1500 雄：693;1390mg/kg/d）	阴性	NA
参考文献28**盐酸苯胺	10-18 只/组，雄性 Wistar 大鼠	80 周喂饲	有	3 个：0.03,0.06 以及 0.12% 食物中（15;30;60mg/kg/d）	阴性	NA

*用于 PDE 计算的致癌性研究。未列入 CPDB。

**来自 CPDB（参考文献 29）。TD₅₀ 值代表由最敏感肿瘤部位得到的 TD₅₀ 值。

NA=不适用。

致癌性的作用方式

在动物实验中，高剂量苯胺能引起高铁血红蛋白症和溶血，后者可通过诱导红细胞生成间接导致微核的增加（参考文献19、30-31）。在大鼠和小鼠中均能诱导微核的形成，但是苯胺诱导的肿瘤只见于大鼠，并未在小鼠中产生，增加的证据表明苯胺的遗传毒性并非引起肿瘤产生的关键作用方式。

苯胺通过自由基形成和组织损伤引起的脾脏毒性似乎是其致癌性的一个因素（参考文献32）。高剂量的苯胺（ $> 10\text{mg/kg}$ ）能引起脾脏中铁元素的蓄积，这是由苯胺与红细胞优先结合以及脾脏中受损细胞聚积引起的。脾脏中铁元素介导的氧化应激引起脂质过氧化、丙二醛-蛋白加合物的形成、蛋白氧化和转化生长因子TGF- $\beta 1$ 的上调，以上这些现象都已在经苯胺暴露的大鼠脾脏中检测到（参考文献33）。在长期接触苯胺的过程中，氧化应激的增加可能是一个持续的事件，并且可能会与在大鼠中已观测到的细胞增生、纤维化以及肿瘤发生相关（参考文献32、34）。相比与大鼠，苯胺对小鼠不产生致癌性，可能是由于苯胺对小鼠脾脏的毒性较弱（参考文献17、35）。

苯胺在大鼠体内诱导的致癌性的剂量反应呈非线性，支持了这种源于毒性的致癌作用方式（参考文献36）。在使用了相同大鼠品系的NCI和CIIT的研究中，饮食给予0.02%浓度

的盐酸苯胺未引起肿瘤的形成（大约等于7.2mg/kg/天的苯胺给予雄性）。这一点与评估脾脏中由苯胺衍生的结合放射性标记物的蓄积模式的研究（参考文献37），共同佐证了苯胺致癌性存在阈值的结论（参考文献36）。证据为支持这些肿瘤并非由主要诱变作用方式产生的结论提供了有力的支撑（参考文献38）。

法规和/或已发布的限度

EPA（参考文献 39）基于 CIIT 的一项研究（参考文献 26）以及对线性化多阶段的利用，概括了一份苯胺的量化癌症风险评估。得到了癌症效价斜率曲线为 0.0057/mg/kg/天，并且与十万分之一的终生致癌风险水平相关的剂量计算值为 120µg/天。但是，该评估指出由于苯胺在脾脏中的蓄积呈非线性，因此这种方法可能并非推导斜率因子的最佳方法（参考文献 39）。低于 10mg/kg 剂量下观察到了苯胺的最小蓄积量，并未观察到铁血黄素；根据已知观察到大鼠体内铁血黄素对脾脏肿瘤的诱导可能非常重要。

日允许暴露量（PDE）

由于大鼠脾脏中肿瘤发生呈非线性的剂量反应，苯胺不具有致突变性，且遗传毒性并非是苯胺致癌性作用方式的关键点，因此根据线性外推苯胺对该肿瘤形成的AI值是不合理的。PDE是使用ICH Q3C中定义的过程推导出来的（参考文献40）。

选作计算PDE研究的理由

使用了来自CIIT一项为期2年的大鼠致癌性研究(参考文献26)的数据。喂饲法200、600和2000 ppm的盐酸苯胺相当于7.2、22和72 mg/kg/天的苯胺剂量水平。在大剂量雄性中观察到肿瘤，并在22mg/kg/天组发现一个脾脏间质肉瘤。基于这些数据，7.2mg/kg/天的最低剂量被用来作为肿瘤的未观察到作用水平（NOEL）。

PDE的计算：(NOEL x 体重校准(kg)) / F1 x F2 x F3 x F4 x F5

ICH Q3C中提到的以下安全因素已被用于确定苯胺的PDE:

F1=5（从大鼠到人）种属间差异系数

F2=10（个体间差异系数）

F3=1（研究持续时间至少为动物寿命的一半）

F4=10（严重毒性-非遗传毒性致癌性）

F5=1（使用NOEL）

终生PDE=7.2 mg/kg/天 x 50 kg / (5 x 10 x 1 x 10 x 1)

终生PDE=720μg/day

参考文献

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 the 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.

氯化苳 (α -氯甲苯, CAS# 100-44-7)

人类接触的可能性

氯化苳的人体暴露大多是职业性的, 主要为吸入接触; 小部分暴露来源于饮用受污染的地下水。

致突变性/遗传毒性

氯化苳在体外具有致突变性和遗传毒性, 但在哺乳动物体内不具有致突变性和遗传毒性。

IARC发表了一篇专论, 对氯化苳的致突变性/遗传毒性进行了全面的综述(参考文献1)。一些关键的结论归纳如下。

氯化苳在以下情况中具有致突变性:

鼠伤寒沙门氏菌TA100回复突变试验 (Ames);

标准试验在实验室间及实验室内得出的结果都不一致, 但氯化苳在气体状态下测试时表现出致突变性升高 (参考文献2);

中国仓鼠细胞 (参考文献1)。

口服、腹腔或皮下给药后, 氯化苳均不会诱导小鼠脊髓微核产生, 但静脉注射氯化苳会导致小鼠DNA加合物的形成 (参考文献1)。

致癌性

氯化苳被列为2A类, 对人体致癌的可能性较高 (参考文献3)。

将氯化苳用玉米油配制后灌胃F-344大鼠和B6C3F1小鼠,

3次/周，给药104周（参考文献4）。大鼠剂量是0、15或30mg/kg（估算每日剂量为：0、6.4、12.85mg/kg）；小鼠的剂量0、50或100mg/kg（估算每日剂量为：0、21.4、42.85mg/kg）。大鼠中，唯一在肿瘤发生率上有统计学意义升高的是雌性大鼠高剂量组中的甲状腺C-细胞腺瘤/癌（27%，对照组为8%）。以下是关于这些甲状腺肿瘤是否与给药有关的讨论。进行了几项氯化苳的毒性研究，但仅在动物终生研究中发现C-细胞增生，并且仅存在于雌性大鼠中。

在小鼠（参考文献4）中，雄性和雌性高剂量组，前胃乳头瘤和癌（大部分是乳头状瘤）的发生率都有统计学意义的增加（分别为62%和37%，而对照组为0%。）在没有肿瘤发生的动物胃中观察到有上皮增生。给予高剂量氯化苳的雄性小鼠（而非雌性小鼠）血管瘤或血管肉瘤的发生率显著增加（10%，对照组为0%），肝脏中肿瘤或腺瘤的发生率增加仅出现在给予低剂量时（54%，对照组为33%）。氯化苳高剂量组的雌性小鼠肺泡细支气管腺瘤或癌的发生率显著增加（12%，对照组为1.9%），而雄性小鼠未见增加。

另外也有一些研究评估了氯化苳的致癌性，但被认为研究设计不够完善，不能够用来计算AI值。三项专题研究中有一项显示（参考文献5）皮肤癌发生率有所增加，但在统计学上无显著差异（15%，苳对照组为0%）。起始-促进研究用来确定氯化苳引发皮肤癌的可能性，用巴豆油和佛波酯TPA

(12-O-十四烷酰佛波醇-13-醋酸酯)作为促进剂(参考文献6-8)的持续时间有限,并且发表的报告为初步的研究结果,但文献中未找到最终结果。皮下给药后注射部位会生成肉瘤(参考文献9)。

氯化苄—致癌性研究数据

研 究 项 目	动物/剂量组	时 间/暴 露	对 照 组	剂 量	最 敏 感 肿 瘤 发 生 部 位/ 类 型/性 别	TD50 (mg/kg/ 天)
参 考 文 献 4*	52 只/性别/组 F344 大鼠	2 年 3 次/周 灌胃	52 只	2 个: 15 和 30mg/kg(6 和 12mg/kg/ 天)	甲状腺 C-细胞肿 瘤/ 雌性	40.6
参 考 文 献 4	52 只/性别/组 B6C3F1 小鼠	2 年/ 3 次/周 灌胃	52 只	2 个: 50 和 100mg/kg (21 和 42mg/kg/ 天)	前胃 乳 头 状 瘤, 雄性	49.6
参 考 文 献 5	11 只/组 雌性 ICR 小鼠	9.8 个月 3 次/周, 进 行 四 周, 然后 2 次/周 皮 肤 给 药	有(苯 治 疗)	1 个: 10 μ L	未见皮肤 瘤	未计算 [^]
参 考 文 献 5	20 只/组 雌性 ICR 小鼠	50 周 2 次/周 经皮肤	20 只 (苯 治 疗)	1 个: 2.3 μ L	皮肤鳞状 细胞癌	未计算 [^]
参 考 文 献 6	20 只/组 雄性 ICI Swiss albino 小鼠	>7 月 2 次/周 皮 肤 给 药, 甲苯	20 只	1 个: 100 μ g/只	未见皮肤 瘤	未计算 [^]
参 考 文 献 9	14 只 (40mg/kg), 和 8 只	51 周 1 次/周 皮下	有	2 个: 40 和 80mg/kg/	注射部位 可见肉瘤	未计算 [^]

	(80mg/kg) BD 大鼠			周		
参 考 文 献 7	40 只/性别/组 Theiler's Original 小鼠	10 个月 1 剂 (甲 苯); 等 待一周 促 进 剂 (巴 豆 油) 2 次/周	40 只	1 个: 1mg/只	无皮肤瘤	未计算^
参 考 文 献 8	Sencar 小鼠	6 个月 1 剂; 促 进 剂 (TPA) 2 次/周	有	3 个: 10; 100 和 1000µg/只	20%皮肤 癌 [TPA 对照组为 5%] (DMBA 对照在第 11 周出 现皮肤 瘤)	未计算^

除另有说明，以上列入的研究均出自 CPDB (参考文献10)。

*选择用于AI值计算的致癌性研究。

^ NC =未计算; 小规模组, 持续时间有限。未包括在CPDB中, 因为系统暴露可能性更大的给药途径认为更相关。

致癌作用方式

在CPDB(参考文献10)中, 用于计算氯化苄最低TD₅₀(最高效能) 的肿瘤类型是小鼠的前胃肿瘤和雌性大鼠的甲状腺C细胞肿瘤。前胃肿瘤与人体风险评估的相关性高度存疑, 因为那些低且无刺激性的剂量如可能与潜在杂质有关。

在评估对人类的风险方面, 啮齿类动物的胃部肿瘤一直是讨论的主题。认为非致突变的化学物质, 在口服给药后, 炎症和前胃接触高浓度试验物质的刺激可导致增生并最终导致肿瘤。与快速通过人食管相比, 通过灌胃引入的物质在运送到腺胃之前可以在啮齿类动物的前胃中保持一段时间。

这种肿瘤诱导在非刺激剂量下与人类无关。致突变化学物质也可见到相同的炎症和增生作用，与直接突变诱导相比，确定这些非致突变高剂量效应的作用模式的相对贡献更为复杂。然而，通常在确定的案例中，接触部位肿瘤只与导致刺激/炎症进而可能引起继发性的损害的浓度相关。由于存在非线性剂量反应，并且前胃（或其它接触部位）肿瘤的发生与低剂量人体暴露无关，所以认为细胞增殖在肿瘤发展中起重要作用。

Proctor等人（参考文献11）提出了一种前胃肿瘤发生的风险相关性系统评估方法，可以用来评估任何已知的遗传毒性是否与人体组织有潜在的相关性（包括化合物在体内是否具有遗传毒性），任何形式的口服给药后的肿瘤发生是否对前胃具有特异性，以及是否仅在刺激前胃或超过MTD的剂量下观察到肿瘤。

如上文和表中所述，大鼠和小鼠通过灌胃（前胃肿瘤），注射（注射部位肉瘤）和在敏感Sencar小鼠中通过起始-促进模式皮肤局部给药暴露于高剂量的氯化苄主要引起接触部位的肿瘤发生。经济合作与发展组织（OECD）在化学品筛选信息数据集（SIDS）中的报告指出，氯化苄在急性和重复剂量研究中对皮肤，眼睛和粘膜有强烈的刺激性（参考文献12）。雄性大鼠口服给药3次/周，剂量>250mg/kg，雌性>125mg/kg，10只Fischer 344雌性和雄性大鼠2-3周内死于重度急性和慢

性前胃胃炎伴有胃溃疡（参考文献4）。在较低剂量的雌性大鼠中观察到的增殖性变化包括前胃增生（62mg/kg）和角化过度（30mg/kg）。在致癌性研究中，小鼠前胃肿瘤的发生率较高，Lijinsky等（参考文献4）在亚慢性剂量探索实验中也观察到大鼠前胃非肿瘤性病变，但在大鼠致癌性试验中很少发现。由于剂量-反应曲线的陡峭性以及建立大鼠MTD的困难，作者推测大鼠研究中使用的剂量有可能过低而不能诱导大鼠的显著致癌效应。

关于氯化苳，除了接触部位之外，还讨论了其它可能与给药相关的肿瘤类型。在小鼠口服生物测定中，Lijinsky将除了前胃肿瘤之外的致癌作用表征为“边缘”，其包括雄性内皮细胞肿瘤，和雌性小鼠肺泡细支气管肿瘤的增加（这些都不具有统计学显著性），以及仅在低剂量雄性小鼠中的肝细胞肿瘤的增加（因为与剂量无关，该肿瘤类型未被考虑）。值得注意的是，OECD SIDS（参考文献12）报告在小鼠中进行了为期26周的口服毒性试验，观察到重度至中度剂量相关的肝脏增生。

雄性小鼠（TD₅₀ 454mg/kg/天）的循环系统血管瘤/血管肉瘤和雌性大鼠（TD₅₀ 40.6mg/kg/天）的甲状腺C细胞腺瘤或癌显著增加。高剂量组雌性大鼠甲状腺C细胞肿瘤水平高于雌性同期对照组（14/52，对照组为4/52），与雄性同期对照组相似（12/52）。在雄性中，甲状腺C细胞肿瘤水平低于对

照组大鼠。来自NTP研究的Fisher 344大鼠的历史对照数据的汇编（参考文献13-14）中，雄性和雌性在该大鼠品系中显示相当水平的C细胞腺瘤叠加癌，尽管雄性范围更广。因此，用氯化苳处理的雌性大鼠的甲状腺肿瘤水平与雌雄对照进行比较可能是合理的，尽管它们高于当时被引用的历史对照范围（10%），但是仍需质疑雌性甲状腺肿瘤是否与给药相关。

法规和/或已公布的限度

EPA（参考文献15）推导的口服斜率因子为 1.7×10^{-1} （mg/kg）/天，相当于使用EPA假设的2μg/L或约4μg/天的十万分之一的风险水平。

可接受摄入量（AI）

选作AI计算研究的理由

氯化苳潜在致癌作用的最有力的评估是Lijinsky等人利用口服给药的一项研究（参考文献4）。在这项研究中，动物每周给药3天，而不是NCI/NTP经典研究中的每周5天。然而，总体而言，这项大鼠研究被认为足以计算AI，因为有证据显示最高剂量接近最大耐受剂量。在同一份报告（参考文献4）中描述的为期26周的剂量探索研究中，每种性别给药125或250mg/kg（每周3天），所有10只大鼠都在2-3周内死亡。死亡原因是前胃重度胃炎和溃疡，在许多个体中还有心肌坏死。在62mg/kg剂量下，26只雌性中只有4只存活到26周，并且观察到心肌坏死和前胃增生；在30mg/kg剂量下，一些雌性动物

观察到前胃角化过度。在氯化苳剂量为62mg/kg时，雌性和雄性的体重增加均有下降，在雄性中具有显著性。因此，选择用于致癌性研究的高剂量是30mg/kg（每周3次）。在这个剂量下，在2年致癌性研究中与对照组的存活率没有差别，但是3只雄性大鼠有鳞状细胞癌和前胃乳头状瘤，所以不可能选择更高的剂量进行终生研究。如方法2.2部分所述，TD₅₀的线性外推法用于推导AI。

如上所述，氯化苳作为药物中低含量的杂质，在人体内造成接触部位肿瘤的风险极低，也远低于可引起刺激/炎症的浓度。因此，观察到的雄性小鼠前胃肿瘤与AI计算不相关。雌性大鼠甲状腺C细胞肿瘤的意义也是值得怀疑的，因为这些肿瘤常见于对照大鼠中。然而，虽然这些肿瘤的来源不明，但仍使用甲状腺C细胞肿瘤来推导AI，因为它们与最低的TD₅₀：40.6mg/kg/天相关。

AI的计算

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

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

$$\text{终生AI} = 40.6 \text{ }\mu\text{g/天 (41 }\mu\text{g/天)}$$

参考文献

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/OECDSIDS/ 100447. pdf](http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSIDS/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

二氯甲基醚（BCME，CAS# 542-88-1）

人体接触的可能性

本品为工业使用，主要通过吸入暴露，因其在环境中快速降解所以环境暴露非常小，有报道显示环境空气或水中未检测到BCME（参考文献1）。

致突变性/遗传毒性

BCME在体外和体内均具有致突变性和遗传毒性。

BCME的致突变性表现在：

鼠伤寒沙门氏菌回复突变试验（Ames），鼠伤寒沙门氏菌（参考文献2）。

在体内，大鼠吸入BCME6个月不会引起骨髓细胞的染色体畸变（参考文献3）。在接触BCME的工人的外周淋巴细胞中观察到染色体畸变发生率略有增加（参考文献4）。

致癌性

BCME被EPA列为A类，是已知人类致癌物（参考文献5），被IARC列为1类，对人类有致癌作用。

如上所述，大量的流行病学研究表明，接触BCME的工人（通过吸入）患肺癌的风险有所增加。在吸入暴露之后，BCME对大鼠和小鼠的呼吸道具有致癌性，如以下研究所述：

由于有最完善的研究设计和最低的TD₅₀值，Leong等人的研究（参考文献3）被用来推导AI值。将一组雄性Sprague-

Dawley大鼠和Ha/ICR小鼠通过吸入暴露于1, 10和100ppb的BCME, 6小时/天, 每周5天, 持续6个月, 在其自然的生命周期内进行观察(大约2年)。6个月的暴露期结束时, 对死亡的大鼠进行评估, 结果显示在血液学、肺洗脱细胞学检查或骨髓细胞的细胞遗传学参数中未见异常。然而, 已经暴露于100ppb BCME(7780ng/kg/天, 或~8μg/kg/天)的存活大鼠中, 有86.5 % 大鼠随后发生鼻肿瘤(神经上皮瘤, 嗅上皮肿瘤, 类似于罕见的人神经母细胞瘤), 大约4 % 大鼠发生肺腺瘤。在暴露于10或1ppb BCME的大鼠中未观察到肿瘤。暴露于100ppb BCME的小鼠未形成鼻部肿瘤, 但在对照组小鼠中肺腺瘤的发生率显著增加。暴露于10或1ppb BCME的小鼠肺腺瘤的发生率无显著增加。

在吸入研究中, 将雄性Sprague-Dawley大鼠以0.1ppm (100ppb) 的单剂量水平暴露于BCME, 6小时/天, 5天/周, 持续10, 20, 40, 60, 80或100天, 在其剩余的生命周期中进行观察(参考文献7)。与对照组相比, 给药组动物中几种类型的呼吸道肿瘤的发生率显著增加。

BCME是可引起接触部位的致癌物, 对小鼠产生注射部位肉瘤(参考文献8)和皮肤瘤(参考文献9); 皮下给予BCME能诱导新生小鼠产生肺腺瘤(参考10)。

二氯甲基醚（BCME）—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感肿瘤发生部位/类型/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 3*	~104 只/组 SD 大鼠, 雄性	28 周 6h/天 5 天/周 吸入	104 只	3 个: 1; 10; 100ppb (53;528;7780ng/kg/天)	鼻腔通道嗅上皮瘤	0.00357
参考文献 3	138-144 只 / 组 小鼠, 雄性 ICR/Ha	25 周 6h/天 5 天/周 吸入	157 只	3 个: 1; 10; 100ppb (0.295;2.95;33.6 ng/kg/天)	肺腺瘤	无显著增加
参考文献 7	30-50 只给以相同浓度不同给药时间, 雄性 SD 大鼠	6h/天 5 天/周 10、20、40、60、80 和 100 的暴露量吸入	240 只	1 个: 0.1ppm	肺和鼻腔癌	NC [^]
参考文献 7	100 只/组 雄性 Syrian 金黄地鼠	寿命 6h/天 5 天/周 吸入	NA	1 个: 1ppm	一种肺部未分化的肿瘤	NC [^]
参考文献 9	50 只/组 雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	424-456 天 一周一次 腹腔	50 只	1 个: 0.114mg/kg/天	肉瘤(在注射部位)	0.182

除非另有说明, 列入的研究均在CPDB (参考文献11) 中。

*选择用于AI计算的致癌性研究

[^]NC =未计算, 因致癌性实验设计非标准。不在CPDB中。

NA =不可用, 由于研究中未体现对照组。

致癌性的作用方式

BCME是具有致突变性的致癌物, 其可接受摄入量通过TD₅₀线性外推计算得到。

法规和/或已公布的限度

EPA (参考文献5) 根据Kuschner等人 (参考文献7) 的吸

入研究数据的线性化多级建模，计算出口腔癌斜率因子为220 mg/kg/天。十万分之一终生致癌风险的吸入（和口服）剂量是3.2ng/天（吸入 1.6×10^{-8} mg/m³，口服暴露 1.6×10^{-6} mg/L）。

可接受摄入量（AI）

选作AI计算研究的理由

BCME是体外诱变剂，在动物和人体中均可引起癌症，并被列为已知的人类致癌物。尚无BCME的口服致癌性研究，因此腹腔注射和吸入研究被认为是建立AI的依据。在吸入致癌性研究（参考文献3）中，最敏感的终点是雄性大鼠鼻腔肿瘤（嗅神经母细胞瘤/嗅神经上皮细胞瘤）的增加，其TD₅₀为3.57μg/kg/天。由TD₅₀值通过线性外推获得的AI值为~4ng/天，基本上与美国EPA推荐的3.2ng/天相同。该研究（参考文献3）具有可靠的设计，具有多个剂量水平，每个剂量组> 50只动物。

相比吸入暴露，其他部位肿瘤的证据尚且不足；以上引用的研究（参考文献10）描述了如果皮肤接触的同时有吸入的可能，则皮肤接触或许并非新生小鼠肺部肿瘤的决定性因素。然而，通过吸入途径数据得到的AI被认为适用于其他途径，因为它高度保守（暴露的数量级低于默认的TTC 1.5μg/天）。AI也与EPA（基于吸入数据）推荐的吸入和摄入（饮用水）BCME（4ng/天vs 3.2ng/天）的限值类似。

AI的计算

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

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

终生 AI = **$0.004 \mu\text{g/天}$ or 4 ng/天**

参考文献

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/>

对氯苯胺 (CAS# 106-47-8) 和盐酸对氯苯胺 (CAS# 20265-96-7)

人类接触的可能性

工业接触主要来自染料、纺织、橡胶和其他行业（参考文献1）。如果释放到环境中，在有氧条件下，这两种物质在水中是可生物降解的（参考文献2）。

致突变性/遗传毒性

对氯苯胺在体外具有致突变性，而体内遗传毒性的证据有限。

WHO（参考文献3）提供了一系列测试系统中遗传毒性的详细回顾（附参考文献），这里仅总结了关键结论。

对氯苯胺在以下情况中具有致突变性：

微生物回复突变试验（Ames）：在一些实验室中观察到回复突变增加2到3倍，但在其他实验室中却未观察到。

在小鼠淋巴瘤L5178Y细胞Tk基因突变试验(参考文献3)中报道的阳性结果是略有增加，这与较高的细胞毒性有关；使用“总体评估因子”（参考文献4）评价认为其结果不符合现行标准而未呈阳性。

中国仓鼠卵巢细胞染色体畸变的小幅度增加在两个实验室之间并不一致。

在体内，小鼠单次口服180 mg/kg未见诱导微核形成，但

在300mg/kg/天剂量下，给药3天后可见小鼠微核显著增加。

致癌性

对氯苯胺被IARC列为2B类，对人体可能存在致癌作用，其对动物致癌的证据充分，而对人体致癌的证据有限（参考文献5）。

已经开展了对氯苯胺或其盐酸盐（盐酸对氯苯胺）对动物致癌性的研究。

用NTP（参考文献6）的灌胃研究来计算AI，其中盐酸对氯苯胺对雄性大鼠具有致癌性，该结论基于脾脏肿瘤发病率的增加：（肉瘤合并发生率：溶剂对照组，0/49；低剂量组，1/50；中剂量组，3/50；高剂量组，38/50）。雌雄均可见脾脏纤维化，这是一种可能发展为肉瘤的癌前病变（参考文献6-7）。在雌性大鼠中，仅在一只中剂量大鼠和一只高剂量大鼠中观察到脾脏肿瘤。雄性和雌性大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤发生率的增长可能与对氯苯胺给药有关；恶性嗜铬细胞瘤未增多。在雄性小鼠中，高剂量组的肝脏或脾脏血管肉瘤的发生率比溶剂对照组高（0mg/kg/天的发生率为4/50；2.1mg/kg/天的发生率4/49；7.1mg/kg/天的发生率为1/50；21.4mg/kg/天的发生率为10/50）。在给药的雄性小鼠中，肝细胞腺瘤或肝细胞癌（二者合并）的发生率增加；其中肝细胞癌的发生率为（0mg/kg/天的发生率3/50；2.1mg/kg/天的发生率7/49；7.1mg/kg/天的发生率11/50；21.4mg/kg/天的发生率17/50）。

雌性小鼠的致癌性结果为阴性。来自NTP（参考文献6）的最终结论是对氯苯胺对雄性大鼠有明确的致癌性证据，对雌性大鼠的致癌性尚不明确，在雄性小鼠有些致癌性证据，在雌性小鼠没有致癌性证据。

早期的一项研究将对氯苯胺添加到饲料中对大鼠和小鼠进行给药（参考文献8）。在给药组雄性大鼠中发现脾脏肿瘤，在小鼠中发现血管性肿瘤。虽然这些肿瘤的发生率强烈建议对氯苯胺具有致癌性，但美国癌症研究所认为，在这些研究条件下，关于对氯苯胺在大鼠或小鼠体内具有致癌性的证据还不充分。由于对氯苯胺在饲料中不稳定，动物接触到的对氯苯胺浓度可能低于目标浓度（参考文献3）。因此，这项研究被认为是不充分的。

对氯苯胺和盐酸对氯苯胺—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感肿瘤发生部位/类型/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 6 盐酸对氯苯胺	50 只/组 雄性 B6C3F1 小鼠	103 周 5 次/周 灌胃	50 只	3 个: 3; 10; 30mg/kg (2.1; 7.1; 21.4 mg/kg/d)	肝细胞腺瘤或癌	33.8
参考文献 6 盐酸对氯苯胺	50 只/组 雌性 B6C3F1 小鼠	103 周 5 次/周 灌胃	50 只	3 个: 3; 10; 30mg/kg (2.1; 7.1; 21.4 mg/kg/d)	阴性	NA
参考文献 6 盐酸对氯苯胺	50 只/组 雄性 Fischer 344 大鼠	103 周 5 次/周 灌胃	50 只	3 个: 2; 6; 18mg/kg (1.4; 4.2; 12.6 mg/kg/d)	脾脏纤维肉瘤, 血管肉瘤, 骨肉瘤	7.62
参考文献 6 盐酸对氯苯胺	50 只/组 雌性 Fischer	103 周 5 次/周 灌胃	50 只	3 个: 2; 6; 18mg/kg (1.4; 4.2; 12.6	无明显增加; 不确定	NA

	344 大鼠			mg/kg/d)		
参考文献 8	50 只/组 雄性 Fischer 344 大鼠	78 周(研 究时长: 102 周) 喂饲法	20 只	2 个: 250 ; 500ppm (7.7; 15.2mg/k g/d)	间充质肿瘤(纤 维瘤, 纤维肉 瘤, 血管肉瘤, 骨肉瘤, 未另说 明的恶性肉瘤) 脾脏或脾被膜	72
参考文献 8	50 只/组 雌性 Fischer 344 大鼠	78 周(研 究时长: 102 周) 喂饲法	20 只	2 个: 250 ; 500ppm (9.6 ; 19mg/kg/d)	阴性	NA
参考文献 8	50 只/组 雄性 B6C3F1 小鼠	78 周(研 究时长: 91 周) 喂饲法	20 只	2 个: 2500; 5000ppm(2 57; 275mg/kg/d)	血管瘤(皮下组 织, 脾, 肝, 肾)。所有血管瘤的 发生率均增加	非显著 (CPDB)
参考文献 8	50 只/组 雌性 B6C3F1 小鼠	78 周(研 究时长: 102 周) 喂饲法	20 只	2 个: 2500; 5000ppm(2 78; 558mg/kg/d)	血管肉瘤(肝脏 和脾脏)。合并 的血管肿瘤发 病率增加	1480

所列研究均在CPDB中(参考文献9)

*选择用于可接受摄入量计算的致癌性研究。

NA = 不适用

致癌性的作用方式

对氯苯胺可在雄性大鼠中诱发肿瘤, 如脾纤维肉瘤和骨肉瘤, 这是苯胺及其相关化学物质的典型特征。反复接触对氯苯胺会导致紫绀和高铁血红蛋白血症, 随后影响血液、肝脏、脾脏和肾脏, 表现为血液参数的改变、脾肿大以及肝脏、脾脏和肾脏中度至重度的含铁血黄素沉着症, 部分伴随有髓外造血(参考文献6、8)。这些效应继发于化合物诱导的溶血过度, 与再生性贫血相一致(参考文献3)。这一证据支持肿瘤形成的间接机制, 肿瘤形成是继发于高铁血红蛋白血症、脾纤维化和增生(参考文献10), 而不是对氯苯胺或其代谢

物与DNA直接作用诱变的结果。类似地，报道的体内微核诱变可能继发于再生性贫血/变异的红细胞生成，与苯胺类似（参考文献11、12）。

TD₅₀最低的肿瘤类型是雄性大鼠脾脏肿瘤。然而，由于这种肿瘤类型呈现非线性剂量相关性，因此不能用于计算可接受摄入量。基于非肿瘤（血液毒性）效应，世界卫生组织（参考文献3）建议可接受量为2 μg/kg/天，即体重为50公斤的人每天可接受量为100μg。尽管对氯苯胺的体外致突变性数据表明突变小幅增加，在不同实验室间不可重复，但也不能排除它是肝脏肿瘤作用方式的致突变物质。

法规和/或已公布的限度

未公布对氯苯胺或其盐酸盐的规定限度。

可接受摄入量（AI）

因不能排除对氯苯胺是雄性小鼠肝脏肿瘤作用方式的致突变物质，所以通过线性外推法从剂量为33.8mg/kg/天的TD₅₀（腺瘤和癌的组合数量）获得AI值。

可接受摄入量的计算

根据由盐酸对氯苯胺引起的雄性小鼠肝肿瘤计算

终生可接受摄入量 = TD₅₀ / 50,000 × 50kg

终生可接受摄入量 = 33.8mg / kg / 天 / 50,000 × 50kg

终生可接受摄入量 = 34 μg/天

参考文献

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.

4-硝基氯苯（对硝基氯苯，CAS# 100-00-5）

人类接触的可能性

潜在的接触方式为工业暴露。目前尚无4-硝基氯苯人群暴露的可用数据。

致突变性/遗传毒性

4-硝基氯苯在体内和体外试验中均显示出致突变性和遗传毒性。

4-硝基氯苯在以下情况下具有致突变性：

细菌回复突变试验（Ames）：在代谢活化情况下，鼠伤寒沙门氏菌TA100和TA1535中表现出致突变性，在TA1537、TA1538, TA98, and *E.coli* WP2uvrA菌株中未发现致突变性（参考文献1-4）。在4项研究的2项研究中，在未经代谢活化的TA1535菌株中也表现出弱致突变性（参考文献4）。

在雄性Swiss小鼠体内试验中发现，腹腔注射4-硝基氯苯可诱导Swiss小鼠肝、肾和脑的DNA链断裂（参考文献5-6）。

致癌性

4-硝基氯苯被IARC列为2类致癌物，其在人类的致癌性无法分类（参考文献7）。EPA认为4-硝基氯苯是B2类致癌物或人类可能的致癌物质（参考文献8）。

动物致癌性试验主要通过在大鼠和小鼠饲料中添加4-硝基氯苯（参考文献9-10）或灌胃给予雄性大鼠（参考文献12）。

为期2年的喂饲法给药研究中（参考文献9）发现，雄性

大鼠和雌性大鼠的脾脏肿瘤（纤维瘤、纤维肉瘤、骨肉瘤和肉瘤）均显著增加，并且雄性大鼠和雌性大鼠血管肉瘤均增加，雄性中剂量和高剂量组（7.7和41.2 mg/kg/day）的血管肉瘤增加具有统计学意义。脾脏出现非肿瘤性改变，如纤维化或囊性增生等。高剂量组(53.8 mg/kg/day)观察到肾上腺髓质嗜铬细胞瘤增加，其中雌鼠肿瘤发生率增加具有统计学意义。小鼠中，仅高剂量组（275.2 mg/kg/day）雌鼠肝脏血管肉瘤增加具有统计学意义。大鼠和小鼠中均观察到诸如红细胞数减少、红细胞压积降低和髓外造血等血液功能紊乱现象。

在另一项喂饲法研究中（参考文献10），通过饲料添加4-硝基氯苯方式喂养大鼠18个月，未发现其诱发CD-1雄鼠肿瘤发生。18个月喂养期间，根据毒性4-硝基氯苯进行浓度调整如下：低剂量组前3个月喂养浓度为2000 ppm，接下来2个月喂养浓度为250ppm、第6到第18个月喂养浓度为250ppm；高剂量组前3个月喂养浓度为4000 ppm，接下来2个月喂养浓度为500ppm、第6到第18个月喂养浓度为1000ppm。低剂量组和高剂量组每日暴露量分别约为17和33mg/kg。最后一次给药后6个月将大鼠处死，并进行肿瘤检查。在11种组织（肺、肝、脾、肾、肾上腺、心脏、膀胱、胃、肠、睾丸和脑垂体）中未观察到与药物处理有关的肿瘤增加。

同一实验室（参考文献10）还研究了4-硝基氯苯通过喂饲法给药18个月研究雄性和雌性CD-小鼠中的潜在致癌性。

最后一次给药后 3 个月处死小鼠，检查 12 种组织（肺、肝、脾、肾、肾上腺、心脏、膀胱、胃、肠和生殖器官）中的肿瘤生长情况。雄性和雌性小鼠中均观察到肝、肺和脾脏血管瘤的（血管瘤和血管肉瘤）剂量依赖性增加。在一项口服研究(参考文献 11)中，雄性和雌性 Sprague-Dawley 大鼠(n=60)按 5 次/周的频率经灌胃给予 4-硝基氯苯，持续给药 24 个月。雄鼠和雌鼠中均观察到以下毒性：中、高剂量组高铁血红蛋白症，高剂量组含铁血黄素沉着症和贫血。

4-硝基氯苯—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感肿瘤发生部位/类型/性别	TD ₅₀ (mg/kg/天)
参考文献 9*+	50 只/组 雄性 F344 大鼠 (SPF)	2 年 (喂饲)	50 只	3 个: 40; 200; 1000 ppm(1.5: 7.7 ; 41.2mg/kg/天)	脾脏、血管肉瘤 mg/kg/天	173.5
	50 只/组 雄性 F344 大鼠 (SPF)	2 年 (喂饲)	50 只	3 个: 40; 200; 1000 ppm(1.9: 9.8 ; 53.8mg/kg/天)	嗜铬细胞瘤/雌 性 53.8mg/kg/天	116.9**
	50 只/组 雄性 Crj:BDF1 (SPF)	2 年 (喂饲)	50 只	3 个: 125; 500; 2000 ppm (15.3: 60.1; 240.1mg/kg/ 天)	NA	
	50 只/组 雌性 Crj:BDF1 (SPF)	2 年(喂饲)	50 只	3 个: 125; 500; 2000 ppm (17.6: 72.6; 275.2mg/kg/ 天)	肝血管内皮瘤 275.2mg/kg/天	1919.9
参考文献 10	14-15 只/ 组 雄性 CD-1 大鼠	18 个月，饲料； 最后 1 次给药后 6 个月处死	16 只	2 个: 平均 17 和 33 mg/kg (参见下文) (22.6 和 45.2 mg/kg/天)	NA	173.5

	14-20 只 / 性别组 CD-1 小鼠	18 个月, 饲料; 最后 1 次给药后 3 个月处死	15 只 / 性别	2 个: 雄性: 341; 720。雌性: 351; 780 mg/kg/天	血管 (血管瘤/血管肉瘤) / 雄性	430 [^]
参考文献 11+	60 只/性别/组 Sprague Dawley 大鼠	24 个月, 5 天/周, 灌胃	有	3 个: 0.1; 0.7; 5 mg/kg/天	NA	阴性

除另有说明, 以上所列的研究均在 CPDB (参考文献 13) 中。

*选择用于计算 AI/PDE 的致癌性研究。

**根据致癌性研究数据计算 TD₅₀ (见注释 1)

+不在 CPDB 内。

[^]组织病理学仅限 11-12 个组织。

NA=不适用

致癌性的作用方式

4-硝基氯苯在大鼠 (参考文献13)、兔 (参考文献14) 和人 (参考文献15) 中被代谢还原成4-氯苯胺 (对氯苯胺)。已有研究表明对氯苯胺与4-硝基氯苯相似, 可在大鼠和小鼠中诱发血管肉瘤和脾脏肿瘤 (参考文献16)。对氯苯胺 (参考文献16) 和4-硝基氯苯 (参考文献17) 与苯胺相似, 在肝脏和脾脏血管肿瘤形成的间接机制, 是继发于红细胞氧化损伤和脾脏纤维化及增生。高铁血红蛋白症和相关毒性是4-硝基氯苯的显著毒性效应。剂量低于喂饲法 (参考文献9, 10) 的灌胃研究 (参考文献11) 发现高铁血红蛋白症和含铁血黄素沉着症, 但未发现肿瘤, 这一结果支持4-硝基氯苯诱发肿瘤的形成成为非线性机制。

TD₅₀最低的肿瘤类型是雌性大鼠的肾上腺髓质嗜铬细胞瘤 (参考文献9)。这种类型的肿瘤是F344大鼠 (尤其是雄

鼠)中的常见背景肿瘤,很多化学品处理后均可观察到这种肿瘤,其中很多化学品没有致突变性(参考文献18)。有人提出这些肿瘤的出现与多种生物化学紊乱有关,像苯胺和对氯苯胺这些对红细胞有毒的化学物质诱发嗜铬细胞瘤的作用方式,可能是继发于氧化磷酸化的解偶联(参考文献18)或缺氧。

总之,有充足证据证明非致突变的作用方式如下:

最常见的肿瘤诱发类型是那些与高铁血红蛋白症有关的肿瘤,(脾和血管肿瘤);肾上腺髓质嗜铬细胞瘤可能具有同样的异常。

肿瘤发生与剂量之间存在明显的非线性关系(根据无效应剂量和低剂量研究的阴性结果)(参考文献11)。

然而,在沙门氏菌的致突变研究中,4-硝基氯苯对沙门氏菌TA100和TA1535具有致突变性(但对TA98和其它菌株未表现出致突变性)。这可能揭示了4-硝基氯苯是诱发肿瘤的一种致突变物质,其诱变方式与4-硝基氯苯的代谢产物对氯苯胺不同,不能在各实验室中持续的检测到致突变作用,其中只有在加入大鼠肝S9的沙门氏菌TA98中的致癌性(参考文献19)具有重复性,这表明4-硝基氯苯及其代谢产物具有不同的致突变机制。缺乏体内遗传毒性数据用以评估潜在的致突变作用方式。

由于4-硝基氯苯具有致突变性,并且不能排除其致突变

作用方式，因此进行了AI计算。

法规和/或已发布的限度

无已发表的法规限度，例如EPA、WHO或美国有毒物质与疾病登记局（ATSDR）发布的限度数据。

可接受摄入量计算

最敏感的TD₅₀是雌性大鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤（参考文献9）。

终生可接受摄入量=TD₅₀/50,000 x 50 kg

终生可接受摄入量=117 mg/kg/day /50,000 x 50 kg

终生可接受摄入量=117 µg/day

参考文献

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 (USEPA). 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>

对-甲酚定（2-甲氧基-5-甲基苯胺，CAS#120-71-8）

人体接触的可能性

潜在的接触方式为工业暴露。缺乏普通人群暴露的数据。

致突变性/遗传毒性

对-甲酚定在体外具有致突变性/遗传毒性，在体内的遗传毒性证据尚不充分。

对-甲酚定的致突变性表现在：

几种沙门氏菌菌株在代谢活化的情况下(参考文献1-3)。

携带lam dacII基因的Big Blue转基因小鼠模型;喂饲法对-甲酚定给药剂量为0.25和0.5%，与致癌性研究中的剂量相当，持续180天（参考文献4）。

体内研究显示，对-甲酚定不会诱导正常小鼠（参考文献5-7），或p53杂合子或缺失小鼠（参考文献8）骨髓微核形成。在另一项p53杂合小鼠研究中，微核的增加可能继发于高铁血红蛋白血症和再生障碍性贫血，与苯胺类化合物类似（参考文献9）。

在包括膀胱在内的几种组织中使用碱性洗脱方法未观察到DNA链断裂（参考文献6;7），但是小鼠在口服对-甲酚定后，可通过彗星试验检出膀胱粘膜DNA链断裂，而其他组织中未检出（参考文献10）。

致癌性

对-甲酚定被 IARC 列为 2B 类致癌物，为可能的人类致

癌物（参考文献 11）。

标准啮齿类动物模型中只有一组致癌性研究。在NTP研究中（参考文献5），Fischer 344大鼠和B6C3F1小鼠终生研究中，喂饲法给予对甲酚定能诱发肿瘤。尚无其他暴露途径的致癌性可用数据。

喂饲法给予对-甲酚定，每个种系50例雄性和50例雌性。每个性别50只对照动物。食物中对-甲酚定的浓度为0.5或1.0%，但小鼠的给药浓度在21周后降低至0.15和0.3%。CPDB中将剂量水平转换为mg/kg/天（参考文献12）则雄性大鼠为198和368mg/kg/天；雌性大鼠为245和491mg/kg/天；雄性小鼠为260和552mg/kg/天，雌性小鼠为281和563mg/kg/天。

除高剂量组雄性小鼠外，所有剂量组的动物均在饮食中给予对-甲酚定104周，并额外观察最多2周。所有高剂量雄性小鼠在第92周末全部死亡。这两个种系的雌性和雄性动物的死亡率都是剂量相关的。对于某些肿瘤，低剂量组的肿瘤发生率高于高剂量组，可能是由于高剂量组加速死亡所致。

在雌性和雄性给药大鼠中，可见膀胱癌（合并乳头状癌，鳞状细胞癌，移行细胞乳头状瘤，移行细胞癌和未分化癌的发生率）和嗅神经母细胞瘤发生率有统计学差异。在低剂量雄性大鼠中，肝脏，肝细胞癌或混合肝/胆管癌的肿瘤结节合并发生率也有显著差异。在给药组的雌雄小鼠中，膀胱癌（癌，鳞状细胞癌和移行细胞癌的合并发生率）发生率是显著的。

在给药的雌性小鼠中，肝细胞癌的发生率是显著的。

总之，对-甲酚定对Fischer 344大鼠具有致癌性，导致两个性别的动物中膀胱癌和膀胱乳头状瘤的发生率增加，两个性别动物中嗅神经母细胞瘤以及雄性动物中肝肿瘤的发生率增加。对-甲酚定对B6C3F1小鼠具有致癌性，导致两个性别的动物膀胱癌以及雌性动物肝细胞癌发生。

在 $p53^{+/-}$ 半合子小鼠的短期致癌性模型中也可见膀胱肿瘤的发生。在一项以小鼠作为模型的大型实验室间评估研究中，用对-甲酚定作为阳性对照（参考文献 13）。

19项研究中，有18项研究通过灌胃以400mg/kg/天的剂量给予对-甲酚定26周，另一项研究是在喂饲法中给予对-甲酚定。

对-甲酚定—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感肿瘤部位/类别/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 5*	50 只/性别/组 B6C3F1 小鼠	2 年 喂饲法	50 只	2 个: 0.5 和 1% 21 周后降低至 0.15 和 0.3%。 雄性: 260;552。 雌性: 281;563mg/kg/天	膀胱/雄性	44.7
参考文献 5	50 只/性别/组 Fisher344 大鼠	2 年 喂饲法	50 只	0.5 和 1% 雄性: 198;396。 雌性: 245; 491mg/kg/d	膀胱/雄性	88.4

*选择用于AI计算的致癌性研究。

所列研究都来自CPDB（参考文献12）。

致癌性的作用方式

对-甲酚定是一种具有致突变性的致癌物，可接受摄入量由TD₅₀线性外推计算而得。

法规和/或已发布的限度

尚无相关法规限度。

可接受摄入量（AI）

选作计算 AI 研究的理由

对-甲酚定唯一充分的致癌性研究是由NCI / NTP进行的，并在CPDB中报道（参考文献5）。由于最敏感的TD₅₀基于雄性小鼠的膀胱肿瘤，因此选择该研究用于推导AI值。

AI的计算

在NCI/NTP研究中，雌雄大鼠、小鼠的膀胱具有最敏感的TD₅₀。雌性大鼠的TD₅₀为110mg/kg/天，雄性大鼠为88.4mg/kg/天；雌性小鼠的TD₅₀为69mg/kg/天，雄性小鼠为44.7mg/kg/天。雄性小鼠的AI值最保守。

终生AI计算如下：

终生AI = TD₅₀/50,000 x 50 kg

终生 AI= 44.7 mg/kg/天 /50,000 x 50 kg

终生AI= 45 µg/天

参考文献

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;11Suppl12:1-158.
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;7Suppl 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 λ 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 nissacodyl: 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 Suppl7 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. ToxicologicPathol 2001; 29Suppl:30-50.

二甲基氨基甲酰氯 (CAS# 79-44-7)

人类接触的可能性

潜在的接触方式为工业暴露。缺乏普通人群暴露的数据。

致突变性/遗传毒性

二甲氨基甲酰氯 (DMCC) 在体外和体内均认为具有致突变性和遗传毒性。

DMCC在以下情况中具有致突变性:

鼠伤寒沙门氏菌 TA100、TA1535、TA1537、TA98 和 TA1538, 有或无代谢活化条件下 (参考文献1-2);

体内微核试验显示阳性结果 (参考文献3)。

致癌性

DMCC 被 IARC 列为 2A 类, 对人类致癌的可能性较高 (参考文献 4)。

在一项针对DMCC暴露6个月至12年不等的小样本工人研究中, 未发现DMCC有足够的致癌性证据, 但有证据表明DMCC在啮齿类动物中能诱发肿瘤。

由于缺乏口服研究, 因此考虑采用吸入和腹腔内给药数据用于 AI 推导。

Syrian金黄地鼠吸入1 ppm DMCC, 6h/天、5天/周, 直至生命结束或濒死安乐死 (参考文献5)。在55%的Syrian金黄地鼠中可发现鼻腔鳞状细胞肿瘤, 而在对照组或历史对照组

中未发现自发的鼻腔肿瘤。当考虑早期死亡率时，计算荷瘤动物的百分比为75 %（参考文献5）。

在雌性ICR/Ha Swiss小鼠中，通过皮肤给药、皮下注射和腹腔注射（ip）测试DMCC的致癌性（参考文献6；选择该研究用于AI）。皮肤给药时，DMCC按2mg/次，3次/周的剂量给药共492天，可观察到40/50只小鼠诱导出乳头状瘤，30/50只小鼠诱导出癌。皮下注射时，剂量为5mg/周，每周1次，共注射427天。皮下注射给药后，在36/50和3/50只小鼠分别观察到肉瘤和鳞状细胞癌。腹腔注射时，每周注射1mg DMCC，共注射450天。在14/30只小鼠中诱导出肺乳头状肿瘤，在9/30只小鼠中诱导出局部恶性肿瘤（8/30为肉瘤）。在对照组中，皮肤给药组没有观察到肿瘤；皮下注射组1/50只小鼠观察到肉瘤；腹腔注射组1/30只小鼠观察到癌，10/30只小鼠观察到肺乳头状瘤。总体而言，只有局部（注射部位）肿瘤显著增加，远离注射部位的肿瘤与对照组相比未见显著增加。

二甲基氨基甲酰氯—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	暴露/时间	对照组	剂量	最敏感肿瘤部位/类别/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 6*	50 只雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	64 周 1 次/周 腹腔给药	30 只	1 个: 1mg/kg 5.71 mg/kg/d	注射部位: 恶性肿瘤/雌 性	4.59 ^{^^}
参考文献 5**	99 只雄性 叙利亚金仓 鼠	生存期 6h/天 5 天/周 吸入给药	50 假 手术对 照 200 不处理	1 个: 1ppm 0.553 mg/kg/d	鼻腔鳞状细胞 肿瘤	0.625

			对照			
参考文献 6	50 只 雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	70 周 3 次/周 皮肤涂擦法	50 只	1 个: 2mg	皮肤: 刺瘤和 肿瘤/雌性	NA [^]
参考文献 6	50 只 雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	61 周 1 次/周 皮下注射	50 只	1 个: 5 mg	注射部位: 纤维肉瘤; 鳞状细胞肿瘤 /雌性	NA [^]
参考文献 7	雄性 Sprague- Dawley 大 鼠	6 周 6h/天 5 天/周 吸入给药; 在生命结束 时检测	有	1 个: 1 ppm	鼻腔肿瘤/雄 性	NA ^{^^^^}
参考文献 8	30-50 只 雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	18-22 个月 3 次/周 皮肤涂擦法	有	2 个: 2 mg 和 4.3mg	皮肤 主要为皮肤鳞 状细胞肿瘤/ 雌性	NA [^]
参考文献 8	雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	18-22 个月 1 次/周 皮下注射	有	1 个: 4.3mg	给药部位 主要为肉瘤 还能发现血管 瘤、 鳞状细胞肿瘤 和乳头状瘤/ 雌性	NA ^{^^}
参考文献 8	雌性 ICR/Ha Swiss 小鼠	12 个月 1 次/周 皮下注射; 在生命结束 时检测	有	2 个: 0.43m 和 4.3mg		NA ^{^^}

除另有说明外，表中所列研究均出现在 CPDB（参考文献 9）中。

*用于计算非吸入途径的 AI 的致癌性研究。

**用于计算吸入途径的 AI 的致癌性研究。

NA=不适用

[^]未对所有组织进行组织病理学检查。皮下和经皮给药研究未包含在CPDB中，因为全身暴露可能性更大的给药途径更具有研究价值。

^{^^}皮下和经皮给药研究未包含在CPDB中，因为全身暴露可能性更大的给药途径更具有研究价值。

^{^^^}只对大体解剖时出现异常的组织进行组织病理学检查。更有价值。

^{^^^^}仅对鼻腔癌进行检测。不符合CPBD的至少暴露四分之一标准生命周期的收录标准。

法规和/或已发布的限度

尚无已公布的规定限度。

可接受摄入量 (AI)

基于上述数据,DMCC被认为是具有致突变性的致癌物。因此,从致癌性研究中最敏感的TD₅₀采取线性外推法推算可接受的风险剂量是适当的。因为DMCC似乎是一种接触部位致癌物质,所以与其他给药途径相比,吸入给药的AI进行单独计算是较为妥当的。

目前无可用的口服给药信息,所以,对于吸入以外的给药途径,因此利用Van Duuren等人的研究(参考文献6)进行计算,该研究采取腹腔注射。依据合并的肿瘤发生率(CPDB),计算TD₅₀为4.59mg/kg/天。

终生AI计算如下:

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

$$\text{终生AI} = 4.59 \text{mg/kg/天} / 50,000 \times 50 \text{kg}$$

$$\text{终生AI} = 5 \text{ }\mu\text{g/天}$$

吸入AI

吸入AI计算如下:

吸入DMCC后,金黄地鼠鼻腔癌是最敏感的终点,TD₅₀为0.625mg/kg/天。

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

$$\text{终生AI} = 0.625 \text{ mg/kg/天} / 50,000 \times 50 \text{ kg}$$

终生吸入AI= 0.6 μg/天

参考文献

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;6Suppl 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*

PatholToxicol 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/>

硫酸二甲酯(CAS# 77-78-1)

人类接触的可能性

根据1983年EPA（参考文献1）单中心汇编的数据发现，空气中存在硫酸二甲酯（DMS），其平均浓度为 $7.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ 或1.4ppb。

致突变性/遗传毒性

DMS在体内、外均存在致突变性/遗传毒性（参考文献2）。

DMS在以下情况种具有致突变性：

细菌回复突变试验(Ames), 鼠伤寒沙门氏菌TA98, TA100, TA1535, TA1537和TA1538, 有或无代谢活性条件下（参考文献3）。

在体内，DMS可使DNA甲基化，并且遗传毒性检测始终呈阳性（参考文献4）。在接触DMS的工作人员的循环淋巴细胞中观察到染色体畸变水平升高（参考文献4）。

致癌性

DMS被IARC列为2A类致癌物质，可能对人类致癌（参考文献4）。

虽然已有少量人体暴露和支气管癌病例报道，但目前尚未有DMS的流行病学研究。DMS通过慢性和亚慢性吸入以及单次和多次皮下注射在动物体内具有致癌性；然而，DMS未开展经口途径的研究。DMS对大鼠，小鼠和仓鼠是致癌的（参考文献4）。DMS的致癌性研究因各种原因受到限制，这可能是DMS未列入CPDB的原因。DMS致癌性评估研究描述如下（摘自EPA，参考文献5）

DMS—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	肿瘤观察	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 6	金仓鼠、Wistar 大鼠、NMRI 小鼠，雌雄（未严格区分数量）	15 个月，6 小时/天，2 天/周；之后 15 个月观察期；吸入；	有	2 个： 0.5； 2.0ppm	两剂量组，均出现肺部、胸部、鼻腔肿瘤	NA [^]
参考文献 7	20-27 大鼠，未区分性别	130 天，1 小时/天，5 天/周；之后 643 天观察期；吸入；	无	2 个： 3； 10ppm	3ppm，鳞状细胞癌；10ppm，鼻上皮细胞鳞状细胞癌和胸部淋巴瘤伴肺转移	NA ^{^^}
参考文献 8	8-17BD 大鼠，未区分性别	394 天；未报道研究时间，平均肿瘤诱导时间是 500 天；皮下摄入；	无	2 个： 8； 16mg/kg/周	低剂量组 7/11，高剂量组 4/6，注射部位肉瘤；部分发生肺转移；一例肝癌	NA ^{^^^}
参考文献 7Y	15BD 大鼠，未区分性别	单次皮下注射后，评价 740 天	无	1 个： 50mg/kg	7/15 大鼠局部结缔组织肉瘤；3 例转移至肺部	NA ^{^^^}
参考文献 7	12BD 大鼠，未区分性别	800 天，1 次/周，静脉注射	无	2 个： 2； 4mg/kg	未有肿瘤报告	NA ^{^^^}
参考文献 7	8BD 大鼠（孕鼠）	妊娠第 15 天静脉注射单剂量，观察后代一年	无	1 个： 20mg/kg	后代中 4/59 患有神经系统恶性肿瘤，2/59 恶性肝部肿瘤	NA ^{^^^^}
参考文献 9	90 雌性 CBAX57B1/6 大鼠	未报道持续时间，4h/d，5d/周；吸入	未标明	3 个： 0.4；1； 20mg/m3	高剂量组，肺腺瘤增加	NA [*]
参考文献 10	20ICR/Ha Swiss 大鼠 Y	475 天，3 次/周；皮肤接触	未标明	2 个： 0.1mg	无发现	NA ^{**}

上述研究未包含在 CPDB 中（参考文献 3）

NA=不适用

[^]对照数据未报告。肿瘤发生率未按照物种或剂量制表。

^{^^}试验组规模小。无同时进行的对照组。高剂量组有一只大鼠患小脑肿瘤，低剂量组有两只大鼠患神经系统肿瘤，但状况非常罕见，而且远离暴露部位。

^{^^^}试验组规模小。无同时进行的对照组。

^{^^^^}无同时进行的对照组。

^{*}未报告持续时间

^{**}动物数量有限。仅测试单个剂量。即使 DMS 与促癌剂结合，亦未发现肿瘤。

^Y未标明性别。

致癌作用方式

硫酸二甲酯是一种致突变性致癌物，可接受摄入量通过TD₅₀线性外推计算得出。

法规和/或发布的限度

欧盟（EU）健康与消费者保护研究所（ECHA，参考文献11）根据DMS的吸入致癌性数据制定了致癌斜率曲线。ECHA根据大鼠吸入研究（参考文献7）计算了T₂₅（导致肿瘤增加25%的剂量）。在有限的致癌性研究中观察到全身毒性作用（神经系统）和局部鼻肿瘤。但是，与其他所述研究相同，本研究严重受制于高死亡率，无对照动物，只有2个剂量组和最小病理评估；因此，该研究不适合线性外推。

可接受摄入量（AI）

虽然认为DMS可能是一种口服致癌物和人体致癌物质，但尚未有口服致癌研究用以推导TD₅₀。此外，目前的吸入研究因各种原因受到限制，并不适用于TD₅₀外推。鉴于此，将DMS的终生可接受摄入量限定在1.5µg/d的毒理学关注阈值（TTC）是合理的。

终生可接受摄入量=1.5微克/天

参考文献

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.

Mutat Res: Mutation Research-DNA Repair

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#name=ddest=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 Ref. 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>

乙基氯（氯乙烷，CAS# 75-00-3）

人类接触的可能性

在污染的空气及饮用水中以较低水平（万亿分之几）存在。作为局部麻醉剂与皮肤接触。

致突变性/遗传毒性

乙基氯在体外具有致突变性和遗传毒性，而在体内未见致突变性和遗传毒性。IARC（参考文献1）总结了氯乙烷的致突变性数据；要点归纳如下。

乙基氯在以下情况中具有致突变性：

细菌回复突变试验（Ames）：鼠伤寒沙门氏菌TA100和TA1535和大肠埃希氏杆菌WP2uvrA（有或无代谢活化条件下），当暴露于气体的条件下进行测试时（参考2-4）；

CHO细胞hprt试验：（有或无代谢活化条件下）。

在体内，吸入约25,000ppm乙基氯3天后，小鼠骨髓微核试验以及雌性小鼠肝脏非程序性DNA合成（UDS）试验（参考文献5）结果均为阴性。

致癌性

乙基氯被IARC列为3类，或其致癌性不可分类（参考文献1）。

乙基氯只有一项致癌性研究，NTP在雌雄大鼠和小鼠进行的研究（参考文献6），吸入给药，6小时/天，5天/周，100周。基于安全考虑（暴露风险）以及3个月剂量探索研究中未

见明显反应，单剂量暴露浓度（15000ppm）受到了限制，最高剂量低于19000 ppm。之后，美国EPA评估了这些数据（参考文献7），将乙基氯与乙基溴做了对比。值得注意的是，乙基氯与乙基溴结构相似，在小鼠中能引起多例罕见子宫肿瘤（子宫内膜瘤），而对大鼠无作用。乙基氯对雌性小鼠（子宫）的致癌性已有明确证据，而对雌雄大鼠致癌作用的证据尚不明确。尽管乙基氯对雄性小鼠的肺肿瘤发生率有增加，但由于生存率较低，该方面的研究被认为尚不充分。

乙基氯—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感的肿瘤发生部位/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 6,7*	50 只/性别/组 B6C3F1 小鼠	100 周 6h/天 5 天/周 吸入	50 只	1 个: M (雄 性): 10.4 F (雌 性): 12.4g/kg/天	子宫/雌性	1810
参考文献 6,7	50 只/性别/组 Fischer344 大 鼠	100 周 6h/天 吸入	50 只	1 个: M (雄 性): 2.01 F (雌 性): 2.88g/kg/天	阴性	不适用

*用于 AI 计算的致癌性研究。在 CPDB（参考文献 8）中列入。

NA=不适用

致癌性的作用方式

Holder（参考文献7）提出反应性代谢物可致癌，但也指出在致癌性研究中使用高浓度氯乙烷，雌性小鼠会对其暴露产生明显的应激反应；而这种应激反应会引起肾上腺刺激。

有报道称，皮质类固醇激素的大量生成会加速小鼠子宫内膜癌的发生。

法规和/或已公布的限度

EPA建立的非致癌作用的吸入参考浓度（RfC）为 $10\text{mg}/\text{m}^3$ ，或 $288\text{mg}/\text{天}$ ，假设呼吸量为 $28800\text{L}/\text{天}$ （参考文献9）。

可接受摄入量（AI）

选作AI计算研究的理由

尽管这些研究在设计上还不够完善（只设了单一剂量组），但小鼠子宫内膜特异性罕见型子宫癌的高发（与对照组0/49相比受到影响为43/50）提示其具有明显的致癌性。这项观察结果被一项更为完善的致癌性研究所支持，该实验以乙基溴作为对照品，设立3个剂量组和一个对照组（参考文献10），结果观察到与上一项研究相同类型的肿瘤（小鼠子宫肿瘤）。乙基氯被认为是具有致突变性的致癌物质。基于NTP的吸入研究，对乙基氯最敏感的品系/部位是雌性小鼠子宫。由于肿瘤的数量很多，因此即使只测试一个剂量，也可以计算 TD_{50} 值。CPDB（参考文献8）的作者将0和 $15,000\text{ppm}$ 换算为0和 $12.4\text{g}/\text{kg}$ 的剂量，并计算小鼠子宫肿瘤的 TD_{50} 为 $1810\text{mg}/\text{kg}/\text{天}$ 。

$$\text{终生可接受摄入量} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{终生可接受摄入量} = 1810 \text{ mg}/\text{kg}/\text{天}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

终生可接受摄入量=1,810 μg /天

参考文献

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

环氧丙醇（CAS# 556-52-5）

对人体接触的可能性

甘油和糖加热可得环氧丙醇。环氧丙醇是3-氯-1,2-丙二醇的代谢物，后者是可在许多食物和食物成分中发现的一类氯丙醇，包括酱油和水解植物蛋白。据估计食物中环氧丙醇每日暴露量为20-80微克/天（参考文献1）。

致突变性/遗传毒性

环氧丙醇在体内和体外均具有致突变性/遗传毒性。

IARC（参考文献2）和化学致癌研究信息系统（CCRIS）（参考文献3）包含有关环氧丙醇致突变性/遗传毒性数据的综述，主要结论总结如下。

环氧丙醇的致突变性表现在：

细菌回复突变试验（Ames）：沙门氏菌TA100，TA1535，TA98，TA97和TA1537；有或无代谢活化条件下，采用标准平板和预孵育试验。

大鼠大肠杆菌菌株WP2uvrA / pKM101预孵育试验（有或无代谢活化条件下）。

环氧丙醇灌胃给予雄性和雌性P16Ink4a / p19Arf 单基因突变的小鼠，体内微核试验结果呈阳性。

致癌性

环氧丙醇被IARC列为2A类，对人体很可能致癌（参考文献2）。

在NTP的研究中（参考文献4-5），溶解于水的环氧丙醇灌胃给予雄性和雌性F344/N大鼠和B6C3F1小鼠。大鼠剂量为0、37.5或75mg/kg，小鼠剂量为0、25或50mg/kg，每周5天，每天1次，持续2年。平均每日剂量的计算为：给药剂量乘以5/7计算（以考虑每周给药5天的给药方案），再乘以103/104（以说明给药的持续时间低于终生给药）。雄性和雌性大鼠计算的平均日剂量分别为0、26.5和53.1mg/kg/天，雄性和雌性小鼠计算的平均日剂量分别为0、17.7和35.4mg/kg/天。

大鼠（雌性大鼠的乳腺肿瘤）、小鼠（哈氏腺）各种组织中肿瘤发生率增加与环氧丙醇的暴露量增加有关。与对照组相比，由于肿瘤的早期诱导，试验组大鼠、小鼠的存活显著降低。

由于试验组规模小，单剂量水平和较短的持续时间，仓鼠的灌胃研究可靠性低。NTP在两种肿瘤抑制基因缺失的基因修饰小鼠（即单突变的p16 Ink4a/p19Arf小鼠）中进一步开展了环氧丙醇的长期灌胃研究（参考文献6）。尽管雄性小鼠有明显的致癌性证据（基于组织细胞肉瘤和肺泡/支气管腺瘤的发生情况）以及雌性小鼠的一些致癌性证据（基于肺泡/支气管腺瘤的发生），但由于持续时间较短，每个试验组使用的动物数量较少，以及对基因修饰动物中观察到的剂量反应关系如何与标准的长期致癌性试验中观察到的相一致的认识有限等原因（参考文献7），因此认为两年致癌试验比这些

研究更适合剂量反应评估。

环氧丙醇——致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感肿瘤发生点/类型/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 5*	50 只/性别/组 F344/N 大鼠	2 年 5 天/周 灌胃	50 只	2 个: 26.5; 53.8mg/kg/d	乳腺/ 雌性	4.15
参考文献 5	50 只/性别/组 B6C3F1 小鼠	2 年 5 天/周 灌胃	50 只	2 个: 17.7; 35.4mg/kg/d	哈氏腺/ 雌性	32.9
参考文献 8	12-20 只/ 性别/组 叙利亚金黄地 鼠	60 周 两次/周 灌胃	有	1 个: M: 15.8 F: 17.9mg/kg/天	脾/ 雌性	56.1^
参考文献 9 (**参考文献 2 中引用)	20 只 ICR/Ha 瑞士 小鼠	520 天 3 次/周 皮肤涂 抹	有	1 个: 5%	无肿瘤	NA^

除另有说明，以上所列研究均在CPDB中（参考文献10）。

*选择用于AI计算的致癌性研究。

**未出现在CPDB中。

NA =不适用。

^非标准的致癌性实验设计。只设一个剂量组，间歇给药，小样本量（参考文献7）。

致癌性的作用方式

环氧丙醇是具有致突变性的致癌物，可接受摄入量由TD₅₀线性外推得出。

法规和/或已公布的限度

例如 EPA、WHO 或 ATSDR 都未发布监管限制。

可接受摄入量（AI）

选作计算AI研究的理由

对人类致癌性评估最合适的数据是NTP对F344/N大鼠和

B6C3F1小鼠为期两年的口服环氧丙醇研究（参考文献5）。

最敏感的器官部位是雌性乳腺，TD₅₀为4.15mg/kg/天。

可接受摄入量计算

终生AI = TD₅₀/50,000 x 50 kg

终生AI = 4.15 (mg/kg/天)/50,000 x 50 kg

终生 AI = 4 μg/天

参考文献

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/>

胍（CAS# 302-01-2）

人类接触的可能性

胍可用于合成药品、农药和泡沫塑料（参考文献1）。硫酸胍可用于治疗肺结核、链状细胞性贫血和其它慢性疾病（参考文献2）。人类对胍及其衍生物的天然形成方式的了解非常有限（参考文献3）。人类可能因接触受环境污染的水、空气或土壤而暴露于胍中（参考文献1）；不过，人类暴露于胍的最主要地点还是工作场所（参考文献4）。据报道，烟草制品和香烟烟雾中也含有少量的胍（参考文献1、5）。

致突变性/遗传毒性

胍在体内和体外均具有致突变性和遗传毒性。

IARC（参考文献6）评估了胍的致突变性。评估发现的主要结果总结如下。

胍在以下情况中具有致突变性：

细菌回复突变试验（Ames）：有或无代谢活化条件下，鼠伤寒沙门氏菌TA1535、TA102、TA98和TA100以及大肠杆菌WP2 *uvrA*表现出致突变性；可在体外导致小鼠淋巴瘤L5178Y细胞的*Tk*和*hprt*基因发生突变。

胍在体内（参考文献6）可诱导小鼠骨髓微核形成，但不会诱发小鼠骨髓染色体畸变。已有研究报道在体内若干个组织中发现DNA加合物。

致癌性

胙被IARC列为2B类，对人类可能致癌（参考文献6）。EPA认为胙是B2类致癌物或人类可能的致癌物质（参考文献7）。CPBD引用了7项关于胙的致癌性研究（参考文献8）：其中3项采取吸入给药1年，3项采取饮水给药，还有1项采取灌胃给药。7项胙致癌性研究中，有5项研究报告认为胙具有致癌性。

对啮齿类动物而言，胙经口服致癌的主要靶器官是肝和肺。基于研究组规模和剂量水平的考虑，最可靠的口服研究报告见参考文献9和10。最可靠且TD₅₀最小的吸入研究报告见参考文献11。在啮齿类动物中，胙吸入致癌的最敏感的肿瘤靶点是吸入时初始接触胙的部位，如鼻腔和肺。

这里未显示CPDB（参考文献8）中引用的硫酸胙研究，因为该研究中每组动物少于50只（每个研究只有一个剂量水平），并且计算得到的TD₅₀值高于（致癌性更弱）胙饮水给药研究（参考文献9）中的计算结果。鉴于2个可靠的饮水给药研究所得结果相近（参考文献9-10），因此选择测试剂量更高的较新的研究结果（参考文献10）计算胙的非吸入AI值。

胙—致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感的肿瘤发生部位/类型/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献9	50只/性别/组 Wistar大	终生饮水	50只	3个： M: 0.1; 1.5, 2.5。	肝/雌性	41.6

	鼠			F: 0.11, 0.57, 2.86 mg/kg/天		
参考文献 11*	100 只/性 别/组 F344 大鼠	给药 1 年 观察 18 个 月 吸入	150 只	4 个: 雄: 1.37, 6.87, 27.5, 137 雌: 1.96, 9.81, 39.3, 196µg/kg/天	鼻腺瘤 性息肉/ 雄性	0.194
参考文 献 12	50 只/性别/ 组 Bor: NMRI,SPF 级 NMRI 小 鼠	2 年 饮水	50 只	3 个: M: 0.33, 1.67, 8.33。 F: 0.4, 2.0, 10.0mg/kg/天	阴性	NA,阴性 研究
参考文 献 11	200 只 雄性黄金 叙利亚仓 鼠	给药 1 年 观察 12 个 月 吸入	有	3 个: 0.02, 0.08, 0.41mg/kg/天	鼻腺瘤 性息肉/ 雄性	4.16
参考文 献 11	400 只 雌性 C57BL/6 小鼠	给药 1 年 观察 15 个 月 吸入	有	1 个: 0.18mg/kg/天	阴性	NA
参考文 献 13	50 只/性别/ 组 Swiss 小鼠	终生 饮水	非同期	1 个: ~1.7-2 mg/kg/天	肺/雄性	2.20¥
参考文 献 14	25 只 雌性 Swiss 小鼠	40 周 5 天/ 周 灌胃	85 只 未处理	1 个: ~5 mg/kg/天	肺/雌性	5.67¥¥
参考文 献 10**^	50 只/性别/ F344/DuCrj 大鼠	终生 饮水	有	3 个: 雄性: 0.97, 1.84, 3.86 雌性: 1.28, 2.50, 5.35 mg/kg/天	肝/雌性	38.7
参考文 献	50 只/性别/ Crj: BDF1	终生 饮水		3 个: 雄性: 1.44,	肝/雌性	52.4

10	小鼠			2.65, 4.93 雌性: 3.54, 6.80, 11.45 mg/kg/天		
----	----	--	--	---	--	--

所列研究在CPDB（参考文献8）中。

*选择用于吸入AI值计算的致癌性研究。

**选择用于非吸入TD₅₀（见注释2）和AI值计算的致癌性研究。

NA=不适用。

¥被美国环境保护署排除（参考文献7）；非同期对照。肝脏呈阴性。

¥¥动物生存受影响。肝脏呈阴性。

^不在CPDB中

致癌性的作用方式

不明确。在体内试验中检测到 DNA 加合物，（参考文献 15-20），但发现加合物的组织中没有形成肿瘤，所以它们对肿瘤生成的影响是未知的。

法规和/或已发布的限度

EPA(参考文献7)发布了口服斜率因子为3.0 mg/kg/天，饮水给药风险为 $8.5 \times 10^{-5} \mu\text{g/L}$ 。在十万分之一的风险水平下这相当于饮水中胂浓度为 $0.1 \mu\text{g/L}$ 或者对于体重为50kg的人来说，胂摄入量为 $0.2 \mu\text{g/天}$ 。该限值是根据小鼠口服多剂量硫酸胂（参考文献21）25周的终生观察研究（参考文献7）中肝癌结果的线性多级外推法获得。在计算得到口服斜率因子之后又发表了很多其它研究（参考文献9-10、17、22）。新发表的研究可能意味着口服斜率因子需要更新，不过EPA尚未重新评估。

EPA(参考文献7)已发布了17 mg/kg/天的吸入斜率因子和 4.9×10^{-3} 每 $\mu\text{g/m}^3$ 的吸入风险。在十万分之一的风险水平下，这相当于空气中胂浓度为 $2 \times 10^{-3} \mu\text{g/m}^3$ 或者对于每天呼吸

20m³空气的人来说，肟的吸入量为0.04μg/day。该限值是根据雄性大鼠吸入多剂量肟（6h/天，5天/周）1年恢复观察18个月研究（引用参考文献7）中鼻腔腺瘤或腺癌结果的线性多级外推法获得。只有EPA审核过的数据是可以访问的，不过，即使不完全一致，该研究结果与Vernot等人的研究结果也是非常相似的（参考文献11）。

可接受摄入量（AI）

选作AI计算研究的理由

为确定是否需要单独计算吸入致癌性的可接受摄入量限值，对肟口服和吸入致癌性研究都进行了评估。鉴于吸入性研究的观察结果：肟对最先接触部位的致癌性更强，最终确定应该单独设立一个可接受摄入量限值。

对于口服肟，已在4个小鼠研究和2个大鼠研究中报告致癌性。在口服研究中最敏感的致癌性是雌性大鼠的肝细胞腺瘤和肝癌（参考文献10）。

选择最可靠的致癌性研究计算肟在吸入性药物中的可接受摄入量时考虑了EPA用来得出肟吸入致癌性限值的所有吸入致癌性研究。EPA采用的MacEwen等人的关键性研究（参考文献7）申请了专利保护，不过该研究可能与Vernot等人的研究（参考文献11）是一样的。鉴于此前通过线性外推法从TD₅₀推算出了许多致癌物的毒理学关注阈值，因此采用同样的方法获取了肟化合物特定的可接受摄入量值。EPA

采用的方法学和本文采用的方法都是在性质上高度保守的。不过，鉴于这两个方法毕竟有所不同，因此预期所得结果也应该有细微差异。通过一个雄性和雌性大鼠吸入胙 1 年、观察 18 个月的研究（参考文献 11）中获取的 TD_{50} 计算可接受摄入量。虽然 1 年的期限并不符合致癌性研究的设计标准，不过研究观察到致癌阳性效应说明并未错失致癌性观察时间窗。最敏感的靶组织是雄性鼻部， TD_{50} 值为 0.194mg/kg/天 ，随后调整认为其为标准操作，也可作为 1-2 年暴露的 TD_{50} 。

可接受摄入量计算

$$\text{终生可接受摄入量} = TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{终生可接受摄入量} = 38.7 (\text{mg/kg/天})/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{终生可接受摄入量} = 39 \mu\text{g/天}$$

吸入AI计算

可接受吸入量计算

$$\text{终生可接受摄入量} = TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{终生可接受摄入量} = 0.194 (\text{mg/kg/天})/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{终生可接受摄入量} = 0.2 \mu\text{g/天}$$

参考文献

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.

过氧化氢（CAS# 7722-84-1）

人类接触的可能性

过氧化氢可能存在于绿茶、速溶咖啡、新鲜蔬菜和水果中，人体自身也可产生（参考文献1）。据估算，人体每天内源性产生高达6.8g的过氧化氢（参考文献2）。其他常见的接触来源有：消毒剂、一些外用治疗粉刺的乳膏状产品和含有高达4%过氧化氢的口腔护理产品（参考文献2）。

致突变性/遗传毒性

过氧化氢在体外具有致突变性和遗传毒性，体内则不存在上述毒性。

IARC（参考文献3）和EC联合研究中心（参考文献4）回顾了过氧化氢的致突变性数据，对主要观察结果总结如下：

过氧化氢在以下情况中具有致突变性：

在无外源性代谢活化的情况下，鼠伤寒沙门氏菌TA96，TA97，SB1106p，SB1106和SB1111以及大肠杆菌WP2；

L5178Y小鼠淋巴瘤细胞亚系hprt基因位点；

中国仓鼠V79细胞hprt位点，六项研究中出现一例。

在体内，小鼠腹腔注射最高剂量为1000mg/kg的过氧化氢，或者给存在过氧化氢酶缺陷的C57BL / 6NCr1BR小鼠连续两周饮用含过氧化氢200，1000，3000和6000ppm的水，未诱导微核形成。

致癌性

过氧化氢被IARC列为3类，对人类致癌性尚未归类（参考文献3）

在CPDB（参考文献6）中仅引用了一例致癌性报告（参考文献5），

其中，给小鼠服用含有0.1-0.4%过氧化氢饮用水约2年时间。该研究包含两个处理组，每组50只动物。

在小鼠致癌性研究的两个剂量组中均观察到十二指肠肿瘤显著增加 ($p < 0.005$) (参考文献5)，尽管在CPDB中只有雌性高剂组的十二指肠肿瘤显著增加 (参考文献6)。因此，在饮用水中给予的0.1%过氧化氢被定义为最低观察到的有害作用水平 (LOAEL)，相当于，每公斤体重平均日剂量为167mg/kg/天。

6个月及更长周期研究总结见下表 (摘自参考文献2)，局限于有限的动物数量，单剂量水平。大多研究未达到CPDB中TD₅₀计算纳入标准。DeSesso等人 (参考文献2) 指出，在14项致癌研究中 (小鼠皮下研究2项，小鼠皮肤研究2项，饮水给药研究6项 (大鼠2项，小鼠4项)，仓鼠经口插管研究1项，和3项颊囊研究)，只有3项小鼠饮水研究 (参考文献5、8、9) 显示给予过氧化氢后肿瘤 (十二指肠近端) 增加。这些小鼠研究经过美国癌症评估委员会 (CAC) 全面评估 (参考文献10)。其结论是这些研究没有提供足够的证据证明过氧化氢是一种致癌物质 (参考文献10)。

在欧洲，消费品科学委员会 (SSCS) 审查了现有的过氧化氢数据，并得出结论过氧化氢不满足诱变剂的定义 (参考11)。他们也指出，较弱的局部致癌效应的作用方式不明确 (参考文献11)。相反，DeSesso等人 (参考文献2) 提出，稀释后的过氧化氢在到达目标部位 (十二指肠) 前会分解，并且所见的增生性病变是由于耗水量减少、食物颗粒的刺激而引起的，这在暴露于饮用水中的过氧化氢时经常会观察到。直接暴露

于饮用水（口腔，食管和胃）的组织少有肿瘤，而且对仓鼠长达6个月的研究（参考文献14）也支持了缺乏直接效应的观点，其中，通过胃插管过氧化物（水摄入不受影响），胃和十二指肠上皮显示正常；这是FDA得出上述结论的基础（参考文献10）。

过氧化氢—口服致癌性研究数据

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	备注
参考文献5*	48-51只/性别/组 C57BL/6J小鼠	100周，饮水	有	2个: 0.1; 0.4% 雄: 167; 667 雌: 200; 800mg/kg/d	雌鼠十二指肠癌: TD ₅₀ 7.54 mg/kg/d
参考文献7	29只C57BL/6J小鼠，全部雄性&雌性（7-630天间隔取样；或在第149天停止后10-30天）/(其他组采样间隔为处理7至630天，或处理140天停药后的10-30天)	700天，饮水	无	1个:0.4%	未见肿瘤报道。时间依赖性诱导胃糜烂和结节、十二指肠结节和斑块；接受双氧水处理140天后，经恢复期，10-30天不予处理，发生病变的小鼠减少
参考文献8	18只 C3H/HeN小鼠全部雄性&雌性	6个月，饮水	无	1个:0.4%	2只小鼠患十二指肠肿瘤（11.1%）
参考文献8	22只 B6C3F1小鼠全部雄性&雌性	6个月，饮水	无	1个:0.4%	7只小鼠患十二指肠肿瘤（31.8%）
参考文献8	21只 C57BL/6N小鼠全部雄性&雌性	7个月，饮水	无	1个:0.4%	21只小鼠患十二指肠肿瘤（100%）
参考文献8	24只 C3H/Cb/S小鼠全部雄性&雌性	6个月，饮水	无	1个:0.4%	22只小鼠患十二指肠肿瘤（91.7%）
参考文献9	21只 C3H/HeN小鼠雌性	6个月，饮水	11只	1个:0.4%	2只小鼠患十二指肠肿瘤（9.5%）；对照组:0
参考文献9	22只 B6C3F1小鼠雌性	6个月，饮水	12只	1个:0.4%	7只小鼠患十二指肠肿瘤（31.8%）；对照组:0
参考文献9	24只 C3H/Cb/S小鼠雌性	6个月，饮水	28只	1个:0.4%	22只小鼠患十二指肠肿瘤（91.7%）；对照组:0
参考文献12	3只 雄性大鼠	21周，饮水	3只	1个:1.5%	未观察到致癌效应
参考文献13	雌雄 大鼠（50只/性别/组）	24个月，饮水	有	2个: 0.3%; 0.6%	未观察到致癌效应
参考文献14	仓鼠，未报道性别（20只/组）	15周和6个月，灌胃（5天/周）	有	1个: 70mg/kg/d	未观察到致癌效应

*致癌性研究用于PDE计算；在CPDB中（参考文献6）

其他研究未在CPDB中，但已在参考文献2中总结。

☐过氧化氢酶缺乏症

致癌性作用方式

过氧化氢是组成正常细胞代谢活性氧簇（ROS）的一部分（参考文献4），过氧化氢的毒性在于产生ROS以及随之导致细胞毒性、DNA链断裂和遗传毒性的氧化损伤（参考文献15）。由于不可避免产生内源性ROS，机体已进化产生防御机制来限制ROS的水平，涉及过氧化氢酶、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶。

当机体的自然抗氧化防御机制被突破时，就会发生氧化应激，导致DNA、蛋白质和脂类等大分子的损伤。ROS还能使抗氧化酶失活，从而进一步加剧破坏作用（参考文献16）。在线粒体呼吸过程中，氧发生单电子转移，产生超氧阴离子自由基。这种分子表现出有限的反应活性，但通过超氧化物歧化酶转化为过氧化氢。然后过氧化氢被过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶还原成水和氧气（参考文献17）。然而，若存在过渡金属，如铁和铜，则过氧化氢被进一步还原成极其活泼的羟基自由基。羟基自由基具有很强反应活性，在与细胞成分反应之前不会扩散超过一个或两个分子直径（参考文献16）。因此，它们必须在紧邻DNA的位置产生以使其氧化。抗氧化剂提供电子来源，将羟基自由基还原成水，从而终止其反应活性。显然，在体外试验系统中，抗氧化剂和其他防止氧化损伤细胞的防御是有限的。因此，用过氧化氢处理后，这些抗氧化保护机制很容易被掩盖，诱导细菌和哺乳动物细胞系的细胞毒性和遗传毒性。通过引入在体内保护性机制的元素已经证明了体外反应的减少；例如：引入过氧化氢降解酶，如过氧化氢酶，或调节过渡金属的水平（参考文献11）。不出所料，在体内，如果细胞防御机制比较完整，过氧化

氢在短期暴露后不具有遗传毒性。此现象表明存在一个阈值，低于该阈值时，细胞防御机制可以调节ROS维持动态平衡。

根据EC（参考文献4）的风险评估，有证据表明过氧化氢的保护机制不堪重负时其在体外具有致突变性。然而，它在体内的标准检测中没有遗传毒性。它的作用模式具有非线性，阈效应。

法规和/或已发布的限度

“欧洲化妆品法规”附录III（参考文献18）提供了口腔卫生和牙齿美白产品中可接受的过氧化氢水平。对于柜台销售的口腔产品，包括漱口水、牙膏和牙齿增白或漂白产品，允许（存在或释放）的过氧化氢最大浓度为0.1%。牙科医生如果向18岁以上的患者开具此类产品，允许含量高达6%。据EC SCCP（参考文献11）估计，每天可摄入3克漱口水或0.48克牙膏。如果产品含有0.1%的过氧化氢，将从漱口液中摄入过氧化氢3mg，或从牙膏中摄入0.48mg。这些数据可能高估了摄入量，因为在使用口腔护理产品过程，大部分过氧化氢可能已分解，未被摄入（参考文献4）。

FDA—当作为抗牙龈炎/抗牙斑剂而以高达3%的量长期使用时，过氧化氢通常被认为是安全的（GRAS）。（参考文献19）。

允许日暴露量（PDE）

过氧化氢是一种具有阈值效应（即氧化应激）的遗传毒性物质，它在机体中内源性生成的水平高于口腔护理和其他个人护理产品的水平。因此，根据致癌性数据来推导PDE是不合适的。即便摄入量为6.8克/天内源性产物的1%，即68毫克/天（或68,000微克/天），也不会显著增加接

触量，但通常会超过药品的质量限度。ICH M7指南指出，当从化合物特定的风险评估中计算可接受摄入量时，其上限为质量限度0.5%，或者，例如每日最大剂量为100mg的药物，其可摄入量上限是500μg。

参考文献

1. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. FEBS Lett 2000;486:10-13.
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 Ref. 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 Ref. 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 Ref. 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.

甲基氯（氯甲烷，CAS# 74-87-3）

人类接触的可能性

由于每天自然产生数千吨甲基氯，例如，由海洋中的浮游植物产生、由微生物发酵产生、由生物体燃烧（草原和森林火灾）以及由火山喷发产生，大大超过人类活动的释放量，因此甲基氯以低水平存在于环境中。

WHO（参考文献）报道农村地区空气中甲基氯的浓度一般低于 $2.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1.0 ppb)，而在城市为 0.27 至 $35\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.13-17ppb)，相当于每天约 20 - $700\mu\text{g}$ 的摄入量（人类呼吸量为每天 20m^3 ）。据报道，河流、海洋、地下水和饮用水的浓度范围较宽，健康的饮用水最高浓度为 $44\mu\text{g}/\text{L}$ 。

致突变性/遗传毒性

甲基氯在体外具有致突变性和基因毒性，但在体内的作用尚不明确。WHO（参考文献1）和EPA（参考文献2）回顾了甲基氯的致突变性数据；对重点观察结果总结如下：

甲基氯在以下情况中具有致突变性：

细菌回复突变试验（Ames）：鼠伤寒沙门氏菌TA100、TA1535和大肠杆菌WP2uvrA（有或无代谢活化条件下）；

TK6人淋巴母细胞。

WHO（参考文献1）对甲基氯体内研究的结论为：“虽然并未获得标准的体内毒性研究数据，但是基于在较高剂量时一些DNA-蛋白交联的证据，甲基氯可能被认为是一种非常

弱的致突变物”。

致癌性

甲基氯被IARC列为3类：“对人类的致癌性证据不足”(参考文献3)；EPA则将其归为D类化合物，是对人类致癌性属尚未归类的化合物（参考文献2）。

在动物试验中，致癌性的唯一证据来自一项为期2年在大鼠和小鼠中使用吸入途径给药的致癌性试验（参考文献4）。试验仅在使用了高浓度（1000ppm）甲基氯的雄性B6C3F1小鼠体内观察到肾良性和恶性肿瘤的发生率有显著的升高。尽管没有统计学意义，但在甲基氯浓度为464mg/m³(225ppm)时可观察到皮质腺瘤，并且在103mg/m³剂量组中观察到小鼠肾皮质微囊的形成，464mg/m³(225ppm)剂量组在某种程度上也能观察到（参考文献4）。然而，浓度-反应关系未能建立。肾皮质肾小管上皮细胞增生及细胞核肥大只见于1000ppm剂量组雄性小鼠。未在雄性小鼠的低浓度或其他任何部位中发现肿瘤的形成，亦未在雌性小鼠或雌雄F-344大鼠的任何部位、任何浓度下发现。肾腺瘤仅在雄性小鼠中存在，并且人几乎不可能接触到该暴露水平。

这些雄性小鼠的肾肿瘤不太可能与人类相关。甲基氯主要通过谷胱甘肽结合代谢，小部分通过p450氧化代谢（参考文献1,2）。雄性小鼠肾脏肿瘤被认为与甲基氯代谢过程中甲醛的产生有关。起主要作用的是细胞色素P450（CYP）同工

酶，CYP2E1，它存在于雄性小鼠肾脏中并且是雄性激素依赖的；雌性小鼠的CYP2E1水平仅有雄性的20-25%。甲醛的生成是在CD-1小鼠的肾微粒体内，已证实雄性CD-1小鼠肾微粒体中产生的甲醛已经超过对照组（非雄激素治疗）的雌性小鼠，但是大鼠肾脏微粒体不能生成甲醛。另外，肾脏如何处理甲基氯的物种特异性代谢差异强有力地提示，通过P-450氧化的小鼠肾肿瘤与人类无生物学相关性，因为人类肾脏缺乏已知可将甲基氯转化为具有致癌潜力的毒性中间体的关键酶（CYP2E1）。在大鼠中，CYP2E1的肾活性非常低。在人肾微粒体样品中没有检测到CYP2E1活性（参考文献2），在新鲜分离的来自人肾的近端肾小管细胞中也没有检测到。在人肾脏中检测到CYP4A11，但其代谢甲基氯的能力尚未可知。除了CYP4A11之外，在人体肾微粒体中发现的具有显著水平的其他P-450酶是CYP4F2和CYP3A。此外，似乎没有公知的环境化学物质是通过CYP4A家族代谢。人类肾脏中缺乏可检测的CYP2E1蛋白（与具有高水平的小鼠相反）表明，可能负责诱导雄性小鼠肾脏肿瘤的P450（推测导致甲醛浓度升高）的甲基氯代谢可能与人类无关。

然而，正如EPA（参考文献2）和WHO（参考文献1）所强调的，通过主要的谷胱甘肽（GSH）依赖途径，肝脏（和/或肾脏）代谢（导致潜在的遗传毒性代谢物）在这方面（甲基氯向肝脏中甲酸盐的代谢是GSH依赖性的，通过将甲醛氧

化成甲酸盐的GSH-需要的甲醛脱氢酶) 或者甚至通过除CYP2E1之外的P450同工酶不能忽略不计/通过谷胱甘肽(GSH) 主要依赖途径(氯甲烷在肝脏代谢成为甲酸是GSH依赖的, 通过GSH依赖的甲醛脱氢酶氧化甲醛为甲酸盐) 或者甚至通过P450同工酶而非CYP2E1的肝脏(和/或肾脏) 代谢(导致潜在的基因毒性代谢物) 作用是不能忽略的。尽管如此, 与体内甲醛的基础形成(即878-1310mg/kg/天; 参考文献5) 相比, 通过低剂量甲基氯化物生产甲醛可以忽略不计。此外, 基于人类相关性的限制, EPA将甲基氯化物归类为D类化合物, 即“不能分类为人类致癌物”。

甲基氯—致癌性研究数据 (仅吸入途径研究可用)

研究项目	动物/剂量组	时间/暴露	对照组	剂量	最敏感的肿瘤发生部位/类型/性别	TD50 (mg/kg/天)
参考文献 4 (归纳于参考文献 1 和参考文献 2 中)*	120 只/性别/组 B6C3F1 小鼠	24 个月 6 小时/天 5 天/周 吸入	有	3 个: 103;464; 2064mg/m ³ (50;225; 1000ppm)	肾肿瘤只出现在雄性动物中。 雌性动物中未发现。	1360.7**
参考文献 4 (归纳于参考文献 1 和参考文献 2)	120 只/性别/组 Fisher 344 大鼠	24 个月 6 小时/天 5 天/周 吸入	有	3 个: 103;464; 2064mg/m ³ (50;225; 1000ppm)	在雄性和雌性动物中均未发现	NA

注: 研究没有在CPDB中列出。

*选择用于AI计算的致癌性研究。

**根据致癌性数据计算TD₅₀值(见注释3)。

NA =不适用

法规和/已公布的限度

WHO（参考文献1）为普通人群制定了 $0.018\text{mg}/\text{m}^3$ 的指导值，EPA（参考文献2）制定了 $0.09\text{mg}/\text{m}^3$ 的参考浓度。两者都是基于吸入甲基氯后对中枢神经系统的潜在不良影响。

可接受摄入量（AI）

虽然数据表明在雄性小鼠中观察到的肿瘤可能与人无相关性，由于数据的不确定性，还是以此计算了AI。

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

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

$$\text{终生 AI} = 1,361 \text{ }\mu\text{g/天}$$

参考文献

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.

注释一

由于 1-氯-4-硝基苯的 TD_{50} 未列入 CPDB，下面举例说明了其 TD_{50} 的计算。1-氯-4-硝基苯的计算是基于最敏感的肿瘤类型：雌性大鼠嗜铬细胞瘤（参考文献 1）。剂量和发生率列于下表。

ppm	剂量 (mg/kg/天)	阳性动物数量	动物总数
0	0	3	50
50	1.9	6	50
225	9.8	4	50
1000	53.8	16	50

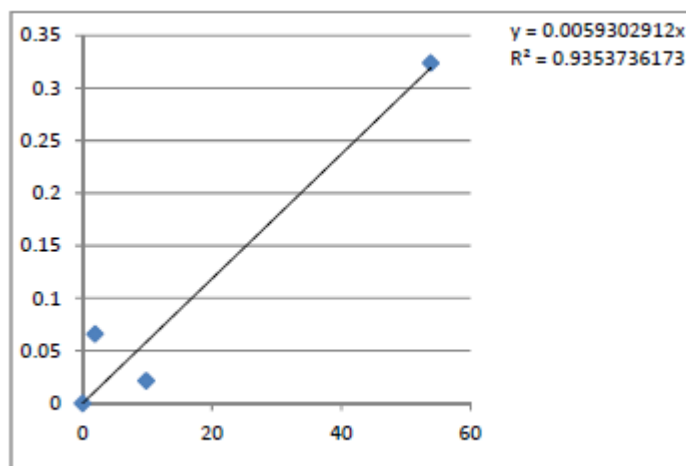
TD_{50} 是通过相对于背景的肿瘤发生率的粗略总结数据运用以下公式计算得出的（参考文献 2,3）:

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

其中 P 是在一定剂量下观察到的患有特定肿瘤类型的动物比例（方程中的 D）， P_0 是患有特定肿瘤类型的对照组动物比例。将 β 和 D 转换为一个简单的线性方程式，结果如下：

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

绘制结果并使用斜率来表示下图中的剂量效应的 β 结果，如， $\beta = 0.0059302912$ 。



可按如下方法计算 TD_{50} 。

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

用下式得出 TD_{50} 的值。

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

因此， $TD_{50} = 0.693 / 0.0059302912$ 或 116.9mg/kg/天。

参考文献

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 long term animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984; 40: 27-40.

注释二

由于肟的 TD₅₀ 未列入 CPDB，下面举例说明了其 TD₅₀ 的计算。肟的计算基于最敏感的肿瘤类型：雌性大鼠，肝细胞腺瘤和/或癌（参考文献 1）。剂量和发生率列于下表：

ppm	剂量（mg/kg/天）	阳性动物数量	动物总数
0	0	1	50
20	1.28	0	50
40	2.50	3	50
80	5.35	6	50

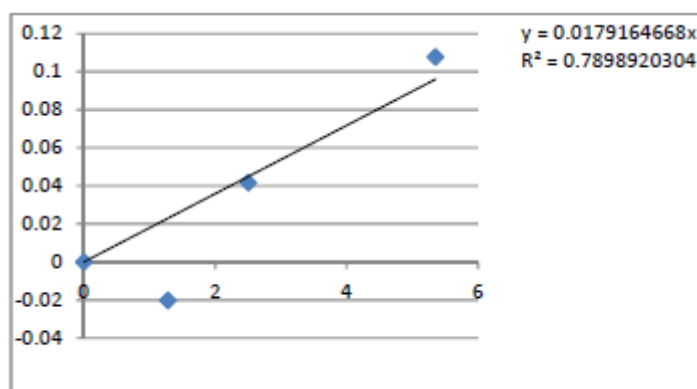
TD₅₀ 是通过相对于背景的肿瘤发生率的粗略总结数据运用下面的公式进行计算（参考文献 2,3）：

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

其中 P 是在一定剂量下观察到的患有特定肿瘤类型的动物的比例（方程中的 D），P₀ 是患有特定肿瘤类型的对照组动物的比例。将 β 和 D 转换为一个简单的线性方程式，结果如下：

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

绘制结果并使用斜率来表示下图中的剂量效应的 β 结果，如，β= 0.0179164668。



可按如下方法计算 TD_{50} 。

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

用下式得出 TD_{50} 的值。

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

因此， $TD_{50} = 0.693 / 0.0179164668$ 或 38.7 mg/kg/天。

参考文献

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.

注释三

由于甲基氯的 TD_{50} 未列入 CPDB, 下面举例说明了其 TD_{50} 的计算。由于甲基氯研究 (参考 1,2) 是基于吸入给药, 吸入的 ppm 浓度需要换算为剂量。

ppm	剂量 (mg/kg/天)	阳性动物数量	动物总数
0	0	0	67
50	28	0	61
225	127	2	57
1000	566	22	86

1. ppm转换为mg/kg/d—X ppm × 50.5g/mol (mol重量)/24.45 × 0.043 (呼吸量) × 6/24小时 × 5/7天/0.028kg (小鼠体重) = 剂量mg/kg/d

TD_{50} 是通过相对于背景的肿瘤发生率的粗略总结数据运用下面的公式进行计算 (参考文献 2,3):

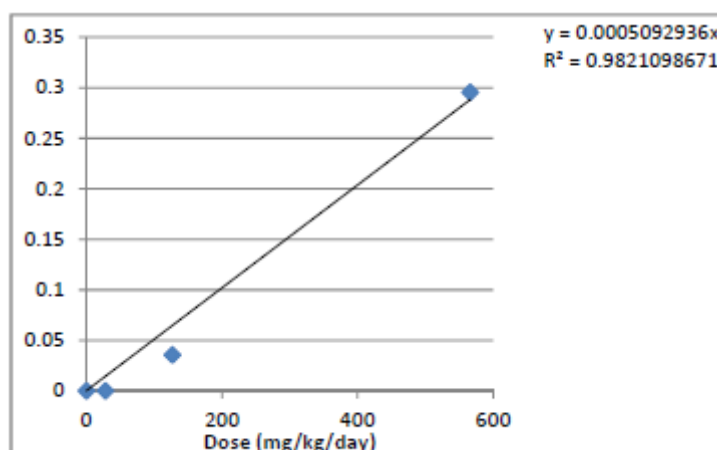
$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

其中 P 是在一定剂量下观察到的患有特定肿瘤类型的动物的比例 (方程中的 D), P_0 是患有特定肿瘤类型的对照组动物的比例。将 β 和 D 转换为一个简单的线性方程式, 结果如下:

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

绘制结果并使用斜率来表示下图中的剂量效应的 β 结果,

如， $\beta=0.0005092936$ 。



可按如下方法计算 TD_{50} 。

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

用下式得出 TD_{50} 的值。

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

因此， $TD_{50}=0.693/0.0179164668$ 或 38.7mg/kg/天 。

参考文献

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 long term animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984; 40: 27-40.