

의약외품 구강제품의 허가심사를 위한 가이드라인 [민원인 안내서]

2023. 9.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 화장품심사과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭	의약품 구강제품의 허가심사를 위한 가이드라인 (민원인 안내서)
----	------------------------------------

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	<input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :)	
	<input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서·안내서 구분	<input type="checkbox"/> 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	

상기 사항에 대하여 확인하였음.

2023 년 9 월 27 일

담당자
확 인(부서장)

봉심규
김달환

이 안내서는 의약품 구강제품의 허가심사를 위한 기준 및 시험 방법 작성에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2023년 9월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 화장품심사과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3603~3627

팩스번호: 043-719-3600



공익신고자 보호제도란?

-공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록 **비밀보장**, **불이익보호조치**, **신변보호조치** 등을 통하여 보호하는 제도

♣보호조치 요구 방법

전화 02-360-3761 /우편 (120-705) 서울시 서대문구 통일로 81 국민권익위원회 공익보호지원과/팩스 02-360-3567

제 · 개정 이력

의약외품 구강제품의 허가심사를 위한 가이드라인 (민원인 안내서)

[illegible]

목 차

I. 서 론	2
II. 구강제품의 범위	3
III. 구강제품의 효능·효과	3
IV. 기준 및 시험방법 심사자료 작성에 관한 사항	4
1) 원료의 기준 및 시험방법 작성	10
2) 완제품의 기준 및 시험방법 작성	13
V. 구강제품에 동물대체시험법 활용	28
VI. 부록	33

「의약외품 구강제품」의 허가심사를 위한 가이드라인

I. 서 론

‘의약외품’이란 사람이나 동물의 질병을 치료·경감·처치 또는 예방할 목적으로 사용되는 섬유·고무제품 또는 이와 유사한 것, 인체에 대한 작용이 약하거나 인체에 직접 작용하지 아니하며, 기구 또는 기계가 아닌 것과 이와 유사한 것을 의미한다.

의약외품 구강제품은 「의약외품 범위지정(식약처고시)」 나목의 가(구취 등의 방지제, 치약제, 치아미백제)에 해당되며, 입냄새 기타 불쾌감의 방지를 목적으로 하는 내용제 및 양치제, 이를 희게 유지하고 튼튼하게 하며 구중청결, 치아, 잇몸 및 구강내의 질환예방 등을 목적으로 일상 생활에서 흔히 사용하고 있는 품목이다.

이 가이드라인은 의약외품 구강제품 분류별로 원료 및 제제의 일반적 기준 및 시험방법을 안내하여 자사 품질관리에 도움이 되고, 의약외품 제조(수입) 품목허가 신청 시 제출 자료 마련에 도움이 되고자 한다. 더 나아가 국민들이 고품질의 의약외품 구강제품을 사용하는데 도움을 주고 국민 건강 증진에 기여하고자 하는 것이다.

다만, 본 가이드라인에서 제시하는 원료 및 제제의 기준 및 시험방법은 모든 품목에 일괄적으로 적용되는 것은 아니며, 제품의 구성원료 및 특성에 따라 품목별로 검토 될 수 있다.

II. 구강제품의 범위

분류	범위
구중청량제	입냄새 기타 불쾌감의 방지를 목적으로 하는 내용제 및 양치제에 적용한다. 다만, 과산화수소로서 0.75%를 초과하여 함유하는 제제(과산화수소를 방출하는 화합물 또는 혼합물 포함)는 제외한다.
치약	이를 희게 유지하고 튼튼하게 하며, 구중청결, 치아, 잇몸 및 구강 내의 질환예방 등을 목적으로 하는 치약제에 적용한다.
치아미백제 (표준제조기준: 과산화수소수 35% 8.57g/ 100g)	치아미백을 위해 치아에 도포하여 사용하는 제제에 적용한다.

III. 구강제품의 효능·효과

분류	효능·효과
구중청량제	구강 내를 청결히 유지한다 구취를 제거한다 충치예방 치은염의 예방 치태제거, 치석침착 예방 시린이 예방 및 감소
치약	이를 희게 유지하고 튼튼하게 한다 구강 내를 청결히 유지한다 구강 내를 상쾌하게 한다 충치예방 구취를 제거한다 심미효과를 높인다 치은염, 치주염의 예방, 치주질환의 예방 잇몸질환의 예방 치태제거, 치석침착 예방
치아미백제	치아미백

IV. 기준 및 시험방법 심사자료 작성에 관한 사항

□ 원료약품 및 그 분량

1) 규정

- 제제학적으로 합리적이고 타당하여야 하며, 효능·효과, 용법·용량 등에 적합하여야 하며, 제제의 특성을 고려하여 각 성분마다 배합목적, 성분명, 규격, 분량을 기재하여야 한다.
- 「의약품 품목허가·신고·심사 규정(식약처 고시)」 제9조에 따라 작성하며, “(질량 표기) 중”의 함량 또는 ‘1정’중으로 기재한다.
- 배합목적은 구강제품의 구성에 따라 주성분, 용제, 감미제, pH조절제 등으로 기재하며 기 허가·신고된 품목 또는 타당한 근거자료(국내·외 공인할 수 있는 사용례, 문헌자료 등)에 의거 작성한다.
- 원료명은 성분의 본질을 대표하는 명칭으로 기재한다.
- 분량은 제품 100g, 100ml 또는 1정에 대하여 각 원료의 분량을 그램, 밀리리터, 또는 적량으로 기재한다.
- 제조원에는 해당 원료의 제조원의 명칭을 기재한다.
- 수입품목의 경우 제조 및 판매에 관한 서류를 제출하여야 하며, “제품명, 원료약품 및 그 분량, 효능·효과 등이 명기된 제조국 또는 제조국 이외의 국가에서 판매되고 있음을 증명하는 서류로서 제조회사의 책임자가 서명한 것으로 공공기관(당해 국가에서 해당 물품에 대한 허가 및 관리 등의 업무를 직·간접적으로 수행하는 기관)에서 공증한 서류”를 제출하여야 한다.

2) 규격

- 규격은 식품의약품안전처장이 인정하는 기준 및 시험방법 고시, 공정서 등에 수재된 성분인 경우, 해당 공정서의 명칭을 기재한다.
- 1) 「대한민국약전」 수재 성분 : ‘약전’ 또는 ‘KP’로 기재한다
- 2) 공정서에 수재된 성분 : 해당공정서의 명칭(또는 약칭)으로 기재한다
- 3) 「대한민국약전외한약(생약)규격집」(식품의약품안전처 고시)에 수재된 성분 : ‘생규’로 기재한다

- 4) 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」(식품의약품안전처 고시)에 수재된 성분 : 'KQC'으로 기재한다
- 5) 첨가제로서 「식품첨가물의 기준 및 규격」(식품의약품안전처 고시)에 수재된 성분 : '식첨'으로 기재한다
- 6) 첨가제로서(내복용제제 제외) 일본의약부외품 원료규격집에 등재된 원료 : '일의원규'로 기재한다
- 7) 첨가제로서(내복용제제 제외) 일본의약품 첨가물규격집에 등재된 원료 : '일의첨규'로 기재한다
- 8) 위에 해당하지 않는 것으로 신청사에서 직접 작성한 성분 규격의 경우, "별첨규격" 또는 "별규"로 기재한다.
- 9) 첨가제로서 「식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처 고시)에 수재된 성분으로 규격이 정하여 있는 경우 : '식품공전'으로 기재한다

3) 주성분

- 주성분 및 첨가제의 분량은 다음과 같이 작성한다.

- 치약 불소함유량 기준
- 개개성분

일불소인산나트륨(Sodium Monofluorophosphate) 1.14%(불소로서 1,500ppm)이하
 플루오르화나트륨(Sodium Fluoride) 0.33%(불소로서 1,500ppm)이하
 플루오르화석(Stannous Fluoride) 0.6%(불소로서 1,500ppm)이하
 플루오르화아민297 (N,N,N'-tris-(2-hydroxyethyl)-N'-octadecyl-1,3- diaminopropane dihydrofluoride) 1.97%(불소로서 1,500ppm)이하
- 상기 성분이 복합될 때는 총 불소로서 1,500ppm 이하
- 추출한 생약을 주성분으로 하는 경우 원료생약의 명칭과 분량(소요량)외에 추출액의 종류(다만, 정제수인 경우 생략 가능하다)와 수득율을 병기(예 : 인삼 50%에탄올 엑스 : 10→1)하고, 원료생약을 분말화하여 제조하는 경우에도 원료생약과의 양적 관계를 명확히 기재한다.(예 : 감초가루 : 100→65)

- 제조공정 중 보존제가 사용된 경우 「의약외품 품목 허가·신고·심사 규정」 [별표 1]의 '의약외품용 보존제 및 그 사용범위'를 참고하여 사용 가능한

보존제를 사용하며 허용범위 내의 분량을 사용한다. 고시 외에 타르색소를 사용할 수 있으나 사용예가 없는 경우 안전성·유효성 자료 제출 대상이 될 수 있다.

※ 구강용품 등 점막 적용 제품의 경우 동규정 별표3의 외용색소(점막 제외) 사용할 수 없음

4) 첨가제

- 첨가제의 분량을 모두 기재하여야 한다. 다음에 해당하는 첨가제는 1 % 이하로 투입하는 경우에는 '적량'으로, 1 %를 초과하여 투입하는 경우에는 일정 범위로 작성한다.

- 코팅제, 환의제, 장용피제, 활택제, 광택제
- 감미제, 착색제, 착향제
- 현탁화제, 유화제, 용해보조제
- 안정제, 등장제, pH조절제, 점도조절제
- 용제, 기제(캡슐제 포함)

- 유효성분 이외의 첨가제는 「대한민국약전」, 공정서 등에 수재된 첨가제항과 「의약품의 품목허가·신고·심사규정」(식품의약품안전처 고시) [별표 7]을 준용하되, 제형별 의약품 또는 의약외품의 첨가제 또는 그 외의 첨가제로서 국내·외의 공인할 수 있는 사용 예 등으로 배합목적이 제제학적으로 타당하고, 직접적인 약리효과가 인정되지 아니하며 제제의 유효성을 저해하거나 품질관리상 지장을 주어서는 아니된다. 다만, 주성분으로 사용되거나 약리작용이 있는 것으로 확인된 성분을 첨가제로 배합하는 경우에는 제제학적 타당성과 사용례 등을 고려하여 그 함량을 설정하되, 1일 사용량이 동일 투여경로의 1일 최저 상용량의 1/5을 초과하지 아니하여야 하며, 만일 초과하는 경우 국내·외에서 사용된 근거와 배합근거가 제제학적으로 타당한 자료를 제출한다.
- 구강제품(구중청량제, 치약제, 치아미백제)에 첨가제로서 미세플라스틱(5 mm 크기 이하의 고체플라스틱)을 사용할 수 없다.

- 첨가제에 보존, 착색 등을 목적으로 다른 성분이 혼합되어 있는 경우 그 성분의 명칭, 규격, 분량을 기재한다. 다만, 첨가제의 명칭 규격 등에서 이를 확인할 수 있는 경우 제외한다.

○ 작성 예

예 1) 구중청량제

(OO그램) 중										
세부 구성	배합 목적	원료명	활성물질 용량	규격	분량	단위	제 조 원	DMF	반제 여부	비고
	주성분	플루오르화나트륨	불소(으)로서 O그램 또는 밀리그램	KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	점도조 절제	잔탄검		식첨	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	감미제	사카린나트륨수화물		KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	유화제	라우릴 황산나트륨		KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	안정제	스테아린산아연		USP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	보존제	벤조산나트륨		KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	pH조 절제	시트르산		KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	착향제	조합향료(OOO)		별규	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	

	용제	정제수		KP	적량	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
--	----	-----	--	----	----	----------------------	---------	--	---	--

※착색제, 착향제, pH조절제, 용제, 점도조절제는 1%이하로 투입하는 경우에는 '적량'으로 기재할 수 있다.

예 2) 치약

(OO그램) 중										
세부 구성	배합 목적	원료명	활성물질 용량	규격	분량	단위	제 조 원	DMF	반제 여부	비고
	주성분	덴탈타입실리카	이산화규소(으)로서 O그램 또는 밀리그램	NF	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	감미제	자일리톨		KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	습윤제	글리세린		KQC	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	보존제	벤조산나트륨		KP	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	착향제	조합향료(OOO)		별규	O.O	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	
	용제	정제수		KP	적량	그램 또는 밀리 그램	원료제 조사명		X	

※착색제, 착향제, pH조절제, 용제, 점도조절제는 1%이하로 투입하는 경우에는 '적량'으로 기재할 수 있다.

□ 제조방법

- 「의약외품 품목허가·신고·심사 규정」 제11조 및 [별표 2] 의약외품 제제의 제조방법 기재요령에 따라 기재한다.

작성 예)

공정번호	공정명칭	원료·시약·용매 등	비고
1	원료칭량	주성분: 덴탈타입실리카 감미제: 자일리톨 습윤제: 글리세린 보존제: 벤조산나트륨 착향제: 조합향료(OOO) 용제: 정제수	<제조원> 1. 주성분 : 업체명, 소재지 2. 감미제 : 업체명, 소재지 : 2. 용제 : 업체명, 소재지
2	1차 원료 투입 및 혼합	용제: 정제수 감미제: 자일리톨	
3	2차 원료 투입 및 혼합	주성분: 덴탈타입실리카 습윤제: 글리세린 보존제: 벤조산나트륨 착향제: 조합향료(OOO)	
4	포장	공정 3의 반제품	직접용기 포장재질: PET, PP, PE

1) 원료의 기준 및 시험방법 작성

□ 작성방법 및 제출자료

- 「의약품 품목허가·신고·심사 규정」에 따라 식약처장이 인정하는 공정서 등 기준 및 시험방법을 고시하거나 인정한 품목에 해당하지 않는 것으로 신청사에서 직접 작성한 원료 규격의 경우, 제29조 및 [별표 5]에 따라 작성하며, 원료의 구성에 따라 세부별첨 규격을 포함하여 설정한다.
- 근거자료로서 원료의 구성성분(재질, 제법, 조성 등)을 확인할 수 있는 물질안전보건자료(MSDS), 원료제조원 자료 및 시험성적서를 제출한다.
 - 세부 별첨규격을 포함하는 경우 주된 별첨규격, 세부 별첨규격 각각 근거자료를 제출하여야 한다.
 - 의약품 등 시험검사기관 또는 자사에서 발행한 시험성적서를 제출하며, 자사 수행의 경우, 시험결과 등을 포함한 시험기초자료를 제출한다. 다만, 의약품 등 시험검사기관에서 발행한 시험성적서인 경우라도 시험방법 등의 확인이 필요한 경우 시험기초자료 제출이 요구될 수 있다.
 - 확인시험, 순도시험, 함량 또는 한도 시험(필요한 경우) 등의 기준은 밸리데이션 자료 등을 근거로 설정하며 공정서 이외의 시험법은 구체적인 시험 방법으로 설정한다.
 - 착향제 별첨규격 작성 시 구성성분과 규격을 기재하고 근거자료를 제출한다.
 - 1) 원료명은 조합향료(이름 또는 코드명)으로 한다.
 - 2) 조합향료의 구성성분의 규격은 「식품첨가물의 기준 및 규격」 및 「식품의 기준 및 규격」을 참고한다.
 - 3) 조합향료 사용하는 정제수의 규격이 '먹는물 관리법'인 경우 「식품첨가물 기준 및 규격」을 참고한다.
 - 4) 시험항목은 성상, 비중, 굴절률을 기본으로 설정하고 비중은 '실측치 ± 0.02 ' 이내, 굴절률은 '실측치 ± 0.02 ' 이내로 설정한다

<표. 배합목적별 원료의 별첨규격 시험항목>

배 합 목적	시험 항목
조 합 향 료	조성, 성상, 비중, 굴절률
추 출 물	성상, 제법, pH, 비중, 굴절률, 순도, 확인, 함량, 미생물한도시험 등

□ 별첨규격 작성 예

(1) 추출물

ooo추출물

제 법 oo나무(학명)의 잎을 물, 에탄올 또는 프로필렌글리콜 혼합액으로 추출하여 얻은 추출액이다.

성 상 이 원료는 oo색의 액이다.

굴 절 률 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

pH 0.0 ~ 0.0

확인시험 의약외품에 관한 기준 및 시험방법 oo 추출물 중 확인시험항에 따라 시험할 때 적합하여야 한다

순도시험

1) 중금속 약 1.0 g을 취하여 대한민국약전 일반시험법 중금속시험법에 따라 시험할 때 OO ppm 이하 이어야 한다.

2) 비소 약 1.0 g을 취하여 대한민국약전 일반시험법 비소시험법에 따라 시험할 때 OO ppm 이하 이어야 한다.

정 량 법 의약외품에 관한 기준 및 시험방법 중 OOO의 정량법에 따라 시험한다.

비 중 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

잔류농약시험 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

미생물한도시험 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

(2) 조합향료

조합향료(0000 향)

이 원료는 000, 000, 000 등을 조합한 향료이다.

조 성 비

성분명	FEMA/ CAS No.	규격	조성비
1-MENTHOL	CAS. 2216-51-5	일외원규	50~60%
PEPPERMINT OIL	CAS. 8006-90-4	식첨	30~40%
CITRAL	CAS.5392-40-5	식첨	0.01~1%
VANILLIN	CAS. 121-33-5	식첨	0.05~1%
LEMON OIL	CAS. 8008-56-8	식첨	0.01~1%

성 상 이 원료는 이 원료는 00색의 액이다.

굴 절 료 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

비 중 대한민국약전 일반시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

2) 완제품의 기준 및 시험방법 작성

□ 작성방법 및 제출자료

- 「의약품 품목허가·신고·심사 규정」 제30조 및 [별표 6]에 따라 작성하며, 제품의 구성 및 특성에 따라 성능을 확인할 수 있는 시험항목을 설정한다.
- 근거자료로서 동 규정 제31조에 따라 시험성적서 및 시험기초자료를 제출한다.
 - pH, 질량·용량시험 등 시험기준이 실측치를 근거로 설정된 경우 근거자료로 3로트, 각 로트 별 3회 이상 시험한 시험성적서 및 시험기초자료를 제출한다.
 - 시험기초자료는 시험일지, 결과사진, 크로마토그램, UV scan 자료 등을 제출하여야 한다.
 - 의약품 등 시험검사기관 또는 자사에서 발행한 시험성적서를 제출하며, 항목이 지정된 시험검사기관인 경우 시험기초자료를 생략할 수 있으며, 제품명, 시험일자, 담당자 및 책임자의 성명과 서명등을 포함하여 제출한다.

1. 성상

- 색 및 제형이 모두 포함하여야 하며, 육안관찰 등 시험방법이 타당하게 작성한다.
- 「의약품 품목허가·신고·심사 규정」 제10조에 따라 작성하며, 제품의 외형적 특성을 「대한민국약전」에 따라 색, 재질 및 제형에 대하여 순서대로 기재한다.
- 작성 예
 - 흰색 반투명의 페이스트제, 흰색의 겔제

분류	정의
페이스트제 Pastes	페이스트제는 보통 분말을 비교적 다량 함유하게 만든 연고제와 같은 외용제이다. 이 제제는 보통 지방, 지방유, 바셀린, 파라핀, 납, 글리세린, 물 또는 이들의 혼합물을 기제로 하여 이것에 의약품의 가루를 고르게 섞어 만든다.
겔제 Gels	겔제는 피부, 구강점막에 도포하는 액체를 침투시킨 분자량이 큰 유기분자로 이루어진 반고형상(겔상)의 외용제이다. 이 제제에는

	<p>수성겔제 및 유성겔제가 있다.</p> <p>1) 수성겔제는 주성분에 고분자화합물, 기타 첨가제 및 정제수를 넣어 녹이거나 현탁시켜 가온 및 냉각 또는 겔화제를 넣어 섞는다.</p> <p>2) 유성겔제는 주성분에 글리콜류, 고급알코올 등의 액상의 유성기제 및 기타 첨가제를 넣어 섞는다.</p>	
<p>2. 확인시험</p> <ul style="list-style-type: none"> • 제품의 품질 및 유효성 확보에 관계된 시험으로, 모든 주성분에 대한 확인시험 및 시험방법을 타당하게 설정하여야 하며 정성반응, 크로마토그래프법(LC 및 GC)에 따른 동일 주피크 유지 시간을 확인하는 방법 등으로 설정 가능하며, LC 및 TLC로 설정할 경우, 각 유효성분 분리 여부를 작성하여야 한다. 		
<p>3. pH</p> <ul style="list-style-type: none"> • 액상제제일 경우 시험하며 실측통계치에 대하여 ± 1.0 이내로 설정한다. - 대한민국약전 일반시험법의 pH 측정법에 따라 타당하게 설정하여야 하며, 실측치를 근거로 기준을 설정할 경우 3로트 3회 실측통계치 ± 1.0 이내로 설정한다. 		
<p>4. 함량시험</p> <ul style="list-style-type: none"> • 제품의 품질 및 유효성 확보에 관계된 시험으로 함유된 모든 주성분에 대한 정확성, 정밀성, 특이성을 가지는 시험법으로 주성분의 함량을 정하는 시험 - 「의약외품 품목허가·신고·심사규정」 제28조에 따라 주성분 함량을 타당하게 설정한다. 크로마토그래프법의 경우, 표준액의 농도, 검액 농도, 분석조건, 계산식을 작성한다. - 표준액과 검액의 농도가 단일농도의 경우 분석농도를 동일하게 작성한다 - 검량선법으로 분석 할 경우 검액의 농도가 검량선 범위 중간값을 기재하여야 한다 - 검액과 표준액의 농도를 타당하게 설정하고, 제출자료 적정법이나 불소이온측정기를 이용한 불소 측정 등 제품 중 ‘주성분’을 완벽하게 구별할 수 있는 방법(예: 위약(placebo)을 이용한 특이성 자료)임을 입증하는 자료를 제출하여야 한다. - 새로운 시험방법인 경우, ‘의약품등 분석법의 밸리데이션 가이드라인’에 따라 시 		

험방법 설정 근거자료로 밸리데이션 자료를 제출하여야 한다.

- 일반 기준 : 90.0 % 이상
- 기타 기준
 - 치약 중 불소화합물 : 90.0 ~ 110.0 %
 - 치약, 구중청량제, 치아미백제 중 과산화수소수 : 90.0 ~ 110.0 %

5. 질량·용량 시험

- 모든 주성분이 균질하게 분포하는 제제의 경우 제제 질량의 편차를 함량의 편차로 보고 개개 제제의 질량을 측정하여 제제 중 주성분의 함량의 균일성을 추정하는 시험이다.
 - 「대한민국약전」 일반시험법의 질량·용량시험법에 따라 타당하게 작성한다.
 - 표시량이 150 g(또는 150 ml) 이하인 제제 : 제제 10개 내용물의 평균질량은 표시량 이상, 개개 질량은 표시량이 60 g 이하이면 표시량의 90 % 이상, 60 g 초과 150 g 이하이면 표시량의 95% 이상일 때 적합하다.
 - 표시량이 150 g(또는 150 ml) 초과한 제제 : 제제 3개로 시험했을 때 개개의 질량이 표시량 이상일 때 적합하다.

6. 미생물한도

- 제제에 존재하는 증식능력을 가지는 특정한 미생물을 정성, 정량하기 위한 시험
 - 「대한민국약전」 일반시험법의 미생물한도시험법에 따라 타당하게 설정한다.
 - 미생물한도 및 무균시험의 경우 배지성능시험 및 측정법의 적합성 시험 자료를 제출한다.

7. 제제균일성시험

- 각 제제간의 주성분 함량의 균일성 정도를 평가하기 위한 시험법으로 함유된 주성분에 대하여 설정한다.

8. 알코올수

- 에탄올을 4% 이상 함유한 경우 설정한다.

9. 회분시험

- 제제를 강열할 때 잔류하는 물질의 양으로서, 제제 중 불순물 또는 구성성분으로 함유되어 있는 무기물의 함량을 측정하기 위한 시험이다.

10. 중금속시험

- 제제를 제조하는 과정 중 혼재 또는 혼입의 우려가 있는 유해한 것(중금속)에 대하여 시험을 설정한다.

11. 봉해시험

- 정해진 조건에서 규정시간 안에 봉해하는가를 확인하는 시험이다.

<표. 제제의 분류별 시험항목>

분 류		시험항목
1. 구중청량제	정제	성상, 제제균일성시험, 확인시험, 함량시험, 봉해, 알코올수(내복용제제에 한함)
	액제	성상, 확인시험, 함량시험, 질량·용량시험, pH, 미생물한도
	환제	성상, 확인시험, 함량시험, 미생물한도, 회분시험, 중금속시험, 알코올수(내복용제제에 한함)
2. 치약제	페이스트제	성상, 확인시험, 질량·용량시험, pH, 함량시험
	액제	성상, 확인시험, 함량시험, 질량·용량시험, pH, 미생물한도
	정제	성상, 확인시험, 함량시험, 제제균일성시험, pH, 봉해
3. 치아미백제		성상, 확인시험, 함량시험, 질량·용량시험, pH

□ 완제품 기준 및 시험방법 작성 예

1. 구중청량제

- 입냄새 기타 불쾌감의 방지를 목적으로 하는 내용제 및 양치제는 성상, 확인시험, 함량시험 등을 설정한다.

작성 예 1) 정제

기준 및 시험방법

<기 준>

1. 성 상 △△△색의 정제
2. 제제균일성시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. 확인시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
4. 함량시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 000000(000 : 00.00)은 표시량(00mg/00mg)에 대하여 00.0~ 00.0% 이어야 한다.
5. 봉해 다음 시험법에 따라 시험할 때 00분 이내에 봉해되어야 한다.

<시 험 방 법>

1. 성상 육안으로 관찰한다.
2. 제제균일성시험 대한민국약전 일반시험법 중 제제균일성시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. 확인시험 본 품을 가지고 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000의 따라 시험한다.
4. 함량시험 이 약을 분쇄하여 가루로 된 검체를 가지고 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000 함량시험에 따라 시험한다.
5. 봉해 정제 0 정을 $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 물 10 ml가 담긴 비이커에 넣는 순간 거품을 내면서 봉해지는 시간을 측정한다. 봉해 중 정제가 뜨지 않도록 유리 봉을 사용하여 완전하게 침지시킨 후 0 분 이내 봉해 되나 약간의 잔류물이 있을 수 있다. 이 약 0 정 중 0 정 또는 0 정이 봉해되지 않았을 때는 다시 0 개의 검체를 가지고 시험을 하고, 총 0 개의 검체 중 0 개 이상의 검체가 봉해되었을 때 적합으로 한다

작성 예 2) 액제

기준 및 시험방법

<기 준>

1. **성 상** △△△색의 액제
2. **확인시험** 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. **함량시험** 다음 시험법에 따라 시험할 때 000000(000 : 00.00)은 표시량(00mg/00mg)에 대하여 00.0~ 00.0% 이어야 한다.
4. **질량·용량시험** 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
5. **pH** 다음 시험법에 따라 시험할 때 pH는 0.0 ~ 0.0 이어야 한다.
6. **미생물한도** 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

<시 험 방 법>

1. **성상** 육안으로 관찰한다.
2. **확인시험** 본 품을 가지고 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000의 따라 시험한다.
3. **점착력시험** 이 약을 분쇄하여 가루로 된 검체를 가지고 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000 함량시험에 따라 시험한다.
4. **질량·용량시험** 대한민국약전 일반시험법 질량·용량시험법에 따라 시험한다.
5. **pH** 대한민국약전 일반시험법 pH 측정법에 따라 시험한다.
6. **미생물한도** 대한민국약전 일반시험법 미생물한도시험법에 따라 시험한다.

2. 치약제

- 이를 희게 유지하고 튼튼하게 하며 구중청결, 치아, 잇몸 및 구강의 질환 예방 등을 목적으로 하는 치약제는 성상, 확인시험, 함량시험 등을 설정한다.

작성 예 1) 페이스트제

기준 및 시험방법

<기 준>

1. **성 상** △△△색의 페이스트제
2. **확인시험** 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. **함량시험** 다음 시험법에 따라 시험할 때 000000(000 : 00.00)은 표시량(00mg/00mg)에 대하여 00.0~ 00.0% 이어야 한다.
4. **질량·용량시험** 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
5. **pH** 다음 시험법에 따라 시험할 때 pH는 0.0 ~ 0.0 이어야 한다.

<시 험 방 법>

1. **성상** 육안으로 관찰한다.
2. **확인시험** 본 품을 가지고 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000의 따라 시험한다.
3. **점착력시험** 이 약을 분쇄하여 가루로 된 검체를 가지고 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000 함량시험에 따라 시험한다.
4. **질량·용량시험** 대한민국약전 일반시험법 질량·용량시험법에 따라 시험한다.
5. **pH** 대한민국약전 일반시험법 pH 측정법에 따라 시험한다.

작성 예 2) 액제

기준 및 시험방법

<기 준>

1. 성 상 △△△색의 액제
2. 확인시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. 함량시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 000000(000 : 00.00)은 표시량(00mg/00mg)에 대하여 00.0~ 00.0% 이어야 한다.
4. 질량·용량시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
5. pH 다음 시험법에 따라 시험할 때 pH는 0.0 ~ 0.0 이어야 한다.
6. 미생물한도 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

<시 험 방 법>

1. 성상 육안으로 관찰한다.
2. 확인시험 본 품을 가지고 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000의 따라 시험한다.
3. 점착력시험 이 약을 분쇄하여 가루로 된 검체를 가지고 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000 함량시험에 따라 시험한다.
4. 질량·용량시험 대한민국약전 일반시험법 질량·용량시험법에 따라 시험한다.
5. pH 대한민국약전 일반시험법 pH 측정법에 따라 시험한다.
6. 미생물한도 대한민국약전 일반시험법 미생물한도시험법에 따라 시험한다.

작성 예 3) 정제

기준 및 시험방법

<기 준>

1. 성 상 △△△색의 정제
2. 확인시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. 함량시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 oooooo(000 : 00.00)은 표시량(00mg/00mg)에 대하여 00.0~ 00.0% 이어야 한다.
4. 제제균일성시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
5. pH 다음 시험법에 따라 시험할 때 pH는 0.0 ~ 0.0 이어야 한다.
6. 봉해 다음 시험법에 따라 시험할 때 oo분 이내에 봉해되어야 한다.

<시 험 방 법>

1. 성상 육안으로 관찰한다.
2. 확인시험 본 품을 가지고 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000의 따라 시험한다.
3. 점착력시험 이 약을 분쇄하여 가루로 된 검체를 가지고 「의약외품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000 함량시험에 따라 시험한다.
4. 제제균일성시험 대한민국약전 일반시험법 제제균일성시험에 따라 시험한다.
5. pH 대한민국약전 일반시험법 pH 측정법에 따라 시험한다.
6. 봉해 정제 0 정을 $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 물 10 ml가 담긴 비이커에 넣는 순간 거품을 내면서 봉해지는 시간을 측정한다. 봉해 중 정제가 뜨지 않도록 유리 봉을 사용하여 완전하게 침지시킨 후 0 분 이내 봉해 되나 약간의 잔류물이 있을 수 있다. 이 약 0 정 중 0 정 또는 0 정이 봉해되지 않았을 때는 다시 0 개의 검체를 가지고 시험을 하고, 총 0 개의 검체 중 0 개 이상의 검체가 봉해되었을 때 적합으로 한다

3. 치아미백제

- 이를 희게 유지하는 목적으로 하는 치아미백제는 정상, 확인시험, 함량시험 등을 설정한다.

작성 예)

기준 및 시험방법

<기 준>

1. 성 상 △△△색의 정제
2. 확인시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
3. 함량시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 000000(000 : 00.00)은 표시량(00mg/00mg)에 대하여 00.0~ 00.0% 이어야 한다.
4. 질량·용량시험 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.
5. pH 다음 시험법에 따라 시험할 때 pH는 0.0 ~ 0.0 이어야 한다.
6. 방출시험(첨부형 제품의 경우) 다음 시험법에 따라 시험할 때 00분 경과 시 00% 이상 방출되어야 한다.
7. 형상(첨부형 제품의 경우) 다음 시험법에 따라 시험할 때 적합하여야 한다.

<시 험 방 법>

1. 성상 육안으로 관찰한다.
2. 확인시험 본품을 가지고 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000의 따라 시험한다.
3. 점착력시험 이 약을 분쇄하여 가루로 된 검체를 가지고 「의약품에 관한 기준 및 시험방법」 중 00000 함량시험에 따라 시험한다.
4. 질량·용량시험 대한민국약전 일반시험법 질량·용량시험법에 따라 시험한다.

5. pH 대한민국약전 일반시험법 pH 측정법에 따라 시험한다.
6. 방출시험(첩부형 제품의 경우) USP 약물 방출 시험을 이용하여 시험한다.
7. 형상(첩부형 제품의 경우) 제품의 크기를 눈금자로 측정한다.

□ 구강제품 기준 및 시험방법 시험성적서 표준양식 예시

※ 본 시험성적서 표준양식은 자사 품질관리 등에 활용하기 위하여 제공하는 것이며
참고하시기 바랍니다.

○ 예) 구강제품(치약) 시험성적서 표준양식

시 험 성 적 서

접수번호			발급번호	
접수일자			발급일자	
제 품 명		○○○ 치약		
제조번호			제 조 일	
의뢰자	성 명		업 체 명	
	소재지			
제조원	성 명		업 체 명	
	소재지			
시험결과		첨부 시험성적서 참고		
종합판정		적합/부적합		
시험검사원		○○○ (서명)	시험검사책임자	○○○ (서명)

발 행 기 관 명 (직인)

시 험 일 지

제 품 명	〇〇〇 치약	시 험 일	
제조번호		구 분	■ 치약

시험항목		기준		시험결과		판정
성상		흰색의 페이스트제			-	적합/ 부적합
확인시험	함수이산화규소	황색을 나타냄			-	적합/ 부적합
	플루오르화나트륨	노란색을 나타냄				
함량시험	함수이산화규소	90.0% 이상			-	%
	플루오르화나트륨	90.0 ~ 110.0%				
pH		5.50~7.50			-	
질량 · 용량 시험		100.0g / 95.0% 이상			-	
시험항목	성 상					
검 체 사 진						

시험항목	확인시험
함수이산 화규소	시험결과 사진
플루오르 화나트륨	
시험항목	pH
	측정 값
시험항목	질량 · 용량 시험
	측정 값

시험항목	함량시험
<p>함수이산 화규소</p>	<p>시험결과 사진 및 그래프</p>
<p>플루오르 화나트륨</p>	<p>시험결과 사진 및 그래프</p>

V. 구강제품에 동물대체시험법 활용

개 요

- 동물실험은 그동안 식품 및 의약품 등 개발, 화학물질의 유해성 평가 등에서 폭넓게 시행되어 왔으나, 최근 무분별한 동물실험이 생명윤리 차원에서 문제가 있고 그 효과에도 의문이 있다는 비판이 제기되고 있다.

동물실험을 대체하거나 그 방법을 개선하는 방안에 대한 관심이 고조되고 있으며, 이를 극복할 기술 지원 정책 사례가 해외 등에서 이어지고 있다. 독성연구를 비롯한 바이오 분야에서 점차 확산되고 있는 동물대체시험법은 매년 전 세계적으로 1억 마리가 넘는 실험동물의 사용을 줄일 뿐만 아니라 오가노이드·장기칩 등 보다 인간 신체에 근접한 기술을 활용함으로써 연구의 윤리성은 물론 예측률도 제고하는 새로운 방식으로 주목받고 있다.

의약품 안전성·유효성 심사 제출자료 중 독성 시험의 경우 현재 동물대체시험법을 활용하는 규정 및 지침은 없는 실정이다. 하지만 앞으로 의약품 심사자료로서 소개하는 두가지의 동물대체시험법 및 그밖에 동물대체시험법에 대해서도 과학적으로 타당할 경우 사용가능하다. 의약품에서도 동물대체시험법이 적극 활용되어 생명윤리차원에 이바지 할 수 있는 계기가 되길 바란다.

안전성·유효성 심사자료의 종류 중 독성에 관한 자료(동물대체시험법 적용)

- 「의약품 등의 안전에 관한 규칙」 제4조제1항 및 제9조제1항에 따른 안전성·유효성의 심사를 위하여 제출하여야 하는 자료의 종류는 다음과 같다.

제출자료 구 분		자료번호 ^{주1}												비고
		기 원 개 발 경 위	기 준 시 험 방 법	안 정 성	독성						효 능 효 과	국 내 유 사	외 국 현 황	
					단 회	반 복	생식, 발생	유 전	면 역	발 암				
신물질 함유제제		○	○	○	○	○	△	○	○	△	○	○	○	주2
새로운 조성의 복합제		○	○	△	△	△	×	×	△	×	△	○	○	
함량증감 복합제		○	○	△	△	×	×	×	△	×	○	△	○	
단일제		○	○	△	△	×	×	×	△	×	△	○	○	
새로운 효능·효과		○	○	×	×	×	×	×	△	×	△	○	○	
새로운 용법·용량		○	○	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	
새로운 제형		○	○	○	×	×	×	×	×	×	×	△	○	

○ : 자료를 제출하여야 하는 것

△ : 개개 품목에 따라 판단하여 제출하는 것이 무의미하거나 불가능하여 면제할 수 있는 것

× : 자료가 면제되는 것

- 구강제품의 안전성·유효성의 심사자료에서 독성자료에서 면역독성 시험법은 동물대체시험법 중 마우스 국소림프절 시험(OECD TG 442B)으로, 국소독성 시험에서 피부 자극성 시험은 인체 유래 인공피부 모델시험(OECD TG 439)이 사용가능하다.

1) 유세포 분석을 이용한 국소림프절시험법(부록 OECD TG 442B: ELISA 또는 유세포 분석을 이용한 국소림프절시험)

- 개요: 본 시험법은 피부감작성의 독성발현경로(AOP, Adverse Outcome Pathway) 중 네 번째 핵심 단계(key event)인 T-세포의 활성화와 증식을 평가하는 방법으로서 UN GHS¹⁾ 기준에 따라 시험물질의 피부감작성을 평가하는 유세포 분석을 이용한 국소림프절시험(LLNA: BrdU-FCM²⁾)이다. 본 시험법은 기존 방사성 동위원소를 사용하는 국소림프절 시험법을 대체하기 위한 방법으로 피부감작성 반응 중 유도기(induction phase)에 나타나는 반응을 측정하는 시험법이다.

1) UN GHS : United Nations Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals

2) LLNA: BrdU-FCM : Local Lymph Node Assay: Bromodeoxyuridine-Flow Cytometry

림프절 단일세포의 증식수준을 티미딘(thymidine) 유사체인 5-Bromo-2-deoxyuridine(BrdU)를 이용하여 유세포 분석기로 측정하여 감작능을 평가하는 것이다. LLNA: BrdU-FCM은 다른 LLNA 시험법과 마찬가지로 기니픽 시험(TG 406) 대비 사용되는 동물의 수를 줄일 수 있으며, 면역보조제 사용이 불필요하여 동물의 고통을 줄일 수 있는 장점이 있다. 또한, LLNA(TG 429)와 달리 방사성 동위원소를 사용하지 않고 피부감작성을 확인할 수 있기 때문에 작업 시 방사성 노출이나 방사성 폐기물 처리 문제가 없다.

- **시험원리:** 감작성 시험물질은 도포 부위 림프절 내에 림프구 증식을 유도하며, 림프구의 증식은 투여용량 및 도포된 알레르기 유발 항원의 감작능에 비례한다. 림프구의 증식정도는 증식세포의 DNA에 결합하는 티미딘의 유사체인 BrdU 양을 측정하여 결정한다. BrdU의 결합은 플루오레세인 이소티오시안산(fluorescein isothiocyanate, FITC)으로 표지된 BrdU 특이적 항체를 사용하여 유세포 분석기를 통해 BrdU 양성세포 수를 정량화한다.

- **제한점 및 고려사항:** 시험을 수행하기 전에 본 시험법이 시험물질에 적절한 시험법인지와 시험물질 처리농도 선택을 위하여 구조, 물리화학적 성질, 생체내 또는 생체외 독성시험 결과, 구조적으로 유사한 화학물질의 독성시험 자료 등 시험물질에 대한 모든 자료를 고려해야 한다. 특정 금속물질, 일부 계면활성제와 같이 위양성 결과를 나타내는 피부자극제, 불용성시험물질 등의 LLNA 시험법 적용은 제한점이 존재하기 때문에 이러한 물질들은 기니픽을 이용한 시험(TG 406)으로 평가해야 한다. 또한 시험물질이 잠재적 교란원인으로서 작용하는 작용기를 포함하는 경우(fatty acid glutamate, oleic acid, oleic acid ester, fatty alcohol 1, fatty alcohol 2, polyaminofunctional siloxane) 기니픽을 이용한 시험이 필요할 수 있다. 본 시험법의 검증연구에 있어서 LLNA 결과와 비교 시 중감작성인 2-메르캅토벤조티아졸(mercaptobenzothiazole)과 약감작성인 메틸

메타크릴레이트(methyl methacrylate)는 위음성 결과를 나타내었음을 참고한다. 규제목적으로 혼합물에 대해 평가할 경우 본 시험법이 적절한 지를 검토해야 한다.

2) 인체피부모델을 이용한 피부자극 시험법(부록2 OECD TG 439: 인체피부모델을 이용한 피부자극 시험법)

○ **개요:** 인체피부 상층부인 표피(epidermis)의 생화학적 및 생리학적 특성을 매우 유사하게 모방한 인체피부모델(Reconstructed human Epidermis, RhE)을 이용하여 UN GHS 기준에 따라 피부자극 물질을 구별하는 생체외(in vitro) 피부자극 시험법이다. 본 시험법은 생체내(in vivo) 피부자극 시 발생하는 작용기전의 초기 단계인 세포 및 조직 손상을 직접적으로 다룬다. 시험물질을 인체피부모델에 국소적으로 적용하여 일정 시간 노출시킨 후 MTT 분석법으로 세포 생존율을 측정하여 시험물질의 피부자극을 평가한다. 7가지의 시험법이 있으며, 각 시험법은 상용화된 인체피부모델(EpiSkin™, EpiDerm™, SkinEthic™ RHE, LabCyte EPI-MODEL24, epiCS®, Skin+®, KeraSkin™)을 사용한다.

○ **시험원리:** 피부자극물질은 각질층을 투과하여 피부세포의 기초가 되는 부분을 손상시킬 수 있으며, 손상된 세포는 진피층의 세포, 특히 혈관의 기질 세포와 내피세포에 염증반응을 일으킨다. 이로 인한 내피세포의 확장과 투과성의 증가는 홍반과 부종을 유발하며 이는 피부자극의 주요 특징으로 나타난다. 본 시험법은 이러한 원리를 바탕으로 시험물질에 의한 세포 및 조직 손상 정도를 측정하여 피부자극물질을 구별할 수 있다. 인체유래 각질세포로 구성된 인체피부모델에 시험물질을 국소적으로 적용한 후 MTT 분석법으로 세포 생존율을 측정하여 시험물질의 피부자극성을 평가한다.

○ **제한점 및 고려사항:** 본 시험법은 각 국가의 규제 체계에 따라 단독으로 사용하거나 통합독성평가 (Integrated Approaches to Testing and Assessment, IATA)에서 시험전략(testing strategy) 내의 일부로 사용

하여 UN GHS category 2(피부자극물질) 또는 No Category(비자극성 물질) 물질을 구별할 수 있다. 본 시험법은 고체, 액체, 반고체 및 왁스에 적용할 수 있으며, 가능하다면 고체는 적용 전에 고운 분말로 갈아서 사용해야 한다. 가스와 에어로졸은 검증 연구에서 아직 평가되지 않았으므로 본 가이드라인에서는 허용하지 않는다. 세포 생존율 측정에 활용되는 MTT 포르마잔과 동일한 파장에서 빛을 흡수하는 시험물질이거나 생체염료인 MTT를 MTT 포르마잔으로 직접 환원시킬 수 있는 시험물질은 세포 생존율 측정을 간접할 수 있으므로 이를 보정하기 위한 추가적인 대조군 사용이 필요할 수 있다.

VI. 부 록

OECD TG 442B 서론
ELISA 또는 유세포 분석을 이용한 국소림프절시험

OECD TG 439 서론
인체피부모델을 이용한 피부자극 시험법

참고문헌

부록 1. 번역본 (OECD TG 442B 서론)

ELISA 또는 유세포 분석을 이용한 국소림프절시험 In Local lymph node assay : BrdU-ELISA or -FCM

서론

1. 피부감작성 물질이란 UN의 화학물질의 분류 및 표시에 관한 국제조화시스템 (United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, UN GHS)에 정의된 바와 같이 반복적 피부 접촉 후 알레르기 반응을 유도하는 물질을 일컫는다.

2. 피부감작에 관여하는 주요한 생물학적 현상에 대해 일반적인 동의가 있다. 피부 감작과 관련된 화학적/생물학적 기전을 설명하는 독성발현경로(Adverse Outcome Pathway, AOP)의 형식으로 설명될 수 있다⁽²⁾. AOP는 분자 수준의 초기 단계에서 중간 단계를 거쳐 유해효과, 즉 알레르기성 접촉성 피부염을 일으키는 과정으로 이루어진다. AOP는 유기화학물질 등의 1차 아민(라이신) 및 티올(시스테인)과 반응하는 화학물질에 중점을 둔다. 이와 관련하여, 분자 수준의 초기 단계(첫 번째 핵심 단계)는 피부 단백질의 친핵성 중심에 전자친화성 물질들이 공유 결합하는 것이다.

첫 번째 핵심 단계(key event)는 *in chemico* 펩타이드 반응을 이용한 피부감작성 시험법(Direct Peptide Reactivity Assay(DPRA), TG 442C)을 사용한다⁽³⁾. AOP의 두 번째 핵심 단계는 각질세포에서 발생하며, 염증 반응뿐만 아니라 항산화/전자친화성 반응요소-의존성 경로(antioxidant/electrophile response element(ARE)-dependent pathways)와 같이 특정한 세포 신호전달 경로 관련 유전자 발현의 변화를 측정하며, 생체외(*in vitro*) ARE-Nrf2 루시페라아제 시험법(KeratinoSensTM 또는 LuSens, TG 442D)을 사용한다. 세 번째 핵심 단계는 수지상 세포(Dendritic Cells, DC)의 활성을 평가하는 것으로서, 일반적으로 특정 세포 표면 표지자, 케모카인, 싸이토카인의 발현을 평가하며, TG 442E에 설명된 바와 같이 생체외 인체 세포주 활성화 시험법(Human Cell Line Activation Test, h-CLAT), 생체외 U937 세포주 활성화 시험법(U-SENSTM) 또는 Interleukin-9 reporter 유전자 시험법(IL-8 Luc assay)을 사용한다⁽⁵⁾. 네 번째 핵심 단계는 T-세포의 증식을 평가하며, 마우스를 이용한 생체내(*in vivo*) 국소림프절시험(Local Lymph Node Assays, LLNA)을 사용한다⁽⁶⁾.

3. 마우스를 이용하여 피부감작성을 판별하기 위한 첫 번째 시험지침(Test Guideline, TG)인 국소림프절시험(LLNA; TG 429)은 2002년에 채택되었고 이후 개정되었다⁽⁷⁾. LLNA 검증연구에 대한 연구내용 및 전문가 검토는 발표된 바 있다⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾. LLNA 시험법에서 림프구 증식을 측정하는 데 방사성 동위원소인 3H-티미딘(thymidine)이나 방사성 요오드(iodine)가 사용되므로 방사능의 획득, 사용 또는 폐기가 문제가 되는 지역에서는 LLNA의 적용이 제한된다.

4. 본 시험법은 LLNA를 변형시킨 비방사성 시험법이며, 림프구 증식을 측정하기 위해 ELISA 또는 유세포 분석을 이용하여 비방사성 물질인 5-Bromo-2-deoxyuridine(BrdU, CAS No 59-14-3)을 사용한다.

- ELISA법을 이용한 국소림프절시험법: BrdU-ELISA (부록서 IA)

- 유세포 분석을 이용한 국소림프절시험법: BrdU-FCM (부록서 IB)

5. LLNA와 마찬가지로 LLNA: BrdU-ELISA와 LLNA: BrdU-FCM은 피부감작성의 유도 단계와 관련되며, 용량-반응 평가에 적합한 정량적 데이터를 제공한다. 또한, DNA에 방사성을 표지하지 않고 피부감작성을 판별할 수 있기 때문에 방사능 물질에 대한 작업 시 노출이나 폐기물 처리에 문제가 없다. 결과적으로 피부감작 물질을 판별하는 데 기니픽의 사용(TG 406)을 줄이고 마우스의 사용을 증가시키게 된다⁽¹⁷⁾.

6. 본 시험법은 마우스를 사용하여 화학물질의 피부감작성을 평가하고자 마련하였다. TG 406은 기니픽 시험, 특히 기니픽 최대화 시험과 Buehler 시험으로 이루어진다⁽¹⁷⁾. LLNA(TG 429)와 변형된 비방사성 시험법인 LLNA: BrdU-ELISA, FCM(TG 442B), 그리고 LLNA: DA(TG 442A) 모두 TG 406의 기니픽 시험에 비해 동물의 수와 고통을 줄이는 장점이 있다⁽⁷⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾.

출처:

부록2. 번역본(OECD TG 439 서론)

인체피부모델을 이용한 피부자극 시험법

In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method

개요

1. 피부자극은 단일물질 또는 혼합물에 노출된 후 피부에 발생하는 가역적인 손상을 지칭한다[UN의 ‘화학물질의 분류 및 표시에 관한 세계조화시스템 (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, 이하 GHS)’에 의한 정의](1). 본 시험 가이드라인은 UN GHS Category 2에 따라 자극성 화학물질(단일물질 및 혼합물)의 유해성 확인을 위해 사용할 수 있는 생체외(*in vitro*) 시험법을 제공한다(1)(2). UN GHS의 선택 사항인 Category 3(약한 자극 물질)을 채택하지 않는 회원국 또는 지역에서도 분류되지 않는(non-classified) 물질을 확인하는데 본 시험 가이드라인을 사용할 수 있다. 따라서 각 국가의 규제 체계 및 분류 체계에 따라 본 시험 가이드라인을 생체내(*in vivo*) 피부자극시험의 대체시험법으로 단독 사용하거나 시험전략(testing strategy) 내에서 일부 대체시험법으로 사용하여 화학물질의 피부자극성을 결정할 수 있다(3).

2. 일반적으로 피부자극 평가는 실험동물의 사용을 포함한다[OECD TG 404, 1981년 최초 채택, 1992년, 2002년, 2015년 개정](4). 부식성 시험의 경우 검증된 세 가지 생체외 시험법이 OECD TG 430, 431 및 435로 채택되었다(5)(6)(7). 피부부식 및 자극 통합독성평가(IATA)에 대한 가이드라인 지침서 203번(Guidance Document No. 203)은 정보 출처 및 분석 도구를 그룹화 하는 몇 가지 모듈을 설명하고, (i) 화학물질의 피부자극 및 피부부식 가능성 평가를 위해 기존 시험 및 비시험(non-test) 데이터를 통합하고 사용방법에 대한 지침을 제공하며, (ii) 추가 시험이 필요한 경우에 대한 접근법을 제안한다(3).

3. 본 시험 가이드라인은 인체 건강 평가항목인 피부자극을 다루고 있다. 본 시험 가이드라인은 인체피부 상층부인 표피(epidermis)의 생화학적 및 생리학적 특성을 매우 유사하게 모방하여 재구성한 인체 표피(Reconstructed human Epidermis,

이하 RhE)의 생체의 시험계를 기반으로 한다. RhE 시험계는 전형적인 표피 조직 구조 및 세포 구성(cytoarchitecture)을 가진 모델을 구성하기 위해 인체유래의 비형질전환 각질세포를 세포원으로 사용한다. 유사시험법평가기준(Performance Standards, PS)은 가이드라인 지침서 34번(Guidance Document No. 34)의 원칙에 따른 RhE 기반 유사 시험법이나 변형된 시험법의 검증과 평가를 용이하게 한다(8)(9). 본 시험 가이드라인은 2010년에 최초로 채택되어, 2013년에 RhE 모델을 사용하는 추가 시험법을 포함시키기 위해 개정되었으며, 2015년에는 GD 203을 반영하고 생존율 측정을 위한 대체 방법을 도입하기 위해 개정되었고, 이후 RhE 모델을 사용하는 시험법을 추가하기 위해 개정되었다.

4. 본 시험 가이드라인에 포함된 시험법의 목록 및 각 시험법 검증에 사용된 검증 연구의 유형에 관한 정보는 부록 2에 수록되어 있다. 부록 2에 제시된 것처럼 검증된 참고 시험법(Validated Reference Method, 이하 VRM)이 현재의 시험 가이드라인 및 유사시험법평가기준(8)을 개발하는 데 사용되었다. 독립적인 전문평가(peer-review)에서 본 시험 가이드라인에 포함된 모든 시험법은 최소한의 예측력(민감도 80%, 특이도 70%, 정확도 75%)을 충족하는 것으로 확인되었다. 데이터 상호인정(Mutual Acceptance of Data)은 유사시험법평가기준(8)에 따라 검증되어 OECD가 검토 및 채택한 시험법에 대해서만 보장될 수 있다. 본 시험 가이드라인에 포함된 시험법은 생체의 피부자극 시험법의 시험결과에 대한 국가의 요구사항을 다루는데 시험법의 구별 없이 사용할 수 있으며 동시에 데이터 상호인정의 적용을 받을 수 있다.

출처:

VI. 참고문헌

- 1) UN, 2017. Globally Harmonised System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) Seventh revised edition. United Nations, New York. Available at: https://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev07/07files_e0.html
- 2) OECD (2012). The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins. Part 1: Scientific Evidence. Series on Testing and Assessment No. 168. Available at: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MO/NO\(2012\) 10/PART1&docLanguage=En](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MO/NO(2012) 10/PART1&docLanguage=En)
- 3) OECD (2015), In Chemico Skin Sensitisation, Test Guideline No. 442C, Guidelines for Testing of Chemicals, OECD, Paris. Available at: [<http://www.oecd.org/env/testguidelines>]
- 4) OECD (2015), In Vitro Skin Sensitisation, Test Guideline No. 442D, Guidelines for Testing of Chemicals, OECD, Paris. Available at: [<http://www.oecd.org/env/testguidelines>]
- 5) OECD (2017), In Vitro Skin Sensitisation, Test Guideline No. 442E, Guidelines for Testing of Chemicals, OECD, Paris. Available at: [<http://www.oecd.org/env/testguidelines>].
- 6) OECD (2010), The Local Lymph Node Assay. OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 429, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: <http://www.oecd.org/env/testguidelines>
- 7) OECD (2010), Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay, Test Guideline No. 429, Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris. Available at: [<http://www.oecd.org/env/testguidelines>]
- 8) Chamberlain, M. and Basketter, D.A. (1996), The local lymph node assay: status of validation. Food Chem. Toxicol., 34, 999-1002.
- 9) Basketter, D.A., Gerberick, G.F., Kimber, I. and Loveless, S.E. (1996), The local lymph node assay: A viable alternative to currently accepted skin sensitisation tests. Food Chem. Toxicol., 34, 985-997.
- 10) Basketter, D.A., Gerberick, G.F. and Kimber, I. (1998), Strategies for identifying false positive responses in predictive sensitisation tests. Food Chem. Toxicol., 36, 327-33.
- 11) Van Och, F.M.M., Slob, W., De Jong, W.H., Vandebriel, R.J. and Van Loveren,

- H. (2000), A quantitative method for assessing the sensitizing potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of uncertainty margins. *Toxicol.*, 146, 49-59.
- 12) ICCVAM (1999), The murine local lymph node Assay: A test method for assessing the allergic contact dermatitis potential of chemicals/compounds: The results of an independent peer review evaluation coordinated by the Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) and the National Toxicology Program Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICETAM). NIH Publication No: 99-4494. Research Triangle Park, N.C. Available at:
[http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immunotox_docs/llna/llnarep.pdf]
 - 13) Dean, J.H., Twerdok, L.E., Tice, R.R., Sailstad, D.M., Hattan, D.G., Stokes, W.S. (2001), ICCVAM evaluation of the murine local lymph node assay: II. Conclusions and recommendations of an independent scientific peer review panel. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 34(3), 258-273.
 - 14) Haneke, K.E., Tice, R.R., Carson, B.L., Margolin, B.H., Stokes, W.S. (2001), ICCVAM evaluation of the murine local lymph node assay: III. Data analyses completed by the national toxicology program interagency center for the evaluation of alternative toxicological methods. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 34(3), 274-286.
 - 15) Sailstad, D.M., Hattan, D., Hill, R.N., Stokes, W.S. (2001), ICCVAM evaluation of the murine local lymph node assay: I. The ICCVAM review process. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, 34(3), 249- 257.
 - 16) OECD (1992), Skin Sensitisation, Test Guideline No. 406, Guidelines for Testing of Chemicals, OECD, Paris. Available at: [<http://www.oecd.org/env/testguidelines>]
 - 17) OECD (2010). OECD Guidelines for Chemical Testing No. 442A.Skin sensitization: Local Lymph Node assay: DA. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at:
[<http://www.oecd.org/env/testguidelines>].
 - 18) OECD (2005), Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment, Environment, Health and Safety Monograph Series on Testing and Assessment No. 34, ENV/JM/MONO(2005)14, OECD, Paris. Available at:
[<http://www.oecd.org/env/testguidelines>]

- 19) United Nations (UN). (20173). Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), Second 7th Revised Edition, UN New York and Geneva, 20173. Available at: [http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev075/075files_e.html].
- 20) EURL-ECVAM. (2009). Statement on the “Performance Under UN GHS of Three In vitro Assays for Skin Irritation Testing and the Adaptation of the Reference Chemicals and Defined Accuracy Values of the ECVAM Skin Irritation Performance Standards”, Issued by the ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC30), 9 April 2009. Available at: [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing]
- 21) OECD. (2014). Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment for Skin Irritation/Corrosion. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 203), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- 22) OECD. (2015). OECD Guideline for Testing of Chemicals. (No. 404.): Acute Dermal Irritation, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- 23) OECD. (2015). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 430.): In vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance (TER).
- 24) OECD. (2016). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 431.): In vitro Skin Model. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- 25) OECD. (2015). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 435.); In vitro Membrane Barrier Test Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- 26) OECD. (2015). Performance Standards for the Assessment of Proposed Similar or Modified In vitro Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test Methods for Skin Irritation in Relation to TG 439. Environment, health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 220). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- 27) OECD. (2005). Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and

Assessment (No. 34.) Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

- 28) Fentem, J.H., Briggs, D., Chesné, C., Elliot, G.R., Harbell, J.W., Heylings, J.R., Portes, P., Roguet, R., van de Sandt, J.J. M. and Botham, P. (2001). A Prevalidation Study on In vitro Tests for Acute Skin Irritation, Results and Evaluation by the Management Team, *Toxicol. in vitro* 15, 57-93.
- 29) Portes, P., Grandidier, M.-H., Cohen, C. and Roguet, R. (2002). Refinement of the EPISKIN Protocol for the Assessment of Acute Skin Irritation of Chemicals: Follow-Up to the ECVAM Prevalidation Study, *Toxicol. in vitro* 16, 765 - 770.
- 30) Kandárová, H., Liebsch, M., Genschow, E., Gerner, I., Traue, D., Slawik, B. and Spielmann, H. (2004). Optimisation of the EpiDerm Test Protocol for the Upcoming ECVAM Validation Study on In vitro Skin Irritation Tests, *ALTEX* 21, 107 - 0114.
- 31) Kandárová, H., Liebsch, M., Gerner, I., Schmidt, E., Genschow, E., Traue, D. and Spielmann, H. (2005), The EpiDerm Test Protocol for the Upcoming ECVAM Validation Study on In vitro Skin Irritation Tests - An Assessment of the Performance of the Optimised Test, *ATLA* 33, 351-367.
- 32) Cotovio, J., Grandidier, M.-H., Portes, P., Roguet, R. and Rubinstein, G. (2005). The In vitro Acute Skin Irritation of Chemicals: Optimisation of the EPISKIN Prediction Model Within the Framework of the ECVAM Validation Process, *ATLA* 33, 329-349.
- 33) Zuang, V., Balls, M., Botham, P.A., Coquette, A., Corsini, E., Curren, R.D., Elliot, G.R., Fentem, J.H., Heylings, J.R., Liebsch, M., Medina, J., Roguet, R., van De Sandt, J.J.M., Wiemann, C. and Worth, A. (2002). Follow-Up to the ECVAM Prevalidation Study on In vitro Tests for Acute Skin Irritation, The European Centre for the Validation of Alternative Methods Skin Irritation Task Force report 2, *ATLA* 30, 109-129.
- 34) Spielmann, H., Hoffmann, S., Liebsch, M., Botham, P., Fentem, J., Eskes, C., Roguet, R., Cotovio, J., Cole, T., Worth, A., Heylings, J., Jones, P., Robles, C., Kandárová, H., Gamer, A., Remmele, M., Curren, R., Raabe, H., Cockshott, A., Gerner, I. and Zuang, V. (2007). The

- ECVAM International Validation Study on In vitro Tests for Acute Skin Irritation: Report on the Validity of the EPISKIN and EpiDerm Assays and on the Skin Integrity Function Test, ATLA 35, 559-601.
- 35) Hoffmann S. (2006). ECVAM Skin Irritation Validation Study Phase II: Analysis of the Primary Endpoint MTT and the Secondary Endpoint IL1- α . Available at: [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing]
 - 36) Eskes C., Cole, T., Hoffmann, S., Worth, A., Cockshott, A., Gerner, I. and Zuang, V. (2007). The ECVAM International Validation Study on In vitro Tests for Acute Skin Irritation: Selection of Test Chemicals, ATLA 35, 603-619.
 - 37) Cotovio, J., Grandidier, M.-H., Lelièvre, D., Roguet, R., Tinois-Tessonnaud, E. and Leclaire, J. (2007). In vitro Acute Skin Irritancy of Chemicals Using the Validated EPISKIN Model in a Tiered Strategy - Results and Performances with 184 Cosmetic Ingredients, AATEX, 14, 351-358.
 - 38) EURL-ECVAM. (2007). Statement on the Validity of In vitro Tests for Skin Irritation, Issued by the ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC26), 27 April 2007. Available at: [http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/altanimal-testing].
 - 39) EURL-ECVAM. (2007). Performance Standards for Applying Human Skin Models to In vitro Skin Irritation Testing. Available at: [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing] N.B. These are the original PS used for the validation of two test methods. These PS should not be used any longer as an updated version (8) is now available.
 - 40) EURL-ECVAM. (2008). Statement on the Scientific Validity of In vitro Tests for Skin Irritation Testing, Issued by the ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC29), 5 November 2008. Available at: [http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing].
 - 41) OECD. (2010). Explanatory Background Document to the OECD Draft Test Guideline on In vitro Skin Irritation Testing. Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment, (No. 137.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
 - 42) Katoh, M., Hamajima, F., Ogasawara, T. and Hata K. (2009). Assessment of Human Epidermal Model LabCyte EPI-MODEL for In vitro Skin Irritation Testing According to European Centre for the

- Validation of Alternative Methods (ECVAM)-Validated Protocol, *J Toxicol Sci*, 34, 327-334
- 43) Katoh, M. and Hata K. (2011). Refinement of LabCyte EPI-MODEL24 Skin Irritation Test Method for Adaptation to the Requirements of OECD Test Guideline 439, *AATEX*, 16, 111-122
 - 44) OECD. (2011). Validation Report for the Skin Irritation Test Method Using LabCyte EPI-MODEL24. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 159.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
 - 45) OECD. (2011). Peer Review Report of Validation of the Skin Irritation Test Using LabCyte EPI-MODEL24. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 155.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
 - 46) Kojima, H., Ando, Y., Idehara, K., Katoh, M., Kosaka, T., Miyaoka, E., Shinoda, S., Suzuki, T., Yamaguchi, Y., Yoshimura, I., Yuasa, A., Watanabe, Y. and Omori, T. (2012). Validation Study of the In vitro Skin Irritation Test with the LabCyte EPI-MODEL24, *Altern Lab Anim*, 40, 33-50.
 - 47) Welss, T., Basketter, D.A. and Schröder, K.R. (2004). In vitro Skin Irritation: Fact and Future. State of the Art Review of Mechanisms and Models, *Toxicol. In vitro* 18, 231-243.
 - 48) Eskes, C. et al. (2012). Regulatory Assessment of In vitro Skin Corrosion and Irritation Data within the European Framework: Workshop Recommendations. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 62, 393-403).
 - 49) Mosmann, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *J. Immunol. Methods* 65, 55-63.
 - 50) EpiSkin™. (February 2009). SOP, Version 1.8, ECVAM Skin Irritation Validation Study: Validation of the EpiSkin™ Test Method 15 min - 42 hours for the Prediction of acute Skin Irritation of Chemicals. Available at: [http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing.html].
 - 51) EpiDerm™. (Revised March 2009). SOP, Version 7.0, Protocol for: In vitro EpiDerm™ Skin Irritation Test (EPI-200-SIT), for Use with MatTek Corporation's Reconstructed Human Epidermal Model

- EpiDerm (EPI-200). Available at: [\[http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing.html\]](http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing.html).
- 52) SkinEthic™ RHE SOP, Version 2.0 (February 2009), SkinEthic Skin Irritation Test-42bis Test Method for the Prediction of Acute Skin Irritation of Chemicals: 42 Minutes Application + 42 Hours Post-Incubation. Available at: [\[http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing.html\]](http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing.html).
- 53) LabCyte. (June 2011). EPI-MODEL24 SIT SOP, Version 8.3, Skin Irritation Test Using the Reconstructed Human Model “LabCyte EPI-MODEL24” Available at: [\[http://www.jppte.co.jp/english/business/LabCyte/Testprotocol.pdf\]](http://www.jppte.co.jp/english/business/LabCyte/Testprotocol.pdf).
- 54) Alépée, N., Barroso, J., De Smedt, A., De Wever, B., Hibatallah, J., Klaric, M., Mewes, K.R., Millet, M., Pfannenbecker, U., Tailhardat, M., Templier, M., and McNamee, P. (2015) Use of HPLC/UPLC-Spectrophotometry for Detection of MTT Formazan in In vitro Reconstructed Human Tissue (RhT)-Based Test Methods Employing the MTT Assay to Expand their Applicability to Strongly Coloured Test Chemicals. *Toxicol In vitro*. 29(4), 741-761.
- 55) US FDA. (2001). Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. May 2001. Available at: [\[http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf\]](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf).
- 56) Harvell, J.D., Lamminstausta, K., and Maibach, H.I. (1995). Irritant Contact Dermatitis, in: *Practical Contact Dermatitis*, pp 7-18, (Ed. Guin J. D.). Mc Graw- Hill, New York.
- 57) EURL-ECVAM. (2009). Performance Standards for In vitro Skin Irritation Test Methods Based on Reconstructed Human Epidermis (RhE). Available at: [\[http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing\]](http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing) N.B. This is the current version of the ECVAM PS, updated in 2009 in view of the implementation of UN GHS. These PS should not be used any longer as an updated version (8) is now available related to the present TG.
- 58) EURL-ECVAM. (2009). ESAC Statement on the Performance Standards (PS) for In vitro Skin Irritation Testing Using Reconstructed Human

- Epidermis, Issued by the ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC31), 8 July 2009. Available at: [http://www.ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/alt-animal-testing].
- 59) EC. (2001). Commission Directive 2001/59/EC of 6 August 2001 Adapting to Technical Progress for the 28th Time Council Directive 67/548/EEC on the Approximation of Laws, Regulations and Administrative Provisions Relating to the Classification, Packaging and Labelling of Dangerous Substances, Official Journal of the European Union L225, 1-333.
 - 60) Skin+ ® RHE SOP, Version 5.0 (May 2016), Skin Irritation Test for the Prediction of Acute Skin Irritation of Chemicals with Sterlab's RHE: 42 Minutes Application + 42 Hours Post-Incubation. Available at [http://www.sterlab-store.com/wpcontent/uploads/SOP_Sterlab_skin_irritation_v5-May-2016.pdf].
 - 61) Peer Review Report of the Validation of the Skin Irritation Tests Using Skin+ ® and Using epiCS® (2018)
 - 62) epiCS® RHE SOP, Version 5.1 (January 2017) Skin Irritation Test for use with CellSystems Reconstructed Human Epidermal Model epiCS® Test Method 20 min application + 42 hours Post- Incubation. Available at [<https://reconstructed-humanepidermis.com/user-data/downloads/manuellsops/INVITTOX%20protocol%20epiCS%20Skin%20Irritation%20version%205.1%2C%2001.2017.pdf>].
 - 63) ESAC Opinion on the Validation Study of the epiCS® Test Method based on the EURL ECVAM/OECD Performance Standards for in vitro Skin Irritation Testing using Reconstructed human Epidermis (RhE), ESAC Opinion Number 2016-05
 - 64) EURL ECVAM Status Report on the Development, Validation and Regulatory Acceptance of Alternative Methods and Approaches (2016)
 - 65) Kolle S.N, van Ravenzwaay B. and Landsiedel R. (2017). Regulatory accepted but out of domain: In vitro skin irritation tests for agrochemical formulations. Regul. Toxicol. Pharmacol 89, 125-130.
 - 66) KeraSkin™ SIT SOP, Version 1.5 (January, 2019), KeraSkin™ skin irritation test operation protocol. Available at:

[<http://www.keraskin.co.kr/eng/product/skinmodel.asp>]
 - 67) Jung, K.M., Lee, S.H., Jang, W.H., Jung, H.S., Heo, Y., Park, Y.H., Bae,

- S., Lim, K.M., Seok, S.H., 2014. KeraSkin-VM: a novel reconstructed human epidermis model for skin irritation tests. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA* 28, 742-750.
- 68) Han, J., Kim, S., Lee, S.H., Kim, J.S., Chang, Y.J., Jeong, T.C., Kang, M.J., Kim, T.S., Yoon, H.S., Lee, G.Y., Bae, S., Lim, K.M., 2020. Me-too validation study for in vitro skin irritation test with a reconstructed human epidermis model, KeraSkin for OECD test guideline 439. *Regulatory toxicology and pharmacology* : 117, 104725.
- 69) OECD (2021). Validation study report and Independent Peer-Review Report for inclusion of KeraSkin™ SIT to the Test Guideline 439 on In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 339.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

“의약외품 구강제품 기준 및 시험방법 작성을 위한 가이드라인(민원인 안내서)”

발 행 일 2023년 9월

발 행 인 박 윤 주

편 집 위 원 장 최 영 주

편 집 위 원 (바이오생약심사부 화장품심사과)

김달환, 심영훈, 강경모, 이남경, 황정분, 김해든,

봉심규, 윤수정, 이미영

발 행 처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 화장품심사과
