

## Cliovelle

CampusPharma

Tablett 1 mg/0,5 mg

(vita, runda, bikonvexa tabletter 6 mm i diameter)

M R F

Östrogen och gestagen, kombinationspreparat - systemisk effekt

### Aktiva substanser (i bokstavsordning):

Estradiol

Noretisteron

### ATC-kod:

G03FA01

Läkemedel från CampusPharma omfattas av Läkemedelsförsäkringen.

**FASS-text:** Denna text är avsedd för vårdpersonal.

Texten är baserad på produktresumé: 2024-01-03

## Indikationer

Substitutionsbehandling (HRT) av östrogenbristsymtom till kvinnor mer än 1 år efter menopaus.

Förebyggande av osteoporos hos postmenopausala kvinnor med hög risk för framtida fraktur, om de inte tål eller har kontraindikationer mot andra läkemedel godkända för att förebygga osteoporos (se även Varningar och försiktighet).

Begränsad erfarenhet föreligger av behandling av kvinnor över 65 år.

## Kontraindikationer

- Känd, tidigare genomgången eller misstänkt bröstcancer
- Känd eller misstänkt östrogenberoende malign tumör (t. ex. endometriecancer)
- Odiagnosticerad genital blödning
- Obehandlad endometriehyperplasi
- Tidigare eller pågående venös tromboembolism (djup ventrombos, lungemboli)

- Känd tromboembolisk sjukdom (t. ex. brist på protein C, protein S eller antitrombin, se Varningar och försiktighet)
- Aktiv eller nyligen genomgången arteriell tromboembolisk sjukdom (t. ex. angina, hjärtinfarkt)
- Akut eller tidigare leversjukdom så länge leverfunktionsvärdena ej normaliserats
- Överkänslighet mot de aktiva substanserna eller mot något hjälpämne
- Porfyri

## Dosering

### Dosering

Cliovelle är ett preparat för kontinuerlig kombinerad hormonell substitutionsbehandling av kvinnor med kvarvarande uterus. En tablett intas oralt varje dag utan uppehåll, helst vid samma tid på dygnet.

Vid behandlingsstart och vid fortsatt behandling av postmenopausala symtom ska lägsta effektiva dos användas under kortast möjliga tid (se även Varningar och försiktighet).

Övergång till ett kombinationspreparat med högre dos bör övervägas om behandlingen efter 3 månader inte givit tillfredsställande symtomlindring.

### Administreringssätt

#### Oral användning

Kvinnor med amenorré som inte får HRT eller kvinnor som går över från annan kontinuerlig kombinerad HRT kan påbörja behandling med Cliovelle när helst det passar. För kvinnor som går över från sekvenspreparat bör behandlingen påbörjas direkt efter att bortfallsblödning upphört.

### Missad dos

Om patienten glömt att ta en tablett, kan hon ta den inom 12 timmar räknat från den vanliga tiden för intag. I annat fall kasseras den glömda tabletten. Glömd dos kan öka sannolikheten för genombrottsblödning och stänklödning.

## Varningar och försiktighet

För behandling av postmenopausala symtom ska HRT endast påbörjas om symtomen påverkar livskvalitén negativt. Vid all behandling ska en noggrann värdering av risk/nytta balansen göras minst en gång om året. HRT ska endast fortsätta så länge nyttan överväger riskerna.

Erfarenheten är begränsad gällande risker med användning av HRT vid behandling av förtidig menopaus. Då det är låg absolut risk hos yngre kvinnor kan nyttan överväga risken hos dessa kvinnor, jämfört med äldre kvinnor.

### Medicinsk undersökning/uppföljning av behandling

Innan HRT inleds eller återupptas ska en noggrann anamnes tas, inkluderande uppgifter om ärftliga sjukdomar. En allmän medicinsk och gynekologisk undersökning, som också inkluderar undersökning av bröstet, ska göras med hänsyn tagen till patientens egen sjukhistoria och till kontraindikationer och varningar vid behandlingen.

Under behandlingstiden rekommenderas regelbundna kontroller vars frekvens och utformning bör anpassas till den enskilda kvinnan. Kvinnan ska informeras om vilken typ av förändringar i bröstet hon bör rapportera till sin läkare eller barnmorska (se nedan avsnittet "Bröstcancer").

Kontroller med lämplig teknisk bildapparat, som mammografi, ska utföras enligt gällande rutiner för screening för den friska kvinnan samt i övrigt anpassas efter den enskilda kvinnans kliniska behov.

### **Tillstånd som kräver skärpt uppmärksamhet**

Vid förekomst av något av nedan angivna tillstånd eller om patienten tidigare haft tillståndet och/eller om det förvärrats under graviditet eller tidigare hormonbehandling ska patienten övervakas speciellt. Hänsyn ska tas till att dessa tillstånd kan återkomma eller förvärras vid behandling med Clivelle:

- Uterusmyom eller endometrios
- Riskfaktorer för tromboembolisk sjukdom (se nedan)
- Riskfaktorer för östrogenberoende tumörer, t. ex. första gradens ärftlighet för bröstcancer
- Hypertoni
- Leversjukdom (t. ex. leveradenom)
- Diabetes mellitus med eller utan kärlkomplikation
- Gallstenssjukdom
- Migrän eller (svår) huvudvärk
- Systemisk lupus erythematosus (SLE)
- Tidigare endometriehyperplasi (se nedan)
- Epilepsi
- Astma
- Otoskleros

### **Skäl till att omedelbart avbryta behandlingen**

Behandlingen bör avbrytas vid uppträdande av kontraindikationer (se Kontraindikationer) samt i följande situationer:

- Gulsot (ikterus) eller konstaterad försämrad leverfunktion
- Signifikant ökning av blodtrycket
- Debut av migränliknande huvudvärk
- Graviditet

### **Endometriehyperplasi och carcinom**

Hos kvinnor med intakt uterus ökar risken för endometriehyperplasi och carcinom när enbart östrogen ges under lång tid. Den rapporterade ökningen av risken för endometriecancer bland de kvinnor som enbart tar östrogen är 2 till 12 gånger högre jämfört med icke användare, beroende på behandlingens längd och dos en östrogen (se Biverkningar). Efter avslutad behandling kan en ökad risk kvarstå under åtminstone 10 år.

Tillägg av ett gestagen cykliskt under minst 12 dagar per månad/28-dagars cykel eller fortsatt behandling med östrogen-gestagen i kombination hos icke-hysterektomerade kvinnor minskar den ökade risken förknippad med enbart östrogenbehandling.

Genombrottsblödning och stänklödning kan förekomma under de första behandlingsmånaderna. Om genombrottsblödning eller stänklödning uppträder efter en viss tids behandling eller fortsätter efter avslutad behandling, ska orsaken utredas, vilket kan inkludera endometriebiopsi för att utesluta endometriemalignitet.

## **Bröstcancer**

Den samlade kunskapen visar att det finns en ökad risk för bröstcancer hos kvinnor som använder HRT med en kombination av östrogen och gestagen eller med enbart östrogen. Risken är beroende av behandlingstidens längd.

### *Behandling med kombination av östrogen-gestagen*

Den randomiserade placebokontrollerade studien Women's Health Initiative study (WHI), och en metaanalys av prospektiva epidemiologiska studier påvisar konsekvent ökad risk för bröstcancer hos kvinnor som behandlas med östrogen-gestagen i kombination som HRT som blir påtaglig efter ca 3 (1-4) år (se avsnitt Biverkningar).

### *Behandling med enbart östrogen*

WHI studien påvisade ingen ökad risk för bröstcancer hos kvinnor som genomgått hysterektomi och som behandlats med enbart östrogen. Observationsstudier har mestadels rapporterat en liten ökad risk för bröstcancer som är lägre än risken som hittats för östrogen-progestagenkombinationer (se avsnitt Biverkningar).

Resultat från en stor metaanalys visade att den ökade risken minskar med tiden efter avslutad behandling, och att den tid det tar för att återgå till baslinjevärdena beror på hur länge den tidigare HRT-behandlingen har varat. Om HRT tagits i mer än 5 år kan risken kvarstå i 10 år eller mer.

HRT, speciellt kombinationer av östrogen och gestagen, ökar densiteten i mammografiska bilder. Detta kan försvåra möjligheten att radiologiskt upptäcka bröstcancer.

## **Ovarialcancer (Äggstockscancer)**

Ovarialcancer är mycket mer sällsynt än bröstcancer.

Hos kvinnor som tar HRT med enbart östrogen eller kombinerat östrogen-gestagen, finns enligt epidemiologiska belägg från en stor metaanalys, en lätt förhöjd risk. Risken blir tydlig inom 5 års användning och går tillbaka med tiden efter avbruten behandling. Enligt andra studier, såsom WHI-prövningen, kan användning av kombinerade HRT-preparat vara förknippat med en liknande eller något lägre risk (se avsnitt Biverkningar).

## **Venös tromboembolisk sjukdom**

HRT är förenad med en 1,3 – 3 gånger högre risk för venös tromboembolism (VTE), d.v.s. djup ventrombos eller lungemboli. Risken för VTE är större under det första året av HRT än senare (se Biverkningar).

Kvinnor med känd trombofili har en ökad risk för VTE och HRT kan öka denna risk. HRT är därför kontraindicerad för dessa patienter (se Kontraindikationer).

Allmänt erkända riskfaktorer för VTE omfattar användning av östrogen, hög ålder, större kirurgiska ingrepp, långvarig immobilisering, uttalad fetma (BMI >30 kg/m<sup>2</sup>), graviditet/post partum, SLE och cancer. Det råder inte enighet om åderbräck spelar någon roll i VTE.

Som hos alla postoperativa patienter bör förebyggande åtgärder för att förhindra VTE noggrant övervägas. Om längre tids immobilisering kan förväntas efter en planerad operation rekommenderas uppehåll i substitutionsbehandlingen 4-6 veckor före ingreppet. Behandlingen ska inte återupptas förrän kvinnan är fullständigt mobiliserad. Hos kvinnor utan egen anamnes på VTE, men med nära släkting som haft trombos i unga år, kan screening erbjudas efter noggrann genomgång av dess begränsningar (endast vissa

tromboemboliska defekter visas vid screening). Om en tromboembolisk defekt hittas som skiljer sig från den hos familjemedlemmar eller om en defekt är "allvarlig" (t. ex. brist på antitrombin, protein S eller protein C eller en kombination av dessa) är HRT kontraindicerad (se Kontraindikationer).

För kvinnor som redan behandlas kroniskt med antikoagulantia bör balansen mellan risk och nytta med HRT nog övervägas.

Om VTE utvecklas efter att behandlingen påbörjats bör preparatet sättas ut. Patienten ska uppmanas kontakta läkare vid symtom som kan tyda på VTE (t. ex. vid smärtsam svullnad av ett ben, plötslig bröstsmärta, dyspné).

### **Kranskärslsjukdom**

Randomiserade kontrollerade studier har inte kunnat påvisa något skydd mot hjärtinfarkt hos kvinnor med eller utan kranskärslsjukdom som fått östrogen-gestagen i kombination, eller enbart östrogen.

#### *Kombinerad östrogen-gestagenbehandling*

Den relativa risken för kranskärslsjukdom under behandling med östrogen-gestagen i kombination är något ökad. Då den absoluta risken för kranskärslsjukdom är starkt beroende av ålder är antalet extra fall av kranskärslsjukdom som beror på behandling med östrogen-gestagen i kombination mycket lågt hos friska kvinnor nära menopause, men kommer att öka med stigande ålder.

#### *Enbart östrogenbehandling*

Randomiserade kontrollerade studier har inte kunnat påvisa någon ökad risk för kranskärslsjukdom hos kvinnor som genomgått hysterektomi och enbart behandlats med östrogen.

### **Stroke**

Kombinerad östrogen-gestagenbehandling och enbart östrogenbehandling är förenade med upp till 1,5 gånger högre risk för ischemisk stroke. Den relativa risken förändras inte med ålder eller tid från menopause. Eftersom den absoluta risken för stroke är starkt åldersberoende kommer den totala risken för stroke hos kvinnor som använder HRT att öka med åldern (se Biverkningar).

### **Andra tillstånd**

Östrogener kan ge vätskeretention varför patienter med hjärtsjukdom eller nedsatt njurfunktion bör observeras nog. Kvinnor med känd hypertriglyceridemi bör noggrant följas upp under östrogensubstitution och HRT eftersom sällsynta fall av starkt förhöjda triglyceridnivåer som kan leda till pankreatit har beskrivits vid östrogenbehandling till kvinnor med detta tillstånd.

Exogena östrogener kan inducera eller förvärra symtom av ärftligt eller förvärvat angioödem.

Östrogener ökar tyreoidabindande globulin (TBG), vilket medför ökade nivåer av cirkulerande tyreoidahormon, mätt såsom proteinbundet jod (PBI), T4-nivåer (mätt med kolonn eller med radioimmunoassay, RIA) eller T3-nivåer (mätt med RIA). T3-resinupptaget minskar, vilket speglar de ökade nivåerna av TBG. Fritt T4 och fritt T3 är opåverkat. Även andra bindarproteiner kan öka i serum, t. ex. kortikosteroidbindande globulin (CBG) och sexualhormonbindandeglobulin (SHBG), vilket avspeglas i ökade nivåer av cirkulerande kortikosteroider respektive könssteroider. De fria, biologiskt aktiva hormonkoncentrationerna förändras dock inte. Andra plasmaproteiner kan öka (angiotensin/reninsubstrat, alfa-1-antitrypsin, ceruloplasmin).

Hos kvinnor som behandlas för hypotyreos bör sköldkörtelfunktionen regelbundet kontrolleras under behandling med HRT för att säkerställa att nivån av tyreoidahormon ligger på en acceptabel nivå.

HRT ökar inte den kognitiva förmågan. Det finns vissa belägg för en ökad risk för trolig demens hos kvinnor som börjar använda HRT efter 65-års ålder.

#### Förhöjda ALAT-värden

I kliniska studier med patienter som behandlats för hepatit C-virusinfektioner (HCV) med behandlingskombinationen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir, med eller utan dasabuvir, förekom förhöjda ALAT-värden som var mer än 5 gånger högre än den normala övre gränsen. ALATstegringen inträffade signifikant oftare hos kvinnor som använde etinylestradiol innehållande läkemedel, såsom kombinerade hormonella preventivmedel (CHCs). Även hos patienter som behandlades med glekaprevir/pibrentasvir, observerades förhöjda ALAT-värden hos kvinnor som använde etinylestradiol innehållande läkemedel så som CHCs. Kvinnor som använde läkemedel som innehöll andra östrogener än etinylestradiol, t.ex. estradiol, hade en frekvens av förhöjda ALATvärden liknande de som inte fick några östrogener. På grund av det begränsade antalet kvinnor som tog dessa andra östrogener ska dock försiktighet iakttas vid samtidig administrering med läkemedelskombinationen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir, med eller utan dasabuvir, och även med behandlingskombination glekaprevir/pibrentasvir (se avsnitt Interaktioner).

Cliovelle tabletter innehåller laktos. Patienter med något av följande sällsynta ärftliga tillstånd bör inte använda detta läkemedel: galaktosintolerans, total laktasbrist eller glukosgalaktosmalabsorption.

## **Interaktioner**

Metabolismen av östrogener (och gestagener) kan öka vid samtidig behandling med substanser som är kända för att inducera enzym som metaboliserar läkemedel, speciellt cytokrom P450 enzymer. Exempel på sådana substanser är antiepileptika (t ex fenobarbital, fenytoin, karbamazepin) och vissa medel mot infektioner (t. ex. rifampicin, rifabutin, nevirapin, efavirenz). Trots att ritonavir, telaprevir och nelfinavir är kända som hämmare av läkemedelsmetaboliserande enzym, har dessa substanser, när de ges tillsammans med steroidhormoner, inducerande egenskaper. Naturläkemedel innehållande johannesört (*Hypericum perforatum*) kan också inducera metabolismen av östrogener (och gestagener).

Den kliniska betydelsen av en ökad metabolism av östrogener (och gestagener) är minskad effekt och möjligen ändrad blödningsprofil.

Läkemedel som hämmar aktiviteten av hepatiska mikrosomala enzymer som metaboliserar läkemedel till exempel ketokonazol kan öka plasmakoncentrationen av aktiva innehållsämnen i Cliovelle.

Samtidig administrering av cyklosporin och Cliovelle kan orsaka ökad nivå av cyklosporin, kreatinin och transaminaser i blodet beroende på minskad metabolism av cyklosporin i levern.

#### Effekt av HRT med östrogener på andra läkemedel

Hormonella preventivmedel som innehåller östrogener har visat sig signifikant minska plasmakoncentrationer av lamotrigin vid samtidig administrering på grund av induktion av lamotriginglukuronidering. Detta kan minska anfallskontrollen. Även om den potentiella interaktionen mellan hormonersättningsbehandling och lamotrigin inte har studerats, förväntas det att en liknande interaktion finns, vilket kan leda till minskad anfallskontroll hos kvinnor som tar båda läkemedlen samtidigt.

#### Farmakodynamiska interaktioner

I kliniska studier med läkemedelskombinationen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir, med eller utan dasabuvir, för behandling av HCV förekom förhöjda ALAT-värden som var mer än 5 gånger högre än den normala övre gränsen signifikant oftare hos kvinnor som använde etinylestradiol innehållande läkemedel, såsom kombinerade hormonella preventivmedel (CHCs). Kvinnor som använde läkemedel som innehöll andra

östrogener än etinylestradiol, t.ex. estradiol, hade en frekvens av förhöjda ALATvärden liknande de som inte fick några östrogener. På grund av det begränsade antalet kvinnor som tog dessa andra östrogener ska dock försiktighet iakttas vid samtidig administrering med läkemedelskombinationen ombitasvir/paritaprevir/ritonavir, med eller utan dasabuvir, och även med behandlingskombination glekaprevir/pibrentasvir (se avsnitt Varningar och försiktighet).

#### Laboratorietester

Östrogenbehandling kan påverka resultatet av vissa laboratorietest, såsom sköldkörtel- och leverfunktionstest.

## Graviditet

Cliovelle är inte indicerat under graviditet.

Om graviditet inträffar under pågående behandling med Cliovelle ska behandlingen snarast avbrytas.

Kliniska data från ett begränsat antal graviditeter tyder inte på några biverkningar av noretisteronacetat på fostret. Vid högre doser än som normalt används i preventivmedel och HRT-preparat har maskulinisering av kvinnliga foster observerats. De flesta epidemiologiska studierna har till dags dato inte visat några negativa effekter eller skador på foster, när gravida kvinnor av misstag behandlats med kombinationer av östrogen och gestagen.

## Amning

Cliovelle är inte indicerat under amning.

## Fertilitet

Inga tillgängliga data.

## Trafik

Cliovelle har ingen eller försumbar effekt på förmågan att framföra fordon och använda maskiner.

## Biverkningar

De vanligaste biverkningarna rapporterade i kliniska prövningar med estradiolvalerat och noretisteronacetat var vaginalblödningar och smärta/ömheter i bröstet, vilket rapporterades hos cirka 10-20% av patienterna. Vaginalblödning uppträdde vanligtvis under de första behandlingsmånaderna. Smärta i bröstet försvann vanligtvis efter några månader. Alla biverkningar som observerats i randomiserade kliniska prövningar i en högre frekvens för estradiolvalerat och noretisteronacetat än för placebo och som bedömts ha möjligt samband med behandlingen upptas i tabellen nedan.

Biverkningarna som observerats anges i fallande frekvens inom klassificeringen av organsystem.

Inom varje frekvensgrupp anges läkemedlets biverkningar i fallande allvarlighetsgrad.

| Organsystem                   | Mycket vanliga<br>( $\geq 1/10$ ) | Vanliga<br>( $\geq 1/100$ ; $< 1/10$ )     | Mindre vanliga<br>( $\geq 1/1\,000$ ; $< 1/100$ ) | Sällsynta<br>( $\geq 1/10\,000$ ; $< 1/1\,000$ ) | Mycket sällsynta<br>( $< 1/10\,000$ ) |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Infektioner och infestationer |                                   | Genital candidainfektion eller vaginit, se |                                                   |                                                  |                                       |

| Organsystem                                   | Mycket vanliga<br>( $\geq 1/10$ )          | Vanliga<br>( $\geq 1/100$ ; $< 1/10$ )                                                                         | Mindre vanliga<br>( $\geq 1/1\ 000$ ; $< 1/100$ )                               | Sällsynta<br>( $\geq 1/10\ 000$ ; $< 1/1\ 000$ ) | Mycket sällsynta<br>( $< 1/10\ 000$ ) |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------|
|                                               |                                            | även<br>"Reproduktionsorgan och<br>bröstkörtel"                                                                |                                                                                 |                                                  |                                       |
| Immun-systemet                                |                                            |                                                                                                                | Överkänslighet,<br>se även "Hud och<br>subkutan vävnad<br>"                     |                                                  | Anafylaktisk<br>reaktion              |
| Metabolism och<br>nutrition                   |                                            | Vätskeretention,<br>se även<br>"Allmänna<br>symtom/<br>och/eller symtom<br>vid<br>administrerings-s<br>tället" |                                                                                 |                                                  |                                       |
| Psykiska tillstånd                            |                                            | Depression eller<br>förvärrad<br>depression                                                                    | Nervositet                                                                      |                                                  |                                       |
| Centrala och peri<br>fera<br>nervsystemet     |                                            | Migrän eller<br>förvärrad migrän<br>, huvudvärk                                                                |                                                                                 |                                                  |                                       |
| Blodkärl                                      |                                            |                                                                                                                | Ytlig tromboflebit                                                              | Lungemboli,<br>venös tromboem<br>bolism          |                                       |
| Magtarm-kanalen                               |                                            | Illamående                                                                                                     | Smärtor,<br>spändhet eller<br>obehagkänslor i<br>buken<br>Gaser/uppkörd-h<br>et |                                                  |                                       |
| Hud och subkuta<br>n vävnad                   |                                            |                                                                                                                | Hirsutism eller<br>acne, alopeci, urt<br>ikaria eller klåda                     |                                                  |                                       |
| Muskulo-skeletal<br>a systemet och<br>bindväv |                                            | Ryggsmärtor                                                                                                    | Benkramper                                                                      |                                                  |                                       |
| Reproduktionsor<br>gan och<br>bröstkörtel     | Vaginalblödning,<br>bröstsmärtor/<br>ömhet | Bröstförstoring/ ö<br>dem,<br>uterin fibroid<br>eller förstora<br>d eller<br>återkommande<br>uterin fibroid    |                                                                                 |                                                  |                                       |
|                                               |                                            | Perifera ödem                                                                                                  |                                                                                 |                                                  |                                       |

| Organsystem                                                               | Mycket vanliga<br>( $\geq 1/10$ ) | Vanliga<br>( $\geq 1/100$ ; $< 1/10$ ) | Mindre vanliga<br>( $\geq 1/1\ 000$ ; $< 1/100$ ) | Sällsynta<br>( $\geq 1/10\ 000$ ; $< 1/1\ 000$ ) | Mycket sällsynta<br>( $< 1/10\ 000$ ) |
|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Allmänna symtom/<br>och/eller symtom<br>vid<br>administreringss<br>tället |                                   |                                        |                                                   |                                                  |                                       |
| Undersökningar                                                            |                                   | Viktökning                             |                                                   |                                                  |                                       |

#### Risk för bröstcancer

Hos kvinnor som behandlats med östrogen-gestagen i kombination under mer än 5 år har en upp till 2 gånger ökad risk att få bröstcancer rapporterats.

Den ökade risken för kvinnor som använder enbart östrogen är lägre än för kvinnor som använder en kombination av östrogen och gestagen.

Riskenivån är beroende av behandlingstiden (se avsnitt Varningar och försiktighet).

Beräkning av absolut risk baserad på resultat från den största randomiserade placebokontrollerade studien (WHI-studien) och den största metaanalysen av prospektiva epidemiologiska studier presenteras nedan.

| Den största metaanalysen av prospektiva epidemiologiska studier - Beräknad ökad risk för bröstcancer efter 5 års användning hos kvinnor med BMI 27 (kg/m <sup>2</sup> )                                                                               |                                                                                     |           |                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------------------|
| Ålder vid HRT-start (år)                                                                                                                                                                                                                              | Incidens per 1 000 kvinnor som aldrig använt HRT, under en 5-årsperiod (50- 54 år)* | Risikkvot | Antal extra fall per 1 000 kvinnor som använt HRT efter 5 år |
| <b>HRT med enbart östrogen</b>                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                     |           |                                                              |
| 50                                                                                                                                                                                                                                                    | 13,3                                                                                | 1,2       | 2,7                                                          |
| <b>Kombination östrogen-gestagen</b>                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                     |           |                                                              |
| 50                                                                                                                                                                                                                                                    | 13,3                                                                                | 1,6       | 8,0                                                          |
| * Taget från incidenstal i utgångsläget i England 2015 hos kvinnor med BMI 27 (kg/m <sup>2</sup> ) OBS! Eftersom bakgrundsincidensen för bröstcancer varierar mellan olika EU-länder, förändras även antalet extra fall av bröstcancer proportionellt |                                                                                     |           |                                                              |

| Beräknad ökad risk för bröstcancer efter 10 års användning hos kvinnor med BMI 27 (kg/m <sup>2</sup> ) |                                                                                     |           |                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|------------------------------------------------------|
| Ålder vid HRT-start (år)                                                                               | Incidens per 1 000 kvinnor som aldrig använt HRT, under en 10-årsperiod (50-59 år)* | Risikkvot | Ytterligare fall per 1 000 HRT-användare efter 10 år |
| <b>HRT med enbart östrogen</b>                                                                         |                                                                                     |           |                                                      |
| 50                                                                                                     | 26,6                                                                                | 1,3       | 7,1                                                  |

| Kombination östrogen-gestagen                                                                                                                                                                                                                                         |      |     |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|------|
| 50                                                                                                                                                                                                                                                                    | 26,6 | 1,8 | 20,8 |
| <i>* Tagen från incidenstal i utgångsläget i England 2015 hos kvinnor med BMI 27 (kg/m<sup>2</sup>)</i><br><i>OBS! Eftersom bakgrundsincidensen för bröstcancer varierar mellan olika EU-länder, förändras även antalet extra fall av bröstcancer proportionellt.</i> |      |     |      |

| US WHI studies - Antal extra fall av bröstcancer efter 5 års användning |                                                      |                      |                                                              |
|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------------------|
| Åldersspann (år)                                                        | Incidens per 1000 kvinnor i placebo-armen under 5 år | Risk ratio & 95 % CI | Antal extra fall per 1000 HRT användare under 5 år (95 % CI) |
| CEE enbart östrogen                                                     |                                                      |                      |                                                              |
| 50 - 59                                                                 | 21                                                   | 0,8 (0,7 - 1,0)      | -4 (-6 - 0)**                                                |
| CEE + MPA östrogen & gestagen†                                          |                                                      |                      |                                                              |
| 50 - 59                                                                 | 17                                                   | 1,2 (1,0 - 1,5)      | +4 (0 - 9)                                                   |

\*\* WHI studien av kvinnor utan livmoder, som inte uppvisade någon ökad risk för bröstcancer.

† När analysen begränsades till kvinnor som inte använt HRT innan studien uppvisades ingen ökad risk under de första 5 årens behandling; efter 5 år var risken högre än hos icke-användare.

## Endometriecancer

### Postmenopausala kvinnor med kvarvarande livmoder

Hos kvinnor med kvarvarande livmoder, som inte använder HRT, är risken för endometriecancer cirka 5 fall per 1000. Hos kvinnor med kvarvarande livmoder är behandling med enbart östrogen inte att rekommendera p.g.a. den ökade risken för endometriecancer (se Varningar och försiktighet). Beroende på behandlingstidens längd och dosen östrogen varierar den ökade risken för endometriecancer i epidemiologiska studier från 5 till 55 extra fall per 1000 för kvinnor i åldrarna mellan 50 och 65 år. Om man lägger till ett gestagen till behandlingen med enbart östrogen under minst 12 dagar per cykel kan den ökade risken förebyggas. I MWS visade användning under 5 år av kombinerade (sekventiell eller kontinuerlig) HRT ingen ökad risk för endometriecancer (Riskförhållande på 1,0 (0,8-1,2)).

### Ovarialcancer (Äggstockscancer)

Användning av HRT med enbart östrogen eller kombinerat östrogen-gestagen har förknippats med en lätt förhöjd risk för att få diagnosen ovarialcancer (se avsnitt Varningar och försiktighet). Vid en metaanalys från 52 epidemiologiska studier rapporterades en förhöjd risk för ovarialcancer hos kvinnor som använder HRT jämfört med kvinnor som aldrig använt HRT (RR 1,43; 95-procentigt KI 1,31-1,56). För kvinnor i åldern 50 till 54 år som tar HRT i 5 år ger detta omkring 1 extra fall per 2 000 användare. För kvinnor i åldern 50 till 54 som inte tar HRT kommer ungefär 2 av 2000 kvinnor diagnosticeras med ovarialcancer under en 5-årsperiod.

### Risk för venös tromboembolism

HRT associeras med en 1,3 - 3 gånger högre relativ risk för venös tromboembolism (VTE), t. ex. djup ventrombos eller lungemboli. Förekomsten är mest sannolik under det första året HRT används (se Varningar och försiktighet). Resultat från WHI studien visas nedan:

| WHI studien - antalet extra fall av VTE under 5-års användning |  |            |  |
|----------------------------------------------------------------|--|------------|--|
| Åldersspann (år)                                               |  | Risk ratio |  |

| WHI studien - antalet extra fall av VTE under 5-års användning |                                                      |                 |                                                    |
|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------|
|                                                                | Incidens per 1000 kvinnor i placebo-armen under 5 år | & 95 % CI       | Antal extra fall per 1000 HRT användare under 5 år |
| <b>Enbart östrogen - Oralt***</b>                              |                                                      |                 |                                                    |
| 50 - 79                                                        | 7                                                    | 1.2 (0.6 - 2.4) | 1 (-3 - 10)                                        |
| <b>Östrogen-gestagen i kombination - Oralt</b>                 |                                                      |                 |                                                    |
| 50 - 79                                                        | 4                                                    | 2.3 (1.2 - 4.3) | 5 (1 - 13)                                         |

\*\*\* Studie av kvinnor utan livmoder.

### Risk för kranskärslsjukdom

Risken för kranskärslsjukdom är något ökad hos kvinnor över 60 år som använder östrogen-gestagen i kombination. (se Varningar och försiktighet)

### Risk för stroke

Användning av enbart östrogen och kombinerad östrogen-gestagen HRT har associerats med en upp till 1,5 gånger ökad relativ risk för ischemisk stroke. Risken för hemorragisk stroke ökar inte under användning av HRT.

Den relativa risken är beroende av ålder och behandlingstid, men eftersom den absoluta risken är starkt åldersberoende kommer den totala risken för stroke hos kvinnor som använder HRT att öka, se Varningar och försiktighet.

| US WHI studies combined - additional risk of ischaemic stroke**** over 5 years' use |                                                      |                      |                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------------------|
| Åldersspann (år)                                                                    | Incidens per 1000 kvinnor i placebo-armen under 5 år | Risk ratio & 95 % CI | Antal extra fall per 1000 HRT användare under 5 år |
| 50 - 59                                                                             | 8                                                    | 1.3 (1.1 - 1.6)      | 3 (1 - 5)                                          |

\*\*\*\* Ingen skillnad gjordes mellan ischemisk och hemorragisk stroke.

Andra biverkningar har rapporterats vid behandling med östrogen/gestagen:

- Gallblåsesjukdom
- Hudförändringar såsom kloasma, erytema multiforme, erytema nodosum och vaskulär purpura
- Trolig demens i åldern över 65 år (se Varningar och försiktighet)
- Torra ögon
- Förändring i tårvätskans komposition

### Rapportering av misstänkta biverkningar

Det är viktigt att rapportera misstänkta biverkningar efter att läkemedlet godkänts. Det gör det möjligt att kontinuerligt övervaka läkemedlets nytta-riskförhållande. Hälso- och sjukvårdspersonal uppmanas att rapportera varje misstänkt biverkning till Läkemedelsverket, men alla kan rapportera misstänkta biverkningar till Läkemedelsverket, [www.lakemedelsverket.se](http://www.lakemedelsverket.se). Postadress

## Överdoser

Symtom vid överdosering med orala östrogener är bröstömhet, illamående, kräkningar och/eller metrorragi. Överdoser av progestogener kan leda till nedstämdhet, trötthet, akne och hirsutism. Behandling bör vara symtomatisk.

## Farmakodynamik

Östrogen och gestagen för kontinuerlig kombinerad substitutionsbehandling (HRT).

Estradiol: Det aktiva innehållsämnet, syntetiskt 17 $\beta$ -estradiol, är kemiskt och biologiskt identiskt med endogent humant estradiol. Den ersätter den förlorade östrogenproduktionen hos kvinnor efter menopaus och lindrar menopausala symtom.

Östrogen förhindrar benförlust efter menopaus eller efter ooforektomi.

Noretisteronacetat: Eftersom östrogen stimulerar tillväxten av endometriet ökar risken för endometriehyperplasi och cancer om det ges ensamt. Gestagentillägg reducerar avsevärt den östrogeninducerade risken för endometriehyperplasi hos kvinnor som inte är hysterektomerade.

Resultat från kliniska studier

Clioelle är bioekvivalent med referenstabletter innehållande 1 mg estradiol/0,5 mg noretisteronacetat, vilket visats i kliniska studier.

- Lindring av östrogenbristsymtom och blödningsmönster

Lindring av menopausala symtom uppnås under behandlingens första veckor.

Clioelle är ett preparat för kombinerad kontinuerlig HRT som ges i avsikt att undvika regelbundna bortfallsblödningar, som förekommer vid cyklisk eller sekventiell HRT. Amenorré rapporterades hos 90 % av kvinnorna under behandlingsmånaderna 9-12. Genombrottsblödning och/eller stänklödning förekom hos 27 % av kvinnorna under de första tre månaderna och hos 10 % under behandlingsmånaderna 10-12.

- Förebyggande av osteoporos

Östrogenbrist under menopaus innebär en ökad benomsättning och en minskning av benmassan. Effekten av östrogen på benmineraldensiteten är dosberoende. Effekten tycks kvarstå så länge behandlingen pågår. Efter avslutad HRT sker förlusten av benmassa över tid i ungefär samma takt som hos obehandlade kvinnor.

Resultat från WHI-studien och från meta-analys av andra studier visar att HRT med enbart östrogen eller med östrogen-gestagen i kombination, givet till företrädesvis friska kvinnor, minskar risken för höft- och kotfrakturer och andra osteoporosfrakturer. HRT kan även förhindra frakturer hos kvinnor med låg benmassa och/eller med diagnostiserad osteoporos. Bevisen för detta är dock begränsade.

Efter 2 års behandling med 1mg estradiol/0,5 mg noretisteronacetat var medelökningen från basnivå av benmineraldensiteten (BMD) i ländryggen 3,8 % (95 % konfidensintervall 2,8 % till 4,9 %) i en publicerad studie och 6,4 % (3,8 % till 6,9 %) i en annan publicerad studie. Den procentuella andelen kvinnor som bibehöll eller ökade BMD i ländryggen under behandlingstiden var 87 % i en studie.

Tabletter med 1 mg estradiol/0,5 mg noretisteronacetat hade även effekt på BMD i höften. Ökningen från basnivån i lårbenshalsen efter 2 år var  $1,8 \% \pm 4,1 \%$  (medelvärde  $\pm$  SD,  $p < 0,05$  jämfört med basnivån) i en studie, men bara  $0,7 \%$  (95 % konfidensintervall  $-1,3 \%$  till  $2,8 \%$ ,  $p < 0,18$  jämfört med basnivån) i en annan studie, dock påvisades en medelökning av BMD i höften efter 2 år på  $3,3 \%$  ( $1,7 \%$  till  $5,0 \%$ ,  $p < 0,001$  jämfört med basnivån).

## Farmakokinetik

### Estradiolvalerat

Eftersom estradiolvalerat snabbt spjälkas i tunntarmen, i tunntarmsslemhinnan och i levern motsvarar dess farmakokinetiska egenskaper dem hos peroralt intagen estradiol.

Estradiol tas snabbt och fullständigt upp från magtarmkanalen efter peroral tillförsel. Maximal plasmakoncentration uppnås i allmänhet 5–8 timmar efter intag. Halveringstiden i plasma är omkring 12–14 timmar. Estradiol cirkulerar i blodet bundet till SHBG (37 %) och albumin (61 %), medan endast 1–2 % är obundet. Metabolismen av estradiol sker företrädesvis i levern och tunntarmen men även i målorganen. Estradiol omvandlas framför allt till estron och estriol. Dessa utsöndras till gallan och genomgår ett enterohepatiskt kretslopp och ytterligare nedbrytning, innan de avges med urinen (90–95 %) som biologiskt inaktiva glukuronid- och sulfatkonjugat eller med feces (5–10 %) till stor del okonjugerade.

### Noretisteronacetat

Noretisteronacetat (NETA) absorberas från magtarmkanalen, och dess effekt varar i minst 24 timmar. Maximal blodkoncentration uppnås i allmänhet 1–4 timmar efter peroral tillförsel. Noretisteronacetat genomgår först pass effekt och omvandlas till noretisteron, som sedan metaboliseras och utsöndras, huvudsakligen via urinen, som glukuronid- och sulfatkonjugat. Ungefär 97 % ometaboliserat norethisteron i serum är proteinbundet. Därav är 61 % bundet till albumin och 36 % till SHBG. Halveringstiden för ometaboliserat norethisteron i plasma är i genomsnitt 10,15 timmar (SD  $\pm$  5,46).

Bioekvivalens visades i en studie som genomfördes med Cliovelle samt referenstabletter innehållande 1 mg estradiol/0,5 mg noretisteronacetat.

Efter intag av en engångsdos Cliovelle var det aritmetiska genomsnittsvärdet för  $C_{\max}$  5,23 (SD  $\pm$  2,26) ng/ml för norethisteron och 21,6 (SD  $\pm$  8,9) pg/ml för estradiol.

## Prekliniska uppgifter

Den akuta toxiciteten av östrogener är låg. På grund av den stora skillnaden mellan djurarter och mellan djur och människor har prekliniska resultat begränsat värde som underlag vid förutsägelse av effekt på människa.

Djurstudier har visat embryoletala effekter av estradiol eller estradiolvalerat redan vid relativt låga doser; urogenitala missbildningar och feminisering av manliga foster observerades.

I likhet med andra gestagener orsakar noretisteron virilisering av kvinnliga foster i råttor och apa. Vid höga doser noretisteron observerades embryoletala effekter.

Långvarig kontinuerlig administrering av naturliga och syntetiska östrogener hos vissa djurarter ökade frekvensen av karcinom i bröst, livmoder, livmoderhals, vagina, testiklar och lever. Långvarig kontinuerlig administrering av noretisteron hos vissa djurarter ökade frekvensen av tumörer i hypofys och äggstockar hos honor och i lever och bröst hos hanar.

## Innehåll

En tablett innehåller estradiol 1 mg (som estradiolvalerat) och noretisteronacetat 0,5 mg.

Hjälpämne: 65,78 mg laktos.

Kopovidon, Laktosmonohydrat, Magnesiumstearat, Majsstärkelse

## Blandbarhet

Ej relevant.

## Miljöpåverkan

*Miljöinformationen för estradiol är framtagen av företaget Novo Nordisk för Activelle®, Estrofem, Eviana, Kliogest®, Novofem®, Trisekvens®, Vagifem®*

Miljörisk: Användning av estradiol har bedömts medföra medelhög risk för miljöpåverkan.

Nedbrytning: Estradiol bryts ned långsamt i miljön.

Bioackumulering: Estradiol har låg potential att bioackumuleras.

### Detaljerad miljöinformation

**Environmental risk assessment of estrogens in pharmaceutical products marketed by Novo Nordisk in Sweden in 2020**

#### 1. 17β-estradiol and its main metabolites estrone and estriol

Environmental risk: Use of 17β-estradiol has been considered to result in a moderate environmental risk. Both 17β-estradiol and its two main metabolites estrone and estriol are considered.

Degradation: 17β-estradiol is slowly degraded in the environment.

Bioaccumulation: 17β-estradiol is assessed not to have a high potential for bioaccumulation. The two main metabolites, estrone and estriol are considered to have a low potential for bioaccumulation.

PBT/vPvB: Neither 17β-estradiol nor its two main metabolites are considered to be PBT/vPvB substances.

### Detailed background information

#### 2. The active pharmaceutical ingredients (API)

17β-estradiol is used for hormone replacement therapy of women with menopause complications.

17β-estradiol is metabolized during human metabolism into the major transformation products estrone, estriol, estrone sulfate and estrone glucuronide (Ref. 31, 48, 65).

17β-estradiol, estrone and estriol are natural estrogens which belong to the class of steroid hormones. 17β-estradiol is the primary female sex hormone and estrone is the primary metabolite of 17β-estradiol.

Chemical name **17β-estradiol (E2)**

CAS no. 50-28-2

Molecular formula C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>

Molecular weight 272.38 g/mol

Chemical name **Estrone (E1)**

CAS no. 53-16-7

Molecular formula  $C_{18}H_{22}O_2$

Molecular weight 270.37 g/mol

Chemical name **Estriol (E3)**

CAS no. 50-27-1

Molecular formula  $C_{18}H_{24}O_3$

Molecular weight 288.38 g/mol

### 3. Environmental Risk classification (PEC/PNEC ratio)

#### 3.1 Predicted Environmental Concentration (PEC)

PEC (Predicted Environmental Concentration) is calculated according to the following formula:

$$PEC = (A \cdot 10^9 \cdot (100 - R)) / (365 \cdot P \cdot V \cdot D \cdot 100) = 1.5 \cdot 10^{-6} \cdot A \cdot (100 - R) \text{ } \mu\text{g/L, where}$$

**A** = Total amount of API (kg) sold in Sweden in a given year. The total amount of estradiol (hemihydrate and valerat) sold in Sweden in 2020 was 20.86 kg API based on IQVIA/LIF sales data (Ref. 10). Reduction of **A** may be justified based on metabolism data. It can be assumed that 17 $\beta$ -estradiol is metabolised in the female body and excreted as 33% 17 $\beta$ -estradiol, 54% Estrone and 13% Estriol (Ref. 5), so A is set to:

- 17 $\beta$ -estradiol: 33% of 20.86 kg = 6.88 kg
- Estrone: 54% of 20.86 kg = 11.26 kg
- Estriol: 13% of 20.86 kg = 2.71 kg

**R** = Removal rate (%) due to loss by adsorption to sludge particles, by volatilization, hydrolysis or biodegradation. R = 0 if no data is available. The removal rates are based on estimation of distribution of estrogens in a municipal wastewater treatment plant in accordance with the principles of the EU TGD (Ref. 10), and by use of the program SimpleTreat 3.0, which estimates the relative distribution of chemicals to each compartment: effluent, sludge and air. The following removal rates (R) in wastewater treatment plants are estimated (Ref. 5):

- 17 $\beta$ -estradiol: 40% ; Conjugated 17 $\beta$ -estradiol: 6-8%. 17 $\beta$ -estradiol is excreted by mammals as glucuronide or sulfate conjugates in urine or in the unmetabolized form in faeces. Adler et al. (Ref. 12) reported that 50% of 17 $\beta$ -estradiol and 58% of estrone were conjugated in raw sewage. Furthermore, they found by measurement that 87% of the non-conjugated 17 $\beta$ -estradiol was removed in wastewater treatment plant and 47% of the conjugated 17 $\beta$ -estradiol was removed. Overall, a measured removal of 67% was found for 17 $\beta$ -estradiol and its conjugates. Thus, it is considered conservative to keep the SimpleTreat estimated removal for 17 $\beta$ -estradiol of 40%.
- Estrone: 8%; conjugated estrone: 0%. Adler et al. (Ref. 12) measured that 55% of the estrone was removed whereas a slightly higher concentration of the conjugated in the effluent than in the effluent was found (approximately 7.5 ng/L conjugate in the inlet and 8 ng/L conjugate in the outlet). Overall, a measured removal of 19% was found for estrone and its conjugates. Thus, it is considered conservative to keep the SimpleTreat estimated removal for estrone of 8%.
- Estriol: 2%; conjugates: 0%. Thus, an overall removal for estriol of 0% is assumed here.

**P** = number of inhabitants in Sweden =  $9 \cdot 10^6$

**V** (L/day) = volume of wastewater per capital and day = 200 (ECHA default) (Ref. 11)

**D** = factor for dilution of wastewater by surface water flow = 10 (ECHA default) (Ref. 11)

On this basis the following PECs in surface water can be calculated:

- PEC for 17 $\beta$ -estradiol:  $1.5 * 10^{-6} * 6.88 * (100-40) = 0.00062 \text{ } \mu\text{g/L}$
- PEC for estrone:  $1.5 * 10^{-6} * 11.26 * (100-8) = 0.0016 \text{ } \mu\text{g/L}$
- PEC for estriol:  $1.5 * 10^{-6} * 2.71 * (100) = 0.00041 \text{ } \mu\text{g/L}$

### 3.2 Predicted No Effect Concentration (PNEC)

Available eco-toxicological data for 17 $\beta$ -estradiol, estrone and estriol and the derivation of PNEC-values is presented in this section.

#### 3.2.1 17 $\beta$ -estradiol

A proposed EU EQS (PNEC) value has been derived for the 17 $\beta$ -estradiol (Ref. 7) in connection with setting 17 $\beta$ -estradiol on a short-list of 19 possible new priority substances for the Water Frame Directive (Ref. 6). The data used for the derivation of the EQS-value is presented in Appendix together with the derivation, and only a short overview of the derivation is given here.

Knowledge of the mode of action of 17 $\beta$ -estradiol - and strongly supported by the acute and chronic test toxicity data (see Appendix) - suggests that fish and amphibians are likely to be the most sensitive organisms. This is supported by the available chronic toxicity data which indicates that fish are particularly sensitive to 17 $\beta$ -estradiol. Two studies were located on amphibians with LOECs in the range of 1000-2740 ng/l reported for *Rana pipens* and *Xenopus laevis*. These LOECs are far above the NOECs for fish. Therefore, a SSD (Species Sensitivity Distribution) was derived for 17 $\beta$ -estradiol based on data for the most sensitive taxonomic groups, fish - expecting that chronic fish data used for the derivation of an SSD would also be protective of the other less sensitive group.

The lowest no observed effect concentration for 17 $\beta$ -estradiol is a 35-50 d NOEC of 0.5 ng/l (Ref. 48) for the trout (*Onchorhynchus mykiss*). The observed effects were sperm volume, sperm density and fertilization success. The study was not carried out according to a guideline. Experiments took place in four identical flow-through 0.5 m<sup>3</sup> tanks (three replicates and one control - each tank with 10 males and 3 females of approximate same size). Water inflow temperature was 6°C and air saturation of water was >90%. Fish were kept under natural photoperiod (experiments were carried out in Kreuzstein in Sankt Gilgen, Upper Austria during December - January).

Overall, reliable chronic NOEC values were available for 11 species of fish and the SSD was based on these 11 fish species (Ref. 7). The HC5 for the SSD was found at 0.8 ng/l. Based on the available dataset and the knowledge of the mode of action, an assessment factor of 2 was considered appropriate. This gives an AA-EQS of 0.4 ng/l.

This derivation of the AA-EQS was reviewed by SCHER (Ref. 8). Both the reliability and the ecological relevance of the endpoints and taxonomic groups were considered. Overall, the SCHER supported the proposed AA-EQS of 0.4 ng/l for 17 $\beta$ -estradiol.

In conclusion, a PNEC of 0.4 ng/L is used for 17 $\beta$ -estradiol

#### 3.2.2 Estrone

A PNEC-value has been derived for estrone in connection with setting the substance (together with 17 $\beta$ -estradiol) on a short-list of 19 possible new priority substances for the Water Frame Directive (Ref. 6). A well-accepted EU PNEC for estrone has been derived at 3.6 ng/l (Ref. 59).

Environmental toxicity data for estrone has been collected and are presented in the annex.

As for 17 $\beta$ -estradiol, the mode of action for estrone suggests that fish and amphibians are likely to be the most sensitive organisms. Based on available data, fish is found to be the most sensitive species to estrone. A NOEC for estrone of 36 ng/l was obtained in 40-day study with *Danio rerio* (according to OECD Draft Test Guideline: A 40-day Juvenile Zebrafish Assay for screening of Endocrine Disrupting Chemicals), and a NOEC for estrone of 5 ng/l was obtained in a 90-day study (no guideline followed, fish specie: *Oryzias latipes*, effects measured: Organ weight in relationship to body weight; hatch, Vitellogenin 1 mRNA).

As for 17 $\beta$ -estradiol, the mode of action for estrone is well-known and fish is the most sensitive species. Therefore, an assessment factor of 10 for the chronic fish toxicity data is considered justified.

Using an assessment factor of 10, a PNEC of 0.5 ng/L was obtained.

### 3.2.3 Estriol

As for 17 $\beta$ -estradiol and estrone, the mode of action for estriol is well-known and fish is the most sensitive species. Therefore, an assessment factor of 10 for the chronic fish toxicity data is considered justified.

The No Observed Effect Concentration (NOEC) for induction of vitellogenin, which is considered a chronic eco-toxicity test, is found at 0.0465  $\mu$ g/l for estriol (Ref. 49; not-a guideline study; test species *Oryzias latipes*, duration of study 90 days, temperature: 25  $\pm$  1  $^{\circ}$ C, three replicates and one control; 30 embryos per replicate).

Using an assessment factor of 10, a PNEC of 4.7 ng/L was obtained.

### 3.2.4 Derived PNECs

PNEC for the three APIs in surface water is:

- PNEC for 17 $\beta$ -estradiol: 0.0004  $\mu$ g/L
- PNEC for estrone: 0.0005  $\mu$ g/L
- PNEC for estriol: 0.0047  $\mu$ g/L

### 3.3 Calculation of the risk quotient (PEC/PNEC)

The following risk quotient PEC/PNEC can be calculated:

- PEC/PNEC for 17 $\beta$ -estradiol:  $0.00062/0.0004 = 1.55$
- PEC/PNEC for estrone:  $0.0016/0.0005 = 3.2$
- PEC/PNEC for estriol:  $0.00041/0.0047 = 0.087$

The total PEC/PNEC ratio for 17 $\beta$ -estradiol, estrone and estriol is thus 4.8.

Based on the calculated PEC/PNEC ratios and information about degradation, bioaccumulation and eco-toxicity of 17 $\beta$ -estradiol, estrone and estriol the following environmental risk phrase should be applied to pharmaceutical products with estrogens according to the criteria in the FASS.se guidelines (Ref. 1):

***"Use of pharmaceutical products with estrogens has been considered to result in moderate environmental risk"***

This risk phrase is according to the FASS.se guidelines applicable for risk quotients in the interval:  $1 < \text{PEC/PNEC} \leq 10$ .

## 4. Biotic degradation

### 4.1. Degradation of 17 $\beta$ -estradiol

Activated sludge test according to OECD guideline no. 302A has shown that 17 $\beta$ -estradiol is inherently biodegradable under aerobic conditions in activated sludge (Ref. 30). 17 $\beta$ -estradiol is thus slowly degraded in the environment. In a 100 days simulation study of 17 $\beta$ -estradiol (OECD Test Method no. 308), an aerobic mineralisation (marine) of 61 $\pm$ 1% respectively 62 $\pm$ 3% mineralisation (freshwater) was found (Ref. 86). Thus, 17 $\beta$ -estradiol is found to be biodegradable in both marine and freshwater. In addition, an activated sludge tests (OECD 302, Ref. 2) show that 17 $\beta$ -estradiol is inherently biodegradable under aerobic conditions.

### 4.2. Abiotic degradation

Hydrolysis:

No data available

Photolysis:

No data available

## 5. Bioaccumulation

According to the FASS.se guidelines (Ref. 1), substances with Log Pow  $\geq$  4 or BCF  $\geq$  500 are considered to have high potential for bioaccumulation. Valid BCF-data has prevalence above log Pow data. One limitation in the use of log Pow for the estimation of the bioaccumulation potential is that metabolism within the test organism is not considered.

The following data on bioaccumulation are retrieved from the literature and calculations:

| Substance                  | Parameter | Result                                 | Specie                                              | Method                                                                                                                                                                                         | Reference |
|----------------------------|-----------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | log Pow   | 3.94                                   | n-octanol                                           | Calculation                                                                                                                                                                                    | Ref. 82   |
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | BCF       | 38 (day 21); 43 (day 81); 45 (day 141) | High-back crucian carp ( <i>Carassius auratus</i> ) | No standard followed. 200 juvenile caged fish were exposed to wastewater outlet at the secondary sedimentation tank (for up to 141 days). Concentrations in wastewater and fish were measured. | Ref. 53   |
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | BCF       | 174                                    | Male fathead minnow, plasma                         | Method: no standard followed. Male and female fathead minnow                                                                                                                                   | Ref. 47   |

|                            |            |                              |                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |         |
|----------------------------|------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
|                            |            |                              |                              | were to 17 $\beta$ -oestradiol for 19 days at nominal concentrations that ranged from 27.2-2740 ng l <sup>-1</sup> . Tissues were collected and the concentration in the plasma was measured. The estimated BCF was 174 in males based on the relationship between waterborne and plasma 17 $\beta$ -oestradiol concentrations in surviving fish from all treatments. |         |
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | BCF        | 6.5                          | Larvae and juvenile flounder | Method: no standard followed. The estradiol uptake (through 48 hours) and depuration (through 48 hours) was studied both for larvae and juvenile flounders. Five test concentrations (between 4nM and 1000 nM) and a control was applied in the uptake study. No BCF could be established for females                                                                 | Ref. 69 |
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | log Klip,w | Varied between 2.29 (vesicle | Three types of synthetic     | Method: no standard                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Ref. 87 |

|              |         |                                                                          |                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |         |
|--------------|---------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
|              |         | including cholesterol)-3.79 (vesicle including unsaturated acyl chains). | membrane liposomes were tested.                     | followed. The partitioning between water and the synthetic membrane liposomes were measured by equilibrium dialysis                                                                                                                                                                                                                                                  |         |
| Estrone (E1) | Log Pow | 3.43                                                                     | n-octanol                                           | Calculation                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Ref. 82 |
| Estrone (E1) | BCF     | 35 (day 21); 29 (day 81); 35 (day 141)                                   | High-back crucian carp ( <i>Carassius auratus</i> ) | No standard followed. 200 juvenile caged fish were exposed to wastewater outlet at the secondary sedimentation tank (for up to 141 days). Concentrations in wastewater and fish were measured.                                                                                                                                                                       | Ref. 53 |
| Estrone (E1) | BCF     | 241/278 (4hr), 229 (16 hr), 165 24 hr                                    | <i>Daphnia magna</i>                                | No standard followed. Uptake of E1 by the D. magna. was measured at 4, 16, and 24 h and the final concentration of E1 in the pond water was analyzed by LC/MS at each time point. The experiment was repeated at a lower concentration of E1 (40mg/L) and uptake in the D. magna and concentration of E1 in the water was determined after 4 h. All bioconcentration | Ref. 38 |

|              |            |                                                                                                        |                                                          |                                                                                                                                         |         |
|--------------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
|              |            |                                                                                                        |                                                          | experiments were carried out in triplicate.                                                                                             |         |
|              | log Klip,w | Varied between 2.45 (vesicle including cholesterol)-3.92 (vesicle including unsaturated acyl chains).  | Three types of synthetic membrane liposomes were tested. | Method: no standard followed. The partitioning between water and the synthetic membrane liposomes were measured by equilibrium dialysis | Ref. 87 |
| Estriol (E3) | Log Pow    | 2.81                                                                                                   | n-octanol                                                | Calculation                                                                                                                             | Ref. 82 |
| Estriol (E3) | log Klip,w | Varied between 0.179 (vesicle including cholesterol)-0.96 (vesicle including unsaturated acyl chains). | Three types of synthetic membrane liposomes were tested. | Method: no standard followed. The partitioning between water and the synthetic membrane liposomes were measured by equilibrium dialysis | Ref. 87 |

It is noted that 17 $\beta$ -estradiol has a calculated log Pow slightly below but close to the cut-off value of 4. It can be mentioned that a logPow slightly above 4 (4.01) has been measured (Ref. 33, method not reported). Several measured BCFs are available for 17 $\beta$ -estradiol – all well below the cut-off value of 500. Therefore, 17 $\beta$ -estradiol is assessed not to have a high potential for bioaccumulation.

Both estrone and estriol have calculated log Pow well below 4. Actually, measured log Pow values are available for the two substances showing a log Pow of 3.13 respectively 2.45 (Ref. 33, method not reported). In addition, a BCF well below 100 is measured for estrone in the fish “high-back crucian carp”. Thus, both substances are considered to have a low potential for bioaccumulation.

Of some interest to note is the measured partitioning between water and synthetic membrane liposomes – mimicking biological specie-of the three substances. The partitioning of 17 $\beta$ -estradiol and estrone is on the very same level – whereas the partitioning of estriol to the membrane liposomes is much lower. This is in agreement with the calculated log Pow-values.

Overall, it is assessed that 17 $\beta$ -estradiol, estrone and estriol all have a low potential for bioaccumulation.

## 6. PBT/vPvB assessment

Considering all three aspects, 17 $\beta$ -estradiol, estrone and estriol do not meet the criteria for classification as a PBT or vPvB substance.

## 7. References

### General references

1. Environmental classification of pharmaceuticals at FASS – Guidance for pharmaceutical companies 2012.
2. D'Ascenzo G., A. Di Corcia, A. Gentili, R. Mancini, R. Mastropasqua, M. Nazzari, et al. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ*, 301 (2003), pp. 199-209
3. DHI (2001): Litteratur-review over økotoksikologiske data for østradiol og østron. November 2001. Udført af DHI. (only in Danish)
4. DHI (2003): Summary of selected investigations performed for Novo Nordisk A/S - Steroid hormones. October 2003. Prepared by DHI.
5. DHI (2003): Fate and effects of humanly excreted estrogens - 17  $\beta$ -estradiol, estrone, estriol and ethinylestradiol. October 2003. Prepared by DHI.
6. European Union (2013). "Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy".
7. EU (2011): Beta-estradiol EQS dossier 2011.
8. SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risks) (2011). OPINION ON "CHEMICALS AND THE WATER FRAMEWORK DIRECTIVE: DRAFT ENVIRONMENTAL QUALITY STANDARDS" 17 $\beta$ -estradiol (E2) SCHER adopted this opinion at its 12th plenary on 30 March 2011.
9. ECHA, European Chemicals Agency. 2008 Guidance on information requirements and chemical safety assessment.
10. ECHA (2016): Guidance on information requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.16: Environmental exposure assessment. Version 3.0.
11. 8.11. IQVIA/LIF (2021): kg consumption 2020.

### Data references

12. Adler P., Th. Steger-Hartmann, W. Kalbfuß (2001): Vorkommen natürlicher und synthetischer östrogener Steroide in Wässern des süd-und mitteldeutschen Raumes. *Acta Hydrochim. Hydrobiol*, 29 (2001), pp. 227-241
13. Andersen H R, Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk K O (2001): "Development of copepod nauplii to copepodites - a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption." *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(12): 2821-2829.
14. Billinghamurst Z, Clare A S, Fileman T, McEvoy J, Readman J, Depledge M.H. (1998): "Inhibition of barnacle settlement by the environmental oestrogen 4-nonylphenol and the natural oestrogen 17-beta-oestradiol." *Marine Pollution Bulletin* 36(10): 833-839.
15. Bjerregaard, P., P.R. Hansen, K.J. Larsen, C. Erratico, B. Korsgaard, and H. Holbech(2008):Vitellogenin as a Biomarker for Estrogenic Effects in Brown Trout, *Salmo trutta*: Laboratory and Field Investigations. *Environ. Toxicol. Chem.*27(11): 2387-2396
16. Bjørnstad E (2002): Chronic toxicity test of 17 beta-Estradiol (CAS No. 50-28-2) with the crustacean *Acartia tonsa*. Rapport fra DHI Vand & Miljø.
17. Breitholtz M und Bengtsson B E (2001): "Oestrogens have no Hormonal Effect on the Development and Reproduction of the Harpacticoid Copepod *Nitocra spinipes*." *Marine Pollution Bulletin* 42(10): 879-886.
18. Brion F, Tyler C R, Palazzi X, Laillet B, Porcher J M, Garric J, Flammarion P (2004): "Impacts of 17-beta-estradiol, including environmentally relevant concentrations, on reproduction after exposure during embryo-larval-, juvenile- and adult-life stages in zebrafish (*Danio rerio*)." *Aquatic Toxicology* 68(3): 193-217.
19. Cripe G M, Hemmer B L, Goodman L R, Fournie J W, Raimondo S, Vennari J C, Danner R L, Smith K, Manfredonia B R, Kulaw D H, Hemmer M J (2009): "Multigenerational exposure of the estuarine sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*) to 17-beta-estradiol. I. Organism-level effects over three generations." *Environmental Toxicology and Chemistry* 28(11): 2397-2408.

20. Dammann, A.A., N.W. Shappell, S.E. Bartell, and H.L. Schoenfuss (2011): Comparing Biological Effects and Potencies of Estrone and 17 $\beta$ -Estradiol in Mature Fathead Minnows, *Pimephales promelas*. *Aquat. Toxicol.* 105(3/4): 559-568
21. Ghekiere, A., T. Verslycke, and C. Janssen (2006): Effects of Methoprene, Nonylphenol, and Estrone on the Vitellogenesis of the Mysid *Neomysis integer*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 147(2): 190-195
22. DHI (2002): Algal growth inhibition test of  $\beta$ -Estradiol with the micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. 2002.06.17. Prepared by DHI.
23. DHI (2002): Algal growth inhibition test of Estrone with the micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. 2002.06.27. Prepared by DHI.
24. DHI (2002): Chronic toxicity test of  $\beta$ -Estradiol [CAS no. 50-28-2] with the crustacean *Acartia tonsa*. 2002.06.28. Prepared by DHI.
25. DHI (2002): Zebra fish chronic toxicity test with Estrone [CAS no. 53-16-7]. 2002.08.30. Prepared by DHI.
26. DHI (2002): Nitrification inhibition test of  $\beta$ -Estradiol with activated sludge. 2002.07.03. Prepared by DHI.
27. DHI (2002): Nitrification inhibition test of Estrone with activated sludge. 2002.07.04. Prepared by DHI.
28. DHI (2002): *Enchytraeus albidus* chronic toxicity test with  $\beta$ -Estradiol. 2002.07.05. Prepared by DHI.
29. DHI (2002): Ready Biodegradability – Closed Bottle Test with Estradiol. 2002.07.12. Prepared by DHI.
30. DHI (2002): Activated Sludge Biodegradability Simulation Test with Estradiol. 2002.07.12. Prepared by DHI.
31. Doyle C J und Lim R P (2005): Sexual behavior and impregnation success of adult male mosquitofish following exposure to 17-beta-estradiol. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61 :392-397.
32. Hirai N, Nanba A, Koshio M, Kondo T, Morita M, Tatarazako N (2006): Feminization of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 $\beta$ -estradiol: Formation of testis-ova and sex-transformation during early-ontogeny. *Aquatic Toxicology* 77 (1):78-86.
33. Hansch C., Leo A. and Hoekman D. (1995). Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington, DC., American Chemical Society.
34. Hobkirk R., Mellor J.D. and Nilsen M. (1975). In vitro metabolism of 17 $\beta$ -estradiol by human liver tissue. *Can. J. Biochem.* 53, : 903-906.
35. Holbech, H., K. Kinnberg, G.I. Petersen, P. Jackson, K. Hylland, L. Norrgren, and P. Bjerregaard (2006): Detection of Endocrine Disrupters: Evaluation of a Fish Sexual Development Test (FSDT). *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol. Toxicol.* 144(1): 57-66
36. Huang Bin, Wenwen Sun, Xiaoman Li, Jingliang Liu, Qiang Li, Renmin Wang, Xuejun Pan (2015): Effects and bioaccumulation of 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethynylestradiol following long-term exposure in crucian carp. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 112, 169-176
37. Hutchinson, T.H., N.A. Pounds, M. Hampel & T.D. Williams (1999): Impact of natural and synthetic steroids on the survival, development and reproduction of marine copepods (*Tisbe battagliai*). *The science of the Total Environment* 233: 167-179
38. Gomes Rachel L., L.Hannah E. Deacon, Ka M. Lai, Jason W. Birkett, Mark D. Scrimshaw And John N. Lester (2004): Assessment Of The Bioaccumulation Of Estrone In *Daphnia magna*
39. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 23, No. 1, pp. 105-108, 2004
40. Imai S, Koyama J, Fujii K (2005): Effects of 17 $\beta$ -estradiol on reproduction of Java medaka (*Oryzias javanicus*), a new test fish. *Mar Poll Bull* 51: 708-714.
41. Imai S, Koyama J, Fujii K. 2007. Effects of estrone on full life cycle of Java medaka (*Oryzias javanicus*), a new marine test fish. *Environ Toxicol Chem* 26:726-731.
42. Jukosky J A Watzin M C, Leiter J C (2008a): The effects of environmentally relevant mixtures of estrogens on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) reproduction. *Aquatic Toxicology* 86:323-331.
43. Kang I J, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Yamaguchi T, Maeda M, Imada N, Tadokoro H, Honjo T (2002): Effect of 17-beta-estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 47(1): 71-80.

44. Kashiwada et al. (2002): Fish test for endocrine disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. *Water Research* 36: 2161-2166.
45. Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999): Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals in vitro and in vivo. *Science of The Total Environment* 225: 59-68.
46. Kramer V J, Miles-Richardson S, Pierens S L, Giesy J P (1998): Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to waterborne 17-beta-estradiol. *Aquatic Toxicology* 40(4): 335-360.
47. Kramer V.J., Miles-Richardson S., Pierens S.L. and Giesy J.P. (1998). "Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) Exposed to waterborne 17[beta]-estradiol." *Aquatic Toxicology* 40(4): 335-360
48. Lahnsteiner F, Berger B, Kletzl M, Weismann T (2006): Effect of 17 $\beta$ -estradiol on gamete quality and maturation in two salmonid species. *Aquatic Toxicology*. 79:124-131.
49. Lei,B., J. Kang, Y. Yu, J. Zha, W. Li, Z. Wang, Y. Wang, and Y. Wen(2014):Long-Term Exposure Investigating the Estrogenic Potency of Estriol in Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*160:86-92
50. Lei,B., Y. Wen, X. Wang, J. Zha, W. Li, Z. Wang, Y. Sun, J. Kang, and Y. Wang(2013):Effects of Estrone on the Early Life Stages and Expression of Vitellogenin and Estrogen Receptor Genes of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*93(6): 1104-1110
51. Liao T, Guo Q L, Jin S W, Cheng W, Xu Y(2009): Comparative responses in rare minnow exposed to 17 $\beta$ -estradiol during different life stages, *Fish Physiol. Biochem.* 35: 341-349.
52. Lievertz R.W. (1987). Pharmacology and pharmacokinetics of estrogens. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 156:1289-1293.
53. Liu Jingliang , Renmin Wang, Bin Huang, Chan Lin, Jiali Zhou, Xuejun Pan (2012):Biological effects and bioaccumulation of steroidal and phenolic endocrine disrupting chemicals in high-back crucian carp exposed to wastewater treatment plant effluents. *Environmental Pollution* 162 (2012) 325-331
54. Mackenzie C A, Berrill M, Metcalfe C, Pauli B D (2003): Gonadal differentiation in frogs exposed to estrogenic and antiestrogenic compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*. Volume 22, Issue 10: 2466-2475
55. Metcalfe C D, Metcalfe T L, Kiparissis Y, Koenig B, Khan C, Hughes R J, Croley T R, March R E , Thomas P. (2001). Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20(2): 297-308.
56. Nash J P, Kime D E, van der Ven L T M , Wester P W , Brion F , Maack G, Stahlschmidt-Allner P. and Tyler C.R. (2004): Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of the Pharmaceutical Ethynylestradiol Causes Reproductive Failure in Fish. *Environmental Health Perspectives* 112(17): 1725-1733.
57. Nimrod A C und Benson W H (1998): Reproduction and development of Japanese medaka following an early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquatic Toxicology* 44(1-2): 141-156.
58. Notch,E.G., and G.D. Mayer(2013):Impact of Environmental Estrogens on Nucleotide Excision Repair Gene Expression in Embryonic Zebrafish. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*157(4): 361-365
59. Oekotoxzentrum, Eawag (2011): Proposed PNEC value for Estrone.
60. Panter, G.H., R.S. Thompson & J.P. Sumpter (1998): Adverse reproductive effects in male fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to environmentally relevant concentrations of the natural oestrogens, oestradiol and oestrone. *Aquatic toxicology* 42: 243-253
61. Pollino C A, Georgiades E,. Holdway D A (2007): Use Of The Australian Crimson-Spotted Rainbowfish (*Melanotaenia Fluvialtilis*) As A Model Test Species For Investigating The Effects Of Endocrine Disruptors. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 26, No. 10: 2171-2178
62. Robinson C D, Brown E, Craft J A, Davies I A, Megginson C, Miller C, Moffat C F (2007): Bioindicators and reproductive effects of prolonged 17-beta-oestradiol exposure in a marine fish, the sand goby (*Pomatoschistus minutus*). *Aquatic Toxicology* 81: 397-408.

63. Roepke T A, Snyder M J, Cherr G N (2005): Estradiol and endocrine disrupting compounds adversely affect development of sea urchin embryos at environmentally relevant concentrations. *Aquatic Toxicology* 71:155-173.
64. Routledge E J, Sheahan D, Desbrow C, Brighty G C, Waldock M, Sumpter J P (1998): Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 2. In vivo responses in trout and roach. *Environmental Science and Technology* 32: 1559-1565.
65. Schering AG (1995): Acute toxicity of 17beta-estradiol with the rainbow trout. Report A05662.
66. Schering AG (2002). Growth inhibition test with estradiol (ZK 5018) on the green algae *Desmodesmus subspicatus*. Report A30506.
67. Segner H, Navas J M, Schäfers C, Wenzel A (2003): Potencies of estrogenic compounds in in vitro screening assays and in life cycle tests with zebrafish in vivo. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54:315-322.
68. Slaunwhite R.W., Kirdani R.Y. and Sandberg A.A. (1973). Metabolic aspects of estrogens in man. In: R.O. Greep and E.B. Astwood (Eds.). *Handbook of Physiology. Section 7: Endocrinology, Vol. 2, Female Reproductive System, part 1, Chapter 21*, Washington DC, American Physiology Society. pp. 485-523.
69. Specker and Chandler (2003). Methodology for estradiol treatment in marine larval and juvenile fish: uptake and clearance in summer flounder. *Aquaculture*, 217, 663-672.
70. Schering AG (2002). Growth inhibition test with estradiol (ZK 5018) on the green algae *Desmodesmus subspicatus*. Report A30506.
71. Seki M., Yokota H., Maeda M. and Kobayashi K. (2005). "Fish full life-cycle testing for 17beta-estradiol on medaka (*Oryzias latipes*).*" Environmental Toxicology and Chemistry* 24(5): 1259-1266.
72. Shappell N W, Hyndman K M, Bartell S E, Schoenfuss H L (2010): Comparative biological effects and potency of 17-alpha- and 17-beta-estradiol in fathead minnows. *Aquatic Toxicology*:100: 1-8.
73. Shioda T und Wakabayashi M. (2000): Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 40(3): 239-243.
74. Tabata A, Kashiwada S, Ohnishi Y, Ishikawa H, Miyamoto N, Itoh M, Magara Y (2001): "Water Science and Technology. 43 2:109-116.
75. Tatarazako N, Takao Y, Kishi K, Onikura N, Arizono K, Iguchi T. (2002): Styrene dimers and trimers affect reproduction of daphnid (*Ceriodaphnia dubia*).*" Chemosphere* 48(6): 597-601.
76. Thorpe, K.L., T.H. Hutchinson, M.J Hetheridge, M. Scholtze, J.P Sumpter & C. Tyler (2001): Assessing the Biological Potency of Binary Mixtures of Environmental Estrogens using Vitellogenin Induction in Juvenile Rainbow Trout (*oncorhynchus mykiss*). *Environ. Sci Technol.* 35: 2476-2481
77. Thorpe K.L. Thomas H., Malcolm J.H., Martin S., P. Sumpter & And C.R. Tyler (2001): Assessing the Biological Potency of binary mixtures of Environmental Estrogens using Vitellogenin Induction in Juvenile Rainbow Trout. *Environ. Sci. Technol.* 2001, 35, 2476-2481. *Environ Sci Technol.* 2003;37(6):1142-9.
78. Thorpe K L, Benstead R, Hutchinson T H, Cummings R I, Tyler C R (2003): Reproductive effects of exposure to oestrone in the fathead minnow. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 451-452.
79. Thorpe K L, Cummings R I, Hutchinson T H, Scholze M, Brighty G, Sumpter J P, Tyler C R (2003):Relative Potencies and Combination Effects of Steroidal Estrogens in Fish.
80. Thorpe KL, Benstead R, Hutchinson TH, Tyler CR. 2007. Associations between altered vitellogenin concentrations and adverse health effects in fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquat Toxicol (Amst)* 85:175-183.
81. Toft G und Battrup E (2003): Altered sexual characteristics in guppies (*Poecilia reticulata*) exposed to 17b-estradiol and 4-tert-octylphenol during sexual development. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56: 228-237.
82. US EPA (2012): EpiSuite
83. Van den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen R, Witters H (2004): Comparative study on the in vitro and in vivo estrogenic potencies of 17β-estradiol, estrone, 17α-ethynylestradiol and nonylphenol. *Aquat Toxicol* 66(2):183-185.

84. Van der Ven LTM, Van den Brandhof E-J, Vos HJ, Wester PW (2007) Effects of the estrogen agonist 17 $\beta$ -Estradiol and antagonist tamoxifen in a partial life-cycle assay with zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Tox Chem* 26(1):92-99.
85. Winther-Nielsen M (2002): Algal growth inhibition test of 17-beta-Estradiol with micro alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. Rapport fra DHI - Institut for Vand & Miljø.
86. Winther-Nielsen (2011): Aerobic transformation of 17 $\beta$ -estradiol in aquatic sediment systems. DHI GLP report. 2011.03.31
87. Yamamoto Hiroshi and Howard M. Liljestrand (2004): Partitioning of Selected Estrogenic Compounds between Synthetic Membrane Vesicles and Water: Effects of Lipid Components.

## Appendix

### Nitrification inhibition test with activated sludge:

| Substance             | Method   | Concentration & Exposure time | Effect parameter                 | EC20            | Reference |
|-----------------------|----------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------|-----------|
| 17 $\beta$ -estradiol | ISO 9509 | 62,5–1.000 $\mu$ g/L<br>2 hrs | Inhibition of nitrification rate | > 918 $\mu$ g/L | Ref. 26   |
| Estrone               | ISO 9509 | 62,5–1.000 $\mu$ g/L<br>2 hrs | Inhibition of nitrification rate | > 172 $\mu$ g/L | Ref. 27   |

The studies did not show significant inhibition of the nitrification rate in activated sludge at the tested concentrations.

### Biodegradation test of 17 $\beta$ -estradiol:

| Substance                  | Method                                                                                                                           | Concentration & Exposure time                                                                                       | Result                                                                         | Reference |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | OECD Test Method no. 308: "Aerobic transformation of 17 $\beta$ -estradiol in aquatic sediment systems"                          | Nominal concentrations 0.36 $\mu$ g/L and 1.1 $\mu$ g/L of unlabelled and 14C-labelled E2, respectively<br>100 days | 61 $\pm$ 1% mineralisation (marine)<br>62 $\pm$ 3% mineralisation (freshwater) | Ref. 86   |
| 17 $\beta$ -estradiol      | OECD Test Method no. 301D: "Closed Bottle Test"                                                                                  | 1.64 mg/L<br>28 days                                                                                                | 3.5-9.8 % of ThoD                                                              | Ref. 29   |
| 17 $\beta$ -estradiol (E2) | OECD Guideline no. 302A: "Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test" and "Activated Sludge Biodegradability Simulation Test" | Ca. 20 $\mu$ g/L<br>Aerobic: 48 hrs<br>Anoxic: 8 days                                                               | Aerobic:<br>See below *<br>Anoxic:<br>No significant degradation               | Ref. 30   |

\* Results according to OECD Guideline no. 302A:

- The total  $^{14}\text{C}$ -concentration decreased by 70% of the initial added  $^{14}\text{C}$  within the first 45 minutes of the test period
- During the first 45 minutes of the test period, a 1. order rate constant was estimated at  $2.2 \pm 0.2 \text{ L*day}^{-1}\text{*gSS}^{-1}$  for the total test substance concentrations  $> 2.5 \mu\text{g E2/L}$
- During the test period from 3-48 hours, a 1. order rate constant was estimated at  $0.031 \pm 0.003 \text{ L*day}^{-1}\text{*gSS}^{-1}$  for the total test substance concentrations  $< 2.5 \mu\text{g E2/L}$

On basis of the biodegradation test results it can be concluded that:

- 17  $\beta$ -estradiol is not readily degradable under closed bottle conditions since the minimum requirement BOD = 60% of ThOD within 10 days is not fulfilled.
- 17  $\beta$ -estradiol is inherently biodegradable under aerobic conditions but not under anoxic conditions in activated sludge simulation.

#### Reproduction test for 17 $\beta$ -estradiol on the earth worm, *Enchytraeus albidus*

| Method                                                                                                                                                                | Concentration & Exposure time       | Effect parameter                                                                        | NOEC                    | Reference |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------|
| OECD Draft Test Guideline 220: "Enchytraeidae Reproduction Test", March 2000 and in agreement with the existing OECD Guideline No. 220: Enchytraeid Reproduction Test | 50–1,000 mg/kg soil d.w.<br>21 days | Adult mortality<br>Inhibition of reproduction<br>Changes in behaviour and/or morphology | $> 1,000 \text{ mg/kg}$ | Ref. 28   |

The study did not show significant effect on neither of the stated parameters at the tested concentrations.

#### Derivation of PNEC for 17 $\beta$ -estradiol

A suggestion for AA-EQS has been drafted and reviewed (Ref. 7). The below derivation is based on this derivation.

| Specie Group    | Organism                       | Effect                       | Duration | End-Point | Value ( $\mu\text{g/L}$ ) | KLIMISH Score | Reference |
|-----------------|--------------------------------|------------------------------|----------|-----------|---------------------------|---------------|-----------|
| Short Term Data |                                |                              |          |           |                           |               |           |
| Algae           | <i>Desmodesmus subspicatus</i> | Growth (GLP)                 | 72 h     | EC50      | $>3100$                   | 1             | Ref. 66   |
| Invertebrate    | <i>Acartia tonsa</i>           | Mortality                    | 48 h     | EC50      | $>1000$                   | 2             | Ref. 13   |
| Fish            | <i>Cyprinus carpio</i>         | VTG induction in hepatocytes | 3 d      | EC50      | 24.52                     | 2             | Ref. 67   |

|                |                                        |                                             |       |      |        |   |         |
|----------------|----------------------------------------|---------------------------------------------|-------|------|--------|---|---------|
| Fish           | <i>Oncorhynchus mykiss</i>             | Mortality                                   | 96 h  | LC50 | >500   | 1 | Ref. 65 |
| Fish           | <i>Oncorhynchus mykiss</i>             | VTG induction in hepatocytes                | 3 d   | EC50 | 7.08   | 2 | Ref. 67 |
| Fish           | <i>Oryzias latipes</i>                 | Egg and embryo mortality                    | 72 h  | LC50 | 460    | 2 | Ref. 44 |
| Fish           | <i>Oryzias latipes</i>                 | Adult                                       | 72 h  | LC50 | 3500   | 2 | Ref. 44 |
| Long-term data |                                        |                                             |       |      |        |   |         |
| Algae          | <i>Desmodesmus subspicatus</i>         | Growth                                      | 72 h  | NOEC | >3100  | 1 | Ref. 66 |
| Algae          | <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> | Growth (OECD 201, GLP)                      | 72 h  | NOEC | >523   | 2 | Ref. 85 |
| Arthropoda     | <i>Balanus amphrite</i>                | larval colonization                         | 2 d   | NOEC | =0.1   | 2 | Ref. 14 |
| Invertebrate   | <i>Acartia tonsa</i>                   | development                                 | 5 d   | EC10 | 370    | 2 | Ref. 13 |
| Invertebrate   | <i>Acartia tonsa</i>                   | development                                 | 5 d   | EC50 | 720    | 2 | Ref. 13 |
| Invertebrate   | <i>Acartia tonsa</i>                   | Reproduction<br>GLP, Not a guideline study; | 21 d  | NOEC | >368   | 2 | Ref. 16 |
| Invertebrate   | <i>Ceriodaphnia dubia</i>              | reproduction                                | 7 d   | NOEC | =10000 | 2 | Ref. 75 |
| Copepoda       | <i>Nitocra spinipes</i>                | reproduction                                | 18 d  | NOEC | ≥160   | 2 | Ref. 17 |
| Copepoda       | <i>Tisbe battagliai</i>                | reproduction                                | 21 d  | NOEC | ≥100   | 2 | Ref. 37 |
| Amphibien      | <i>Xenopus laevis</i>                  | feminization                                | 84 d  | LOEC | 2.74   | 2 | Ref. 45 |
| Amphibien      | <i>Rana pipiens</i>                    | Intersex                                    | 162 d | LOEC | ≤1     | 2 | Ref. 54 |
| Fish           | <i>Cyprinodon variegatus</i>           | Proportion of viable eggs F1 and F2         | 280 d | LOEC | 0.04   | 2 | Ref. 19 |
| Fish           | <i>Cyprinodon variegatus</i>           | Proportion of viable eggs F1 and F2         | 280 d | NOEC | 0.01   | 2 | Ref. 19 |
| Fish           | <i>Danio rerio</i>                     | altered gonadal histology, sex ratio        | 21 d  | LOEC | 0.1    | 2 | Ref. 18 |

|      |                                 |                                                             |         |      |        |   |         |
|------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------|------|--------|---|---------|
| Fish | <i>Danio rerio</i>              | altered gonadal histology, sex ratio                        | 21 d    | NOEC | 0.025  | 2 | Ref. 18 |
| Fish | <i>Danio rerio</i>              | altered gonadal histology, secondary sexual characteristics | 21 d    | NOEC | 0.005  | 2 | Ref. 18 |
| Fish | <i>Danio rerio</i>              | reproduction                                                | 200 d   | NOEC | ≤0.005 | 2 | Ref. 56 |
| Fish | <i>Danio rerio</i>              | Egg number in the clutch and hatching                       | 21 d    | NOEC | 0.087  | 2 | Ref. 71 |
| Fish | <i>Gabiocypris rarus</i>        | sex ratio                                                   | 21 d    | LOEC | 0.025  | 2 | Ref. 51 |
| Fish | <i>Gabiocypris rarus</i>        | sex ratio                                                   | 21 d    | NOEC | 0.005  | 2 | Ref. 51 |
| Fish | <i>Gambusia holbrooki</i>       | reproductive success                                        | 84 d    | LOEC | 0.02   | 2 | Ref. 31 |
| Fish | <i>Gambusia holbrooki</i>       | reproductive success                                        | 84 d    | NOEC | 0.1    | 2 | Ref. 31 |
| Fish | <i>Melanotaenia fluviatilis</i> | egg production                                              | 14 d    | LOEC | 0.3    | 2 | Ref. 61 |
| Fish | <i>Melanotaenia fluviatilis</i> | egg production                                              | 14 d    | NOEC | 0.1    | 2 | Ref. 61 |
| Fish | <i>Oncorhynchus mykiss</i>      | Sperm volume, sperm density and fertilization success       | 35-50 d | LOEC | 0.001  | 2 | Ref. 48 |
| Fish | <i>Oncorhynchus mykiss</i>      | Sperm volume, sperm density and fertilization success       | 35-50 d | NOEC | 0.0005 | 2 | Ref. 48 |
| Fish | <i>Oryzias javanicus</i>        | Fertility of the eggs                                       | 187 d   | LOEC | 0.016  | 2 | Ref. 40 |
| Fish | <i>Oryzias javanicus</i>        | Fertility of the eggs                                       | 187 d   | NOEC | 0.0095 | 2 | Ref. 40 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>          | Gender shift (testis-ova)                                   | 90 d    | LOEC | 0.1    | 2 | Ref. 55 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>          | Gender shift (testis-ova)                                   | 90 d    | NOEC | 0.01   | 2 | Ref. 55 |

|      |                               |                                       |           |      |        |   |         |
|------|-------------------------------|---------------------------------------|-----------|------|--------|---|---------|
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | total study                           | 90 d      | LOEC | 0.004  | 3 | Ref. 55 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | total study                           | 90 d      | NOEC | 0.0004 | 3 | Ref. 55 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | feminization                          | 200-300 d | NOEC | 0.1    | 2 | Ref. 74 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | reduced fertility                     | 59 d      | NOEC | 0.0029 | 2 | Ref. 71 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | feminization                          | 28 d      | LOEC | ≤0.01  | 2 | Ref. 57 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | number of eggs                        | 14 d      | NOEC | 0.272  | 2 | Ref. 73 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | reduced fertility                     | 21 d      | NOEC | 0.227  | 2 | Ref. 43 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | Hatching time                         | 20 d      | NOEC | 0.034  | 2 | Ref. 32 |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>        | various reproduction endpoints        | 14 d      | NOEC | 0.379  | 3 | Ref. 42 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i>    | Feminization and weight gain          | 91 d      | LOEC | 0.0279 | 1 | Ref. 65 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i>    | Feminization and weight gain          | 91 d      | NOEC | >0.008 | 1 | Ref. 65 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i>    | reduced egg production                | 19 d      | EC10 | 0.0066 | 2 | Ref. 46 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i>    | reproduction , reduced egg production | 21 d      | NOEC | 0.044  | 3 | Ref. 86 |
| Fish | <i>Poecilia reticulata</i>    | Feminization (GSI, sex ratio)         | 90 d      | LOEC | 0.5    | 2 | Ref. 81 |
| Fish | <i>Poecilia reticulata</i>    | Feminization (GSI, sex ratio)         | 90 d      | NOEC | 0.1    | 2 | Ref. 81 |
| Fish | <i>Pomatoschistus minutus</i> | reproduction                          | 240 d     | NOEC | 0.097  | 2 | Ref. 62 |
| Fish | <i>Thymallus thymallus</i>    | Sperm volume, motility of sperm       | 50 d      | LOEC | ≥0.001 | 2 | Ref. 48 |

Acute effects have been considered of no relevance and therefore no MAC-EQS has been derived.

Chronic toxicity data for 17 $\beta$ -estradiol is available for a range of species including algae, crustaceans, rotifers, amphibians and fish. It is concluded that the critical effect due to exposure of 17 $\beta$ -estradiol and its primary metabolites estrone and estriol is the induction of vitellogenin in fish that may cause a change in sex from male to female.

In order to apply the SSD (Species Sensitivity Distribution) approach the available dataset should preferably contain more than 15, but at least 10 NOECs/EC10s from different species covering at least 8 taxonomic groups. For estimating an AA-EQS freshwater using the SSD approach the following taxa would normally need to be represented, i.e.

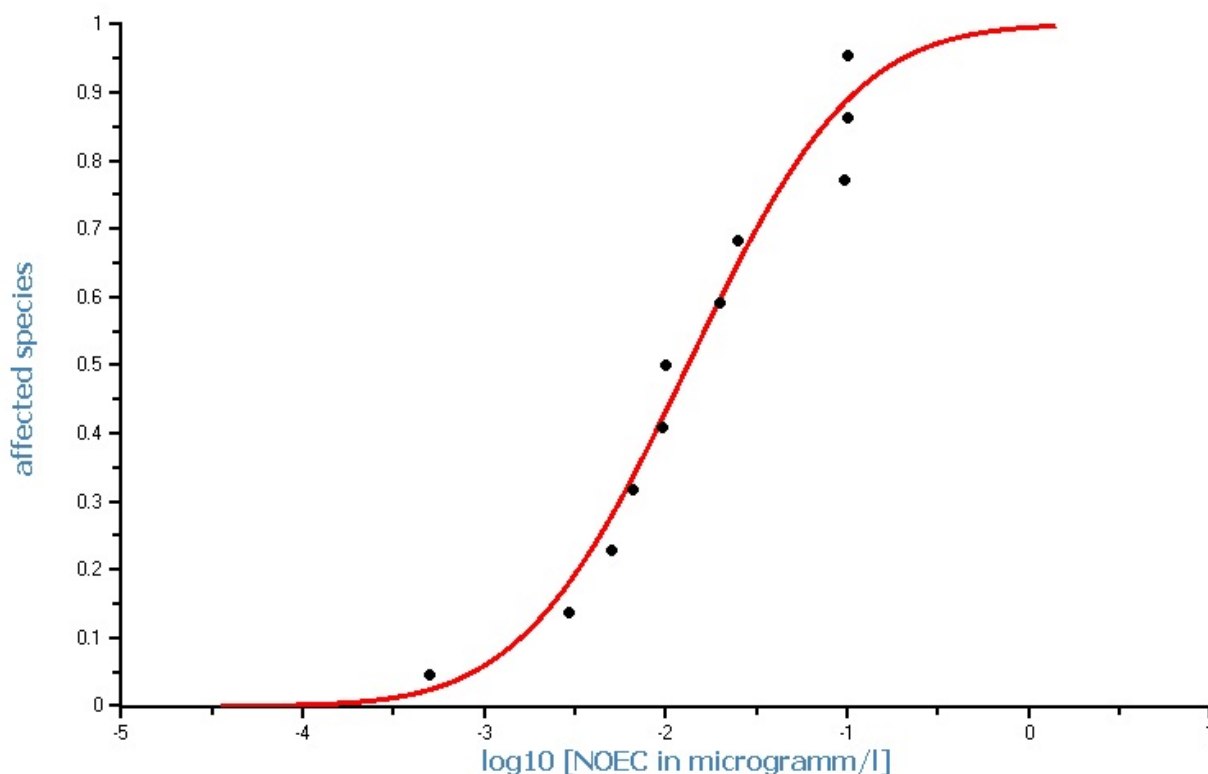
- a fish species
- a second family in the phylum Chordata
- a crustacean
- an insect
- a family in a phylum other than Arthropoda or Chordata
- a family in any order of insect or any phylum not represented
- algae
- a higher plant

The available chronic toxicity dataset for 17 $\beta$ -estradiol does not meet the data requirements for using the SSD approach. However, 17 $\beta$ -estradiol is a naturally occurring hormone and has a specific mode of action with effects on the reproductive physiology of vertebrates. The EU guidance notes that if a chemical is known to have a specific mode of action an SSD can be derived for only those taxa that are expected to be particularly sensitive.

Knowledge of the mode of action of 17 $\beta$ -estradiol suggests that fish and amphibians are likely to be the most sensitive organisms. This is supported by the available chronic toxicity data which indicates that fish are particularly sensitive to 17 $\beta$ -estradiol. Two studies were located on amphibians with LOECs in the range of 1000-2740ng/l reported for *Rana pipens* and *Xenopus laevis*. It is therefore proposed that an SSD is derived for  $\beta$ -estradiol based on data for the most sensitive taxonomic groups. It is expected that based on knowledge of the mode of action the chronic fish data the derivation of an SSD based on fish species only should be protective of other less sensitive group.

Reliable chronic NOEC values were available for 11 species of fish. An SSD has therefore been derived based on 11 fish species. For several species a number of different studies have been reported. The EU guidance on the derivation of an SSD indicates that where a number of data points are available for a species a geometric mean should be calculated to propose a single value for a species. This approach is not appropriate for all the available data as the studies are often non-standard and consider a range of endpoints and exposure durations and are therefore not directly comparable. In these cases, the lowest NOEC value is used for a species.

The SSD based on the fish data is shown below. The distribution fit to a log normal distribution.



The HC5 from the above SSD is 0.8 ng/l. An assessment factor in the range of 1-5 should be applied to the HC5 based on the guidance given in the TGD-EQS (E.C., 2011). Based on the available dataset and the knowledge of the mode of action it is considered that an assessment factor of 2 (mode of toxic action is well understood, HC5 has been derived based on data for the most sensitive taxonomic group, a wide range of endpoints and durations including population relevant endpoints such as hatching, fertilisation, changes in sex ratio are included in the dataset) is appropriate for the derivation of the AA-EQS.

This gives a EQS of 0.4 ng/l.

The derivation of the AA-EQS has been reviewed by SCHER (Ref. 8). Both the reliability and the ecological relevance of the endpoints and taxonomic groups have been considered. Overall, the SCHER supports the proposed AA-EQS of 0.4 ng/l.

#### Derivation of PNEC for estrone

| Specie Group    | Organism                               | Effect            | Duration | End-Point | Value (µg/L) | KLIMISH Score | Reference |
|-----------------|----------------------------------------|-------------------|----------|-----------|--------------|---------------|-----------|
| Short Term Data |                                        |                   |          |           |              |               |           |
| Algae           | <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> | Growth (OECD 201) | 72 h     | EC50      | >451         | 1             | Ref. 71   |
| Crustacean      | <i>Acartia tonsa</i>                   | Mortality         | 48 h     | NOEC      | ≥1000        | 2             | Ref. 13   |
| Crustacean      | <i>Neomysis integer</i>                | Mortality         | 96 h     | LC50      | >10000       |               | Ref. 21   |
| Copepoda        |                                        | Mortality         | 10 d     | LC50      | ≥100         |               | Ref. 31   |

|                |                                        |                                                                                                                                                  |      |      |        |   |         |
|----------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|--------|---|---------|
|                | <i>Tisbe battagliai</i>                |                                                                                                                                                  |      |      |        |   |         |
| Echinoderm     | <i>Strongylocentrotus purpuratus</i>   | Development                                                                                                                                      | 96 h | EC50 | 6,4.4  | 2 | Ref. 63 |
| Long-term data |                                        |                                                                                                                                                  |      |      |        |   |         |
| Algae          | <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> | Growth (OECD 201)                                                                                                                                | 72 h | NOEC | ≥451   | 2 | Ref. 71 |
| Crustacean     | <i>Acartia tonsa</i>                   | Development                                                                                                                                      | 5 d  | EC10 | 250    | 2 | Ref. 13 |
| Copepoda       | <i>Tisbe battagliai</i>                | Sex ratio; Re-production (method #1)                                                                                                             | 21 d | NOEC | ≥100   | 2 | Ref. 31 |
| Fish           | <i>Danio rerio</i>                     | Vitellogenin induction, sex ratio (OECD Draft Test Guideline: A 40-day Juvenile Zebrafish Assay for screening of Endocrine Disrupting Chemicals) | 40 d | NOEC | 0.036  | 2 | Ref. 25 |
| Fish           | <i>Danio rerio</i>                     | Vitellogenin 1 mRNA; XPA mRNA; XPC mRNA                                                                                                          | 4 d  | NOEC | 0.1    |   | Ref. 58 |
| Fish           | <i>Danio rerio</i>                     | Ovarian Somatic Index (OSI)                                                                                                                      | 21 d | EC10 | 0.195  | 2 | Ref. 83 |
| Fish           | <i>Danio rerio</i>                     | Vitellogenin induction                                                                                                                           | 21 d | EC10 | 0.139  | 2 | Ref. 83 |
| Fish           | <i>Oncorhynchus mykiss</i>             | VTG-Induction (adult)                                                                                                                            | 21 d | NOEC | 0.048  | 2 | Ref. 64 |
| Fish           | <i>Oncorhynchus mykiss</i>             | VTG-Induction (adult)                                                                                                                            | 14 d | NOEC | 0.0032 | 3 | Ref. 77 |
| Fish           | <i>Oryzias latipes</i>                 | Feminization                                                                                                                                     |      | NOEC | 0.1    |   | Ref. 55 |
| Fish           | <i>Oryzias latipes</i>                 | Imposex, intersex conditions                                                                                                                     | - d  | NOEC | <0.008 |   | Ref. 55 |
| Fish           |                                        | Hatch                                                                                                                                            | 15 d | NOEC | 0.005  |   | Ref. 49 |

|      |                            |                                                                                       |       |      |         |   |         |
|------|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|---------|---|---------|
|      | <i>Oryzias latipes</i>     |                                                                                       |       |      |         |   |         |
| Fish | <i>Oryzias latipes</i>     | Vitellogenin 1 mRNA                                                                   | 90 d  | NOEC | 0.005   |   | Ref. 49 |
| Fish | <i>Oryzias javanicus</i>   | Time to hatch                                                                         |       | NOEC | 0.198   |   | Ref. 41 |
| Fish | <i>Oryzias javanicus</i>   | Number of eggs; number of fertilized eggs, time to hatch                              | 239 d | NOEC | 0.484   |   | Ref. 41 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Vitellogenin induction (method #2)                                                    | 21 d  | NOEC | 0.01    | 2 | Ref. 60 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Egg production                                                                        |       | NOEC | 0.098   |   | Ref. 80 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Hatch                                                                                 | 4 d   | NOEC | 0.781   |   | Ref. 80 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Organ weight in relationship to body weight; Sexual development; stage; Vacuolization | 21 d  | NOEC | 0.054   |   | Ref. 20 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Vitellogenin                                                                          | 4 d   | NOEC | 0.034   |   | Ref. 80 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Vitellogenin                                                                          | 21 d  | NOEC | 0.054   |   | Ref. 20 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Number of eggs                                                                        | 21 d  | NOEC | 0.307   |   | Ref. 76 |
| Fish | <i>Pimephales promelas</i> | Plasma vitellogenin                                                                   | 21 d  | NOEC | 0.00074 |   | Ref. 77 |
| Fish | <i>Salmo trutta</i>        | Vitellogenin                                                                          | 10 d  | NOEC | 0.063   |   | Ref. 21 |

Method#1: Newly released 24 h old species were exposed to the substance dissolved in sea water. Effects monitored in terms of survival, development and sex ratio after 10 days at 20°C. Adult males and females were then paired and exposures continued to investigate effects on reproductive output after 21 days total exposure.

Method#2: The effects on the plasma vitellogenin level and gonadosomatic index of male fathead minnows (*Pimephales promelas*) was studied in a continuous flow exposure system for 21 days. All fish were acclimated to the test conditions for a period of 24 h before the start of the exposure.

## Derivation of PNEC for estriol

| Specie Group    | Organism               | Effect                                                                               | Duration | End-Point | Value (µg/L)        | KLIMISH Score | Reference |
|-----------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------|-----------|---------------------|---------------|-----------|
| Short Term Data |                        |                                                                                      |          |           |                     |               |           |
| -               | -                      |                                                                                      |          |           |                     |               |           |
| Long-term data  |                        |                                                                                      |          |           |                     |               |           |
| Fish            | <i>Danio rerio</i>     | Vitellogenin (method#1)                                                              | 18 d     | NOEC      | 0.3                 |               | Ref. 35   |
| Fish            | <i>Danio rerio</i>     | Survival (method#1)                                                                  | 40 d     | NOEC      | 21.7                |               | Ref. 35   |
| Fish            | <i>Danio rerio</i>     | Sex ratio (method#1)                                                                 | 40 d     | NOEC      | 6.7                 |               | Ref. 35   |
| Fish            | <i>Oryzias latipes</i> | Abnormal(metho#2)                                                                    | 15 d     | NOEC      | 0.4622              |               | Ref. 49   |
| Fish            | <i>Oryzias latipes</i> | Hatch (method#2)                                                                     | 15 d     | NOEC      | 0.0465 <sup>1</sup> |               | Ref. 49   |
| Fish            | <i>Oryzias latipes</i> | Sex ratio (method#2)                                                                 | 30 d     | NOEC      | 4.517               |               | Ref. 49   |
| Fish            | <i>Oryzias latipes</i> | Vitellogenin 1 mRNA; hatch; Organ weight in relationship to body weight (method#2)   | 90 d     | NOEC      | 0.0465 <sup>1</sup> |               | Ref. 49   |
| Fish            | <i>Oryzias latipes</i> | Estrogen receptor alpha mRNA; Organ weight in relationship to body weight (method#2) | 90 d     | NOEC      | 4.517               |               | Ref. 49   |

[1]It was found that the Vtg gene in male medaka fish can be induced by estriol at environmentally relevant concentration of 5 ng/L. However, it was noted that the Vtg mRNA changes are hardly ever reflected in concomitant changes in functional protein. Therefore, further studies were concluded to be needed to detect more sex hormone pathway gene expressions and functional protein levels to evaluate comprehensively estrogen potency of estriol in fish.

Method#1: A Fish Sexual Development Test (FSDT) (an extension of the existing OECD TG 210, fish early life stage toxicity test).

Method#2: Measurement of the impact of estriol on the embryonic development, sex differentiation, growth, and changes of functional genes related to reproduction of medaka (*O. latipes*) exposed to different concentrations of estriol during embryo-larval-, juvenile- and adult life stages. The corresponding time to hatching, hatchability, gross abnormalities, sex ratio, hepatosomatic index (HSI), gonadosomatic index

(GSI), and changes of Vtg-I and ER $\alpha$  genes in livers of the fish exposed to estriol for 90 days were determined. Embryos less than 4 h post-fertilization were used in the exposure experiments. The embryos were exposed to nominal estriol concentrations of 5, 50, 500 and 5000 ng/L in charcoal-dechlorinated tap water for 15 days. Each exposure level had 3 replicate test concentrations with 30 embryos per replicate. In addition, solvent controls (SC) were included in the experimental design. The embryos in each group were placed in a glass dish and incubated on a 16:8 h light: dark photoperiod cycle at 25  $\pm$  1 °C. Eighty percent of the test solution was renewed every 24 h. Hatchability, time to hatching and gross abnormalities were recorded. Once hatched, the hatched fry were continuously maintained at the same concentrations for the additional 15 days. After the additional 15 days of exposure, the genetic sex ratio was determined. Ten fish including five females and five males were assigned randomly to a 5-L glass aquarium and duplicate aquaria were used at each exposure level. Fish were continuously exposed to nominal estriol concentrations of 5, 50, 500, and 5000 ng/L and the SC was included in the experiment design. The solution was renewed every 24 h. Treated and control fish were exposed for another 60 days. The entire test duration was 90 days.

*Miljöinformationen för noretisteron är framtagen av företaget Novo Nordisk för Activelle®, Eviana, Kliogest®, Novofem®, Trisekvens®*

Miljörisk: Risk för miljöpåverkan av noretisteron kan inte uteslutas då det inte finns tillräckliga ekotoxikologiska data.

Nedbrytning: Noretisteron är potentiellt persistent.

Bioackumulering: Noretisteron har låg potential att bioackumuleras.

## Detaljerad miljöinformation

### Environmental risk assessment of norethisterone acetate (NETA) in pharmaceutical products marketed in Sweden in 2021

This document includes environmental risk assessment of norethisterone acetate (NETA) in pharmaceutical products marketed in Sweden in 2021. The risk assessment is performed in accordance with the FASS.se guidelines on environmental classification of pharmaceuticals (ref. 1).

#### 1. Norethisterone acetate (NETA)

Environmental risk: A valid risk quotient (PEC/PNEC) for NETA cannot be calculated due to lack of eco-toxicity data. NETA is very toxic to green algae (*Desmodesmus subspicatus*).

Degradation: NETA is potentially persistent in the environment.

Bioaccumulation: NETA has low potential for bioaccumulation.

PBT/vPvB assessment: NETA does not meet the criteria for classification as a PBT or vPvB substance.

Since the PEC/PNEC cannot be calculated due to lack of eco-toxicity data the following environmental risk phrase should be applied to pharmaceutical products containing NETA according to the criteria in ref. 1: ***"Risk of environmental impact of norethisterone acetate (NETA) cannot be excluded due to lack of eco-toxicity data"***.

#### 1.1. The active pharmaceutical ingredient

Norethisterone acetate (NETA), also known as norethindrone acetate, is a steroidal progestin that is used as a hormonal contraceptive. It is an acetate ester of norethisterone which belongs to the class of steroid hormones.

Chemical name Norethisterone Acetate (NETA)

CAS no. 51-98-9

Molecular formula  $C_{22}H_{28}O_3$

Molecular weight 340.46 g/mol

Water solubility 4.4 mg/L at 20°C

## 2. Environmental Risk Assessment (ERA)

### 2.1. Predicted Environmental Concentration (PEC)

According to ref. 1, PEC (Predicted Environmental Concentration) in surface water is calculated according to the following formula:

$$PEC (\mu\text{g/L}) = (A \cdot 10^9 \cdot (100 - R)) / (365 \cdot P \cdot V \cdot D \cdot 100) = 1.5 \cdot 10^{-6} \cdot A \cdot (100 - R)$$

$$PEC_{\text{Surface water}} = 0.00242 \mu\text{g/L}$$

where:

- A = 16.16 kg (total amount of API, including norethisterone (1.09250 kg) and norethisterone acetate (15.06532 kg), sold in Sweden in year 2019, data from IQVIA and provided by LIF, Ref. 7). Reduction of A may be justified based on metabolism data.
- R = 0 % removal rate (due to loss by adsorption to sludge particles, by volatilization, hydrolysis or biodegradation). R = 0 if no data is available.
- P = number of inhabitants in Sweden =  $9 \cdot 10^6$
- V (L/day) = volume of wastewater per capital and day = 200 (ECHA default) (Ref. 9)
- D = factor for dilution of wastewater by surface water flow = 10 (ECHA default) (Ref. 9)

Due to lack of data, the calculation of PEC of NETA in surface water is based on the following assumptions:

- no metabolism in the body
- no removal in wastewater treatment plants.

### 2.2. Predicted No Effect Concentration (PNEC)

#### Ecotoxicological studies

*Algae (Desmodesmus subspicatus)* (Ref. 4):

##### Acute toxicity

EC<sub>50</sub> (growth inhibition) = 0.4 mg/L biomass; 0.6 mg/L growth rate (OECD 201)

##### Chronic toxicity

No data available.

Since EC<sub>50</sub> < 1 mg/L, NETA is considered to be very toxic to the green alga *Desmodesmus subspicatus*.

*Crustacean (Daphnia Magna)* (Ref. 2 and 3):

##### Acute toxicity

EC<sub>50</sub> 48h (immobilisation) = 4.4 - 4.6 mg/L (OECD 202)

##### Chronic toxicity

No data available.

Since 1 mg/L < EC<sub>50</sub> ≤ 100 mg/L, NETA is considered to be moderate acute toxic to crustaceans.

*Fish:*

##### Acute toxicity:

No data available.

#### Chronic toxicity

No data available.

*Bacteria (Pseudomonas putida)* (Ref. 5):

#### Acute toxicity:

EC<sub>50</sub> (growth inhibition) = no inhibition at saturated concentration (ca. 7.8 mg/L) (Schering method no. TX.ME.572.3 and DIN 38412 L8, March 1991)

#### Chronic toxicity

No data available.

According to ref. 1, calculation of PNEC (Predicted No Effect Concentration) in surface water should be based on eco-toxicological data for three trophic levels. However, it has only been possible to present eco-toxicological data for two trophic levels i.e. green algae and daphnia. Furthermore, it is not known if these organisms are the most sensitive to NETA.

Consequently, it is not possible to calculate a valid PNEC according to the requirement in ref. 1 on basis of the available eco-toxicological data.

### **2.3. Environmental risk classification (PEC/PNEC ratio)**

The risk quotient (PEC/PNEC) cannot be calculated for the reason stated in section 2.2.

## **3. Degradation**

### **3.1. Biotic degradation**

#### *Ready biodegradability:*

Test results in <10 % degradation in 28 days under “modified Sturm test” (OECD 301b) (ref. 6 and 7).

#### *Inherent degradability:*

No data available.

#### *Simulation studies:*

No data available.

### **3.2. Abiotic degradation**

#### Hydrolysis:

No data available.

#### Photolysis:

No data available.

Since less than 10 % was degraded in the biodegradation test, NETA is thus not readily biodegradable. It cannot be excluded that NETA is potentially persistent in the aquatic environment according to ref. 1.

## **4. Bioaccumulation**

#### *Bioconcentration factor (BCF):*

No data available.

#### Partitioning coefficient:

The octanol/water coefficient for NETA has been determined to  $\text{LogP}_{\text{ow}} = 3.7$  (ref. 8).

Since  $\text{LogP}_{\text{ow}} < 4$  it indicates that NETA has low potential for bioaccumulation according to ref. 1.

#### 5. Excretion

No data available.

#### 6. PBT and vPvB assessment

Considering all three PBT aspects stated in EU REACH criteria, NETA does not meet the criteria as a PBT or vPvB substance (Ref. 9).

#### 7. References

1. Environmental classification of pharmaceuticals at [www.fass.se](http://www.fass.se) – Guidance for pharmaceutical companies 2012.
2. Research report from Schering, no. X211: Acute immobilization test of norethisterone with *Daphnia magna*, 02 May 1997.
3. Research report from Schering, no. X224 - draft: Acute immobilization test of norethisterone acetate (ZK 5422) with *Daphnia magna*, 23 June 1997.
4. Research report from Schering, no. A08345: Growth inhibition test of norethisterone acetate (ZK 5422) on the green algae *Desmodesmus subspicatus*, 20 January 2004.
5. Research report from Schering, no. X126: Growth inhibition test of norethisterone on the bacterium *Pseudomonas putida*, 12. aug. 1996
6. Research report from Schering, no. X128: Study on the biodegradability of norethisterone in the  $\text{CO}_2$ -evolution test (modified Sturm-test), 12 Aug. 1996
7. Research report from Schering, no. X308 – Draft: Study on the biodegradability of norethisterone acetate in the  $\text{CO}_2$ -evolution test (modified Sturm test), 17 May 1999.
8. Report from Schering, LJ03.
9. ECHA, European Chemicals Agency. 2008 Guidance on information requirements and chemical safety assessment.  
[http://guidance.echa.europa.eu/docs/guidance\\_document/information\\_requirements\\_en.htm](http://guidance.echa.europa.eu/docs/guidance_document/information_requirements_en.htm)

## Hållbarhet, förvaring och hantering

Hållbarhet: 4 år.

Särskilda förvaringsanvisningar: Inga särskilda förvaringsanvisningar.

Särskilda anvisningar för destruktions: Inga särskilda anvisningar.

## Förpackningsinformation

Tablett 1 mg/0,5 mg (vita, runda, bikonvexa tabletter 6 mm i diameter)

84 tablett(er) kalenderförpackning, 286:63, F