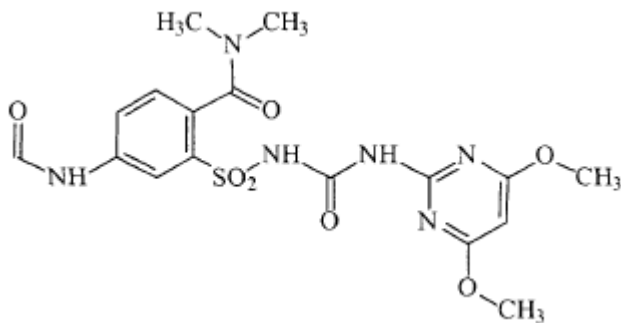


水質汚濁に係る農薬登録保留基準の設定に関する安全性評価資料

ホラムスルフロン

. 評価対象農薬の概要

1. 物質概要

化学名	1-(4,6-ジメトキシピリミジン-2-イル)-3-[2-(ジメチルカルバモイル)-5-ホルムアミドフェニルスルホニル]尿素				
分子式	C ₁₇ H ₂₀ N ₆ O ₇ S	分子量	452.44	CAS No.	173159-57-4
構造式					

2. 開発の経緯等

ホラムスルフロンは、スルホニルウレア系の除草剤であり、アセトラクテート合成酵素の活性阻害によりタンパク質の生合成を阻害する除草活性を有する。本邦では未登録である。

製剤は水和剤が、適用作物は芝として、登録申請されている。

3. 各種物性

ホラムスルフロンの各種物性を表1に示した。

表 1 ホラムスルフロンの物理化学的性状

外観・臭気	ベージュ色粉末 わずかな酸味臭	土壌吸着係数	$K_{F^{adsoc}}=38 \sim 150(25)$ $K_{F^{adsoc}}=27 \sim 330(25)$
密度	1.4 g/cm ³ (26)	オクタノール/水 分配係数	logPow= 0.60 (非緩衝液、20) 1.44 (pH 2) - 0.78 (pH 7) - 1.92 (pH 9)
融点	194.5 (熱分解を伴う)		
沸点	常圧で分解のため 測定不能	生物濃縮性	-
蒸気圧	4.2×10^{-11} Pa(20) 1.3×10^{-10} Pa(25)	水溶解度	37.2 mg/L (pH4.9, 20) 3.29×10^3 mg/L (pH 6.9, 20) 9.46×10^4 mg/L (pH 8.1, 20)

- : データなし

試験結果概要

ホラムスルフロンの農薬登録申請資料を用いて試験結果の概要を整理した。

1. 動物体内運命試験

ホラムスルフロンについて、ラットを用いて、予備試験を含め 6 件の動物体内運命試験が実施された。これらの試験には[(phe)-UL-¹⁴C]ホラムスルフロン(標識部位:ベンゼン環。以下「ベンゼン環標識体」という。)又は[(Pyr)-2-¹⁴C]ホラムスルフロン(標識部位:ピリミジン環。以下「ピリミジン環標識体」という。)が用いられた。用量は 10 mg/kg 体重(以下 1. で「低用量」という。)又は 1,000 mg/kg 体重(以下 1. で「高用量」という。)であった。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙 1 及び 2 に示されている。

(1) ラットを用いた薬物動態予備試験

SD ラットを用い、ベンゼン環標識体を単回経口投与(低用量及び高用量)した排泄試験(一群雌雄各 2 匹)及び血中薬物動態試験(一群雌雄各 4 匹)、並びにピリミジン環標識体(一群雌雄各 2 匹)を単回経口投与(低用量)した排泄試験が実施された。

薬物動態

血中放射能濃度は、低用量、高用量投与ともに投与 1 時間後に C_{max} に到達した。低用量ではその後、速やかにかつ単調に減少し、投与 16 時間後以降は低い濃度で横ばいとなった。高用量では低値から高値への推移も認められ、吸収又は排泄の遅延が示唆された。消失半減期は低用量で約 61 ~ 79 時間、高用量で約 56 ~ 57 時間であった。

排泄

排泄については、いずれの試験群においても 96% TAR 以上の回収率を示し、その大部分は糞からの回収(85 ~ 94% TAR)であった。尿中排泄は少量(4 ~ 11% TAR)であり、呼気への排泄はほとんど認められなかった(0.02% TAR 未満)。また、排泄速度も速く、いずれの試験群においても 2 日後までの糞中の累計で、83 ~ 89% TAR に達していた。排泄挙動に標識位置による違いは認められなかった。

体内分布及び代謝

分布については、試験終了時（ベンゼン環標識体投与：投与後 168 時間、ピリミジン環標識体投与：72 時間）の臓器・組織における残留量は、ピリミジン環標識体を投与した雌雄の肝臓を除き、定量限界未満であった。また、検出された肝臓においても雄/雌それぞれホラムスルフロン換算で 0.032、及び 0.044 mg/kg と低値であった。

代謝の予備分析として尿、及び糞の定性分析も行われた。ホラムスルフロンの代謝は限られており、主要成分は親化合物であった。尿からは未変化の親化合物ホラムスルフロン、ベンゼン環上のホルミルアミノ基が加水分解したアミン体、及びスルホニルウレア結合部の開裂した開裂体が同定され、また、未同定の高極性物質（ピリミジン環標識体投与の場合のみ）も検出された。糞からは未変化の親化合物ホラムスルフロンが同定され、また、ベンゼン環標識体投与の場合のみ、開裂体も検出された。

(2) ラットにおける吸収、分布、排泄試験

SD ラット（一群雌雄各 4 匹）にベンゼン環標識体を単回経口投与（低用量及び高用量）し、吸収、分布、及び排泄試験が実施された。

排泄

各投与群の投与後 72 時間までにおける経路別排泄率及び体内残留率は表 2 のとおりである。いずれの試験群においても投与後 3 日間で 95.3～98.7% TAR が回収された。主要排泄経路は糞中であつた（89.5～97.1% TAR）。残りはほぼ全量尿から回収され（1.30～5.82% TAR）、カーカスでの残留量は 0.01% TAR 以下であつた。用量、性別による顕著な差は認められなかった。

表 2 経路別排泄率及び体内残留率（%TAR）

試験群	10 mg/kg 体重		1,000 mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌
投与用量 (mg/kg 体重)	10		1,000	
72hr までの回収率				
尿	5.07	5.82	1.30	1.46
ケージ洗浄液	0.24	0.310	0.063	0.088
糞	90.0	89.5	94.4	97.1
カーカス	0.003	0.010	0.003	0.009
合計	95.3	95.6	95.8	98.7

分布

投与 3 日後の臓器・組織における分布は表 3 のとおりである。低用量群では雌雄ともに大部分の臓器・組織で放射能の検出限界未満であり、検出された臓器・組織においても最大で 0.002～0.003 µg/g（筋肉及び肝臓）であつた。高用量群では大部分の臓器・組織で放射能が検出されたものの低濃度であり、肝臓、心臓、脾臓及び脂肪で比較的高い濃度（約 0.5 µg/g 以上）が認められたのみであつた。

表 3 投与3日後の主要組織における残留放射能濃度
(ホラムスルフロンの換算濃度 $\mu\text{g/g}$)

投与条件	雄	雌
10 mg/kg 体重	肝臓(0.002) 筋肉(0.003)	肝臓(0.002) 筋肉(0.002)
1,000 mg/kg 体重	血液(0.101) 脂肪(腎周囲)(0.653) 心臓(0.813) 脾臓(1.07) 肝臓(0.480)	血液(0.097) 脂肪(腎周囲)(0.485) 心臓(0.459) 脾臓(0.551) 肝臓(0.510)

(3) ラットにおける胆汁排泄

SD ラット(一群雄4匹)に胆管カニューレを挿入し、ベンゼン環標識体を低用量で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

投与後48時間の胆汁中には4.2% TAR、尿中には12.7% TAR(ケージ洗浄液等を含めると14.9%)が排泄され、残りの大部分(75.6% TAR)は糞中に排泄された。尿、胆汁、ケージ洗浄液、ケージ屑及びカーカスからの回収を合計した吸収率は約21%であった。尿と胆汁の回収率の比較から、吸収されたホラムスルフロンの主排泄経路は尿であった。

(4) ラットにおける臓器・組織への分布及び経時変化

SD ラット(一群雌雄15匹)にベンゼン環標識体を低用量及び高用量で単回強制経口投与し、血液、臓器・組織中の分布・消長試験が行われた。

血中濃度推移

血液中及び血漿中放射能濃度は、低用量群では雄ラットで30分後、雌ラットで1時間後に最高濃度(Cmax)に達した。その後の放射能の消失は血液中、血漿中ともに速やかであり、消失半減期は雌雄とも20時間未満であった。高用量群におけるCmaxは雌雄ともに4時間で低用量投与に比べ遅延が認められたが、その後の消失は速やかであり、消失半減期は2~3時間であった(表4)。

表 4 血中放射能濃度推移

試験群	低用量(10 mg/kg 体重)				高用量(1,000 mg/kg 体重)			
	雄		雌		雄		雌	
試料	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
Cmax ($\mu\text{g/g}$)	0.554	0.903	0.429	0.691	9.20	11.6	6.73	14.8
Tmax (hr)	0.5	0.5	1.0	1.0	4.0	4.0	4.0	4.0
T _{1/2} (hr) (終末期)	11.4	18.5	4.06	5.44	NA	2.41	2.19	2.87

NA: 計算されず

体内分布

臓器・組織中放射能は、いずれの試験群においても投与後30分でほぼすべての臓器・組織で認められた。

a. 低用量

大部分の臓器・組織の放射能濃度は、低用量群の雄では投与0.5~1時間後、雌では1時間

後に最高濃度に達した。ただし、雌雄ともに臓器・組織中で最も高い濃度が検出された肝臓では、4時間後に最高濃度に達し、雄で3.3 µg/g、雌で4.9 µg/gであった。その他の臓器・組織では腎臓において比較的高く、雌雄とも1 µg/g前後であった。30時間後には、大部分の臓器・組織における濃度は、それぞれの最高濃度の1/10以下であった(表5)。

表5 低用量投与時の主要組織における残留放射能濃度(ホラムスルフロンの換算濃度 µg/g)

投与量	低用量(10 mg/kg 体重)				
	0.5時間	1時間	4時間	12時間	30時間
雄	血液(0.554)	血液(0.478)	血液(0.235)	血液(0.033)	血液(0.011)
	血漿(0.903)	血漿(0.735)	血漿(0.416)	血漿(0.057)	血漿(0.029)
	肝臓(1.06)	肝臓(2.53)	肝臓(3.33)	肝臓(0.722)	肝臓(0.288)
	腎臓(0.668)	腎臓(0.813)	腎臓(0.571)	腎臓(0.066)	腎臓(0.113)
	甲状腺(0.558)	甲状腺(0.532)	甲状腺(0.304)		肺(0.061)
雌	血液(0.385)	血液(0.429)	血液(0.196)	血液(0.05)	血液(ND)
	血漿(0.604)	血漿(0.691)	血漿(0.286)	血漿(0.087)	血漿(0.01)
	肝臓(1.42)	肝臓(3.81)	肝臓(4.88)	肝臓(1.59)	肝臓(0.078)
	腎臓(0.976)	腎臓(1.066)	腎臓(0.458)	腎臓(0.18)	腎臓(0.038)
	甲状腺(0.549)	甲状腺(0.538)	甲状腺(0.254)		

ND: 検出されず

b. 高用量

高用量群では、雌雄の多くの臓器・組織での最高濃度は4時間後に認められ、肝臓、腎臓が比較的高濃度であった(それぞれ、雄で63.3、20.3 µg/g、雌で65.7、13.4 µg/g)。30時間後には、大部分の臓器・組織における濃度は、検出限界未満に減少していた。なお、眼、副腎、甲状腺、卵巣では30時間後の値が最高濃度であった。ただし、本現象は低用量群では認められず、また後述の反復投与試験でも同様の傾向は認められていないため、本現象が蓄積性を示唆するものではないと考えられた(表6)。

表6 高用量投与時の主要組織における残留放射能濃度(ホラムスルフロンの換算濃度 µg/g)

投与量	高用量(1,000 mg/kg 体重)				
	0.5時間	1時間	4時間	12時間	30時間
雄	血液(2.55)	血液(6.05)	血液(9.20)	血液(ND)	血液(ND)
	血漿(6.29)	血漿(7.58)	血漿(11.6)	血漿(1.16)	血漿(ND)
	肝臓(12.3)	肝臓(30.3)	肝臓(63.3)	肝臓(10.4)	肝臓(6.79)
	腎臓(5.73)	腎臓(10.2)	腎臓(20.3)	腎臓(ND)	腎臓(ND)
	甲状腺(12.9)	甲状腺(5.00)	甲状腺(62.9)	甲状腺(ND)	甲状腺(78.7)
	副腎(33.5)	副腎(12.4)	副腎(24.7)	副腎(28.2)	副腎(61.2)
	眼(5.62)	眼(3.38)	眼(5.48)	眼(4.30)	眼(7.69)
	カーカス(4.01)	カーカス(4.87)	カーカス(6.21)	カーカス(6.97)	カーカス(2.53)
雌	血液(3.43)	血液(4.03)	血液(6.73)	血液(0.537)	血液(ND)
	血漿(3.42)	血漿(5.64)	血漿(14.8)	血漿(2.14)	血漿(ND)
	肝臓(16.9)	肝臓(23.2)	肝臓(65.7)	肝臓(20.4)	肝臓(3.84)
	腎臓(6.51)	腎臓(13.4)	腎臓(11.4)	腎臓(3.62)	腎臓(ND)
	卵巣(5.06)	卵巣(7.63)	卵巣(7.88)	卵巣(4.17)	卵巣(12.8)
	甲状腺(5.39)	甲状腺(ND)	甲状腺(ND)	甲状腺(20.0)	甲状腺(68.8)
	副腎(12.1)	副腎(13.3)	副腎(10.4)	副腎(11.9)	副腎(35.6)
	眼(3.14)	眼(2.06)	眼(4.26)	眼(1.49)	眼(7.19)
	カーカス(3.91)	カーカス(3.96)	カーカス(6.19)	カーカス(26.3)	カーカス(7.89)

(5) ラットにおける代謝

SD ラットにベンゼン環標識体又はピリミジン環標識体を投与した際の代謝物について、(1) 薬物動態予備試験、及び(2) 吸収、分布、排泄試験で採取した試料を用いて調査が行われた。ベンゼン環標識体については、(2)の試験すなわち SD ラット(一群雌雄各 4 匹)にベンゼン環標識体を低用量及び高用量で単回強制経口投与した試験の試料、ピリミジン環標識体については(1)の試験、すなわち SD ラット(一群雌雄各 2 匹)にピリミジン環標識体を低用量で単回強制経口投与した試験の試料が用いられた。

これらの試験ではいずれも糞及び尿からの回収が 95.3~98.7%TAR を占めていたが、その主成分は未変化の親化合物ホラムスルフロンのみであった(74.5~80.8%TAR)。代謝物としては、ベンゼン環上のホルミルアミノ基が加水分解したアミン体が、両標識体投与で同定された。またベンゼン環標識体投与の場合は、スルホニルウレア結合部の開裂した開裂体(すなわちベンゼン環を含む化合物)が同定された。その他、未同定の高極性物質が両標識体投与の場合とも比較的少量であるが検出された(表 7)。

排泄物全体で見ると未変化の親化合物が主成分であるが、糞中及び尿中それぞれの組成を見ると、親化合物の割合はいずれの試験でも、糞中では 90%TAR 以上を占めているのに対し、尿中では 50%TAR 未満であった。このことから、吸収されたホラムスルフロンは比較的速やかに代謝を受けることが示唆された。

代謝物プロファイル及び組成に関して、雌雄、投与用量による相違はほとんど認められなかった。

表 7 排泄物中の代謝物の分布 (%TAR)

投与用量		低用量		高用量		低用量	
標識位置		ベンゼン環		ベンゼン環		ピリミジン環	
採取時間		0~72 時間		0~72 時間		0~24 時間	
雌雄		雄	雌	雄	雌	雄	雌
ホラムスルフロンのみ	合計	75.7	74.5	80.8	78.2	75.3	76.4
	尿	1.72	2.13	0.429	0.429	2.07	2.99
	糞	74.0	72.3	80.4	77.7	73.2	73.4
アミン体(M01)	合計	0.831	0.777	0.802	3.07	2.61	2.47
	尿	0.831	0.777	0.313	0.292	2.61	2.47
	糞	ND	ND	0.489	2.77	ND	ND
開裂体(M02)	合計	10.7	11.0	3.62	1.59	NA	NA
	尿	2.25	2.30	0.239	0.330	NA	NA
	糞	8.42	8.67	3.38	1.26	NA	NA
未同定高極性成分	合計	0.199	0.118	5.88	5.64	3.89	3.62
	尿	0.0230	0.0230	0.0270	ND	3.89	3.62
	糞	0.176	0.0950	5.86	5.64	ND	ND
合計		87.4	85.6	91.1	88.5	81.8	82.5

ND: 検出されず

NA: 適用できない(本開裂体はベンゼン環を含むがピリミジン環を含まないため、ピリミジン環標識体を投与した場合、たとえ存在していても検出されない。)

(6) ラットへの反復投与における臓器・組織への分布及び経時変化

SD ラット(一群雌雄各 4 匹)にベンゼン環標識体を低用量で 14 日間にわたり 1 日 1 回強制経口投与した臓器・組織への分布及び消長試験が実施された。

排泄

排泄物は 14 日間の反復投与終了時から 48 時間後まで採取された。この間の排泄物及び試験終

了時の動物体中から回収された放射能に対する、尿中及び糞中放射能の割合は、雄でそれぞれ11.5%TAR、61.0%TAR、雌で7.4%TAR、88.8%TARであった。雄では消化管を含むカーカスから24.5%TARが回収され、その大部分は未排出の糞に由来するものと推定された。これらを合算すると、14回反復投与後においても単回投与と同じく糞が主要排泄経路であった(表8)。

表8 14日間反復投与後の残留放射能(%TAR)

投与期間	14日	
最終投与後の採取期間	48時間	
雌雄	雄	雌
尿	11.5	7.42
ケージ洗浄液	2.26	0.484
糞	61.0	88.8
カーカス(消化管を含む)	24.5	3.12
臓器・組織	0.704	0.139

体内分布

臓器・組織中の放射能濃度が、反復投与1日後、9日後、14日後に測定された。

14日間の反復投与により、いくつかの臓器・組織で放射能濃度の上昇が認められたが、雌雄の肝臓及び雌の皮膚を除き0.1 µg/g未満と低濃度であった。雌雄いずれにおいても肝臓では投与回数の増加に従い濃度が上昇した(14日間反復投与後:雄で0.222 µg/g、雌で0.280 µg/g)。この値は単回投与の値のそれぞれ約3倍、2倍程度にとどまっていた。以上のことから、ホラムスルフロンを反復投与しても、ラットの臓器・組織に蓄積することはないと考えられた。なお、皮膚も高めではあったが、尿による汚染の可能性が考えられた(表9)。

表9 反復投与時の主要組織における残留放射能濃度
(ホラムスルフロン換算濃度 µg/g)

投与量	10 mg/kg 体重		
投与後時間	1日	9日	14日
雄	血液(0.012)	血液(0.009)	血液(0.012)
	血漿(0.017)	血漿(0.014)	血漿(0.019)
	肝臓(0.079)	肝臓(0.182)	肝臓(0.222)
	腎臓(0.021)	腎臓(0.017)	腎臓(0.027)
	精巢(0.005)	精巢(0.005)	精巢(0.073)
	皮膚(0.022)	皮膚(0.014)	皮膚(0.042)
雌	血液(0.012)	血液(0.011)	血液(0.014)
	血漿(0.015)	血漿(0.016)	血漿(0.021)
	肝臓(0.114)	肝臓(0.184)	肝臓(0.280)
	腎臓(0.048)	腎臓(0.022)	腎臓(0.026)
	皮膚(0.026)	皮膚(0.043)	皮膚(0.166)

注:最終投与24時間後に採取

皮膚の値は尿による汚染による可能性がある。

反復投与による代謝物プロファイル、分布は単回投与の場合と同様であった。主要成分は未変換のホラムスルフロンであり、その他にアミン体(M01)及び開裂体(M02)が同定された。

2. 環境中運命試験

ベンゼン環標識体又はピリミジン環標識体を用い、各種の環境中運命試験が実施された。本試験の結果は表 10 のとおりである。

各種環境中運命試験において、ホラムスルフロンは好氣的土壤中では容易に分解されたが、嫌氣的土壤中では分解は比較的緩やかであった。主要代謝分解物は多くの試験でホルミルアミノ基が加水分解されたアミン体 (M01) 及びスルホニルウレア結合部の開裂体 (M02, M04) であった。また、加水分解については、pH 条件で分解速度が大きく異なり、酸性条件下において分解速度が速くなった。

表 10 ホラムスルフロンの環境中運命試験概要

試験項目	試験条件		DT ₅₀	主な代謝分解物と最大検出量 ¹⁾
好氣的土壤中運命試験 [GLP、1999年]	シルト質 埴壤土 (Maquoeta、米国)	ベンゼン環 標識体	12.7日	M01 : 10.4% TAR (3日後)
		ピリミジン環 標識体		M01 : 9.9% TAR (3日後)
	壤質砂土 (Pikeville、 米国)	ベンゼン環 標識体	10.3日	M01 : 10.0% TAR (3日後)
		ピリミジン環標 識体		M04 : 17.8% TAR (63日後)
嫌氣的土壤中運命試験 [GLP、1999年]	砂壤土 (Shuttleworth、 英国)	ベンゼン環 標識体	165日	M01 : 6.5% TAR (128日後)
		ピリミジン環標 識体		M01 : 5.7% TAR (128日後)
加水分解 運命試験 [GLP、2000年]	25 30日間	pH 4	3.7日	M01 : 66.3% TAR (10日後)
				ピリミジン環 標識体
		pH 5	10.1日	M01 : 71.3% TAR (30日後)
				ピリミジン環 標識体
		pH 7	128日	M01 : 9.1% TAR (30日後)
				ピリミジン環 標識体
pH 9	132日	M01 : 7.6% TAR (30日後)		

試験項目	試験条件			DT ₅₀	主な代謝分解物と最大検出量 ¹⁾	
	40 30日間	pH 4	ピリミジン環 標識体	0.41 日	M01 : 7.5%TAR (30 日後)	
			ベンゼン環 標識体		M02 : 74.8%TAR (27 時間後)	
		pH 5	ピリミジン環 標識体	1.1 日	M04 : 81.1%TAR (26 時間後)	
			ベンゼン環 標識体		M02 : 70.7%TAR (58 時間後)	
		pH 7	ピリミジン環 標識体	19.4 日	M04 : 81.0%TAR (69 時間後)	
			ベンゼン環 標識体		M01 : 29.0%TAR (30 日後)	
		pH 9	ピリミジン環 標識体	36.3 日	M04 : 33.3%TAR (30 日後)	
			ベンゼン環 標識体		M01 : 24.2%TAR (30 日後)	
		水中光分解 運命試験 [GLP、1999 年]	光強度 51.7 MJ/m ² 波長 (測定範囲) 290 ~ 490 nm	ベンゼン環標識体 使用	375 日 ²⁾	M02 : 1.78%TAR (168 時間後)
			光強度 77.2 MJ/m ² 波長 (測定範囲) 290 ~ 490 nm	pH 7.1 ~ 8.2 滅菌緩衝液 25	407 日 ²⁾	M02 : 2.3%TAR (194 時間後)
水中光分解 運命試験 [GLP、2008 年]	光強度 680 W/m ² 波長 (測定範囲) 290 ~ 800 nm	ピリミジン環標識体使用 滅菌自然水 (米国・カンサス州) pH 8.3、25	13.2 日 ²⁾	M04 : 26.5%TAR (5 日後) M08 : 19.7%TAR (5 日後) M09 : 17.6%TAR (5 日後)		
水中光分解 運命試験 [GLP、2009 年]	光強度 680 W/m ² 波長 (測定範囲) 290 ~ 800 nm	ベンゼン環標識体 使用 滅菌自然水 (米国・カンサス州) pH 8.3、25	14.6 日 ²⁾	M01 : 10.7%TAR (1 日後) M11 : 19.7%TAR (3 日後) M10 : 12.8%TAR (4 日後)		

1) CO₂ を除く

2) 東京春季太陽光換算値

3. 土壌残留性試験

火山灰軽埴土及び洪積埴土を用いたホラムスルフロンの土壌残留性試験が行われた。分析はホラムスルフロンの並びに好氣的土壌運命試験における主要分解物であるアミン体 M01 及び開裂体 M04 が対象とされた。推定半減期は表 11 のとおりである。

表 11 ホラムスルフロンの土壌残留性

土壌条件と分析対象物			推定半減期
畑地条件 圃場試験	火山灰軽埴土	ホラムスルフロン	12 日
		ホラムスルフロン及び代謝物(M01、M04)	36 日
	洪積埴壤土	ホラムスルフロン	9 日
		ホラムスルフロン及び代謝物(M01、M04)	45 日

4. 毒性試験

(1) 一般薬理試験

ホラムスルフロンの原体について、ICR マウス及びSD ラットを用いた一般薬理試験が行われた。本試験の結果は表 12 のとおりである。

表 12 ホラムスルフロンの一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	投与経路	無作用量 (作用量) (mg/kg)	観察された作用
一般状態	一般状態 (Irwin 法)	SD ラット (一群雄 5 匹)	経口	2,000 (-)	検体投与による影響は認められなかった。
中枢神経系	自発運動量	ICR マウス (一群雄 6 匹)	経口	2,000 (-)	
	痙攣誘発作用	ICR マウス (一群雄 6 匹)	経口	2,000 (-)	
	正常体温	SD ラット (一群雄 5 匹)	経口	2,000 (-)	
循環器系	血圧 心拍数 (無麻酔)	SD ラット (一群雄 2 匹)	経口	2,000 (-)	
腎機能	尿量 電解質 浸透圧	SD ラット (一群雄 5 匹)	経口	2,000 (-)	
自律神経系	瞳孔径	SD ラット (一群雄 5 匹)	経口	2,000 (-)	

(2) 急性毒性試験

ホラムスルフロン(原体、製剤)について、SD ラットを用いた急性毒性試験(経口、経皮、吸入)が実施された。本試験の結果は、表 13 のとおりである。

表 13 ホラムスルフロンの急性毒性試験概要

検体種別	投与経路 /観察期間/投与量 (mg/kg 体重)	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)又は LC ₅₀ (mg/m ³)		GLP 実施年
			雄	雌	
原体	経口 /14 日間/5,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>5,000	>5,000	GLP 1997 年
	経皮 /14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	GLP 1997 年
	吸入(ダスト) /14 日間/5,040 mg/m ³	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>5,040mg/m ³	>5,040mg/m ³	GLP 1998 年
製剤 (2.2%水和剤)	経口 /14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 3 匹)	>2,000	>2,000	GLP 2008 年
	経皮 /14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000	GLP 2008 年

(3) 皮膚・眼に対する刺激性及び皮膚感作性試験

ホラムスルフロン（原体、製剤）について、ウサギを用いた皮膚刺激性試験及び眼刺激性試験、並びにモルモットを用いた皮膚感作性試験が実施された。本試験の結果は表 14 のとおりである。

皮膚刺激性は、原体では認められなかったものの、製剤では軽度の刺激性が認められた。

眼刺激性は、原体及び製剤の両者ともに軽度の刺激性が認められた。

皮膚感作性は原体及び製剤の両者とも認められなかった。

表 14 ホラムスルフロンの皮膚・眼に対する刺激性、皮膚感作性試験概要

検体種別	試験の種類 /観察期間	動物種	投与方法/投与量	試験の結果	GLP 実施年
原体	皮膚刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雄 6 匹)	貼付/0.5 g	刺激性なし	GLP 1997 年
	眼刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雄 5 匹)	点眼/57mg/眼	軽度の刺激性	GLP 1997 年
	皮膚感作性 /48 時間	Dunkin-hartley モルモット (感作群：雄 10 匹、 非感作群：雄 5 匹)	マキシマイゼーシ ョン法/ 皮内感作： 2.5%液、皮内注射 局所感作： 60%液、0.4mL 貼付 48 時間 惹起： 60%液、0.2mL 貼付 24 時間	陰性	GLP 1997 年
製剤 (2.2%水和剤)	皮膚刺激性 /14 日間	日本白色種ウサギ (一群雌 3 匹)	貼付/0.5 mL	軽度の刺激性	GLP 2008 年
	眼刺激性 /72 時間	日本白色種ウサギ (一群雌 3 匹)	点眼/0.1mL	軽度の刺激性 洗眼により 軽減	GLP 2008 年
	皮膚感作性 /48 時間	Dunkin-hartley モルモット (感作群：雌 20 匹、 非感作群：雌 10 匹)	Buehler 法/ 感作： 100%液 0.2mL 貼付 6 時間 惹起： 100%液 0.2 mL 貼付 6 時間	陰性	GLP 2008 年

(4) 亜急性毒性試験

ホラムスルフロン原体について、ラット及びイヌを用いた亜急性反復経口投与毒性試験が実施された。

90 日間反復経口投与毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌経口投与（原体：0、20、200、5,000 及び 20,000 ppm：平均検体摂取量は表 15 参照）による 90 日間反復投与毒性試験が実施された。また、別の 2 群（一群雌雄各 10 匹）には 90 日間の混餌経口投与（原体：0 及び 20,000 ppm）後、4 週間の回復期間を設けて回復性について観察した。いずれの投与群においても、毒性所見は認められなかった。

表 15 ラット 90 日間反復経口投与毒性試験の平均検体摂取量

用量 (ppm)		0	20	200	5,000	20,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0	1.54	15.4	388	1,568
	雌	0	1.81	19.4	475	1,786

試験期間中、20 ppm 群の雄 1 例（切迫と殺）および雌 1 例（採血ミス）の死亡が認められたが、いずれも検体投与に起因したものではなかった。血液学的検査では、200 ppm 投与群の雌に、好中球数の増加が認められたが、用量相関性がなく、また他の検査項目に有意な変動が認められなかったことから、偶発的な変動と考えられた。血液生化学的検査では、雄で Glu 及び AST の減少、雌で TP、Glob、A/G 比、Na、K、尿素、CREAT、ALT、ALP の減少が認められた。これらは雌雄のいずれか一方のみで見られた所見で雌雄での一貫性がなく、また、すべて背景データの範囲内であった。また、大部分は用量との関連性もなかった。したがってこれらの所見の毒性学的意義は低いものと考えられた。

尿検査では、20,000 ppm 投与群の雄で尿 pH が高く、200 ppm 投与群の雌で低かったが、用量相関性がなく、また雌雄での一貫性もないため、毒性学的意義は低いものと考えられた。

臓器重量に関しては、200 ppm 投与群の雄で、肝臓の絶対及び相対重量の減少、脾臓絶対重量の減少並びに腎臓及び副腎の相対重量の増加、5,000 ppm 投与群の雄で副腎の絶対重量の増加が認められた。これらはいずれも用量との関連性が認められず、毒性学的意義は低いものと考えられた。

本試験においては、すべての用量において投与の影響は認められなかったことから、無毒性量は雌雄ともに最高用量の 20,000 ppm（雄：1,568 mg/kg 体重/日、雌：1,786 mg/kg/日）であると考えられた。

90 日間反復経口投与毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた強制経口（原体：0、10、250 及び 1,000 mg/kg 体重/日：0.5%メチルセルロース蒸留水溶液に懸濁、0.5 mL/kg 体重/日）投与による 90 日間反復投与毒性試験が実施された。いずれの投与群においても、毒性所見は認められなかった。

血液学的検査では、雄投与群において WBC・NEUT・LUC の低値が、MCH・PT の高値が、雌投与群において BASO・LUC・PT の高値及び METH の低値がそれぞれ認められたが、投与以前からの傾向であり動物の個体間差による変動と考えられた。雄 1,000 mg/kg 体重/日投与群の 6 週で見られた RET の低値は、13 週では正常に復し、また他に造血能の低下を示唆する変化が認められないことから偶発的な変化と考えられた。

血液生化学的検査では、雄投与群において PO₄・Na の低値及び Glu・ALT・TBIL の高値が雌投与群において GLOB・ALB・TP・CHOL の高値及び K の低値が、それぞれ認められたが、いずれも投与以前からの傾向であり動物の個体間差による変動と考えられた。雄の 250 mg/kg 体重/日投与群でみられた AST の高値は投与以前に高値例があること、用量相関性がないこと、及び ALT には異常がないことから個体間差又は偶発的な変動と考えられた。また、同群で 6 週に見られた K の低値は用量相関性がなく、また 13 週では認められなかったことから偶発的な変動と考えられた。雌の 10 及び 1,000 mg/kg 体重投与群の 6 週に見られた CPK の高値は、背景データの範囲内であり、また、心筋障害等の関連する変化が認められていないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

臓器重量では、250 mg/kg 体重/日群の精巢の相対重量に統計学的有意差があったものの、対照群と同値（0.2%）であり、肉眼的及び病理組織学的所見も認められていないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

本試験においては、すべての用量において投与の影響は認められなかったことから、無毒性量は雌雄ともに最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。

28 日間反復投与神経毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 12 匹）を用いた混餌（原体：0、3,750、及び 15,000 ppm：平均検体摂取量は表 16 参照）経口投与による 28 日間反復投与神経毒性試験が実施された。いずれの投与群においても、毒性所見は認められなかった。

表 16 ラット 28 日間反復経口投与神経毒性試験の平均検体摂取量

用量 (ppm)		0	3,750	15,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0	307	1,210
	雌	0	362	1,42

本試験においては、すべての用量において投与の影響は認められなかったことから、無毒性量は雌雄ともに最高用量の 15,000 ppm (雄: 1,210 mg/kg 体重/日、雌: 1,420 mg/kg/日) であると考えられた。

神経毒性は認められなかった。

(5) 慢性毒性試験及び発がん性試験

ホラムスルフロン原体について、ラットを用いた 2 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験、マウスを用いた 80 週間発がん性試験、及びイヌを用いた 1 年間反復経口投与毒性試験が実施された。

2 年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD ラット (52 週間投与群: 一群雌雄各 20 匹、104 週間投与群: 一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100、600、6,000、20,000 ppm: 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 2 年間反復経口投与慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。体重、摂餌量及び一般状態について、いずれの投与群においても、投与に関連した毒性所見は認められなかった。

表 17 ラット 2 年間反復経口投与毒性/発がん性試験の平均検体摂取量

用量 (ppm)		100	600	6,000	20,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.3	25	246	849
	雌	5.6	35	339	1,135

血液学的検査では、20,000 ppm 投与群の雄において MONO の低値、EOS の高値、6,000 ppm 投与群の雌において、Hb の低値、MCH の低値、600 ppm 投与群の雌において MONO の低値、100 ppm 投与群の雄において WBC の高値が、それぞれ認められたが、いずれも背景データの範囲内、経時一貫性がない又は用量一貫性がないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

血液生化学的検査では、20,000 ppm 投与群の雄において A/G 比の低値、PO₄ の高値及び UREA の高値、6,000 ppm 投与群の雄において K の低値、600 ppm 投与群の雄において A/G 比の低値、PO₄ の高値、CREAT の低値、600 ppm 投与群の雌において Na の低値、100 ppm 投与群の雌において UREA の高値が認められたが、いずれも用量相関性がないか、一過性的変化であり、さらに背景データの範囲内であることから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

尿検査では比重、pH 及び尿量において対照群との比較で差が散見されたが、用量相関性、経時的の一貫性又は関連所見がないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

臓器重量については、104 週間投与後における 20,000 ppm 群において精巣の相対重量が減少していたが、対応する病組織学的所見 (胚上皮細胞の変性等) が同群で増加しなかったことから、投与に関連した変化でないと考えられた。また 52 週間投与後における 6,000 ppm 群においても精巣相対重量が減少し、精巣胚上皮変性も同群で増加したが、用量相関性のない変化であることから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

肉眼的病理検査においては、52 週間投与後における 600 ppm 群の雌に肝臓の小葉明瞭化の発生頻度、及び 104 週間投与後における 600 ppm 群の雌に肝臓の蒼白化の発生頻度が、対照群に比べ上昇していたが、用量相関性がないため、毒性学的意義は低いものと考えられた。

組織病理学的検査における非腫瘍性病変として、52 週間投与後における雄の 6,000 ppm 群に前

立腺の炎症巣が増加したが、104 週間投与後では認められなかったため、投与に関連する変化ではないと考えられた。その他、雌の 100 ppm 群に肝臓の好塩基性細胞巣、雌の 600 ppm 群の乳腺管拡張の発生頻度、104 週間投与後における雌の 100 ppm 群の慢性進行性腎症の発生頻度の増加が認められたがいずれも用量相関性が観察されなかったことから投与に関連しないものと考えられた。腫瘍性病変に関して、投与による増加は認められなかった。

雌雄ともに、いずれの投与群においても投与による影響は認められなかったことから、本試験における無毒性量は雌雄ともに 20,000 ppm (雄：849 mg/kg 体重/日、雌：1,135 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

発がん性は認められなかった。

80 週間発がん性試験(マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 51 匹) を用いた混餌 (原体：0、40、800 及び 8,000 ppm：平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 80 週間反復経口投与発がん性試験が実施された。いずれの投与群においても、体重、摂餌量及び一般状態に毒性所見は認められなかった。

表 18 マウス発がん性試験の平均検体摂取量

用量 (ppm)		40	800	8,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	5.4	108.9	1115.1
	雌	6.5	133.7	1357.5

肉眼的病理検査では、800 ppm 群雄の精巣の暗調化の発生頻度が対照群に比べ統計学的有意に増加していたが、組織病理学的検査では関連する変化は認められず、用量との関連性も認められなかったため、毒性学的意義は低いものと考えられた。組織病理学的検査において、脾臓、腎臓、胸腺、甲状腺及び脳に非腫瘍性病変の発生数が増加していたが、いずれも用量との相関性がないため、投与との関連性はないものと考えられた。

腫瘍性病変も、投与の影響と考えられる増加は認められなかった。800 ppm 群雄では肺の細気管支腫瘍の発生数が増加していたが、8,000 ppm 群では同変化の増加は認められず、投与との関連性はないと考えられた。

本試験においては、雌雄ともに、いずれの投与群においても投与の影響は認められなかったことから、本試験における無毒性量は雌雄ともに最高用量の 8,000 ppm (雄：1,115 mg/kg 体重/日、雌：1,358 mg/kg 体重/日) と考えられた。

発がん性は認められなかった。

1 年間反復経口投与毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた強制経口 (原体：5、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間反復経口投与毒性試験が実施された。各投与群において認められた毒性所見は表 19 の通りである。一般状態については、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌に、特に投与開始後 1 週間ベージュ色の着色糞が認められた。

血液学的検査では、雄において PLT・MONO の低値及び MCHC・APPT の高値、雌において PLT・RET の高値及び LYMP の低値が認められたが、用量との関連性がなく、投与以前から低値又は高値傾向が認められる変化であり、背景データの範囲内であるとの理由から、毒性学的意義は低いものと考えられた。

血液生化学的検査では、1000 mg/kg 体重/日群の雄において投与前から投与期間中一貫した CHOL の高値が認められ、投与 3、6 ヶ月では投与前より高値傾向を示した。また 1000 mg/kg 体重/日群の雄で A/G の低値、100 mg/kg 体重/日群以上の雌で GLUC の高値が認められたが、投与前と同様の値であることから投与に関連しない変動であると考えられた。5 mg/kg 体重/日群の雄で 6 ヶ月まで観察された TBIL の低値は、投与前から同様の傾向が認められていたが、肝・胆道

系障害の毒性学的指標とされる高値ではなく低値であることから、同変化の毒性学的意義は低いと考えられた。同群の雌ではCLの低値及び高値が認められたが、2から3%とわずかな減少であることから、この変化についても毒性学的意義は低いと考えられた。その他の変動についてもいずれも用量相関性が認められないことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

尿検査では、5 mg/kg 体重/日投与群の雄において比重の増加が認められたが、用量相関性がなく、偶発的な影響と考えられた。

臓器重量では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄において心臓及び肺の絶対重量増加が認められたが、用量相関性は認められなかったことから投与に関連した変化とは考えられなかった。肉眼的及び病理組織学的な所見において、投与に関連した変化は認められなかった。血液生化学的検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄において、CHOL 値は投与開始前より増加傾向を示し、投与後さらに持続性の有意な増加がみられたことから、毒性影響であると考えられる。したがって、本試験における無毒性量は雄に対しては 100 mg/kg 体重/日、雌に対しては最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 19 1年間反復投与毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 mg/kg 体重/日	CHOL の高値	毒性所見なし
100 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし
5 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(6) 生殖発生毒性試験

ホラムスルフロン原体について、ラットを用いた2世代繁殖毒性試験、ラット及びウサギを用いた催奇形性試験が実施された。

2世代繁殖試験(ラット)

SD ラット(一群雌雄各 30 匹)を用いた混餌(原体:0、100、1,225 及び 15,000 ppm:平均検体摂取量は表 20 参照)投与による2世代繁殖試験が実施された。いずれの投与群においても、毒性所見は認められなかった。

表 20 2世代繁殖試験(ラット)の平均検体摂取量

用量 (ppm)			100	1,225	15,000	
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	生育期	7	85	1,082
			交配後	5	57	729
		雌	生育期	8	99	1,229
			妊娠期	7	81	1,009
			哺育期	16	187	2,384
	F1 世代	雄	生育期	9	106	1,349
			交配後	5	59	754
		雌	生育期	9	116	1,434
			妊娠期	7	85	1,038
			哺育期	16	195	2,412

親動物については、体重、体重増加量、摂餌量の変動が散見されたものの、一時的であり、明らかな用量相関性が見られないことから投与との関連性は低いものと考えられた。

児動物については、F2 児動物の 1,225 ppm 群において出生一日目の平均体重の増加が認められたが、15,000 ppm では同様の变化は認められず、毒性学的意義は低いものと考えられた。

臓器重量は、F2 児動物 15,000 ppm 群雄の胸腺の相対重量に低値が認められたが、絶対重量には差がなく、また同用量の雌及び F1 児動物雌雄には同様の变化が認められなかったため毒性学的意義は低いものと考えられた。

本試験においては、すべての用量において親動物及び児動物に対する投与の影響は認められず、無毒性量は最高用量の 15,000 ppm (P 世代 雄：729 mg/kg 体重/日、雌：1,009 mg/kg 体重/日、F1 世代 雄：754 mg/kg 体重/日、雌 1,038 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

繁殖能に対する影響は認められなかった。

催奇形性試験(ラット)

Wistar ラット(一群雌 23 匹)の妊娠 6~15 日までの 10 日間、毎日一回強制経口(原体：0、5、71 及び 1,000 mg/kg 体重/日)投与した催奇形性試験が実施された。いずれの投与群においても、毒性所見は認められなかった。

5 mg/kg 体重/日投与群において流産が 1 例あったが、用量相関性はなく、毒性学的意義は低いものと考えられた。

胎児については、1,000 mg/kg 体重/日投与群雌雄において体重及び体長の高値、5 mg/kg 体重/日投与群雌において体長の高値が認められたが、わずかな差であり、また骨化の進行度に差がないことから、毒性学的意義は低いものと考えられた。

胎児の骨格検査では、5 mg/kg 体重/日投与群において波状骨格の出現頻度が増加したが、用量相関性がなく、また背景データの範囲内であったことから、投与に関連しないものと考えられた。

本試験においては、すべての用量において母動物、及び胎児に対する投与の影響は認められず、無毒性量は最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日であると考えられた。

催奇形性は認められなかった。

催奇形性試験(ウサギ)

ヒマラヤウサギ(一群雌 15 匹)の妊娠 6~18 日までの 13 日間、毎日一回強制経口(原体：0、5、50 及び 500 mg/kg 体重/日)投与した催奇形性試験が実施された。各投与群において認められた毒性所見は表 21 のとおりである。

全投与群で、19 日の体重が低値であったが、5 及び 50 mg/kg 体重/日投与群では、投与前の妊娠期間中の体重が低値であったこと、また妊娠 19 日までの摂餌量に有意な減少がみられないことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。500 mg/kg 体重/日投与群では摂餌量の有意な減少が妊娠期間中に継続してみとめられたことから投与の影響と考えられた。

500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に流産があったが、これは試験に使用したウサギの系統において低率で認められる所見であり、用量相関性はなく、毒性学的意義は低いものと考えられた。

胎児の生存性及び体重には投与の影響はみとめられなかった。胎児の外表検査では、50 mg/kg 体重/日投与群の 2 例に水晶体無形成が見られたが、用量相関性がないことから毒性学的意義は低いものと考えられた。内臓には異常は認められなかった。

骨格検査では、500 mg/kg 体重/日投与群で胸骨分節の骨化異常(融合、分離) 5 mg/kg 体重/日投与群で胸骨分節未骨化の増加が認められたが、後者は用量相関性がなく、また両者とも背景データの範囲内であることから毒性学的意義は低いものと考えられた。

本試験においては、500 mg/kg 体重投与群で母動物に赤色尿、体重増加の抑制及び摂餌量の減少が認められた。胎児に対する投与の影響は認められなかった。したがって本試験における無毒性量は、母動物に対しては 50 mg/kg 体重/日、胎児に対しては最高用量の 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。

催奇形性は認められなかった。

表 21 催奇形性試験(ウサギ)で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
500 mg/kg 体重/日	赤色尿 体重増加抑制 摂餌量減少	毒性所見なし
50 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし
5 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 遺伝毒性試験

ホラムスルフロンの原体について、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト血液リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験、が実施された。本試験の結果は、表 22 のとおりである。

復帰突然変異試験では代謝活性化の有無によらず全用量で陰性であった。ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験では、S-9 非存在下の最高用量で染色体異常細胞の発現頻度が背景データをわずかに上回り、弱い染色体異常誘発作用が示唆された。しかし、2,000 mg/kg まで投与した小核試験では陰性であったことから、生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

表 22 ホラムスルフロンの遺伝毒性試験概要

試験の種類	供試動物・細菌	処理濃度・投与量	結果
復帰変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA100、TA1535、 TA98、TA1537 株)	0.032~100 µg/plate (+/-S9-Mix)	陰性
	<i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株)	4~5,000 µg/plate (+/-S9-Mix)	陰性
染色体異常試験 (<i>in vitro</i>)	ヒトリンパ球	600~2,400 µg/mL (+S9-Mix)	陰性
		600 ~ 1,200 µg/mL (-S9-Mix)	
		2,400 µg/mL (-S9-Mix)	弱陽性 (わずかに増加)
小核試験 (<i>in vivo</i>)	NMRI マウス；骨髄細胞 (一群雌雄各 5 匹)	200、1,000、2,000 mg/kg 体重；単回強制経口投与 試料採取：12、24、48 hr	陰性

・総合評価

¹⁴Cで標識したホラムスルフロンのラットを用いた動物体内運命試験の結果、経口投与されたホラムスルフロンは速やかに排泄され、血中濃度推移に性差は認められなかった。排泄は速やかで、いずれの試験群でも排泄量の大部分は24時間以内に糞に排泄された。尿中排泄量は、低用量投与で投与量に対し5~10%、高用量投与で1~5%と少なく、胆汁への排泄は投与量の約4%であり、胆汁排泄量、尿中排泄量及び動物体内残留量の合計から算出した吸収率は約20%であった。体内では、肝臓、腎臓に比較的多く分布し、4時間で最高濃度に達したが、30時間後にはこれら臓器・組織における濃度は大きく減少した。また、高用量群では、肝臓・腎臓の他、甲状腺、副腎、卵巣、眼で30時間後の値が最高濃度となったが、この傾向は低用量群及び反復投与試験では認められなかった。反復投与では、大部分の臓器・組織における放射能濃度は単回投与に比べほとんど上昇せず、濃度の最も高かった肝臓においても、14回の反復投与後で単回投与の2~3倍程度の上昇にとどまっていた。単回投与の場合で認められた経時減少を併せて考慮すると、ホラムスルフロン又はその代謝物が臓器・組織に蓄積する可能性は低いと考えられた。代謝関連物質の主要成分は、未変化のホラムスルフロンであり(75~80% TAR) その大部分は糞中で検出された。代謝を受けた物質として、ベンゼン環上のホルミルアミノ基が加水分解したアミン体(M01)及びスルホニルウレア結合部の開裂した開裂体(M02)が同定され、また、未同定の高極性物質も検出された。尿中代謝物の組成は糞中に比べ、未変化のホラムスルフロンの割合が明らかに低く、吸収されたホラムスルフロンは速やかに代謝を受けることが示唆された。代謝物プロファイル、組成等についての雌雄、投与量による相違はほとんど認められなかった。

本剤投与による毒性は低く、一般薬理試験、急性毒性試験、ラット及びイヌを用いた90日間反復投与毒性試験、ラットを用いた2年間反復投与毒性/発がん性併合試験、マウスを用いた80週間発がん性試験、イヌを用いた1年間反復投与毒性試験及びラットを用いた2世代繁殖試験のいずれの試験においても、各試験の最高用量(最小値:2年間反復投与毒性/発がん性併合試験の雄:849 mg/kg 体重/日)まで投与による影響は認められなかった。神経毒性、催奇形性は認められなかった。またラット及びマウスを用いた発がん性試験で催腫瘍性は認められていない。遺伝毒性については陰性と判断された。

各種試験結果から、ばく露評価対象物質をホラムスルフロン(親化合物のみ)と設定した。各試験における無毒性量、最小毒性量及び最小毒性量で認められた所見を表23に示す。

表 23 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量・(最小毒性量) (mg/kg 体重/日)	
		最小毒性量で認められた所見	(参考) 国外での評価
ラット	90日間 反復投与毒性試験	雄：1,568 (-) 雌：1,786 (-) 投与による所見なし	PMRA：1,568
ラット	28日間 反復投与神経毒性 試験	雄：1,208 (-) 雌：1,415 (-) 神経毒性なし	なし
ラット	2年間 反復投与毒性/発 がん性併合試験	雄：849 (-) 雌：1,135 (-) 催腫瘍性なし	EPA：849 PMRA：849 EU：>849
ラット	2世代繁殖試験	親動物 P雄：729 (-) P雌：1,009 (-) 児動物 F1雄：754 (-) F1雌：1,038 (-) 繁殖能に影響なし	EPA 親・児動物、繁殖能： 1,082 (P雄の交配前摂取量) PMRA 親・児動物、繁殖能： 1,082 (P雄の交配前摂取量) EU 繁殖能：(>1,038) (PとF1の平均値)
ラット	発生毒性	母動物：1,000 (-) 胎児：1,000 (-) 催奇形性なし	EPA：1,000 PMRA 母動物、発生毒性： 1,000
マウス	80週間 発がん性試験	雄：1,115 (-) 雌：1,358 (-) 催腫瘍性なし	EPA：1,115 PMRA：1,115
イヌ	90日間 反復投与毒性試験	雄：1,000 (-) 雌：1,000 (-) 投与による所見なし	
イヌ	1年間 反復投与毒性試験	雄：100 (1,000) 雌：1,000 (-) 雄：CHOLの高値	EPA：1,000
ウサギ	催奇形性試験	母動物：50 (500) 胎児：500 (-) 母動物：赤色尿、体重増加抑制、摂 餌量の低値 催奇形性なし	EPA 母動物及び胎児： 500 PMRA 母動物及び胎児： 500 EU 母動物：(50) 胎児：>500

EPA：Pesticide Fact Sheet March 27,2002 (米国)

PMRA：Proposed Registration Decision 20 March 2008 (Canada)

EU：Review report for the active substance foramsulfuron 29 Nov. 2002

各試験で得られた無毒性量の最小値は、ウサギを用いた催奇形性試験の母動物における 50 mg/kg 体重/日であったことから、当該試験を非食用一日摂取許容量(非食用 ADI)の根拠とすることが適切であると考えられる。

以上の結果を踏まえ、ホラムスルフロンに対する非食用 ADI を次のように評価する。

非食用 ADI	0.50 mg/kg 体重/日
設定根拠試験	催奇形性試験
動物種	ウサギ
期間	妊娠 6 ~ 18 日
投与方法	強制経口投与
無毒性量	50 mg/kg 体重/日
安全係数	100 (種間差 10、個体差 10)

なお、海外での評価状況は以下のとおりである。

国・地域	評価機関	評価結果	
米国	EPA (2002)	ARfD、CRfD 設定根拠	設定せず (毒性が低い)
カナダ	PMRA (2008)	ADI 設定根拠	8.49 mg/kg 体重/日 無毒性量：849 mg/kg 体重/日 ラット 2 年間反復投与毒性/発がん性併合試験 安全係数：100
E U	EU Commission (2002)	ADI 設定根拠	0.5 mg/kg 体重/日 無毒性量；50 mg/kg 体重/日 ウサギ催奇形性試験における母動物毒性 安全係数：100

<別紙 1> 代謝物/分解物等略称

記号	名 称	化 学 名
	ホラムスルフロ	N,N-dimethyl-2-[3-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)ureidosulfonyl]-4-formylaminobenzamide
M01	アミン体	4-Amino-2-[[[(4,6-dimethoxy-2-pyrimidinyl)amino]carbonyl]amino]sulfonyl]-N,N-dimethylbenzamide
M02	開裂体	4-formylamino-N,N-dimethyl-2-sulfamoylbenzamide
M03		4-amino-N,N-dimethyl-2-sulfamoylbenzamide
M04		4,6-Dimethoxy-2-pyrimidinamine
M05		6-formylamino-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide
M06		6-amino-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide
M07		N,N-dimethyl-2-[3-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)ureidosulfonyl]-4-acrylamino
M08	ウレア	(4,6-Dimethoxy-2-pyrimidinyl)urea
M09	スルファミン酸	[4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl]carbamoysulfamic acid
M10	AMB	4-amino-N-methylbenzamide
M11	FMB	4-Formylamino-N-methylbenzamide
M12	ホラムスルフロスルホン酸	5-Formylamino-2-dimethylaminocarbonylbenzenesulfonic acid

<別紙 2> 検査値等略称

略 称	名 称
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ALB	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中濃度曲線下面積
BASO	好塩基球
CHOL	コレステロール
Cmax	最高血中濃度
CPK	クレアチンキナーゼ
CREAT	クレアチニン
DT50	土壌中半減期
EOS	好酸球
gGT	- グルタミルトランスペプチダーゼ
Glob	総グロブリン
GLP	Good Laboratory Practice
Glu	グルコース
Hb	ヘモグロビン量
Ht	ヘマトクリット値
LC ₅₀	50%致死濃度
LD ₅₀	50%致死量
LUC	非染色性巨大細胞
LYMP	リンパ球
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
METH	メトヘモグロビン
MONO	単球
NEUT	好中球
PLT	血小板数
PT	プロドロンピン時間
RBC	赤血球数
RET	網状赤血球数
SD	Sprague-Dawley
T _{1/2}	半減期
TAR	総投与（処理）放射能
TBIL	総ビリルビン
Tmax	最高血中濃度に達する時間
TP	総蛋白質
UREA	尿素
WBC	総白血球数