

ICS 65.020.01

CCS B 04

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXX-202X

农药主要代谢物毒理学评价程序

Toxicological evaluation procedures for major metabolites of pesticides

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

(注：征求意见时必须保留这句话。)

XXXX -XX-XX 发布

XXXX -XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：农业农村部农药检定所。

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

农药主要代谢物毒理学评价程序

1 范围

本文件规定了农药主要代谢物毒理学评价的基本原则、评价流程和判定规则。
本文件适用于为农药登记而开展的农药主要代谢物毒理学安全性评价工作。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 2763 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

农药主要代谢物 **major metabolites**

是指植物代谢和动物代谢试验中放射性残留量大于总放射性残留量 10%或残留量大于 0.05 毫克/千克；环境试验中摩尔分数或放射性活度大于 10%初始添加量的代谢物。

3.2

毒理学评价 **toxicological evaluation**

是指通过体内、体外动物试验、人群流行病学调查等一系列毒理学试验与研究方法，综合评价外源化合物对生物体产生的毒性作用、损害程度、剂量-反应关系及潜在安全风险，最终为该化合物的安全使用、安全阈值制定及风险管理提供科学依据的全过程。

3.3

母体化合物 **parent compound**

是指在代谢、转化、降解等反应过程中，未发生化学结构改变的原始化合物。

3.4

安全阈值 **safety threshold**

指在特定暴露场景下，为保障人群健康而设定的、可接受的最高暴露限值。

3.5

每日允许摄入量 **acceptable daily intake, ADI**

人类终生每日摄入某物质，而不产生可检测到的危害健康的估计量，以每千克体重可摄入的量表示（mg/kg bw）。

[来源：GB 2763，3.4]

3.6

毒理学关注阈值 **Threshold of Toxicological Concern, TTC**

用于对低水平暴露的化合物风险评估的阈值，当化合物的人体暴露水平低于该阈值时，一般认为其对健康产生不良影响的风险可以忽略不计。

3.7

大鼠体内主要代谢物 **major metabolites in rats**

是指大鼠代谢和毒物动力学试验中，在血浆、尿液中检测到的占比 $\geq 10\%$ 的吸收剂量的代谢物。

3.8

未观察到有害作用剂量水平 **no observed adverse effect level, NOAEL**

在规定的试验条件下，用现有技术手段和检测指标，未能观察到与染毒有关的有害效应的受试物最高剂量或浓度。

3.9

致突变性 **mutagenicity**

是指外源化学物、物理因素或生物因素，引起生物体细胞遗传物质发生可遗传性改变的能力。这种改变可发生在生殖细胞或体细胞中：生殖细胞的突变可传递给后代，体细胞突变仅影响个体本身，与致癌、致畸等不良健康效应密切相关。

3.10

定量构效关系 **quantitative structure-activity relationship, QSAR**

是指基于化合物结构特征与生物活性之间的定量关联规律，通过分子对接、三维定量构效关系等计算毒理学方法，预测化合物潜在毒性终点效应及作用机制，为化合物毒性筛查与优先级排序提供理论依据和技术支撑的方法。

4 基本原则

农药主要代谢物评价遵循分阶段、逐步筛查、风险导向的原则，结合代谢物的暴露水平、结构特征、母体化合物毒性等，采用毒理学关注阈值（TTC）法科学判定其健康风险。基于毒理学评价结果推导安全阈值建议值，用于农药膳食风险评估和环境风险评估使用。

5 评价流程

5.1 确定需要评价的主要代谢物

通过农药植物代谢试验、动物代谢试验和环境代谢试验，结合膳食和环境暴露量评估，符合 3.1 定义的主要代谢物，应按本文件开展毒理学评价。

5.2 主要代谢物的评价步骤

主要代谢物应根据母体化合物或其自身的毒理学试验数据，采用 TTC 法开展分阶段逐步评价。评价流程见附录 A。

5.2.1 大鼠体内主要代谢物的判定

如需要评价的主要代谢物符合 3.7 定义的大鼠体内主要代谢物，则其毒性已经被母体化合物的毒理学试验所覆盖，无需单独开展代谢物的毒理学评价，直接采用母体化合物的每日允许摄入量（ADI）作为其安全阈值。

如需要评价的主要代谢物不属于大鼠体内主要代谢物，则按照 5.2.2 的规定开展下一步

评价。

5.2.2 农药母体化合物毒性风险的判定

综合母体化合物已有的全套毒理学试验数据开展评估，符合以下任一条件的，判定为母体化合物存在需关注的毒性风险：

- a) 急性经口毒性为中等毒及以上；
- b) 具有生殖毒性、致畸性、致突变性、致癌性等特殊毒性风险。

存在需关注毒性风险的，其主要代谢物应开展以下试验并根据结果评价：急性经口毒性试验、经口重复染毒毒性试验、致突变试验，以及与母体化合物特殊毒性对应的试验项目。

如母体化合物无上述需关注的毒性风险的，则按照 5.2.3 的规定开展下一步评价。

5.2.3 TTC 法适用性的判定

如主要代谢物符合附录 B 规定的 TTC 法适用范围，则按照 5.2.4 开展下一步评价；如不符合，则需开展急性经口毒性试验、经口重复染毒毒性试验、致突变性试验，根据试验结果进行评价。

5.2.4 体外致突变性的评价

主要代谢物开展以下 3 项体外致突变性试验：

- a) 鼠伤寒沙门氏菌/回复突变试验（Ames 试验）；
- b) 体外哺乳动物细胞基因突变试验；
- c) 体外哺乳动物细胞染色体畸变试验。

如任何一项出现阳性结果，则按照 5.2.5 开展下一步评价；如三项结果均为阴性，则按照 5.2.6 开展下一步评价。

5.2.5 体内致突变性的验证

体外致突变性试验任一结果为阳性，应开展以下体内致突变性试验：

- a) 体内哺乳动物骨髓细胞微核试验（或体内哺乳动物染色体畸变试验）；
- b) 体内哺乳动物细胞 UDS 试验（或彗星试验）。

如任何一项出现阳性结果，则判定该代谢物具有致突变性，其安全阈值建议值为 0.0025 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。如两项试验结果均为阴性，则按照 5.2.6 开展下一步评价。

5.2.6 经口重复染毒毒性的判定

5.2.6.1 如主要代谢物有经口重复染毒毒性试验数据，则根据试验数据比较其与母体化合物的毒性。主要代谢物经口重复染毒毒性试验包括亚急性（28 天）经口毒性试验和亚慢性（90 天）经口毒性试验，实验动物种属、试验条件、染毒期限，观察指标（包括临床观察、组合功能试验、血液学、血生化、病理等）及其他可能的毒性作用敏感指标，应与母体化合物相应试验保持一致。

符合以下任一条件的，主要代谢物毒性判定为高于母体化合物：

- a) 代谢物出现母体化合物未观察到的有害毒性效应；
代谢物出现母体化合物未涉及的新的毒性靶器官；
- b) 相同毒性终点对应的 NOAEL 低于母体化合物；
- c) 其他经综合评估判定主要代谢物毒性为高于母体化合物的情形。

如主要代谢物毒性高于母体化合物，则需根据已有试验结果补充完善毒理学数据，单独为其制定安全阈值。如主要代谢物毒性不高于母体化合物，则采用母体化合物的 ADI 作为其安全阈值。

5.2.6.2 如主要代谢物无经口重复染毒毒性试验数据，则按照 5.2.7 的规定开展下一步评价。

5.2.7 有机磷或氨基甲酸酯类化合物的判定

如主要代谢物为有机磷或氨基甲酸酯类化合物，则其安全阈值建议值为 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。如不属于该类化合物，则按照 5.2.8 的规定开展下一步评价。

5.2.8 Cramer 分类的判定

采用 Toxtree、OECD QSAR 工具箱等工具，根据主要代谢物化学结构开展 Cramer 分类。按以下规则确定安全阈值：

- a) 判定为 Cramer III类化合物的，安全阈值建议值为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ ；
- b) 判定为 Cramer II类化合物的，安全阈值建议值为 9 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ ；
- c) 判定为 Cramer I类化合物的，安全阈值建议值为 30 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ ；
- d) 无充分证据证明为 Cramer I类或II类化合物的，按 Cramer III类化合物处理。

5.2.9 风险评估结果不可接受的处理

采用 5.2.7、5.2.8 确定的 TTC 阈值开展膳食和环境风险评估，结果判定为风险不可接受的，则主要代谢物需补充开展经口重复染毒毒性等试验，按照 5.2.6.1 的规定开展评价。

5.3 非主要代谢物的评价步骤

对于需要进行膳食风险评估或环境风险评估的非主要代谢物，应先采用定向构效关系（QSAR）方法预测其致突变性。应采用至少两种 QSAR 模型预测遗传毒性，一种方法应基于专家知识规则，另一种方法应基于统计学。模型应同时满足下列条件：

- a) QSAR 模型应当具有科学性和有效性，即具有明确定义的毒性终点或指标、明确的模型算法、适用的应用域、适当的拟合度、稳定性和预测能力、机理解释等；
- b) 待预测的代谢物应当涵盖在 QSAR 模型的应用域中；
- c) QSAR 模型预测结果应当足以用于代谢物的安全性评价和风险评估；
- d) QSAR 模型预测过程应当公开透明，并提供详细的过程文档。包括但不限于分子结构参数、模型算法、应用域、模型拟合度、稳定性和预测能力等模型构建和验证过程文档，以及模型使用方法和预测结果的过程文档等。

QSAR 方法预测致突变性的原理和评价原则见附录 C。

5.3.1 QSAR 预测结果为无致突变性的，则无需关注其毒性。

5.3.2 QSAR 预测结果为有致突变性的，则按照 5.2.4 的规定开展体外致突变性试验；如体外试验结果均为阴性，则无需关注其毒性；如任何一项出现阳性结果，则按照 5.2.5 的规定开展体内致突变性验证试验。

如体内致突变性试验结果均为阴性，则无需关注其毒性；如任一体内致突变性试验结果为阳性，则判定该代谢物具有致突变性，其安全阈值建议值为 0.0025 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。

附录 A (规范性附录)

农药主要代谢物毒理学评价流程

农药主要代谢物毒理学评价流程图见图 1。

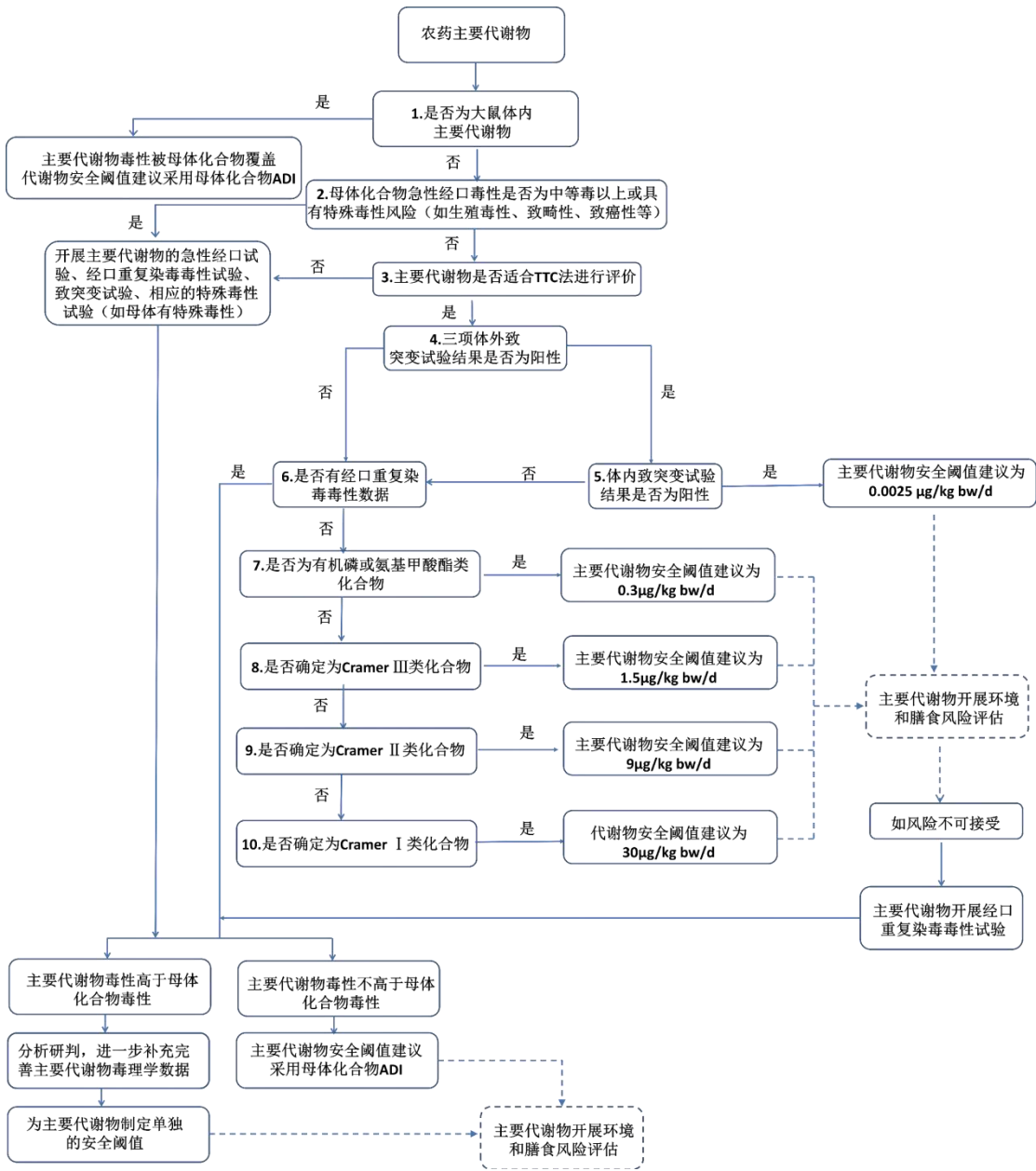


图 1 农药主要代谢物毒理学评价流程图

附录 B

（规范性附录）

毒理学关注阈值（TTC）法原理、阈值分类及适用范围

B.1 原理

毒理学关注阈值（TTC）法以化学结构决定毒性效应为核心假设，基于大量化学物质结构特征与毒理学数据，为不同类别物质设定终生经口暴露安全阈值。当人体暴露水平低于对应阈值时，即使缺乏系统毒理学试验数据，亦可判定其健康风险可忽略；当暴露水平高于对应阈值时，应开展针对性毒理学试验进行个案评估。

B.2 阈值分类

按物质毒性特征与化学结构分类设定阈值。

B.2.1 潜在 DNA 反应性致突变物/致癌物，TTC 阈值为 0.0025 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。

B.2.2 有机磷类、氨基甲酸酯类化合物，TTC 阈值为 0.3 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。

B.2.3 Cramer III 类化合物，TTC 阈值为 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。其结构是不能初步假定安全性高、甚至可能显示出明显的毒性或具有反应性官能团的化学结构的物质。包括含有除碳、氢、氧、氮或二价硫以外元素的物质、某些苯衍生物、某些杂环物质以及含有三种以上官能团的脂肪族物质。

B.2.4 Cramer II 类化合物，TTC 阈值为 9.0 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。其结构是介于 I 类和 III 类之间的化合物，比 Cramer I 类物质毒性强、但不像 Cramer III 类物质那样具有明显毒性的结构特征。包括普通的食物成分；除醇、醛、侧链酮、酸、酯之外没有其他官能团的物质；磺酸钾或磺酸钠；无环缩醛或缩酮，带有或不带有环酮的单环烷酮或双环物质。

B.2.5 Cramer I 类化合物，TTC 阈值为 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{d}$ 。其结构是具有简单化学结构且具有有效代谢模式的物质，经口毒性较低。包括身体的正常成分（不包括激素）、支链无环脂肪烃、普通碳水化合物、普通萜类、不含任何游离伯胺的磺酸盐或氨基磺酸盐的物质。

B.3 适用范围

TTC 法适用于农药主要代谢物毒理学评价，且待评价代谢物应同时满足以下条件：

- a) 化学结构明确，膳食暴露量可准确计算；
- b) 缺乏系统完整的毒理学试验数据；
- c) 以经口暴露为主要暴露途径；
- d) 不属于本附录 B.4 规定的不适用情形。

B.4 不适用情形

下列农药代谢物不适用 TTC 法，应采用常规毒理学试验开展评价：

- a) 无机物、金属及金属化合物、放射性化学物质；
- b) 高潜能致癌物（如黄曲霉毒素类、亚硝基化合物、联苯胺类）；
- c) 蛋白质、类固醇、高分子质量物质、强生物蓄积性物质；
- d) 纳米原料、有机硅类、元素态物质；
- e) 以吸入为主要暴露途径的代谢物。

附录 C

(规范性附录)

定量构效关系 (QSAR) 预测致突变性的 原理与评价原则

C.1 原理

QSAR 预测致突变性的本质是通过数学模型量化分子结构与致突变活性的关系,实现对未知化合物致突变潜力的预测。

预测时应采用两种互补的 QSAR 预测方法。一种方法基于专家知识规则,即使用既定的规则,将物质结构与已知毒性联系起来。基于专家知识规则方法中所使用的预测,大都是来源于公开发表的文献、监管机构或某些特定的来源,然后再人为将这些规则导入到软件中。基于这些规则,使用警示结构识别的方式,来确定物质结构中潜在的有毒性的结构片段。另一种方法基于统计学,即使用数学模型来确定物质结构固有的特性,并通过与其他物质结构的比较,对毒性效应的可能性进行概率预测。这些模型通常是依托大数据集来构建的,当输入某一物质结构时,软件会自动与数据集进行比较,并给出毒性发生的可能性的概率值。对于统计学方法,不同的模型中用于预测毒性终点的方法是不相同的。

无论是专家知识规则方法还是统计学方法,使用的 QSAR 模型都需要符合以下原则:

- a) 具有明确的预测终点,模型所预测的生物学效应、毒性或理化性质必须清晰、明确,且对应可通过实验测定的具体终点,不能模糊不清。
- b) 具有明确、透明的算法规则,模型的构建方法、计算逻辑、判断规则或统计算法必须是公开、可理解、可复现的。
- c) 具有明确定义的应用域,必须清晰界定该模型适用于哪些结构类型的化合物,超出适用范围的结构,其预测结果不具备可靠性。
- d) 经过适当的验证,模型需要用独立的测试集数据、交叉验证等科学方法进行验证,证明其预测准确性、敏感性、特异性和稳健性达到可接受水平。
- e) 尽可能具有机制解释性,模型的预测结果最好能与已知的作用机理相一致,能够从分子结构、化学反应性或生物作用途径上给出合理解释,而不只是单纯的统计关联。

C.2 评价原则

预测时应采用基于专家知识规则和基于统计学的两种互补的 QSAR 方法。

如两种方法预测结果均为阴性,则该化合物无致突变性,无需进一步试验。如任一方法预测结果为阳性,则需结合警示结构、代谢活化可能性综合评估,必要时进行试验验证。