

最終報告書

1, 2-ジクロロ-3-ニトロベンゼンのラットを
用いた経口投与による急性毒性試験

(試験番号 91-023)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

要 約

1, 2-ジクロロ-3-ニトロベンゼン(略称: DCNB) のラットを用いた急性毒性試験を経口投与により実施し, 以下の成績を得た。

1. 投与量

雄・雌 : 190, 256, 345, 466, 630, 850mg/kg (公比 1.35)

2. LD₅₀値 (95% 信頼限界)

雄 : 381(286 - 490)mg/kg

雌 : 512(419 - 628)mg/kg

3. 一般症状及び体重

雌雄に共通して, 投与後約15分より自発運動の低下及び眼瞼下垂がみられ, 1時間以降によるめき歩行及び雄に呼吸の深大化が, また3時間以降に軽度ながら全身筋肉の弛緩及び皮膚の蒼白化がいずれも用量に依存して認められた。死亡動物は, 上記症状が重度化し呼吸が微弱となって投与後1~2日に死亡した。生存動物は, 用量に依存して投与後6時間から3日の間に回復した。

また, 体重は, 雌雄とも投与後1日には減少ないし増加抑制がみられたが, 症状が回復した3~7日以降は順調な増加が認められた。

4. 剖検所見

死亡動物の雌雄の一部の例に, 胃の腺胃部に出血性変化である黒色点散在及びそれに伴う変化と考えられる胃及び腸内容物の黒色化, 並びに膀胱内に被験物質由来と考えられる潜血反応陰性の褐色尿及び黒褐色塊状物などが認められたが, 死因が推定できるような高率かつ重度な臓器の変化は認められなかった。生存動物には, 臓器の肉眼的な異常はみられなかった。

試験目的

この試験は、1, 2-ジクロロ-3-ニトロベンゼンをラットに経口投与し、本被験物質の急性毒性を明らかにする目的で実施した。

試験材料及び方法

1. 被験物質 (Appendices 1, 2)

1, 2-ジクロロ-3-ニトロベンゼン (CAS No.3209221, 以下DCNBと略す) は) から提供されたもの (ロット番号 純度 99.15%) を使用した。DCNBの詳細は Appendix 1 に示したとおりである。

なお、試験に用いたDCNBについては、投与前及び投与後に分析し、この間安定であったことを確認した (Appendix 2)。

2. 供試動物及び飼育条件 (Appendices 3~5)

動物は、Crj:CD(SD)系のSPFラットを日本チャールス・リバー(株)より4週齢(雄34匹, 雌34匹)で導入し、12日間試験環境に馴化させ、その間に検疫を行い、発育が順調で一般状態の良好な雌雄各34匹からそれぞれ30匹を5週齢で供試した。投与時の平均体重(体重の範囲)は、雄144(135~153)g, 雌119(111~126)gであった。

動物の飼育は、馴化期間及び投与後の観察期間とも室温 22 ± 3 ℃, 湿度 55 ± 10 %, 換気回数10回以上/時(オールフレッシュエアー方式), 照明12時間(午前6時点灯, 午後6時消灯)に設定されたバリアーシステム動物飼育室で, ステンレス製金網ケージ(276W×426D×200Hmm)に2~3匹ずつ雌雄別に収容して行った。飼料(日本農産工業(株)製, 固型飼料ラボMRストック, ロット番号91.09.66, 汚染物質の分析結果: Appendix 3)と水(1μmカートリッジフィルター濾過後紫外線照射による殺菌水道水, 汚染物質の分析結果: Appendix 4)は自由に摂取させた。

なお、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化は認められなかった(温度・湿度の測定結果: Appendix 5)。

3. 供試動物数及び投与量

供試動物は、1群雌雄各5匹とし、投与直前の体重に基づく層化無作為抽出法により、各用量群に振り分けた。

投与用量は、予備試験結果を参考にして設定した。すなわち、雌雄とも100, 200, 400及び800 mg/kg 用量を単回経口投与した結果、投与後14日間の死亡率（死亡動物数/投与動物数）は、それぞれ雄は0/3, 0/3, 2/3 及び3/3, 雌は0/3, 0/3, 0/3 及び3/3/であったので、本試験の投与量は次のように設定した。

雄・雌：190, 256, 345, 466, 630, 850mg/kg (公比 1.35)

4. 被験物質の調製及び投与方法 (Appendix 6)

被験物質は、局方オリブ油(宮澤薬品(株)製、製造番号 KI 17)を溶媒にし、所定の投与用量になるような濃度の溶液に調製した。投与液量は体重1kgあたり10mlとした。投与液は調製後分析し、所定濃度に調製されていることを確認した(Appendix 6)。

投与方法は、胃ゾンデを用いて強制的に動物の胃内に単回経口投与（投与時刻：午前10時31分～11時00分）した。なお、動物は投与前日午後5時から投与後3時間まで絶食し、水のみを与えた。

5. 観察事項

観察期間は投与後14日間とし、その間の一般症状の観察と生死の確認は、投与日においては投与後1時間までと投与後約3時間及び6時間までにそれぞれ1回ずつ行い、これを投与0日とした。また、翌日（投与後1日）以降は、前日の午後5時から当日の午後5時までを1日とし、実際の観察は午前9時から午後5時までの間に少なくとも1回は行った。

体重は投与直前（投与0日）、投与後1, 3, 7及び14日に、また死亡動物については投与日を除く死亡発見日にも測定し、測定日間の体重増加量を算出した。

剖検は、死亡動物は発見後出来るだけ速やかに、生存動物は観察期間終了後エーテル麻酔死させて行った。

致死量は、投与後14日間の観察期間終了時における死亡率を基に、probit法を用いて、LD₅₀値、用量-死亡率曲線及びその傾きを求めた。

試験成績

1. LD₅₀値 (Table 1, Figures 1, 2)

投与後14日間の死亡率は、190, 256, 345, 466, 630及び850mg/kg群において、それぞれ雄では0, 0, 40, 80, 80及び100%, 雌では0, 0, 0, 40, 80及び100%であった。死亡率から計算されたLD₅₀値(95%信頼限界)は、次のとおりであった。なお、用量-死亡率曲線はFigures 1及び2に示した。

雄 : 381(286 - 490)mg/kg

雌 : 512(419 - 628)mg/kg

2. 一般症状 (Table 2, Appendices 7,8)

全用量群の雌雄に共通して、投与後約15分より自発運動の低下及び眼瞼下垂がみられた。投与後1時間以降には466mg/kg以上の用量群で雌雄ともよろめき歩行が、また雄では呼吸の深大化もみられ、さらに3時間以降に雌雄とも軽度ながら全身筋肉の弛緩及び皮膚の蒼白化がいずれも用量に依存して認められた。また、投与翌日には立毛、削瘦及び尿失禁によると思われる下腹部被毛の汚染も散見された。その他に、雄の2例に投与液と同様な油状の下痢便の排泄が、投与後1～3時間にみられた。

死亡動物は、雄は345mg/kg以上の用量群、雌は466mg/kg以上の用量群で、いずれも投与後1～2日に発現した。その多くは、上記症状が重度化し、全身弛緩、皮膚の蒼白化及び深大呼吸を呈し、次第に呼吸が微弱化して死亡した。

生存動物は、用量に依存して投与後6時間から3日の間に回復した。

なお、雌雄とも345mg/kg以上の用量群で、投与後3時間～1日の間に、吸収された被験物質によると考えられる黒褐色ないし褐色の着色が皮膚や眼球結膜に用量に依存してみられ、また投与翌日の朝にはケージの糞尿受け皿に褐色尿の排泄痕がみられた。

3. 体重の推移 (Table 3, Appendices 9,10)

雌雄とも投与後1～3日の間に用量に依存して体重の増加抑制ないし減少がみられ、1及び2日に発現した死亡動物の多くは体重が減少していた。生存動物は、症状が回復した3～7日以降

順調な増加が認められた。

4. 剖検所見 (Table 4, Appendices 11, 12)

死亡動物においては、雌雄とも一部の例で胃の腺胃部粘膜に出血によると考えられる散在性の黒色点が認められ、胃や腸内容物は黒色化していた。また、膀胱内には潜血反応陰性の褐色尿並びに黒褐色塊状物が認められた。さらに、血液のうっ滞によると考えられる肺や肝臓の暗赤色化、並びに小腸壁の赤色化が極めて低い頻度で認められた。しかし、死亡例に共通して発現し、死因が推定できるような高率かつ重度の変化は認められなかった。生存動物には、臓器の肉眼的な異常はみられなかった。

考 察

1, 2-ジクロロ-3-ニトロベンゼンのラットを用いた経口投与による急性毒性試験を実施した。

その結果、死亡率より計算されたLD₅₀値は、雄で381mg/kg及び雌で512mg/kgであり、雌に比べ雄で若干毒性が強く現れた。

投与後の主な症状としては、雌雄とも自発運動の低下、眼瞼下垂及びよろめき歩行が、また雄には深大呼吸がいずれも投与後比較的短時間からみられ、その後これらの症状が重度化するとともに全身筋肉の弛緩及び皮膚の蒼白が用量に依存してみられた。投与翌日には立毛、削瘦及び尿失禁によると考えられる下腹部被毛の汚染なども散見された。死亡動物は、症状の重度化とともに多くは体重の減少を伴い、次第に呼吸微弱となって投与後1及び2日に集中して死亡した。

死亡例の剖検では、一部の例に胃の腺胃部に出血性変化と考えられる散在性の黒色点が認められ、胃及び腸内容物は黒色化していた。しかし、このような胃の変化は発現率が低く、一般症状の観察でみられた皮膚の蒼白化と関連づけるのは困難であった。また、肺や肝臓の暗赤色化及び小腸壁の赤色例も発現したが、発現率はさらに低く、死因が推定できるような高率かつ重度の変化は認められなかった。

生存動物は、上記症状は投与後6時間から3日の間に回復し、体重も投与後1日には減少ないし増加抑制がみられた例も、症状の回復に伴い3~7日以降順調な増加が認められた。また、生存動物の剖検では、臓器の肉眼的変化はみられず、被験物質投与による持続的な影響はみられなかった。

なお、投与後1～3時間に雄2例にみられた油状の下痢便の排泄は、油を溶媒にして多量投与した際に一般的にみられるもので、被験物質による特異的な影響とは考え難い。また、投与後3時間から1日までに皮膚や眼球結膜にみられた黒褐色ないし褐色の着色は、糞尿皿に排泄された尿や死亡動物の膀胱内に残留していた尿も同様に着色していたことから、被験物質、おそらく代謝物の色調によるものと考えられ、膀胱内黒褐色塊状物は、代謝物と関連性のあるものと推察される。

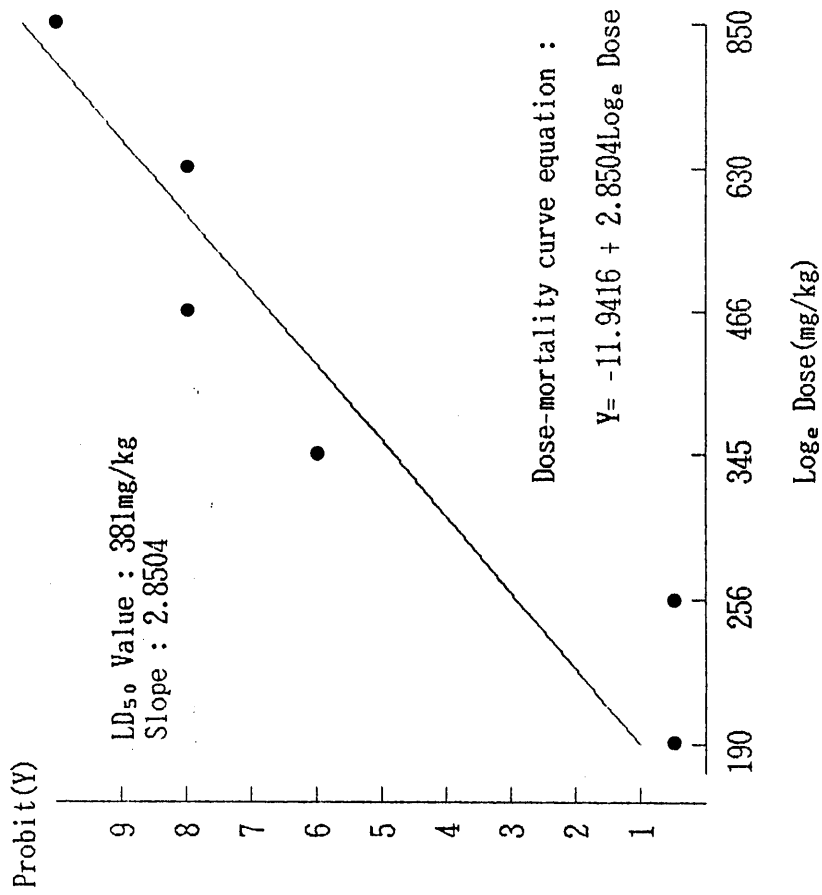


Fig. 1 Dose-mortality curve of acute toxicity in male rats

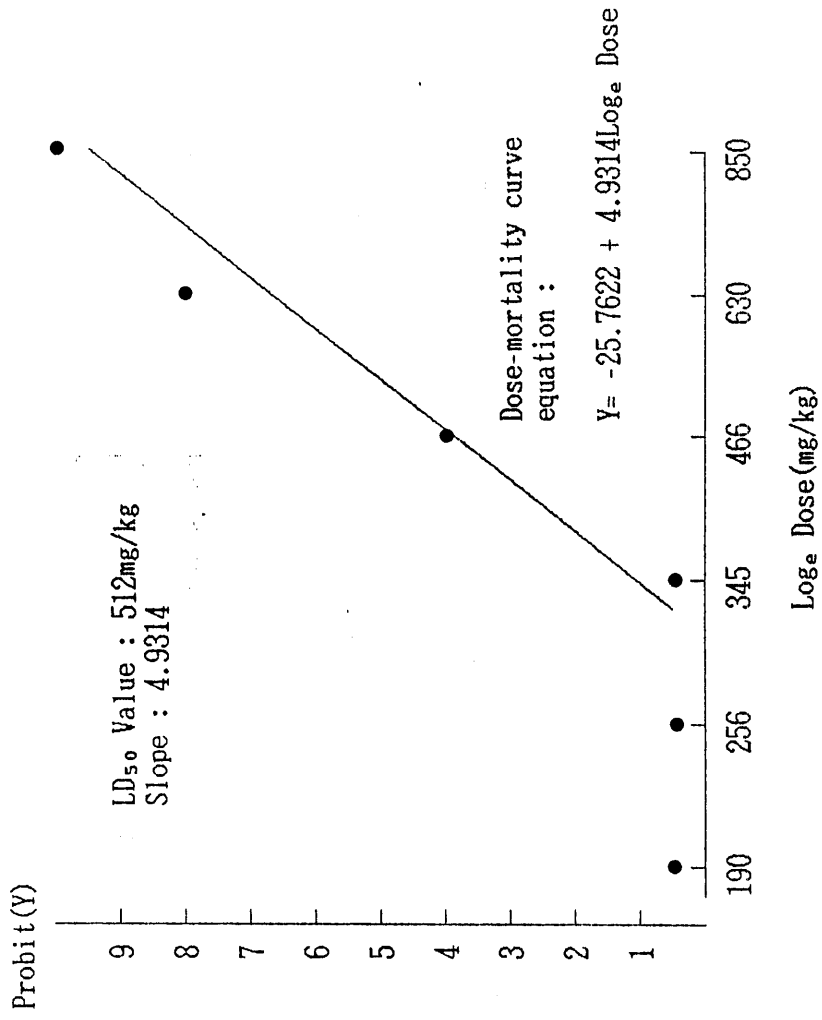


Fig. 2 Dose-mortality curve of acute toxicity in female rats

Table 1 Acute toxicity in rats

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Number of animals died						Mortality	LD ₅₀ value (95% confidence limit) (mg/kg)
			Day 0	1	2	3	4	5~14		
Male	190	5	0	0	0	0	0	0	0/5	381 [286 - 490]
	256	5	0	0	0	0	0	0	0/5	
	345	5	0	0	0	3	0	0	3/5	
	466	5	0	0	0	2	0	0	4/5	
	630	5	0	0	0	2	0	0	4/5	
	850	5	0	0	0	4	1		5/5	
Female	190	5	0	0	0	0	0	0	0/5	512 [419 - 628]
	256	5	0	0	0	0	0	0	0/5	
	345	5	0	0	0	0	0	0	0/5	
	466	5	0	0	0	2	0	0	2/5	
	630	5	0	0	0	3	1	0	4/5	
	850	5	0	0	0	4	1		5/5	

Table 2 - 1 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
			hrs ≤ 1 ~ 3 ~ 6								
	Male	190	5 ^a /5 ^b	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	5/5	5/5	2/5	5/5	4/4	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	5/5	5/5	5/5	3/3	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1
		630	5/5	5/5	5/5	4/4	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1
		850	5/5	5/5	5/5	2/2	-	-	-	-	-
Decreased locomotor activity	Female	190	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	5/5	5/5	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	5/5	5/5	5/5	3/3	3/3	3/3	0/3	0/3	0/3
		630	5/5	5/5	5/5	2/2	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1
		850	5/5	5/5	5/5	2/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 2 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
Ptosis of eyelid	Male	190	2 ^a /5 ^b	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	5/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	5/5	0/5	0/5	2/5	1/4	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	2/5	5/5	5/5	1/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	4/5	2/5	0/5	2/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	5/5	4/5	2/5	2/2	-	-	-	-	-
	Female	190	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	5/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	5/5	0/5	0/5	1/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	5/5	5/5	3/5	1/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 3 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
Deep and slow respiration	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	1/4	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	2/5	0/5	2/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	1/5	2/5	1/5	4/4	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	4/5	5/5	2/2	-	-	-	-	-
Deep and slow respiration	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	0/5	0/2	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	2/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 4 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
sign	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	1/4	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	0/5	3/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	0/5	4/4	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	3/5	0/5	0/2	-	-	-	-	-
Piloerection	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	0/5	0/2	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	1/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 5 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
Staggering	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	2/5	0/5	0/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	0/5	0/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	3/5	5/5	0/2	-	-	-	-	-
gait	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	1/5	1/5	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	1/5	3/5	5/5	0/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 6 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day		1	2	3	4	5	6	7~14	
			0	~3								
Blotted fur on lower abdominal region	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		345	0/5	0/5	1/5	0/4	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	0/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	0/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	1/2	-	-	-	-	-	-	-
Blotted fur on lower abdominal region	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		256	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		345	0/5	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/2	-	-	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 7 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
	Male	190	0 ^a /5 ^b	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	1/5	0/5	0/5	0/4	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	0/5	0/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	0/2	-	-	-	-	-
Diarrhea	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	0/5	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	0/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 8 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day									
			0	1	2	3	4	5	6	7~14		
	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		345	0/5	0/5	0/5	3/5	2/4	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	0/5	3/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	1/5	3/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	1/5	1/5	2/2	-	-	-	-	-	-
Blanching	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	1/5	2/2	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	2/2	-	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 9 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
sign (mg/kg) hrs ≤ 1 ~ 3 ~ 6											
Relaxation	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	2/5	1/4	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	5/5	2/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	1/5	3/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	4/5	2/2	-	-	-	-	-
Relaxation	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	1/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	1/5	1/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	5/5	0/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2 - 10

Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day		1	2	3	4	5	6	7~14
			0	hrs ≤ 1 ~3 ~6							
Emaciation	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	1/4	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	0/5	2/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	0/5	0/4	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	2/2	-	-	-	-	-
Emaciation	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	0/5	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	0/5	0/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 2-11 Incidence of clinical signs in rats

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day								
			0	1	2	3	4	5	6	7~14	
			(hrs ≤ 1 ~ 3 ~ 6)								
Skin and eye :	Male	190	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	5/5	0/5	0/4	0/2	0/2	0/2	0/2
		466	0/5	0/5	5/5	0/3	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		630	0/5	0/5	5/5	4/4	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	5/5	2/2	-	-	-	-	-
Brown in color	Female	190	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		256	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		345	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		466	0/5	0/5	5/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
		630	0/5	0/5	5/5	2/2	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
		850	0/5	0/5	5/5	2/2	-	-	-	-	-

a : Number of animals with sign, b : Number of animals observed

Table 3 Body weight - Group mean values in rats

(g)

Sex	Dose (mg/kg)	Day	0	1	3	7	14			
Male	190	143 ± 5(5)	152 ± 8(5)	+ 9 ^a	173 ± 13(5)	+21	214 ± 14(5)	+41	285 ± 15(5)	+71
	256	144 ± 5(5)	146 ± 9(5)	+ 2	161 ± 13(5)	+15	207 ± 11(5)	+46	280 ± 14(5)	+73
	345	144 ± 6(5)	141 ± 9(5)	- 3	145 ± 2(2)	+ 4	190 ± 8(2)	+45	265 ± 4(2)	+75
	466	144 ± 6(5)	139 ± 5(3)	- 5	142 (1)	+ 3	181 (1)	+39	253 (1)	+72
	630	144 ± 5(5)	139 ± 7(4)	- 5	132 (1)	- 7	181 (1)	+49	252 (1)	+71
	850	144 ± 4(5)	140 ± 1(2)	- 4						
Female	190	120 ± 6(5)	133 ± 8(5)	+13	148 ± 6(5)	+15	170 ± 9(5)	+22	192 ± 10(5)	+22
	256	119 ± 4(5)	126 ± 7(5)	+ 7	142 ± 10(5)	+16	167 ± 8(5)	+25	196 ± 17(5)	+29
	345	119 ± 4(5)	117 ± 5(5)	- 2	129 ± 8(5)	+12	161 ± 11(5)	+32	191 ± 14(5)	+30
	466	119 ± 5(5)	124 ± 5(3)	+ 5	127 ± 2(3)	+ 3	158 ± 5(3)	+31	189 ± 11(3)	+31
	630	119 ± 4(5)	119 ± 8(2)	0	128 (1)	+ 9	161 (1)	+33	199 (1)	+38
	850	119 ± 5(5)	112 (1)	- 7						

Each value is expressed as mean ± SD, (): Number of animals examined

a : Increase from last mean body weight measured

Table 4 Summary of necropsy findings in rats

Sex	Organ : Findings	Dose (mg/kg) Number of animals examined	190	256	345	466	630	850
Male	Lung : Dark red in color	5 ^a (0) ^b	0(0)	0(0)	0(1)	0(1)	0(0)	0(0)
	Liver : Dark red in color		0(0)	0(0)	0(0)	0(1)	0(0)	0(0)
	Digestive tract : Black spots of the mucosa (glandular portion), black contents in the stomach and/or black contents in the small intestine		0(0)	0(0)	0(2)	0(0)	0(2)	0(1)
	Reddening of the small intestinal wall		0(0)	0(0)	0(1)	0(0)	0(0)	0(0)
	Urinary bladder : Brown urine containing dark brown calculus		0(0)	0(0)	0(1)	0(1)	0(1)	0(2)
Female	Stomach : Black contents	5 ^a (0) ^b	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(1)	0(2)
	Urinary bladder : Brown urine containing dark brown calculus or brown calculus		0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(1)	0(2)

a : Survived animals, b : Dead animals