

厚生省生活衛生局 殿

## 最終報告書

2-tert-ブトキシエタノールのラットを用いた  
経口投与による単回投与毒性試験

(試験番号：9L779)

2001年5月11日

株式会社三菱化学安全科学研究所

## 目次

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 要約                              | 7  |
| 緒言                              | 8  |
| 材料および方法                         | 9  |
| 1. 被験物質                         | 9  |
| 2. 試験動物                         | 9  |
| 3. 動物飼育                         | 10 |
| 4. 投与                           | 10 |
| 5. 群構成                          | 11 |
| 6. 観察・測定項目                      | 11 |
| 6.1 一般状態                        | 11 |
| 6.2 体重                          | 11 |
| 6.3 病理学的検査                      | 11 |
| 7. 半数致死量(LD <sub>50</sub> 値)の算出 | 12 |
| 結果および考察                         | 13 |
| 1. 一般状態                         | 13 |
| 2. 体重                           | 13 |
| 3. 剖検所見                         | 13 |
| 4. 半数致死量(LD <sub>50</sub> 値)    | 13 |
| 5. 考察                           | 14 |

図および群別表

## 要約

2-tert-ブトキシエタノールを1群あたり雌雄各5匹のSD系ラットに1回経口投与し、その毒性を検討した。投与用量は雌雄ともに0, 500, 1000 および 2000 mg/kg, 投与液量は10 mL/kg とし、投与後14日間の観察を行った。

その結果いずれの被験物質投与群においても死亡例はみられなかった。

一般状態観察において、投与日には着色尿(赤色)が被験物質投与群の雌雄全例で、歩行異常が1000 および 2000 mg/kg 群の雌雄、自発運動の低下および腹臥位が2000 mg/kg 群の雌雄、さらに呼吸不整が2000 mg/kg 群の雄でみられた。投与の翌日には耳介、四肢あるいは眼球が蒼白し貧血様の変化が被験物質投与群の雌雄全例でみられた。

体重推移および剖検の結果には、いずれの被験物質投与群においても異常はみられなかった。

2-tert-ブトキシエタノールを雌雄のラットに1回経口投与した結果、半数致死量(LD<sub>50</sub>値)は、雌雄ともに2000 mg/kg 以上と推定した。

## 緒言

既存化学物質の安全性点検調査事業の一環として、ラットを用いて 2-tert-ブトキシエタノールの単回投与毒性試験を実施し、生体への毒性学的影響について検討したので報告する。

## 材料および方法

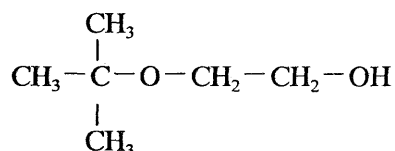
### 1. 被験物質

から提供された 2-tert-ブトキシエタノール (略称：ETB, CAS No. 7850-85-0, ロット番号 , 純度 99.98wt%) を使用した。被験物質は下記の化学名, 構造式, 分子量および不純物を有し, 融点  $-120^{\circ}\text{C}$  以下, 沸点  $152^{\circ}\text{C}$ , 蒸気圧  $213.3\text{Pa}$  ( $20^{\circ}\text{C}$ ), 分配係数  $\text{Log Pow}$  0.36, 通常取り扱いでは安定, 水およびアルコールに可溶, 常温で無色透明液体である。被験物質は冷暗所で保存した。

被験物質の安定性は, 被験物質提供者より保証する資料を入手し, 確認した。

化学名： Ethanol, 2-tert-butoxy-

構造式：



分子量： 118.18

不純物： 水分 0.2wt%以下

遊離酸 0.01wt%以下 (酢酸換算)

### 2. 試験動物

日本チャールス・リバー(株) (生産場所 厚木) から 2000 年 4 月 12 日に Crj:CD(SD)IGS ラット (SPF) 雌雄各 23 匹を入手した。

動物入荷後, 6 日間検疫・馴化し, いずれの動物も健康状態が良好なことを確認した。投与前日に, 体重層別化無作為抽出法によって各群の平均体重がほぼ均一となるように群分けし, 雌雄各 20 匹を使用した。投与日の週齢は 5 週齢, 体重範囲は雄が 125~151 g, 雌が 105~124 g であった。

動物は, 尾に油性ペンによる番号付けを行い, 個体識別した。ケージには試験番号, 被験物質名, 試験種, 群名 (用量), 性別, 動物種, 系統, 動物番号および投与期間を記載したラベルを付けた。

### 3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通して、温度  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  (目標値)、相対湿度  $55 \pm 15\%$  (目標値)、換気約 12 回/時 (オールフレッシュエアー供給)、照明 12 時間/日 (7:00 - 19:00) に自動調節した飼育室 (RM 飼育室 2124) を使用した。当研究所で定めた温湿度の許容範囲は  $19 \sim 25^\circ\text{C}$ 、 $35 \sim 75\%$  であり、実測値はそれぞれ  $20.3 \sim 21.7^\circ\text{C}$ 、 $48.2 \sim 67.4\%$  であった。

動物は、滅菌済の実験動物用床敷 (ベータチップ, 日本チャールス・リバー(株)) を敷いたポリカーボネート製ケージ (265W×426D×200H mm, トキワ科学器械(株)) に、群分け前はケージあたり 5 または 3 匹 (同性)、群分け後はケージあたり 5 匹 (同性) 収容し、スチール製架台 (トキワ科学器械(株)) 上に配置して飼育した。給餌には滅菌済ステンレス製固型飼料用給餌器 (トキワ科学器械(株)) を、給水には滅菌済ポリカーボネート製給水瓶 (700 mL, トキワ科学器械(株)) を使用した。ケージ (含床敷)、給餌器および給水瓶は週 1 回交換した。

動物には、実験動物用固型飼料 (MF, オリエンタル酵母工業(株)) と、 $5 \mu\text{m}$  のフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由に摂取させ、飼料および飲用水は週 1 回交換した。

床敷と飼料中の残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所で定めた基準に適合していることを確認した。また、飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的実施し、分析値が基準範囲内にあることを確認している。

### 4. 投与

投与経路は OECD ガイドライン (No.401, 1987) に従い経口、投与回数は 1 回とした。投与前日より約 17 時間絶食させたラットに、注射筒に装着した胃ゾンデを用いて強制経口投与し、投与後約 3 時間は飼料を与えなかった。

予備試験として、被験物質を 500, 1000 および 2000 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 3 匹の SD 系ラットに単回経口投与し、投与後 7 日間観察した。その結果、いずれの用量群においても死亡例はみられなかったが、1000 mg/kg 以上の用量群では、自発運動の低下および歩行異常がみられた。このため、本試験の用量は雌雄ともに 2000 mg/kg を最高用量とし、以下公比 2 で 1000 および 500 mg/kg の 3 用量を設定した。この他に媒体のみを投与する対照群を設けた。投与液量は 10 mL/kg とし、投与直前

の体重に基づいて算出した。

投与液の調製は投与前日に行った。被験物質を精製水で溶解調製し、投与に供するまで冷蔵保存した。投与液中の被験物質の冷蔵保存条件下での8日間の安定性を、投与前に0.4および200 mg/mLの濃度でGC法により確認した。また、各用量群の投与液をGC法により分析し、それぞれ設定濃度の±10%以内であることを確認した(添付資料)。

#### 5. 群 構 成 :

| 群 名        | 動物数(匹) | 動物番号        |
|------------|--------|-------------|
| 0 mg/kg    | 雄5     | 10101-10105 |
|            | 雌5     | 50101-50105 |
| 500 mg/kg  | 雄5     | 10201-10205 |
|            | 雌5     | 50201-50205 |
| 1000 mg/kg | 雄5     | 10301-10305 |
|            | 雌5     | 50301-50305 |
| 2000 mg/kg | 雄5     | 10401-10405 |
|            | 雌5     | 50401-50405 |

#### 6. 観察・測定項目

次の項目を検査した。なお、日の表記は投与日を第1日とした。

##### 6.1 一般状態

投与日は投与後5, 30分, 1, 3および6時間の5回, 以後は1日1回14日間にわたって各動物の生死および一般状態を観察した。

##### 6.2 体重

全動物について投与直前, 第4, 8および15日に上皿電子天秤(EB-3200S, (株)島津製作所)を用いて測定した。

##### 6.3 病理学的検査

観察終了後(第15日)に生存動物をチオペンタール・ナトリウム(ラボナール, 田辺製薬(株))の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し, 安楽死させた後剖検した。なお, 肉眼的異常部位は10%中性リン酸緩衝ホルマリン液に保存した。

7. 半数致死量 (LD<sub>50</sub> 値) の算出

死亡例がみられなかったことから、半数致死量 (LD<sub>50</sub> 値) の算出は行わなかった。



## 結果および考察

### 1. 一般状態 (Table 1, Appendix 1)

投与日には各用量群ごとに以下の所見が認められた。

500 mg/kg 群では着色尿 (赤色) が投与後 3 時間に雄 3 例雌全例, 6 時間後に雌雄全例で認められた。1000 mg/kg 群では歩行異常が投与後 30 分に雌雄各 2 例で, 着色尿 (赤色) が投与後 3 時間から 6 時間に雌雄全例で認められた。2000 mg/kg 群では自発運動の低下が投与後 5 分に雄 1 例, 30 分に雄 3 例雌 1 例, 1 時間に雄 4 例雌 1 例, 3 時間に雌雄各 1 例で, 歩行異常が投与後 5 分に雄全例雌 2 例, 30 分に雄 3 例雌 2 例, 1 時間に雄全例雌 1 例, 3 時間に雄 4 例雌 1 例, 6 時間に雄 2 例雌 1 例で, 呼吸不整が投与後 30 分に雄 1 例で, 腹臥位が投与後 30 分に雄 2 例雌 1 例で, 着色尿 (赤色) が投与後 3 時間から 6 時間に雌雄全例で認められた。

第 2 日には耳介, 四肢あるいは眼球が蒼白し貧血様の変化が被験物質投与群全例で認められた。500 mg/kg 群の全例と 1000 および 2000 mg/kg 群の一部の動物は第 3 日には回復したが, 1000 mg/kg 群の雄 1 例雌 2 例は第 4 日, 2000 mg/kg 群の雌雄各 1 例は第 5 日, 2000 mg/kg 群の雌 1 例は第 6 日にそれぞれ回復した。

### 2. 体重 (Figure 1, Table 2, Appendix 2)

雌雄ともいずれの群においても対照群と同様の推移を示した。

### 3. 剖検所見 (Table 3, Appendix 3)

脾臓の変形が 1000 mg/kg 群の雄 1 例にみられたが, 1 例のみの発現で用量に関係ないことから, 偶発所見と判断した。その他に異常はみられなかった。

### 4. 半数致死量 (LD<sub>50</sub> 値)

雌雄ともいずれの被験物質投与群においても死亡例はみられず, 半数致死量(LD<sub>50</sub> 値)は雌雄とも 2000 mg/kg 以上と推定した。

## 5. 考 察

2-tert-ブトキシエタノールを雌雄のラットに 0, 500, 1000 および 2000 mg/kg の用量で 1 回経口投与した。その結果、雌雄とも被験物質投与群の全例で着色尿、および耳介、四肢あるいは眼球が蒼白した貧血様の変化がみられた。1000 mg/kg 以上の用量群では歩行異常が、2000 mg/kg 群ではさらに自発運動の低下を主徴とする急性症状が発現したが、死亡例はみられなかった。このことから 2-tert-ブトキシエタノールの半数致死量 (LD<sub>50</sub> 値) は、雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定した。

## 図 および 群別表

|              |   |
|--------------|---|
| Figure 1 体重  | 1 |
| Table 1 一般状態 | 3 |
| Table 2 体重   | 5 |
| Table 3 剖検所見 | 7 |

Figure 1 - 1 Mean Body Weight - Male

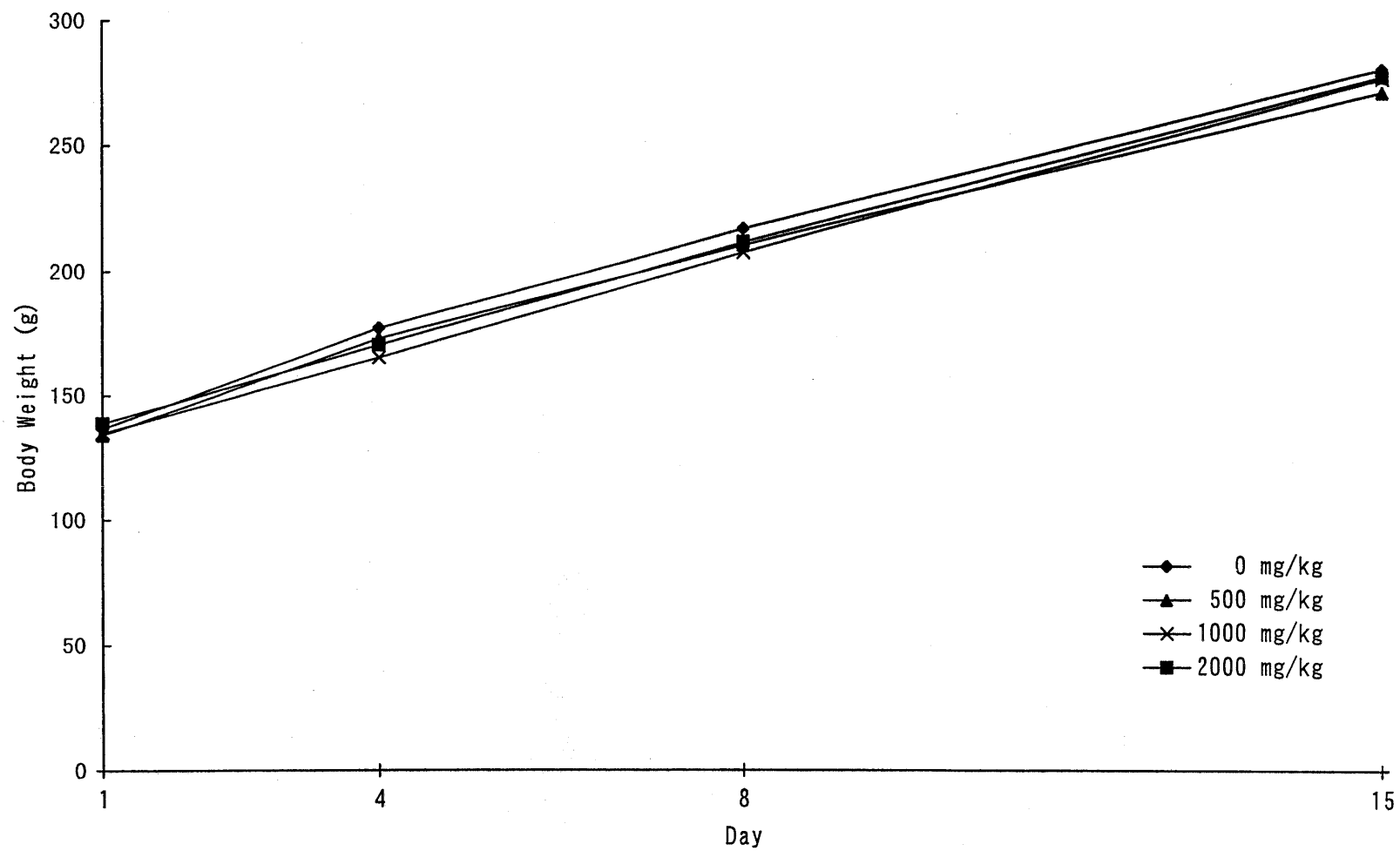


Figure 1 - 2 Mean Body Weight - Female

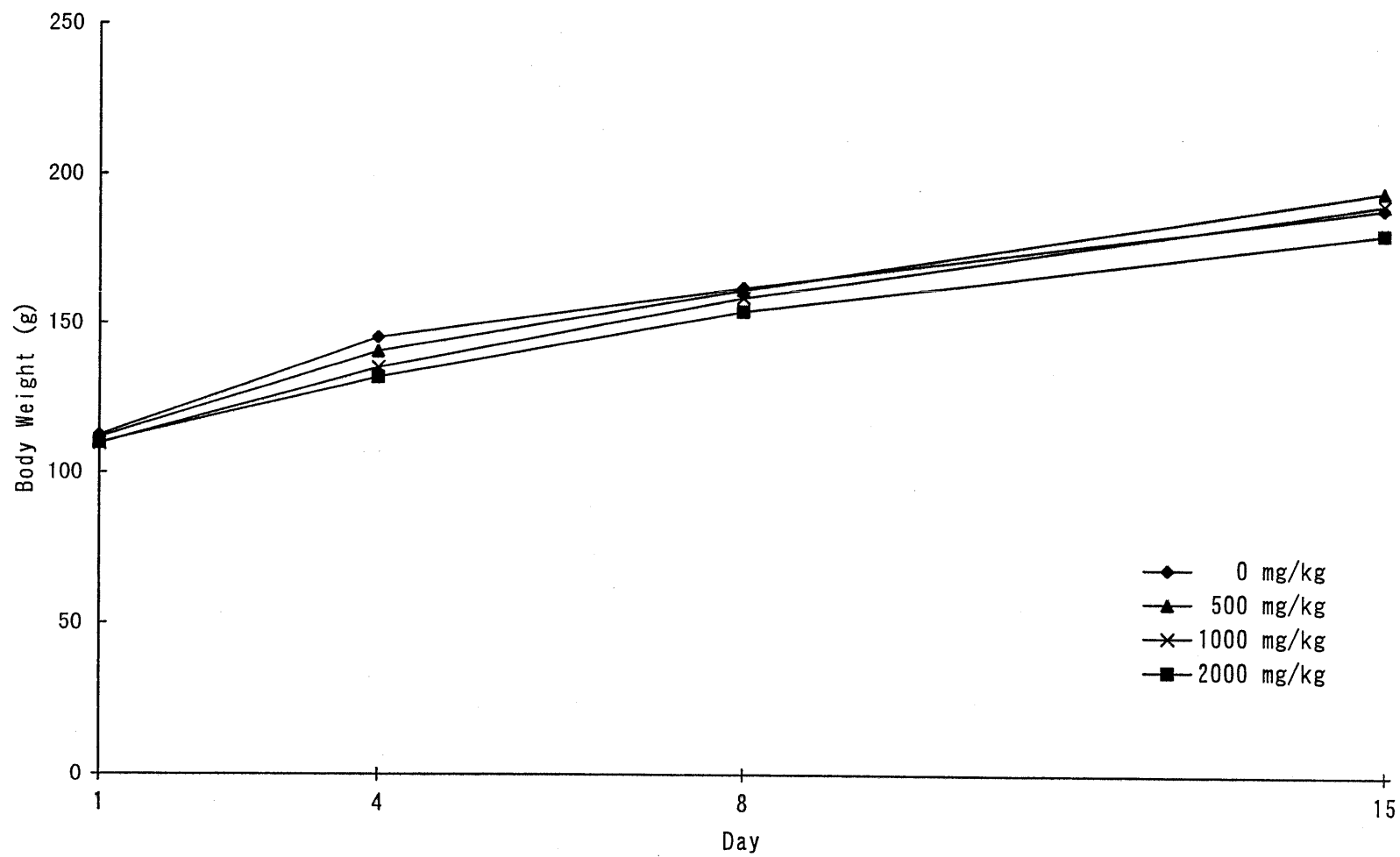


Table 1 - 1 Clinical Sign - Summary  
 Test Substance : ETB

Study No. 9L779

| Test Substance<br>Dose (mg/kg) | Findings           | Day<br>Time | Male    |     |    |    |    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
|--------------------------------|--------------------|-------------|---------|-----|----|----|----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
|                                |                    |             | 1<br>5m | 30m | 1h | 3h | 6h | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| 0                              | Number of Animals  |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | No Abnormality     |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
| 500                            | Number of Animals  |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | No Abnormality     |             | 5       | 5   | 5  | 2  | 0  | 0 | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | Anemic             | +           | 0       | 0   | 0  | 0  | 0  | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | Chromaturia        | +           | 0       | 0   | 0  | 3  | 5  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 1000                           | Number of Animals  |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | No Abnormality     |             | 5       | 3   | 5  | 0  | 0  | 0 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | Abnormal gait      | +           | 0       | 2   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | Anemic             | +           | 0       | 0   | 0  | 0  | 0  | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 2000                           | Chromaturia        | +           | 0       | 0   | 0  | 5  | 5  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | Number of Animals  |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | No Abnormality     |             | 0       | 0   | 0  | 0  | 0  | 0 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |
|                                | Prone position     | +           | 0       | 2   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | Decrease in        | 1           | 1       | 1   | 4  | 1  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | locomotor activity | 2           | 0       | 2   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | Abnormal gait      | +           | 5       | 3   | 5  | 4  | 2  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
|                                | Irregular          | +           | 0       | 1   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| respiration                    |                    |             |         |     |    |    |    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
| Anemic                         | +                  | 0           | 0       | 0   | 0  | 0  | 5  | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |
| Chromaturia                    | +                  | 0           | 0       | 0   | 1  | 5  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |    |

+ , Present ; 1, Slight; 2, Moderate; 3, Severe;

Table 1 - 2 Clinical Sign - Summary  
 Test Substance : ETB

Study No. 9L779

| Test Substance<br>Dose(mg/kg) | Findings                          | Female      |         |     |    |    |    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |   |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------|---------|-----|----|----|----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|
|                               |                                   | Day<br>Time | 1<br>5m | 30m | 1h | 3h | 6h | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |   |
| 0                             | Number of Animals                 |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |   |
|                               | No Abnormality                    |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 |
| 500                           | Number of Animals                 |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |   |
|                               | No Abnormality                    |             | 5       | 5   | 5  | 0  | 0  | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 |
|                               | Anemic                            | +           | 0       | 0   | 0  | 0  | 0  | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
|                               | Chromaturia                       | +           | 0       | 0   | 0  | 5  | 5  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 1000                          | Number of Animals                 |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  |   |
|                               | No Abnormality                    |             | 5       | 3   | 5  | 0  | 0  | 0 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 |
|                               | Abnormal gait                     | +           | 0       | 2   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
|                               | Anemic                            | +           | 0       | 0   | 0  | 0  | 0  | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| 2000                          | Chromaturia                       | +           | 0       | 0   | 0  | 5  | 5  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
|                               | Number of Animals                 |             | 5       | 5   | 5  | 5  | 5  | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 |
|                               | No Abnormality                    |             | 3       | 2   | 4  | 0  | 0  | 0 | 3 | 3 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5  | 5 |
|                               | Prone position                    | +           | 0       | 1   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
|                               | Decrease in<br>locomotor activity | 1           | 0       | 0   | 1  | 1  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
|                               |                                   | 2           | 0       | 1   | 0  | 0  | 0  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
|                               | Abnormal gait                     | +           | 2       | 2   | 1  | 1  | 1  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 |
| Anemic                        | +                                 | 0           | 0       | 0   | 0  | 0  | 5  | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |   |

+ , Present ; 1, Slight; 2 , Moderate; 3 , Severe;

Table 2 - 1 Body Weight - Summary  
 Test Substance : ETB

Study No. 9L779  
 Unit : g

|             |       | Male |       |       |       |       |
|-------------|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| Dose(mg/kg) |       | Day  | 1     | 4     | 8     | 15    |
| 0           | Mean  |      | 136.6 | 177.2 | 217.0 | 280.8 |
|             | S. D. |      | 5.9   | 9.0   | 12.1  | 14.2  |
|             | n     |      | 5     | 5     | 5     | 5     |
| 500         | Mean  |      | 134.0 | 173.0 | 210.6 | 271.6 |
|             | S. D. |      | 4.7   | 4.1   | 5.5   | 8.6   |
|             | n     |      | 5     | 5     | 5     | 5     |
| 1000        | Mean  |      | 134.8 | 165.4 | 207.8 | 277.0 |
|             | S. D. |      | 7.2   | 12.8  | 12.8  | 12.2  |
|             | n     |      | 5     | 5     | 5     | 5     |
| 2000        | Mean  |      | 138.8 | 170.4 | 211.8 | 277.8 |
|             | S. D. |      | 7.1   | 10.4  | 11.5  | 18.3  |
|             | n     |      | 5     | 5     | 5     | 5     |



Table 2 - 2 Body Weight - Summary  
 Test Substance : ETB

Female

Study No. 9L779  
 Unit : g

| Dose (mg/kg) | Day   | 1     | 4     | 8     | 15    |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 0            | Mean  | 112.4 | 145.2 | 162.0 | 188.8 |
|              | S. D. | 7.0   | 13.1  | 11.1  | 8.5   |
|              | n     | 5     | 5     | 5     | 5     |
| 500          | Mean  | 111.6 | 140.6 | 161.2 | 194.6 |
|              | S. D. | 4.8   | 4.5   | 4.3   | 8.8   |
|              | n     | 5     | 5     | 5     | 5     |
| 1000         | Mean  | 109.6 | 135.2 | 158.6 | 190.2 |
|              | S. D. | 4.2   | 8.4   | 8.1   | 17.3  |
|              | n     | 5     | 5     | 5     | 5     |
| 2000         | Mean  | 109.8 | 132.0 | 154.0 | 180.4 |
|              | S. D. | 3.4   | 7.7   | 9.4   | 9.0   |
|              | n     | 5     | 5     | 5     | 5     |

Table 3 Necropsy Findings - Summary  
 Test Substance : ETB

Scheduled Sacrifice (Day 15)

Study No. 9L779

| Organ<br>Findings     | Sex               | Male |     |      |      | Female |     |      |      |
|-----------------------|-------------------|------|-----|------|------|--------|-----|------|------|
|                       | Dose (mg/kg)      | 0    | 500 | 1000 | 2000 | 0      | 500 | 1000 | 2000 |
|                       | Number of Animals | 5    | 5   | 5    | 5    | 5      | 5   | 5    | 5    |
| No abnormality        |                   | 5    | 5   | 4    | 5    | 5      | 5   | 5    | 5    |
| Spleen<br>Deformation |                   | 0    | 0   | 1    | 0    | 0      | 0   | 0    | 0    |